

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**SARAH KAROLINE RODRIGUES**

**CARACTERIZAÇÃO GEOQUÍMICA E AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DOS  
SEDIMENTOS SUPERFICIAIS DA BAÍA DE GUARATUBA - PR**

**PONTAL DO PARANÁ**

**2010**

**SARAH KAROLINE RODRIGUES**

**CARACTERIZAÇÃO GEOQUÍMICA E AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DOS  
SEDIMENTOS SUPERFICIAIS DA BAÍA DE GUARATUBA - PR**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Oceanografia, Setor de Ciências da Terra da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Pesquisa Oceanográfica.

Orientadora: Prof. Dra. Eunice da Costa Machado.

**PONTAL DO PARANÁ**

**2010**

***Dedico este trabalho aos meus pais Ivair e Márcia  
e aos meus irmãos Caio e Mayara.***

## **AGRADECIMENTOS**

É difícil falar de tantas pessoas especiais que fizeram parte dessa minha jornada na graduação. Mas vou tentar...

Gostaria de agradecer a Deus por nunca ter me abandonado e sempre me iluminado nas horas de desespero e de vontade de desistir. Obrigada por sua infinita bondade e crença no ser humano.

À minha mãe (Márcia) que nunca duvidou de meu potencial e confiou cegamente em mim. Ao meu pai (Ivair) que esteve sempre disposto a me ajudar e me apoiou durante essa caminhada. Aos meus irmãos (meus filhinhos Mayara e Caio) que apesar de todas as dificuldades que passamos nunca se opuseram à minha escolha. Amo infinitamente, incondicionalmente vocês e espero que estejamos sempre unidos até o fim.

Aos meus amigos que seja por uma palavra de conforto, conversas regadas a vinhos e comidas maravilhosas ou uma noitada divertida, colocaram cor em minha vida, ajudaram a construir a pessoa que sou hoje e me deram forças para seguir em frente. À Tessa e Ana Flávia que conheci neste caminho para a Universidade, o cursinho e o mar nos uniram e continuamos unidas apesar da distância, sem o apoio de vocês com certeza não seria a mesma coisa Amigas-Irmãs! Às doidas que aceitaram morar comigo e que com certeza foram minha segunda família, quero levar a amizade de vocês pro resto da minha vida, Camilla, Bruna, Raquel e Camis (Camila Menna), principalmente a Ca que agora no final teve que agüentar meus surtos, minha bagunça e choradeiras. Amo muito todos aqui citados e todos os outros que sabem que estão em meu coração!

Ao Prof. Dr. César de Castro Martins, pelas inúmeras correções e sugestões que com absoluta certeza enriqueceram meu trabalho. Ao Prof. Dr. Maurício Camargo pela grande ajuda nas análises estatística, obrigada por ser este profissional. À Prof. Dra. Eunice da Costa Machado, pela confiança nesse trabalho e em mim, pela paciência e pelo exemplo profissional, obrigada pela amizade e orientação. Ao Prof. Dr. Denis Modelo de Souza Abessa pela confiança, pelas portas abertas, pela co-orientação e pela compreensão da correria final, espero

continuarmos esta parceria! Ao Dr. Fabian pelas dicas e por ter aceitado o convite para a banca, suas sugestões e críticas são bem vindas.

Ao Felipe Daros (Batata) e principalmente à Camilla pelas várias coletas de ouriços abaixo de mar agitado e frio. Ao pessoal que me ajudou nas coletas “sujinhas” e cansativas, Larissa Zander, Renato Bot, Breno Braz e Bernardo Castello, desculpa pela dor nos braços meninos, vocês foram demais e economizaram uns dois dias de academia! Ao Junior (motorista) e aos barqueiros Abraão e Josias. À Ghisi e a Rafaela Zem pela ajuda e ensinamentos nas análises granulométricas. À Liciane que me ensinou muito dentro do laboratório e pelas conversas! À Rita pela ajuda no inglês e a Daiane e Fernanda com os scripts do R.

Ao Prof. Dr. Adalto Bianchini, à Mariana Lauer e a Indianara Barcarolli pela leitura dos metais no Lab. de Fisiologia Comparada da FURG. À Marcela Davanso, Lucas M. Buruarem e todo o pessoal do Laboratório de ecotoxicologia da Unesp pela colaboração na execução dos testes de toxicidade. A Rodofley D. Morais pela ponte realizada com o Denis. À Baiana (Tainá) e Katita (Kátia) pelo abrigo nas terras de Santos! Adorei conhecer e conviver com vocês e todo o pessoal do Laboratório (Daku, Malária e Deloar)!

Obrigada a Universidade Federal do Paraná que abriu um leque de opções para minha vida, proporcionou um ensino de qualidade e gratuito, me levou a conhecer novos lugares e pessoas maravilhosas! A universidade não é só uma instituição de formação de profissionais, mas também de caráter e de cidadãos!

Além da bagagem de um curso de graduação levo também a fé no ser humano e a solidariedade. Nestes cinco anos nunca conheci tantas pessoas dispostas a ajudar o próximo sem receber nada em troca. Obrigada a todos que me ajudaram e torceram pelo meu sucesso, minha infinita gratidão a vocês!

Obrigada também a Fundação Araucária e ao PIBIC/CNPq pelas bolsas no ano de 2009 e 2010 que ajudaram a me manter no curso.

## RESUMO

Testes de toxicidade são ferramentas freqüentemente empregadas para avaliações da qualidade de ecossistemas e no reconhecimento de regiões sensíveis. Para avaliar as condições dos sedimentos da baía de Guaratuba, realizou-se a caracterização físico-química e testes de toxicidade de interface sedimento-água e sedimento integral em amostras de três campanhas, nos meses de julho de 2008, julho de 2009 e março de 2010 para 14 estações do estuário. O ensaio agudo com o *Tiburonella viscana* (ouriço do mar) apresentou toxicidade para a maioria das estações e nos testes com *Echinometra Lucunter* todas as estações indicaram diferença significativa com o controle. No entanto, os níveis de amônia não-ionizada ultrapassaram os limiares tóxicos para as larvas de ouriço do mar durante o monitoramento físico-químico, caracterizando-se como potencial interferente no desenvolvimento larval e o fator determinante dos resultados obtidos. Portanto, a utilização de embriões de ouriço do mar como organismo-teste mostrou-se inadequada neste ambiente que é enriquecido naturalmente em matéria orgânica. O emprego apenas de testes de toxicidade é ineficiente para diferenciar os efeitos causados pela emissão de poluentes advindos de esgotos *in natura* e das demais fontes existentes nas cidades de Guaratuba e Matinhos. Entretanto, os resultados positivos dos testes na maioria dos pontos investigados e os teores elevados de fósforo sugerem a existência de toxicidade nos sedimentos através da mortalidade dos anfípodos e efeitos biológicos como retardo no desenvolvimento larval dos ouriços, estes efeitos podem ter sido ocasionados pela sinergia de substâncias presentes no ambiente tanto de origem natural quanto antrópicas. Futuros trabalhos devem eliminar o interferente NH<sub>3</sub>, para que possa ser avaliada a influência de outros componentes químicos e seus efeitos isolados, bem como utilizar marcadores geoquímicos para identificar a origem da matéria orgânica.

## ABSTRACT

Toxicity tests are tools frequently employed to evaluate the quality of ecosystems and to identify vulnerable regions. In order to evaluate the sediment conditions of Guaratuba Bay, this study has characterized the region according to physic-chemical parameters and performed toxicity tests for both whole and sediment-water interface on samples obtained from 14 stations during three surveys on the estuary, July 2008, July 2009 and March 2010. The acute test with *Tiburonella viscana* showed toxicity for most of the stations and for chronic tests with *Echinometra lucunter* indicated significant difference in relation to the control for all stations. However, the un-ionized ammonia values during the physic-chemical monitoring were higher than the toxicity guideline for the urchin larvae, which could imply potential interference on the larval development. Hence the use of urchin embryo as test-organism has showed inappropriate in this organic matter enriched environment. Nevertheless, the positive results for most sampling points and the high phosphorus contents indicate the occurrence of toxicity caused by the synergy of substances present in the sediment. The application of toxicity tests alone is an inefficient method to differentiate the effects caused by natural factors from those resulting from human activities ground Guaratuba Bay. Future studies should remove the interfering  $\text{NH}_3$  and identify the origin of the organic matter present in the system.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1. Revisão Bibliográfica.....	5
1.2. Objetivos.....	10
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	11
2.1. Área de Estudo.....	11
2.2. Amostragem.....	13
2.3. Análise Granulométrica.....	15
2.4. Análises Geoquímicas.....	15
2.4.1. Matéria Orgânica.....	16
2.4.2. Carbonatos.....	16
2.4.3. Carbono orgânico total.....	16
2.4.4. Nitrogênio e Fósforo totais.....	17
2.4.5. Metais (Pb, Cu, Cd e Zn).....	17
2.5. Testes de toxicidade.....	20
2.5.1. Interface sedimento-água.....	21
2.5.2. Sedimento integral.....	25
2.5.3. Água de diluição utilizada nos testes de toxicidade.....	28
2.6. Tratamento dos dados estatísticos.....	28
2.6.1 Análise estatísticas dos testes de toxicidade.....	29
2.6.2. Integração dos dados geoquímicos e ecotoxicológicos.....	29
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	30
3.1. Caracterização da água de fundo.....	30
3.2. Caracterização granulométrica.....	34
3.3. Matéria orgânica.....	38
3.4. Carbonatos.....	40
3.5. Carbono orgânico, nitrogênio e fósforo totais.....	42
3.5.1. Razões C:N:P.....	50
3.6. Metais.....	54
3.6.1. Zinco.....	56
3.6.2. Cobre.....	57
3.6.3. Cádmio.....	58
3.6.4. Chumbo.....	59
3.7. Testes de toxicidade.....	61
3.7.1. Interface sedimento-água.....	61
3.7.2. Sedimento integral.....	67
3.8. Matrizes de Correlação.....	71
<b>4. CONCLUSÕES</b> .....	79
<b>5. RECOMENDAÇÕES</b> .....	80
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	81
<b>ANEXOS</b> .....	87

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a produção industrial no mundo aumentou grandemente, em conjunto com a densidade populacional. Assim, a sociedade atual desenvolveu tecnologias para fornecer suporte no melhoramento e aumento da produção de alimentos e bens de consumo com o intuito de satisfazer a demanda crescente. Além disso, a grande oferta de produtos no mercado induz a elevados níveis de consumo, os quais dependem da cultura, renda e nível de ensino da população.

A criação de produtos sintéticos durante esse processo de desenvolvimento industrial, bem como o beneficiamento de matérias primas, pode gerar resíduos que apresentam potencial perigo ao ambiente e conseqüentemente à saúde humana.

De acordo com a resolução CONAMA nº 001 de 23 de janeiro de 1986 (LEI.ADV., 2008):

*“Impacto ambiental pode ser definido como qualquer alteração das propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente resultante de atividades humanas que, direta ou indiretamente, afetem a saúde, a segurança e o bem-estar da população; as atividades sociais e econômicas; a biota; as condições estéticas e sanitárias do meio ambiente e a qualidade dos recursos ambientais.”*

Um dos maiores problemas ambientais atual é a geração e o despejo de resíduos domésticos e industriais, pois grande parte das cidades no mundo não possui saneamento básico, muito menos plano de gestão e tratamento de resíduos. Estes resíduos são despejados *in natura* em cursos d'água, rios e estuários, no entanto os ambientes aquáticos não possuem capacidade infinita de diluição dos mesmos (ZAGATTO & BERTOLLETTI, 2006).

A emissão de resíduos pode aumentar as concentrações de matéria orgânica e produtos tóxicos nos corpos d'águas e, conseqüentemente, através do processo de degradação bacteriana da matéria orgânica ocorre diminuição dos níveis de oxigênio dissolvido. O processo da eutrofização é o aumento excessivo da produção de matéria orgânica, em decorrência do superenriquecimento de nutrientes (nitrogênio e fósforo), resultantes de atividades antrópicas e de processos naturais, o que leva a modificações em toda cadeia trófica. O efeito de eutrofização é mais

comum em águas rasas e mares fechados com pouca circulação, afetando principalmente ecossistemas estuarinos (KENNISH, 1997).

A entrada de nutrientes resultantes de atividades humanas ocasiona desequilíbrio na dinâmica natural de elementos que são essenciais para a produtividade biológica e funções fisiológicas dos organismos. Estes elementos - o carbono (C), nitrogênio (N), fósforo (P) e enxofre (S) - compõem a maior parte da matéria orgânica presente na superfície natural da Terra e possuem diferentes proporções em sistemas aquáticos e terrestres (MACKENZIE *et al.*, 1993).

Regiões costeiras sofrem ainda com aportes de metais, estes podem ser perigosos dependendo da concentração em que são encontrados no ecossistema. Os metais são conservativos, e quando associados à matéria orgânica em processo de degradação podem mudar seu estado redox e serem novamente disponibilizados para o ambiente, portanto ficam sendo reciclados por processos biogeoquímicos. Conseqüentemente, apresentam significativo potencial para bioacumulação (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006). Na tabela 1 podem ser encontrados alguns dos metais mais tóxicos e suas respectivas fontes antrópicas:

Tabela 1 - Algumas fontes comuns de metais. Em destaque, os elementos analisados neste trabalho.

Fonte: Ribeiro (2004).

<b>Fontes</b>	<b>Elementos encontrados</b>
<b>Fertilizantes</b>	<u>Cd</u> , Cr, Mo, <u>Pb</u> , U, V, <u>Zn</u>
<b>Pesticidas</b>	<u>Cu</u> , As, Hg, <u>Pb</u> , Mn, <u>Zn</u>
<b>Efluentes</b>	<u>Cd</u> , Ni, <u>Cu</u> , <u>Pb</u> , <u>Zn</u>

Os estuários são regiões abrigadas que recebem a energia das ondas já suavizada, sendo uma região propícia para estabelecimento humano e, conseqüentemente, o desenvolvimento de diversas atividades econômicas. Estes ambientes são geralmente descritos como corpos d'água semi-fechados, situados na interface entre o continente e o oceano, onde a água salgada é diluída pelo influxo de água doce. Estas regiões dinâmicas possuem uma das maiores diversidades e produtividades biológicas do mundo. Não somente provêm recursos de importância comercial como também funcionam como berçários ou abrigos transitórios para diversas espécies marinhas (BIANCHI, 2007).

Os sedimentos carregados pelas bacias hidrográficas são conduzidos pelo fluxo de água e depositados ao longo do leito dos rios, e sua disposição se dá de acordo com a intensidade do fluxo e do tamanho dos grãos. Na desembocadura dos rios, os sedimentos que não foram depositados em seu curso são escoados para estuários e para a zona costeira adjacente. Os sedimentos que chegam ao corpo estuarino são constituídos pelo produto do intemperismo, pela matéria orgânica, por solos das áreas a montante dos rios e pela erosão de suas margens, entre outras fontes distintas como a deposição atmosférica e produtos da atividade biológica (*pellet*: mudas, pelotas fecais, etc.) (SEDNET, 2004).

As áreas de sedimentação natural (rios, baías, estuários) são afetadas de diversas maneiras, seja pelo estabelecimento de represas que resulta na perda de áreas de inundação e escassez de sedimentos para as bacias adjacentes, seja pelo desmatamento para o estabelecimento de lavouras, onde a retirada da vegetação facilita a lixiviação dos solos. Como consequência, o suprimento de sedimento para estes ecossistemas é alterado.

Além de serem atingidas por variações no aporte de sedimento, as regiões costeiras estão suscetíveis à poluição resultante de atividades desenvolvidas em seu entorno, visto que, a maioria da população mundial está estabelecida na zona costeira e o desenvolvimento de setores econômicos como navegação, portos, pólos industriais, pesca, agropecuária e a aqüicultura tornam este ambiente vulnerável.

Os sedimentos constituem um compartimento extremamente diverso e complexo, abrigando e servindo de alimento para diversos organismos bentônicos e epibentônicos. No entanto, são receptores de praticamente todo material que chega ao corpo d'água. A capacidade dos sedimentos de funcionar como um reservatório caracteriza-os como bons indicadores da saúde do ecossistema. O monitoramento deste compartimento pode fornecer informações sobre qual o nível de impacto e quais são as regiões mais sensíveis do ambiente (ABESSA *et al.*, 2006).

No momento em que as atividades humanas interferem na quantidade (erosão e assoreamento) de sedimentos ou na qualidade (poluição), a gestão e monitoramento destes sedimentos tornam-se necessários (SEDNET, 2004).

A mistura e diversidade de fontes de poluição requerem estratégias de análises eficientes para a caracterização e controle na emissão de efluentes e utilização de compostos químicos. A interação sinérgica, antagônica, potencial e de adição da mistura de compostos orgânicos e inorgânicos torna difícil a identificação das causas da toxicidade.

A matéria orgânica (MO) contendo substâncias diversas, tanto de origem natural quanto antrópica, é constituída por sulfetos, hidróxidos de ferro e de outros metais, e compostos orgânicos. A MO é parte integrante dos sedimentos de fundo dos estuários em geral associada à partículas finas de sedimentos (silte e argila), estas partículas se depositam e acumulam no fundo sofrendo gradativa compactação. Após compactadas podem permanecer confinadas por tempo indeterminado nos sedimentos de fundo, principalmente se o ambiente apresenta estabilidade físico-química. Dependendo da concentração em que os metais se encontram no ambiente e da presença de ligantes como argilas, sulfetos voláteis em ácido (AVS), carbono orgânico, óxidos, carbonatos, a transferência do material particulado para a fração dissolvida é variável.

Atividades como a bioturbação e as dragagens, bem como a ressuspensão dos sedimentos superficiais por ação de ondas e marés, podem disponibilizar substâncias potencialmente tóxicas, para a coluna d'água. Além disso, após a deposição, este material está sujeito a alterações em suas estruturas por processos físicos, químicos e biológicos que podem potencializar o efeito tóxico de eventuais contaminantes presentes (FRONZA, 2006). Portanto os organismos bentônicos estão expostos aos contaminantes estocados nos sedimentos, tanto na fase particulada, como aqueles dissolvidos na água intersticial (BRENDOLAN & GOMES, 2003).

Uma abordagem utilizada para avaliação de riscos e monitoramentos ambientais é o emprego integrado de análises físico-químicas e ecotoxicológicas, de maneira que a ecotoxicologia compreende a integração da ecologia e da toxicologia, se concentrando no entendimento e na predição de efeitos químicos tóxicos em comunidades naturais sobre condições reais de exposição (CHAPMAN, 2002).

A aplicação de testes de toxicidade consiste na exposição de organismos pré-selecionados a diferentes concentrações de uma substância que apresenta risco

biológico ou amostras de sedimentos e/ou água coletadas em campo, para a determinação de efeitos letais e subletais (CHAPMAN & LONG, 1983). Os testes de toxicidade podem ser utilizados de modo isolado ou integrando métodos químicos e ecológicos.

O diagnóstico da toxicidade nos corpos receptores, com potencial risco ecológico e/ou receptores de efluentes, através de bioensaios com organismos aquáticos (testes de toxicidade) é um importante instrumento para o controle ambiental. Atualmente são rotineiramente solicitados por órgãos ambientais no mundo e em alguns estados no Brasil. No estado de São Paulo a CETESB (Centro Tecnológico de Saneamento Básico - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) já utiliza este procedimento há alguns anos (CESAR *et al.*, 1997). No entanto, ainda há necessidade da adaptação de novos métodos, em especial para espécies estuarinas (ABESSA *et al.*, 2006).

Até o presente momento, não há estudos de caráter ecotoxicológico sobre o ambiente da baía de Guaratuba. A ecotoxicologia pode auxiliar na determinação de efeitos causados por poluentes oriundos das atividades sócio-econômicas estabelecidas no entorno deste ecossistema, como o *Ferry boat* que faz a travessia entre as cidades de Matinhos e Guaratuba, marinas, clubes, lavouras agrícolas e o turismo.

### **1.1. Revisão Bibliográfica**

O termo ecotoxicologia foi sugerido pelo professor e pesquisador René Truhaut, em 1969, reunindo a designação eco (do grego *oîkos*, elemento de composição com o significado de casa, domicílio, habitat, meio ambiente: ecologia) e a palavra toxicologia (ciência dos agentes tóxicos, dos venenos e da intoxicação). Naquela época já se demonstrava uma crescente preocupação de cientistas e autoridades em estudar e compreender os efeitos deletérios promovidos por substâncias químicas, principalmente de origem antrópica, sobre os ecossistemas, seus bioconstituintes e suas inter-relações (AZEVEDO & CHASIN, 2003).

No Brasil, a maioria dos estudos já realizados nesta área focou ambientes de águas doces. O desenvolvimento de testes de toxicidade marinhos no país, tendo

em vista a sua utilização com fins regulatórios começou no final da década de 1970, devido à necessidade de entender os impactos ambientais do uso de dispersantes químicos de petróleo. Alguns métodos de ensaios agudos e de curta duração de toxicidade crônica com plâncton marinho brasileiro e com organismos bentônicos foram desenvolvidos nas últimas décadas (NIPPER, 2000).

Segundo Chapman (2002) e Cesar *et al.* (1997) para a realização de ensaios toxicológicos, alguns parâmetros chave devem ser considerados tanto em relação ao organismo teste quanto ao objetivo do bioensaio em si, como:

a) a espécie a ser testada deve ser sensível a diversas classes de contaminantes e possuir importância ecológica próxima da espécie de maior relevância da região a ser analisada;

b) as formas de exposição devem ser relevantes;

Os testes de toxicidade para sedimento podem se concentrar em diferentes formas de exposição (sedimento total, água intersticial ou por interface sedimento-água), efeitos observados (letal ou subletal), organismos e ensaios (NIPPER *et al.*, 1998).

Os primeiros testes de toxicidade de sedimentos foram desenvolvidos em 1970 e atualmente, após comprovada sua utilidade no estabelecimento de critérios de qualidade de sedimento, novos métodos foram adaptados para diversas espécies (ABESSA *et al.*, 2006).

As principais espécies de anfípodos (crustáceo) utilizadas em testes de toxicidade de sedimentos marinhos e estuarinos são: *Rhepoxynius abronius*, *Eohaustorius estuarius*, *Ampelisca abdita*, *Grandidierella japonica*, *Leptocheirus plumulosus*, *Hyalella azteca*, *Chaetocorophium cf. lucasi*, *Corophium spinicorne*, *Corophium volutator* e *Arenicola marina*, e no Brasil, com *Tiburonella viscana* (ABESSA *et al.*, 2006)

Anfípodos são importantes fontes de energia dentro da cadeia alimentar marinha e estuarina, fazem parte do elo entre o compartimento bêntico e os níveis tróficos superiores, além de constituírem a dieta de muitas espécies. São extensivamente utilizados em ensaios de toxicidade na avaliação da qualidade de

sedimentos, e os resultados de tais testes podem ser correlacionados positivamente com alterações na comunidade bêntica ( CHAPMAN *et al.*, 2002).

Os organismos pelágicos também correm risco devido à liberação de substâncias tóxicas, seja na forma dissolvida para a coluna d'água, seja adsorvida às partículas em suspensão, ou ainda pela intoxicação através da cadeia alimentar (GEFFARD *et al.*, 2002). Testes de toxicidade empregando interface sedimento-água são freqüentemente utilizados para avaliar a qualidade de sedimentos, proporcionando melhor compreensão dos efeitos biológicos da fase solúvel de poluentes associados a esse compartimento (PUSCEDDU *et al.*, 2007).

Testes embriolarvais com ouriços-do-mar são padronizados e amplamente utilizados para avaliar a toxicidade crônica em sedimentos marinhos e estuarinos (ABNT NBR 15250, 2006; CETESB, 1992; PRÓSPERI & ARAÚJO, 2002). Os ouriços são empregados em ensaios toxicológicos com base no pressuposto de que a fertilização e o desenvolvimento larval são fases críticas para o crescimento normal do organismo e apresentam sensibilidade para detectar efeitos de substâncias tóxicas (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

Apesar de suas vantagens, os testes de toxicidade apresentam algumas limitações, como não indicarem a substância responsável pelo efeito, não reproduzirem fielmente em laboratório as condições encontradas na natureza e não serem suficientes para desenvolver critérios químicos se usados isoladamente (ADAMS *et al.*, 1992). Por isso suas interpretações devem ser fundamentadas através da integração de informações sobre a geoquímica e a ecologia do ambiente em questão.

Como mencionado anteriormente, não há publicações disponíveis de estudo sobre a qualidade dos sedimentos da baía de Guaratuba com base em ferramentas ecotoxicológicas. Alguns dos trabalhos pretéritos mais relevantes, do ponto de vista geoquímico, sobre o estuário, são sumarizados a seguir.

Sanders *et al.*, (2006; 2008) analisou 7 testemunhos dentro da Baía de Guaratuba com o intuito de verificar as taxas de sedimentação, acumulação e as concentrações de mercúrio (Hg) e manganês (Mn). Os resultados de seu estudo indicam que o estuário encontra-se em processo de acumulação de sedimento com taxas médias de sedimentação de 5,2 e 6,1 mm/ano. A maior concentração de

matéria orgânica e Hg na superfície dos testemunhos foram associadas ao enriquecimento antropogênico.

Segundo estes autores (SANDERS *et al.* 2006; 2008), o Hg está sofrendo maior acumulação nas áreas mais protegidas do estuário, em virtude de sua forte afinidade por colóides orgânicos que se depositam preferencialmente em áreas onde a velocidade da descarga de água doce diminui, apresentando uma relação inversa com a salinidade. O incremento de Hg em direção à superfície dos testemunhos indica contribuição das atividades humanas, em particular, agrícolas. Entretanto, as concentrações de Hg nos sedimentos da baía de Guaratuba estão dentro da faixa de valores reportada na literatura para estuários não poluídos.

Patchineelam *et al.*, (2010) em um trabalho sobre avaliação histórica de impactos antropogênicos em ecossistemas costeiros através de marcadores geoquímicos estudaram três ambientes costeiros, dentre eles a baía de Guaratuba. Os autores observaram a diminuição do tamanho do grão dos sedimentos depositados na baía a partir de 1950 e um aumento da matéria orgânica, que provavelmente são resultados das construções de hidroelétricas e da intensificação de atividades agrícolas na bacia de drenagem. Barragens são globalmente reconhecidas como armadilhas de sedimentos, especialmente grãos maiores (grosseiros: areias e cascalhos), ao mesmo tempo em que atividades agrícolas na bacia de drenagem aumentam a concentração de matéria orgânica no solo e estes são escoados para a baía.

O trabalho de Pietzsch *et al.*, (2010) quantificou 14 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em dois testemunhos na baía de Guaratuba, um localizado à montante próximo à desembocadura dos principais rios e outro a jusante próximo à região mais urbana do estuário. Os níveis de HPAs encontrados na baía quando comparados a outros estuários da costa leste da América do Sul permitem classificar o sistema como pouco à moderadamente poluído. As concentrações de HPAs foram geralmente mais elevadas no passado do que atualmente. Isto pode ser atribuído ao impacto imediato resultante da construção do *Ferry boat* e das marinas, que intensificaram a navegação regular e promoveram também a rápida conexão entre as cidades de Guaratuba e Matinhos, além do queima de vegetação para o estabelecimento de lavouras. O aumento do

escoamento e lixiviação de solos devido ao desmatamento contribuiu em menor escala para a mobilização de HPAs para o estuário. Somente em um dos testemunhos à montante do estuário, na região próxima aos rios, as concentrações dos compostos orgânicos investigados aumentaram em direção ao topo indicando contribuição antropogênica recente.

Ferreira (2006), estudando ácidos húmicos nos sedimentos da baía encontrou elevadas concentrações de Pb e Zn, metais geralmente encontrados em rejeitos industriais e domésticos, possivelmente contaminados com os despejos da cidade de Guaratuba. Concluiu que os cinco pontos que estudou na baía sofreram alguma alteração da qualidade ambiental.

Brandini (2008) investigou a origem e destino (acumulação) de matéria orgânica nos sedimentos do sistema, verificou que a distribuição espacial dos nutrientes reflete principalmente a contribuição de material proveniente dos rios, principalmente o Rio Cubatão que foi a principal fonte de nitrato. Além disso, os seus resultados demonstram o importante papel dos manguezais nos processos do transporte de material. Os padrões de distribuição dos compostos orgânicos, variáveis geoquímicas, sedimentológicas e suas modificações nos sedimentos ao longo do gradiente estuarino (rio-mar), refletem a compartimentalização do sistema pelágico em setores interno, mediano e externo de acordo com a salinidade. O gradiente observado foi bem definido pelas razões C:N e C:P, evidenciando o aporte de material vegetal terrestre nas regiões de rios e um aumento da contribuição de matéria da produção primária autóctone nos canais de mangue, setores central e jusante.

Mizerkowiski (2007) verificou aportes elevados de nutrientes que podem ser de origem antrópica devido à pressão turística durante o período de veraneio. A autora classificou a suscetibilidade estuarina como alta, ou seja, o estuário não possui a capacidade de diluir e exportar nutrientes. Segundo Mizerkoviski, a montante da Baía de Guaratuba ocorre o cultivo intensivo de banana e a região da desembocadura apresenta uma forte pressão antrópica sazonal, que pode não ser amortecida pelas características hidrodinâmicas ao longo do ano. O aumento expressivo da população (400%) e dos efluentes respectivos durante o período de

veraneio, juntamente com os aportes naturais de matéria orgânica originada nos manguezais é de grande importância para o balanço dos nutrientes nesse sistema.

Embora a baía se encontre inserida na Área de Proteção Ambiental (APA) de Guaratuba, existem sinais de alterações nesta região. Os estudos acima citados indicam que a baía de Guaratuba se caracteriza como um ambiente frágil e que merece atenção devido às atividades realizadas em seu entorno, como agricultura, aqüicultura e a existência de duas hidrelétricas nos rios à montante. Durante a temporada a população é incrementada significativamente nas cidades circundantes, Matinhos e Guaratuba, o que conseqüentemente aumenta ainda mais o volume de resíduos e impactos potenciais. As cidades do litoral paranaense apresentam grandes problemas quanto ao planejamento urbano e a ocupação, o que é evidente na falta de saneamento básico na maioria das residências. É importante monitorar a saúde deste ecossistema para subsidiar o controle da expansão populacional e econômica na região.

## 1.2. Objetivos

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar a qualidade dos sedimentos superficiais para a vida aquática da baía de Guaratuba. Para tal, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- a) Efetuar a caracterização geoquímica e sedimentológica da área investigada através da análise granulométrica, determinação dos teores de carbonatos, matéria orgânica, nitrogênio total, carbono orgânico total, fósforo total e os metais Zn, Cu, Cd e Pb.
- b) avaliar a toxicidade dos sedimentos, através de ensaios em duas formas de exposição: interface sedimento-água, utilizando como organismos-teste os ouriços do mar *Echinometra lucunter*, e sedimento integral utilizando o organismo-teste *Tiburionella viscana*;
- c) verificar se existe um gradiente de toxicidade ao longo da Baía;
- d) analisar se a toxicidade está relacionada às variáveis geoquímicas e sedimentológicas investigadas.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Área de estudo - A Baía de Guaratuba

A baía de Guaratuba é um estuário localizado ao sul da planície costeira do estado do Paraná (25° 51'80'S, 48°38'20'W Figura 1). A cidade de Guaratuba, com aproximadamente 33.000 habitantes, está situada ao sul da baía, enquanto que ao norte está localizado o município de Matinhos com cerca de 24.200 habitantes (SEMA-PR, 2006).

O estuário possui 15 km de comprimento e largura máxima de 3 km. Sua comunicação com o oceano Atlântico é feita por uma única e estreita desembocadura (aproximadamente 500m de largura), limitada por dois pontais rochosos, e sua profundidade máxima é de 27 m. Seus maiores tributários são o Rio São João e Cubatão com fluxo médio total de escoamento de 80 m<sup>3</sup>/s. Muitas gamboas circundam as margens e a inundação da planície é assegurada pelas marés semi-diurnas de até 1,5 m. (MARONE *et al.*, 2004).

Segundo Zem (2005) a baía pode ser classificada em três grandes áreas:

- Setor montante ou de domínio fluvial, onde ocorrem processos de transporte e sedimentação, e a conformação do fundo é influenciada principalmente pela descarga fluvial;
- Setor intermediário, onde os padrões de distribuição dos sedimentos são resultantes do decréscimo das correntes, relacionados tanto à diminuição do aporte de águas fluviais quanto à necessidade das águas se redistribuírem numa maior e mais irregular área de inundação, caracterizando ambientes de baixa energia, com os fundos rasos e representados por baixios e planícies de maré;
- Setor de domínio da desembocadura ou de alta energia, esta região é caracterizada por canais profundos (variando entre 5 e 27 m) e por depósitos arenosos formados por processos de arrasto e saltação, caracterizando um ambiente de alto hidrodinamismo, onde provavelmente predominam processos erosivos e sedimentos inconsolidados.

Sanders *et al.* (2006) e Zem (2005) sugerem que a Baía está em processo de acumulação de sedimentos. Trata-se de um estuário raso com profundidades

médias variando de 1,5 m em regiões protegidas a 5 m em regiões com maior influência de correntes.

A região no entorno da Baía não é muito industrializada o cultivo de banana e arroz são as principais atividades econômicas. Nos vales situados ao redor dos rios Cubatão, do Melo, São João (de baixo), regiões a montante da Baía, se localiza a maior concentração de cultivos de banana no Estado do Paraná, e menos intensamente de arroz e palmáceas. Outras atividades como a pesca, aquicultura e turismo também colaboram para a economia local (TODESCHINI, 2004).

Na década de 1960, estações de *ferry boat* (balsa de travessia) e marinas foram construídas para ligar as cidades de Matinhos e Guaratuba. Este fato interrompeu o relativo isolamento, e favoreceu o crescimento urbano da região. Atividades de dragagem tiveram de ser executadas em decorrência do aumento da navegação, a emissão de efluentes cresceu devido ao desenvolvimento urbano, e para desenvolver a agricultura foi promovida a eliminação da vegetação ciliar e por fim para suprir a demanda de energia elétrica foram construídas duas usinas hidrelétricas em 1930 e 1957. Estas atividades estão entre os fatores antrópicos que possivelmente podem estar contribuindo para a diminuição da qualidade deste ecossistema (PIETZCH *et al.*, 2010).

Há 30 anos a desembocadura da Baía de Guaratuba vem sofrendo forte pressão urbana devido à especulação imobiliária ao estabelecimento e desenvolvimento de atividades econômicas, que utiliza a sua vocação turística como importante recurso financeiro, já que as praias e a própria baía oferecem boas opções de lazer e recreação. Outro aspecto característico a destacar é a população flutuante da região onde os dados obtidos pela SEMA-PR (2006) mostram que o fluxo de turistas para o litoral do Paraná durante o verão supera o número de um milhão e meio de pessoas, 673% maior (quase sete vezes a mais) que a população total residente. Guaratuba recebe 22% deste 673%, o que significa uma média diária de 4.550 pessoas a mais nos balneários do município, a cidade de Matinhos atinge 50.000 habitantes na alta temporada. Com estas informações é possível ter uma noção da pressão que é esta explosão populacional nas temporadas sobre o ambiente natural e as infra-estruturas insuficientes de saneamento básico.

## 2.2. Amostragem

As campanhas de amostragem foram realizadas nos meses de julho de 2008, julho de 2009 e março de 2010, em 14 estações dentro do estuário (Figura 1 e Tabela 2). Em cada ponto foram efetuadas 4 amostragens, com um pegador de fundo do tipo *Petite ponar*, destinadas às análises ecotoxicológicas, granulométricas e geoquímicas. A localização dos pontos de coleta foi definida com o auxílio de um aparelho GPS (“Global Positioning System”).

Tabela 2 – Coordenadas em UTM e descrição das estações de amostragem.

Ponto	Latitude (UTM)	Longitude (UTM)	Descrição
G1	729414	7136871	Desembocadura dos Rios São João e Cubatão
G2	732855	7136157	Desembocadura do Rio do Cedro
G3	733900	7137941	Desembocadura dos Rios das Pedras e Palmeiras
G4	734996	7136820	Entre as ilhas do Capim de baixo e da Garcinha
G5	735532	7135826	Próximo ao Rio Boguaçu
G6	737392	7138273	Desembocadura dos rios das Ostras e Quilombo
G7	738157	7136438	Desembocadura do Rio Boguaçu
G8	740476	7136667	Próximo às marinas de Guaratuba
G9	740043	7137865	Desembocadura do Rio Barigui
G10	741318	7137916	Entre as Ilhas da Sepultura e do Capinzal
G11	741878	7136743	Próximo ao late Clube de Guaratuba
G12	743590	7138057	Porto de Passagem Ferry Boat (Matinhos)
G13	742640	7140499	Cultivo de ostras Cabaraquara
G14	742337	7139343	late Clube Caiobá

Após a coleta, os sedimentos foram acondicionados em frascos limpos, devidamente identificados e conservados em caixas térmicas com gelo com temperaturas em torno de 4 °C até a chegada ao laboratório. Em seguida, as amostras destinadas aos testes ecotoxicológicos foram armazenadas em refrigeradores com temperatura constante de 4 ° C e as outras restantes congeladas em freezers até a execução das análises.

Além disso, foram realizadas coletas de água de fundo com o auxílio de uma garrafa de *Van Dorn* para análise da salinidade, pH, oxigênio dissolvido e temperatura.

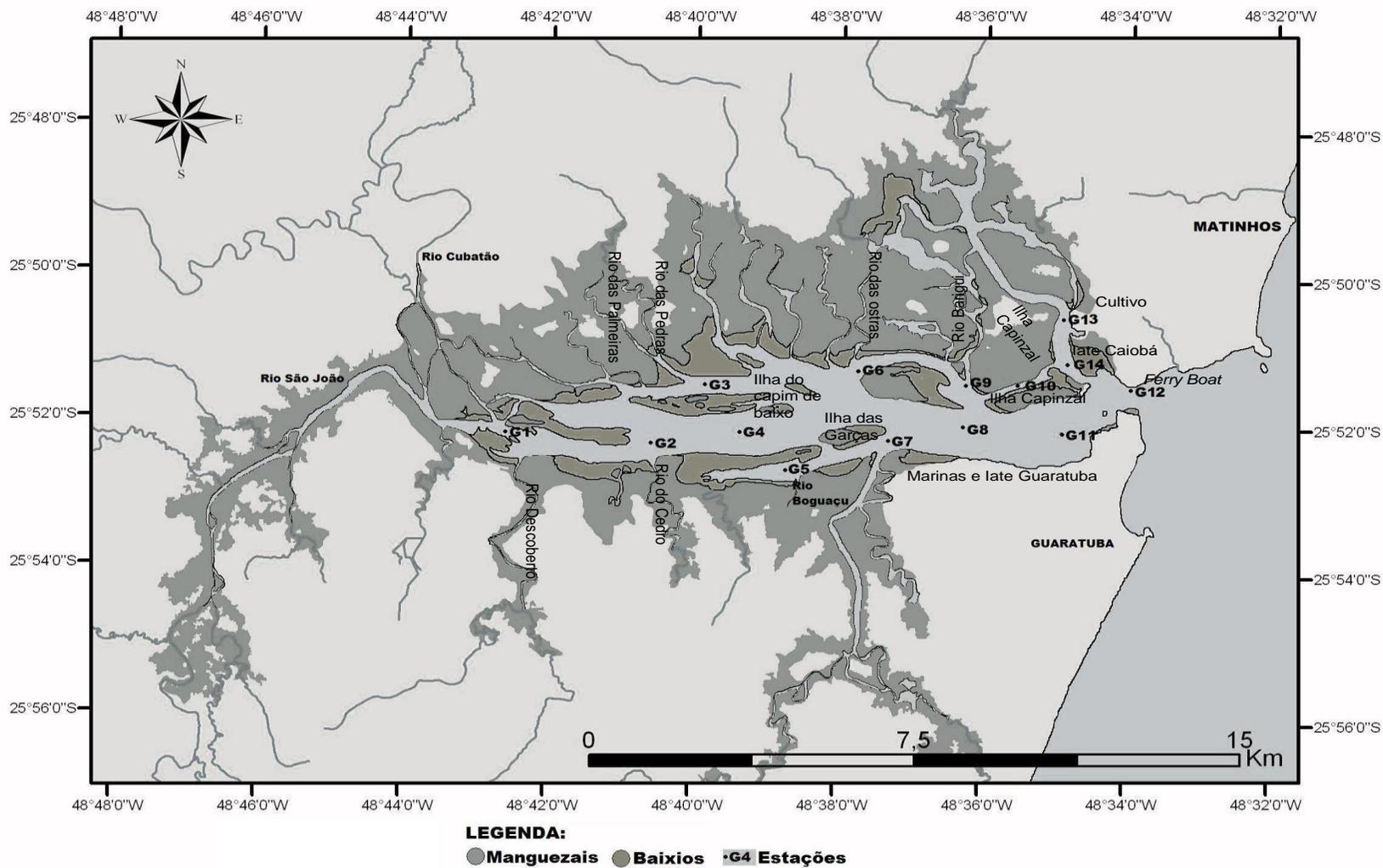


Figura 1 – Baía de Guaratuba com os respectivos pontos de amostragem. Fonte: CEM/UFPR – LFM.

### 2.3. Análises granulométricas

A granulometria das amostras foi determinada a partir do método de Suguio (1973) seguido de adaptações elaboradas por Zem *et al.*, (2005). O método é baseado na eliminação do material orgânico associado ao sedimento, uma fração de 80 g de cada amostra é digerida por peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) para posterior peneiramento de 50 g de sedimento seco (pós-digestão) em malha de 0,062 mm. Este procedimento é realizado com o intuito de separar as frações finas para pipetagem, com novo peneiramento a seco dos grãos maiores de 0,062 mm.

Após o processo de peneiramento e pipetagem são elaboradas tabelas com os pesos de cada fração de grãos de acordo com a escala phi. Os dados foram analisados com o auxílio do software *Sys Gran 2.4* (CAMARGO, 2006), o qual fornece a classificação granulométrica de Shepard (1954) e determina os teores de areia e lama, segundo a classificação de Folk & Ward (1957).

Admitiu-se um erro inferior a 5%, com repetição do procedimento para as amostras em que o fator de correção estivesse fora do intervalo de 0,95-1,05, dado pela razão entre o peso inicial e final das amostras. As análises foram realizadas no Laboratório de Oceanografia Geológica - CEM/UFPR.

### 2.4. Análises geoquímicas

Os sedimentos foram analisados, quanto ao teor de carbono orgânico total (COT), matéria orgânica (MO), carbonatos, nitrogênio total (NT), fósforo total (PT) e metais (Pb, Cd, Cu, Zn). As análises de NT, PT e COT foram efetuadas no Laboratório de Biogeoquímica Marinha e as determinações dos teores de carbonatos e MO foram realizadas no Laboratório de Oceanografia Geológica, ambos do Centro de estudos do mar da Universidade Federal do Paraná (LOGEO/CEM/UFPR).

#### **2.4.1. Matéria Orgânica**

O teor de matéria orgânica foi estimado por meio da razão entre o peso seco inicial (obtido pelo cálculo do teor de umidade) antes da queima da matéria orgânica e o peso seco final pós-eliminação da MO, segundo a metodologia descrita por ZEM *et al.*, 2005. Para a determinação da porcentagem de matéria orgânica de cada amostra foram pesados cerca de 5g de sedimento seco e adicionados 20 mL de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Após cerca de 2 dias, tempo para a queima de toda a matéria orgânica contida nas amostras, estas foram secas e aferidos o peso final. As porcentagens de matéria orgânica de cada estação amostrada foi obtida através da diferença entre os dois pesos (inicial e final).

#### **2.4.2. Carbonato de Cálcio**

A determinação de carbonatos totais nos sedimento foi efetuada a partir de sua eliminação através do tratamento com ácido clorídrico (HCl). Para tanto, foram pesados cerca de 10g de sedimento seco de cada amostra e adicionados 20 mL de Ácido Clorídrico (HCl). Após a dissolução completa dos carbonatos das amostras, estas foram lavadas para retirada do ácido e dos sais formados. Ao final o sedimento restante foi seco e aferiu-se o peso final (1), de maneira que, por diferença entre os pesos iniciais e finais foram obtidos os teores de carbonatos (BAISCH & LIMA, 2006).

$$(1) \% \text{ de carbonatos} = (\text{Peso inicial} - \text{Peso final}) \times 100 / \text{Peso inicial}$$

#### **2.4.3. Carbono Orgânico total**

O procedimento para a determinação de Carbono orgânico Total foi baseado na metodologia utilizada pelo laboratório de Biogeoquímica Marinha – CEM/UFPR derivada do procedimento descrito por Strickland & Parsons (1972) com adaptações de BAUMGARTEN *et al.*(1996) para método a partir de titulação com uma solução

de sulfato ferroso amoniacal. Neste método a matéria orgânica é determinada em seu equivalente em carbono em 0,1 g de sedimento seco e macerado. É necessário o tratamento com ácido fosfórico concentrado para volatilizar os cloretos na forma de HCl, pois estes causam a redução do dicromato de potássio, que é utilizado como reagente neste método.

Ao sedimento seco é adicionada uma solução de dicromato de potássio em meio de ácido sulfúrico concentrado empregado em excesso e, esta solução é aquecida à 100 °C. Após 1 hora de aquecimento, a solução é resfriada com 50 mL de água destilada e então o excesso de dicromato ( $\text{Cr}^{3+}$ ) é titulado com sulfato ferroso amoniacal, usando um indicador redox apropriado.

#### **2.4.4. Nitrogênio (NT) e Fósforo totais (PT)**

Para a análise de nitrogênio total e fósforo total é tomada uma fração de 0,1 g de amostra de sedimento seca e macerada, a qual é oxidada com persulfato de potássio em autoclave. A oxidação é responsável pela conversão de toda a porção orgânica em inorgânica. Após a oxidação, 25 mL da amostra foi utilizada para a determinação de nitrogênio total e 15 mL para a determinação de fósforo total na forma de nutrientes inorgânicos, através do método colorimétrico descrito por Grasshoff *et al.* (1999).

#### **2.4.5. Metais (Zn, Cd, Cu e Pb)**

As análises de metais foram realizadas a partir de dois tipos de extração: forte (SOTO *et al.*, 1994) e fraca. A extração forte utiliza uma solução de água régia (3:1 – HCL:HNO<sub>3</sub>) que pode liberar os elementos metálicos tanto naturais quanto os resultantes das atividades antrópicas. Nesta extração utiliza-se 0,5g de sedimento seco com 20 mL de água régia para cada amostra (Figura 2). Esta solução é colocada em cadinho de *teflon* mantido a uma temperatura de 110°C até que toda a água régia seja evaporada. Este procedimento foi executado dentro de uma capela,

pois são liberados ácidos tóxicos. Ao final deste processo são adicionados 25 mL de ácido clorídrico 2% (HCL) à amostra e posteriormente, procede-se a filtração das mesmas em filtro de papel de 45 $\mu$ . Os extratos assim obtidos foram conservados em temperatura de 4°C até a leitura em espectrofotômetro de absorção atômica de chama (AAS 932 Plus – CGB, IL, EUA).

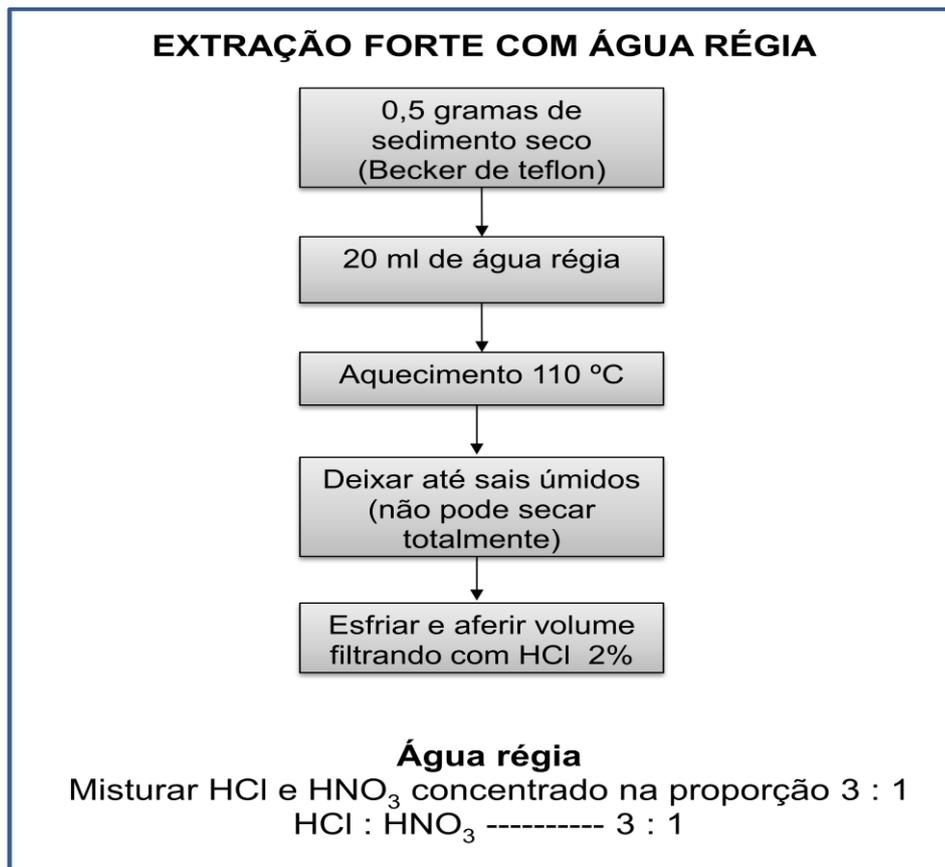


Figura 2 – Esquema da metodologia utilizada para extração forte.

A extração fraca (Figura 3) é realizada com objetivo de detectar os metais que estão fracamente ligados ao sedimento, ou seja, aqueles que possuem maior potencial de liberação para o meio. Neste método é utilizada uma solução de HCl 0,1N para 1g do sedimento armazenados em cadinhos de teflon sem aquecimento. As amostras permaneceram 12 horas tampadas com vidro relógio, e ao final deste processo foram filtrados e mantidos a 4°C, até que fossem efetuadas as leituras em AAS (SUTHERLAND, 2004).

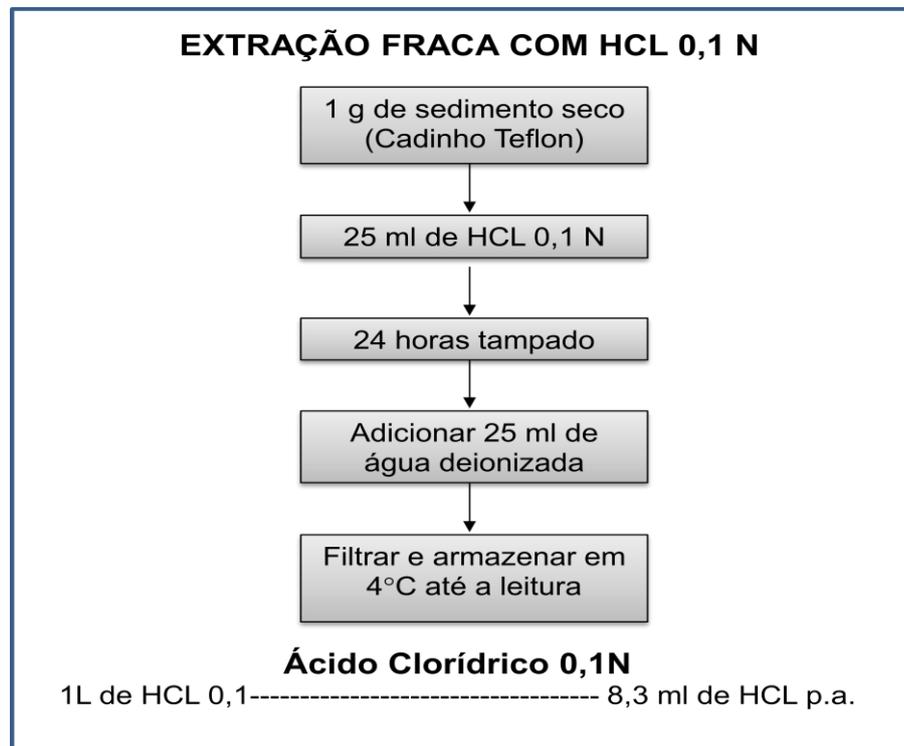


Figura 3 – Esquema da metodologia utilizada para extração fraca.

A presença de sais na água do mar e em soluções aquosas extraídas de sedimentos marinhos e estuarinos pode interferir no processo de leitura em AAS. Há metodologias que consistem na co-precipitação dos elementos metálicos e solubilização dos sais, empregadas no intuito de se obter melhor acurácia na leitura das concentrações dos metais de interesse. Toyota *et al.* (1982) desenvolveram um método onde é aplicado o hidróxido de lantânio ( $\text{La}(\text{OH})_3$ ) como co-precipitador dos metais. A utilização deste composto é privilegiada devida a sua baixa solubilidade, capacidade de formação de material floculado ao atingir  $80^\circ\text{C}$  e seu comprimento de onda no AAS ser alto (550,1 nm) sendo suficientemente separável da faixa dos comprimentos de onda dos principais metais analisados.

Para cada extrato das amostras foram adicionados  $1\ \mu\text{L}$  de solução de óxido de lantânio ( $10\text{mg La mL}^{-1}$ ) e  $7,5\ \mu\text{L}$  de carbonato de sódio  $1\text{M}$  ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) para deixar o pH da amostra em 9,8. Então, esta mistura foi aquecida a  $80^\circ\text{C}$  durante 30 min e, em seguida foi centrifugada com aproximadamente 3000 giros por 15 min. e o sobrenadante descartado. O precipitado remanescente foi dissolvido em  $1\text{mL}$  de

HNO<sub>3</sub> 1N e as concentrações dos metais, Cobre (Cu), Zinco (Zn), Chumbo (Pb) e Cádmio (Cd), foram obtidas através de espectroscopia de absorção atômica de chama (AAS 932 Plus – GBC, IL, EUA).

O processo de co-precipitação e as leituras em AAS foram procedidos no Instituto de Ciências Biológicas (IAB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Este laboratório utiliza o método adaptado por Nadella *et al.* (2009) de Toyota *et al.* (1982).

## 2.5. Testes de toxicidade

Para estimar o potencial tóxico do sedimento é necessário avaliar as principais formas de exposição dos organismos ao sedimento, sendo as mais utilizadas: sedimento integral, água intersticial, interface sedimento-água e elutriatos (NIPPER, 1998). Neste trabalho o sedimento foi avaliado através do sedimento integral e interface sedimento-água.

O sedimento integral é considerado adequado para indicar a qualidade de um ecossistema aquático, já que é um importante substrato para diversos organismos e envolve a integração de diferentes rotas de exposição (NIPPER, 1989), principalmente o contato direto com a fase sólida do sedimento e com a água intersticial, e a exposição por via alimentar. O teste de sedimento integral com *Tiburonella viscana* é de toxicidade aguda, definido como aquele que avalia os efeitos severos, sofridos pelo organismo teste em um curto período de tempo. Geralmente em testes de toxicidade aguda o critério de avaliação são a mortalidade e/ou a imobilidade dos organismos (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

Já a interface sedimento-água é utilizada para estimar a transferência de contaminantes do sedimento para a coluna d'água adjacente, por processos advectivos e de difusão, servindo para estimar riscos aos organismos epibentônicos e bentônicos filtradores, devido principalmente ao contato dérmico direto ou absorção direta por difusão.

O teste crônico avalia efeitos subletais dos sedimentos aos organismos, pode não levar a morte, mas pode causar distúrbios fisiológicos e comportamentais à longo prazo. Este é o caso dos testes embriolarvais onde são observados a má formação das larvas e o retardo no desenvolvimento das mesmas (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

Para avaliar a qualidade do sistema laboratorial em que os testes foram executados, bem como a saúde e sensibilidade do organismo-teste, foram realizados testes com substância de referência para os ouriços e para os anfípodas foi utilizada a carta controle do Laboratório de ecotoxicologia da UNESP - São Vicente.

Substâncias de referência são utilizadas para avaliar as condições de “saúde”/sensibilidade dos organismos-teste, sejam eles oriundos do campo ou cultivados em laboratório. A finalidade da carta-controle é estabelecer uma faixa de aceitação dos valores obtidos através do cálculo estatístico da concentração letal - CL50. A carta controle possui o desvio padrão de vários resultados dos testes com substância de referência. Para a sua construção são necessários 20 testes com substância de referência a fim de calcular o valor médio, o desvio-padrão e o coeficiente de variação, no entanto, é possível construir uma carta a partir de 5 resultados de testes (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

A partir dos resultados obtidos do teste de substância de referência com as larvas de *E. lucunter* foi obtido o valor de CL50 que consiste na concentração que inibe 50% do desenvolvimento embriolarval dos ouriços. Este valor foi comparado com o encontrado em outros trabalhos.

### **2.5.1. Interface sedimento-água**

Os testes de toxicidade de curta duração com o ouriço do mar *Echinometra lucunter* foram realizados no Centro de Estudos do Mar no Laboratório de Biogeoquímica Marinha. Para todos os testes, foram monitorados os parâmetros oxigênio dissolvido, temperatura, nitrogênio amoniacal e salinidade, iniciais e finais. Considerou-se que o teor de oxigênio dissolvido nas amostras, ao final do teste, deveria ser  $\geq 4,0 \text{ mg.L}^{-1}$ , e a salinidade entre 30 e 36 (ABNT NBR 15350, 2006).

Além disso, o monitoramento dos valores de amônia não-ionizada ( $\text{NH}_3$ ) é de suma importância, pois este nutriente pode influenciar no desenvolvimento embrio-larval destes organismos (ouriço do mar), segundo a norma ABNT NBR 15350 (2006), o tolerável  $\text{NH}_3$  para o ouriço do mar é de  $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ , e de acordo com o órgão de proteção ambiental do Estados Unidos da America – USEPA (1995) o alerta esta em valores de  $\text{NH}_3$  a partir de  $0,02 \text{ mg.L}^{-1}$ .

A montagem para os testes seguiu o protocolo da ABNT NBR 15350 (2006), para o ensaio interface sedimento–água (Figura 4). No dia anterior ao início dos ensaios foram adicionados 2mL de sedimento em cada um dos tubos-teste com 4 réplicas para cada amostra testada, utilizando uma seringa de 5mL. Em cima do sedimento colocou-se uma rede de plâncton ( $45 \mu\text{m}$ ) fixada por um anel plástico, e então foram adicionados 8mL de água de diluição marinha, a cada réplica, com o auxílio de uma pipeta automática conforme descrito por Cesar *et al.* (2004). Após 24 h, tempo necessário para sedimentação e estabilização do sistema, foram adicionados cerca 30 ovos/mL em cada recipiente-teste.

Paralelo aos testes foram realizaods testes com substância de referência com o DSS (dodecil sulfato de sódio), comumente utilizado como substância de referência em testes embriolarvais com ouriço do mar. A fim de avaliar a saúde dos organismos utilizados nos testes. As soluções utilizadas foram  $0,32$ ,  $0,56$ ,  $1,0$ ,  $1,8$  e  $3,2 \text{ mg.L}^{-1}$  de DSS.

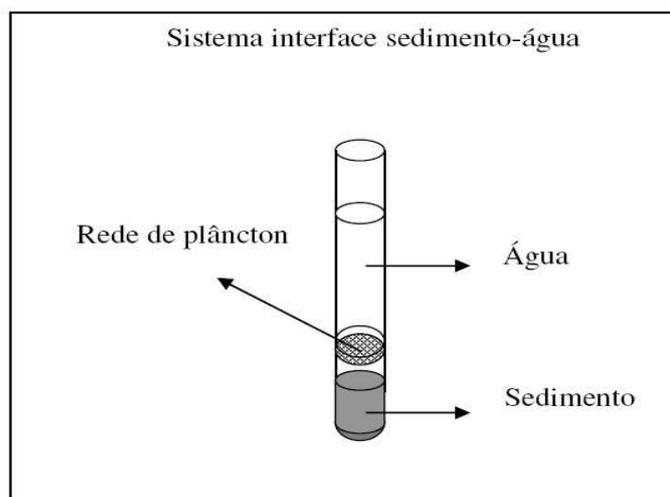


Figura 4 – Sistema da técnica de interface sedimento–água para ouriços do mar. Fonte ABNT NBR 15350, 2006.

Para a obtenção dos gametas foram coletados 20 indivíduos adultos de *Echinometra lucunter* (Figura 5) através de mergulho autônomo na Ilha da Galheta – PR. Imediatamente após a chegada ao laboratório, foi induzida a liberação dos gametas. Após a desova, todos os ouriços foram devolvidos ao mar.

A indução da liberação dos gametas, foi realizada por injeção de 2-3 mL de solução 0,5 M de Cloreto de Potássio (KCl) na cavidade celomática dos animais, de acordo com recomendação descrita na Norma Técnica L5.250 (CETESB, 1992).



Figura 5 – Exemplos de *E. lucunter* após à esquerda representa uma fêmea e à direita um indivíduo macho. (Fotos: a autora, 2009)

Para coleta dos óvulos, caracterizados pela coloração amarelo-alaranjado, as fêmeas foram depositadas sobre um béquer de 600 mL cheio de água do mar filtrada, com a superfície aboral voltada para baixo, permitindo que os óvulos fossem precipitados. Os óvulos de cada fêmea foram observados ao microscópio, a fim de avaliar o formato e tamanho dos óvulos, os quais devem ser redondos, lisos e de tamanho homogêneo. Após a decantação dos óvulos, foi descartado o sobrenadante e o restante foi filtrado através de malha de 360µm, para retirada de resíduos (espinhos quebrados e grumos). Ao final, esta solução concentrada teve seu volume elevado para 600 mL. Este processo foi repetido três vezes.

Os espermatozoides de coloração branca foram coletados diretamente dos gonopóros, utilizando-se um conta gotas e depois mantidos em um Becker de 25 mL

com gelo até a fertilização. Uma solução (a) de esperma foi preparada com 1 a 2 mL de espermatozóides coletados e 25mL de água de diluição marinha, homogeneizando para dissolução dos grumos.

Para a fecundação foi acrescentado 1 a 2mL da solução (a) de esperma ao recipiente contendo os óvulos (600mL), sempre mantendo uma leve agitação para que houvesse a fecundação dos óvulos, formando uma nova solução (b). Coletou-se 1 mL da solução (b) contendo os ovos e adicionou-se 99 mL de água de diluição. Após a agitação desta nova solução (c) 3 sub-amostras de 1 mL foram tomadas para contagem em câmara de Sedgwick-Rafter e o número de ovos viáveis foi contabilizado.

Os ovos foram identificados pela membrana de fecundação a sua volta (Figura 6A), sendo que em cada sub-amostra deve ocorrer mais de 80% de fecundação. Em casos que não ocorreu 80% de fecundação, adicionou-se a solução de ovos mais 1mL de esperma.

Quando foi observou 80% de fecundação, foram realizados os cálculos para obter 30 ovos/mL, densidade que deve ser utilizada nos recipientes-teste (PRÓSPERI & ARAÚJO, 2002). A solução (c) de 1mL/100mL foi multiplicada por 100 (fator de diluição), de maneira a estimar o volume de ovos/mL na solução (b).

A duração dos testes foi de aproximadamente 36h, e o encerramento se deu quando as larvas dos controles apresentaram a forma de larva *pluteus* bem definida (Figura 6B). Ao final dos testes foram avaliados os embriões normais e também aqueles que apresentaram alguma anomalia morfológica ou retardamento no seu desenvolvimento (Figura 6B e C). As larvas foram fixadas pela adição de 0,5 mL de formaldeído 4% aos frascos testes e contadas em microscópio estereoscópico, numa câmara de Sedgwick-Rafter. O resultado de cada réplica foi comparado com os dados de normalidade das larvas controle (apenas água de diluição), de modo a determinar quais amostras apresentaram toxicidade dos sedimentos através desta forma de exposição.

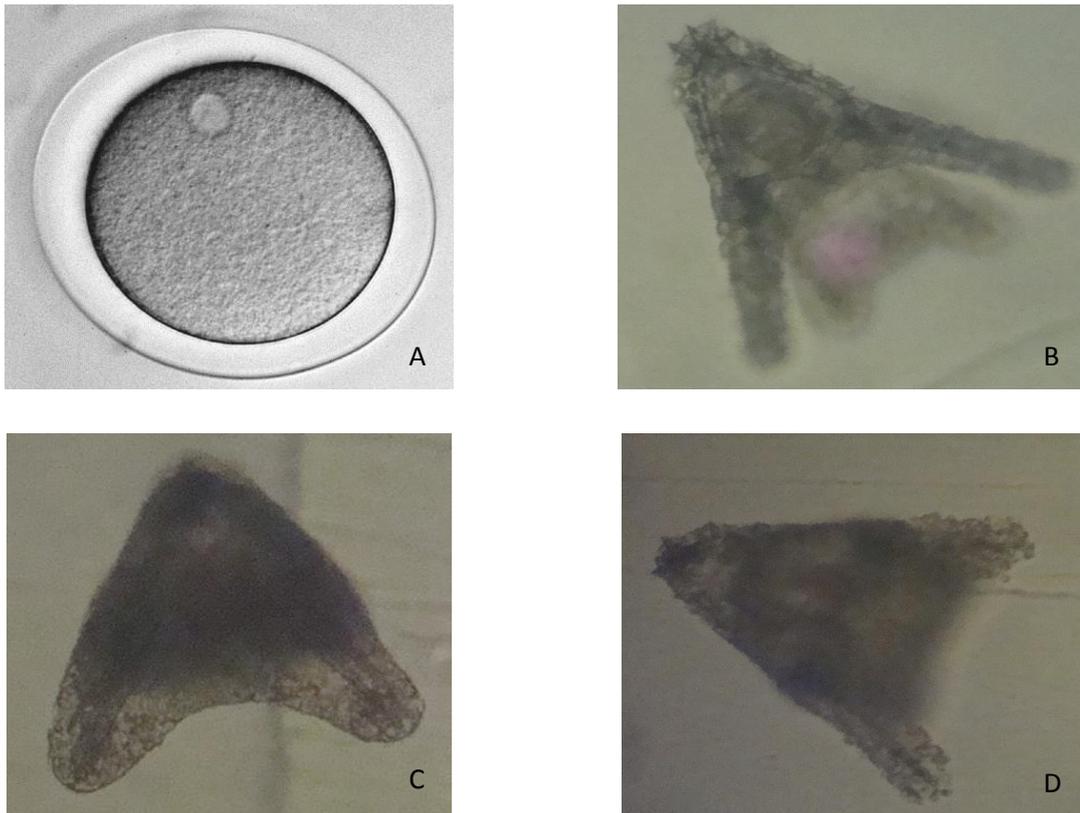


Figura 6 – (A) ovo de ouriço do mar fecundado (ABNT NBR 15350), (B) larva na forma *pluteus* normal, (c) larva com desenvolvimento retardado e (D) larva com deformidades. (Fotos (B,C e D): a autora, 2010)

### 2.5.2. Sedimento integral

O método utilizado na execução dos testes de toxicidade de sedimentos foi descrito por SWARTZ *et al.* (1985) e adaptado para *T. viscana* por MELO & ABESSA (2002), e vem sendo aplicado rotineiramente com sucesso. O método consiste na exposição dos anfípodos aos sedimentos, por um período de 10 dias, sendo avaliada a sobrevivência dos animais expostos a cada amostra.

O anfípoda escavador *Tiburonella viscana*, é um Crustáceo (Figura 7), espécie comum na costa de São Paulo. Considerado um animal predador/detrítivo, se enquadra nas características recomendáveis para uso em bioensaios (ABESSA *et al.*, 1998), tais como sensibilidade a uma gama diversa de contaminantes, elevada abundância, ampla distribuição geográfica e sobrevivência alta no período de aclimação e às condições de laboratório, mostrando-se tolerante aos transtornos

causados pela coleta. Devido seu hábito de bentônico escavador, este organismo está exposto a todo conteúdo do sedimento, entrando em contato com a água intersticial e com as partículas.



Figura 7 – Anfípoda escavador *Tiburonella viscana* (Fotos: a autora, 2010)

Os anfípodas foram coletados no infralitoral da Praia do Engenho D'Água, em Ilhabela, com auxílio de uma draga especial para coleta de anfípodas. Após a coleta, os animais foram transferidos para frascos de polietileno contendo sedimento e água do mar do local, e então para caixas de isopor e transportados para o laboratório de ecotoxicologia da UNESP, em São Vicente-SP. Tanto para a coleta do sedimento controle quanto para os anfípodos, utilizou-se uma draga manual, construída segundo modelo projetado pela Agência Ambiental Norte Americana (USEPA), após intercâmbio coordenado pelo Dr. Richard Swartz e pela Dra Marion Nipper, à época na CETESB. Esse equipamento contém peneiras de malha de 1mm adaptadas para a captura dos animais.

Após triagem e identificação dos indivíduos de *T. viscana* em estereomicroscópio, os animais foram aclimatados em tanques contendo água do

mar filtrada e camada de 1 cm de sedimento controle, a  $25 (\pm 2) ^\circ\text{C}$ , com iluminação e aeração constantes. A iluminação é essencial para que o animal permaneça enterrado em tempo integral.

Cerca de 24 horas antes do início de cada experimento, as amostras de sedimento foram homogeneizadas manualmente e as réplicas experimentais, em número de três por amostra testada. Em cada uma foi introduzida uma camada de 2 cm (175 mL) de sedimento não peneirado e 750 mL de água do mar filtrada (Figura 8). Após 24 horas, os animais foram retirados do recipiente de aclimatação com o auxílio de um conta-gotas, depositados em placas de Petri e verificados sob lupa quanto às condições fisiológicas e morfológicas básicas.



Figura 8 – Experimentos com *T. viscana* (Foto: a autora, 2010).

Cada réplica recebeu dez indivíduos verificados como adultos e sadios, ou seja, de tamanhos semelhantes e sem anomalias morfológicas, que responderam a estímulos externos contraindo o corpo e que, quando colocados em contato com sedimento enterraram-se em até 1 hora. Foram excluídas fêmeas com sacos ovíferos. Quando os animais não se enterraram, estes foram substituídos por outros anteriormente verificados.

O conjunto de réplicas foi mantido sob aeração e iluminação constantes, e sob temperatura controlada em sala climatizada ( $25 \pm 2 ^\circ\text{C}$ ). No final do período de

exposição, o conteúdo de cada réplica passou por peneiramento em malha de 0,5 mm. A taxa de mortalidade obtida foi registrada, considerando-se indivíduos ausentes como mortos. Esses dados foram comparados com os dados de mortalidade da amostra controle, para determinar quais amostras apresentam sedimentos com potencial tóxico aos organismos.

### **2.5.3. Água de diluição utilizada nos testes de toxicidade**

Nos controles e experimentos com *Tiburonella viscana* a água de diluição utilizada foi água do mar artificial de salinidade de 30 a 36, preparada com sal marinho e água destilada. Para os testes com o ouriço foi utilizada água do mar filtrada e autoclavada com salinidade  $34 \pm 2$ .

## **2.6. Tratamento estatístico dos dados**

As coletas dos anos de 2008 e 2009 foram realizadas no período seco (inverno) durante o mês de julho. Os dois primeiros anos tiveram resultados preliminares, onde foi utilizado método ecotoxicológico mais sensível, entretanto sujeito a incertezas. No ano de 2010 realizou-se uma abordagem mais aprofundada, utilizando outras análises que permitiriam uma melhor compreensão da poluição e seus efeitos. Os resultados dos anos de 2008 e 2009 foram analisados em conjunto através de médias e desvios padrões.

Os dados de água de fundo que não apresentarem normalidade foram analisados através de método não paramétrico de *Kruskal-Wallis*.

Para verificar a eficiência dos métodos utilizados efetuaram-se alguns procedimentos de controle. Assim, para as variáveis NT, PT, COT, M.O. e Carbonatos foram realizadas réplicas e testes de repetibilidade, além de brancos e padrões para NT, PT e COT. Da mesma forma, foram efetuados testes com substâncias de referência para os bioensaios. E para os metais foram realizadas

curvas padrões a partir de soluções contendo concentrações conhecidas (IAB – FURG).

Para a determinação dos brancos para análises de NT, PT e COT utilizou-se apenas água deionizada e prosseguiu-se a leitura conforme a metodologia de cada análise. No intuito de reduzir possíveis erros, realizaram-se análises da qualidade dos reagentes antes do processamento das amostras. O teste de reagente consiste na leitura de um branco (água deionizada) e um padrão (solução estoque de cada análise), tratados como amostras. Após a leitura é calculado um fator de calibração, o qual deve estar entre os limites determinados para cada nutriente analisado.

A replicabilidade dos métodos foi avaliada mediante a extração de sete réplicas de uma mesma amostra para NT, PT e COT, estimando-se a média e o desvio padrão das análises.

### **2.6.1. Análises estatísticas dos testes de toxicidade**

Os resultados obtidos dos testes de toxicidades (crônico e agudo) foram previamente avaliados quanto à normalidade, pelo teste de *Shapiro-Wilk*. Quando necessário os dados foram transformados utilizando função raízes e logarítimos de base 10. Finalmente, foi aplicado o teste-t de *Student*, a fim de verificar diferenças significativas entre as amostras e os respectivos controles (água de diluição e sedimento controle).

A partir dos teores de nitrogênio amoniacal (amônia total), estimaram-se as concentrações de amônia não-ionizada ( $\text{NH}_3$ ) nas amostras, a partir do método de conversão proposto pelo *Southern California Coastal Water Research Project*, associando os valores de amônia total, pH, temperatura e salinidade de cada amostra.

### **2.6.2. Integração dos dados geoquímicos e ecotoxicológicos**

Foram aplicadas análises de correlação, visando integrar os dados. Para a confecção das matrizes de correlação foi aplicado o coeficiente de correlação linear

de *Pearson* ( $r^2$ ), considerando significativos os valores de  $r^2 = 0,5$  e  $p \leq 0,05$ . Além disso, foram confeccionados gráficos com médias e desvios padrões dos resultados, mapas de distribuição por proporções (mapas de bolhas) e boxplots ilustrando as duas estações do ano para cada variável analisada. Todas as análises estatísticas foram elaboradas utilizando o software R.2.11.0 ©.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Caracterização da água de fundo.

Estuários são geralmente setorizados a partir do gradiente de salinidade e das características granulométricas. A caracterização da água de fundo é importante, pois variáveis como oxigênio dissolvido e pH exercem influência no comportamento e nas características dos sedimentos superficiais.

Segundo MARONE *et. al.* (2004), a principal forçante hidrodinâmica na Baía de Guaratuba é a maré, seguida pela descarga fluvial. A Baía de Guaratuba possui uma pronunciada estratificação salina, que é intensificada em situações de maré de quadratura e de baixa descarga de água doce no sistema. Já em situações de maré de sizígia e/ou elevada descarga de água doce, os processos de difusão turbulenta se intensificam, resultando em uma coluna d'água menos estratificada com ocorrência de heterogeneidades laterais (MARONE *et.al.*, 2004).

A partir dos valores encontrados, a salinidade da água de fundo nas campanhas de inverno variou de 8 a 33 e, no verão, de 6 à 34,5, não apresentando diferença significativa entre os períodos (Figura 9,10 e 11).

A Baía de Guaratuba apresenta uma divisão de acordo com a salinidade. A salinidade pode variar entre as estações do ano, devido à menor pluviosidade esperada durante o inverno e maior no verão. No entanto deve ser considerado que no ano de 2009, maiores índices pluviométricos no inverno podem ter sido ocasionados pelo El Niño, que apesar de ser considerada uma ocorrência fraca, pode ter influenciado na pluviosidade deste período.

Como um estuário clássico, as menores salinidades são encontradas na porção interna do estuário, principalmente no ponto G1, onde a influência da água doce é maior, aumentando em direção à desembocadura. Portanto, a salinidade da água pode variar substancialmente por tratar-se de um corpo de água raso, devido ao regime de marés e/ou ao regime pluviométrico.

A temperatura apresentou diferença significativa entre as estações (verão e inverno). Os valores observados ficaram entre 18 e 20 °C no inverno e de 20,5 a 23°C no verão (Figura 9). A água de fundo geralmente não apresenta grandes variações, ao contrário da água de superfície, onde devido à insolação os valores podem oscilar mais.

A distribuição do pH pode influenciar na disponibilidade e especiação de metais (BIANCHI, 2007). O pH representa a atividade de íons livres na água, resultante *à priori* da dissociação da própria molécula de água e *à posteriori* acrescida pelo hidrogênio proveniente de outras fontes naturais e antrópicas. Em estuários, o que influencia a distribuição do pH é a salinidade e a presença de matéria orgânica (principalmente pelos ácidos húmicos). O pH da água de fundo variou de 7,03 a 8,07 no inverno e de 6,59 a 7,97 no verão (Figuras 10 e 11). Os valores mais baixos típicos de zonas estuarinas e/ou de locais onde há aporte de rios e matéria orgânica ocorreram na região interna-mediana (G1, G2, G3) próxima da desembocadura dos rios. Os valores esperados para água do mar (entre 7,9 e 8,2), ou levemente mais baixos, foram observados próximo da desembocadura da Baía.

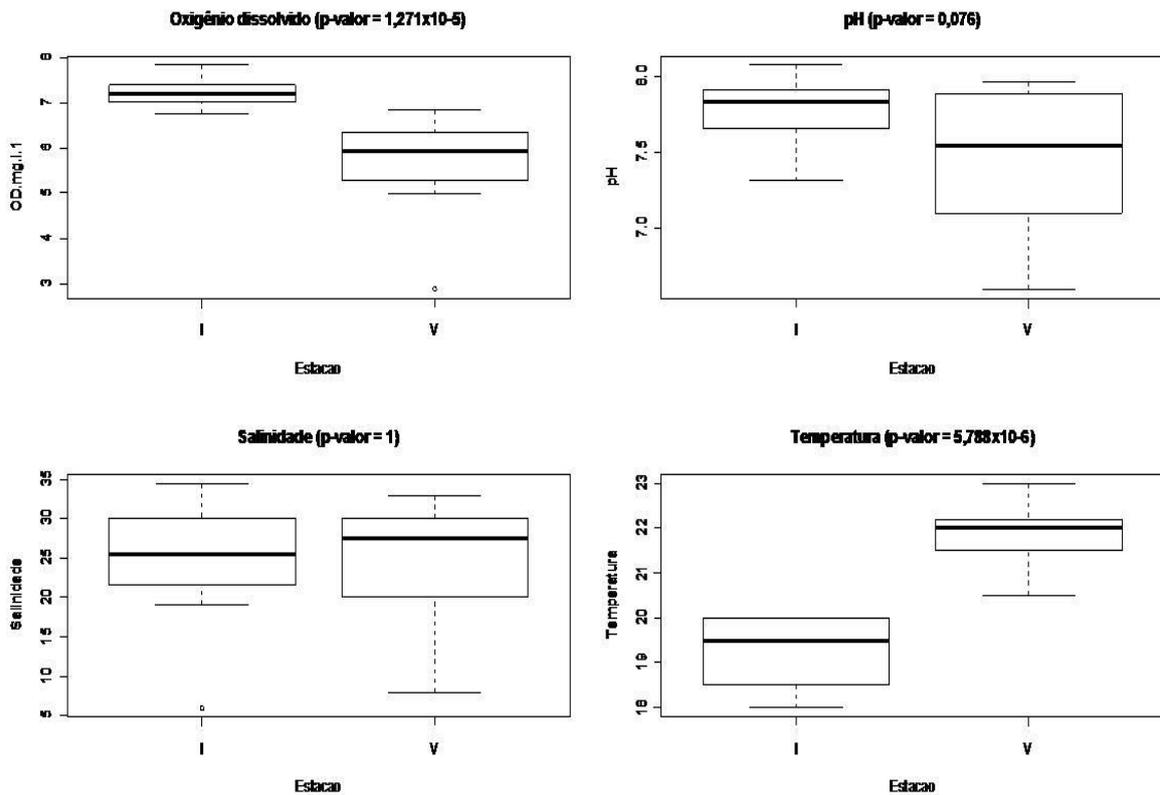


Figura 9 – Oxigênio dissolvido, pH, salinidade e temperatura da água de fundo. Inverno – I e Verão – V. O valor de p é dado ao lado do título dos gráficos.

As concentrações de oxigênio dissolvido na água de fundo variaram entre 6,75 a 7,85 mg.L<sup>-1</sup> no inverno e 4,99 a 6,84 mg.L<sup>-1</sup> no verão, exceto para G7 que apresentou 2,88 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 10). O menor valor de OD em G7, desembocadura do rio Boguaçu, localizado na região mediana do estuário, pode ser atribuído à maior degradação de matéria orgânica por bactérias.

O aumento expressivo dos efluentes domésticos na época de veraneio (MIZERKOVISKI, 2007), e o aumento do carreamento natural de matéria orgânica esperado no verão, devido ao maior índice pluviométrico, podem estar influenciando no balanço dos nutrientes neste sistema. Ademais, Marone *et al.* (2004) indicam que a região mediana do estuário, onde se localiza o rio Boguaçu, é a zona de máxima turbidez do sistema, portanto região com maior quantidade de sólidos em suspensão, luminosidade reduzida que favorece os processos de degradação e respiração em relação aos de produção fotossintética.

De uma forma geral, os menores valores de oxigênio dissolvido foram observados na região interna do estuário (G1 a G8 no verão e G1, G2 e G3 no inverno), padrão esperado devido intensa deposição de material de origem fluvial à montante.

Houve diferença significativa entre os períodos investigados. Entretanto, teores mais elevados foram observados no inverno, período em que o valor mínimo aproximou-se do máximo registrado para o verão (Figuras 10 e 11). Pode ser observado ainda o aumento da salinidade em direção à desembocadura.

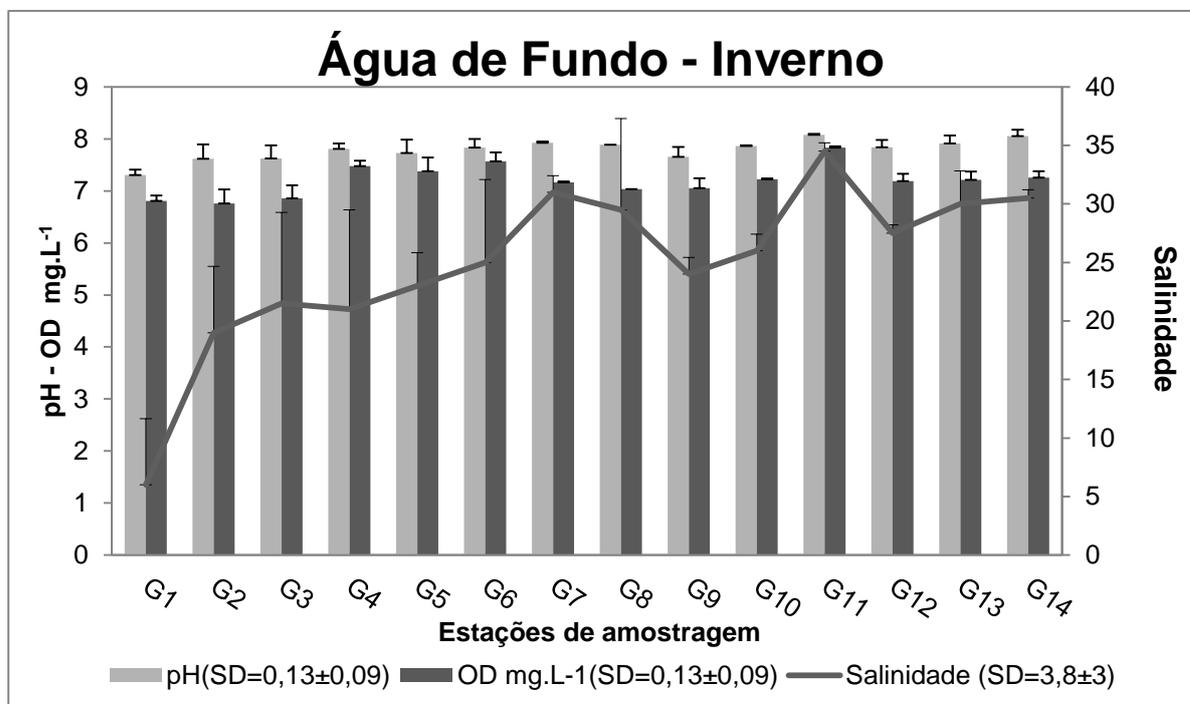


Figura 10 – Distribuição do pH, oxigênio dissolvido e salinidade no período de inverno (valores médios dos resultados dos dois anos 2008-09).

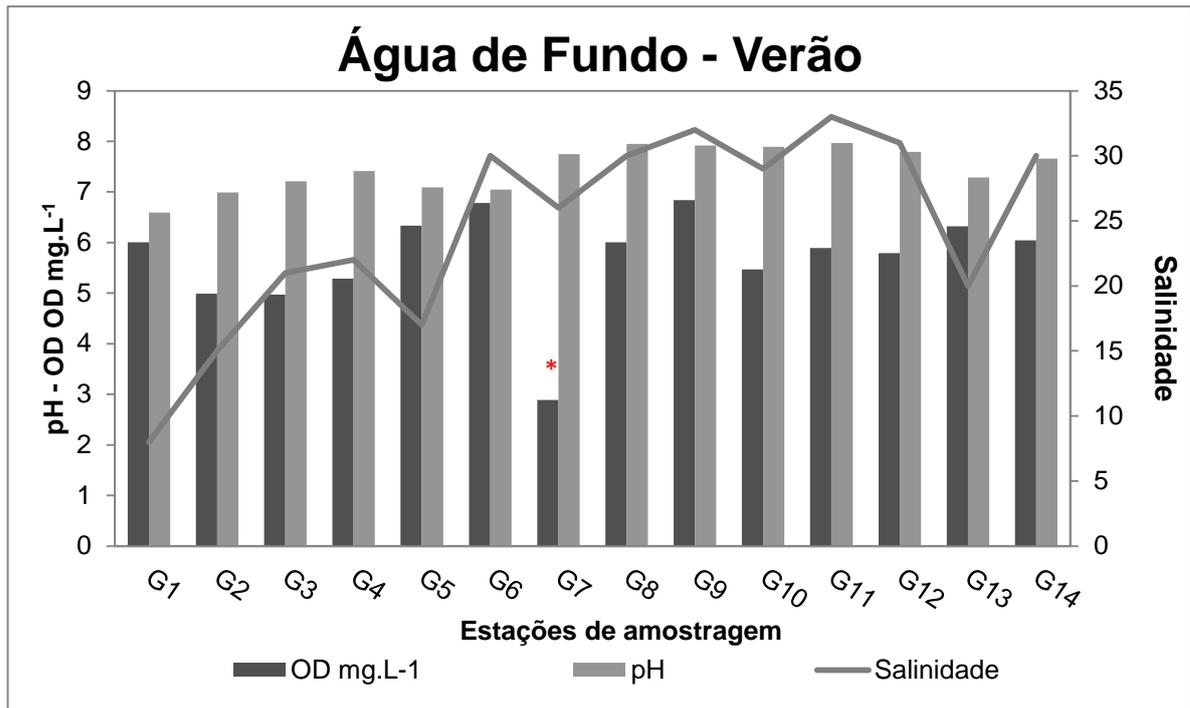


Figura 11 - Distribuição do pH, oxigênio dissolvido e salinidade no período de inverno. O asterisco vermelho indica o menor valor para o período.

### 3.2. Caracterização granulométrica

As análises granulométricas revelaram que a composição dos sedimentos foi relativamente homogênea classificando os grãos como pobremente selecionados durante os períodos e anos investigados, variando de silte grosso à areia média (Figuras 12 e 13). Estes resultados evidenciaram uma distribuição dos sedimentos superficiais similar àquela descrita por ZEM (2005), com predominância de areias finas e muito finas.

O boxplot apresentado na figura 16 indica que não houve diferença significativa na concentração de sedimentos finos entre as estações do ano. Os pontos amostrais G2 e G5 apresentaram a maior concentração de sedimentos finos no inverno (42 e 32(%), respectivamente) e G5 se destaca com 55 % no verão (Figura 14 e 15). O ponto G5 possui este alto teor de finos devido sua localização adjacente ao rio Boguaçu e a presença de baixios no seu entorno, caracterizando-se como um local confinado, protegido das correntes de marés e principalmente dos fluxos dos rios a montante com maior vazão. Esta região abrigada fornece

estabilidade e, conseqüentemente, favorece os processos de sedimentação (a presença de baixios pode ser observada na Figura 1 na seção 2.2). A menor influência fluvial indica que em marés vazantes pouco do material localizado neste ponto é exportado ou remobilizado e que em marés de enchente o material retido neste local é depositado, como carbonatos e M.O.

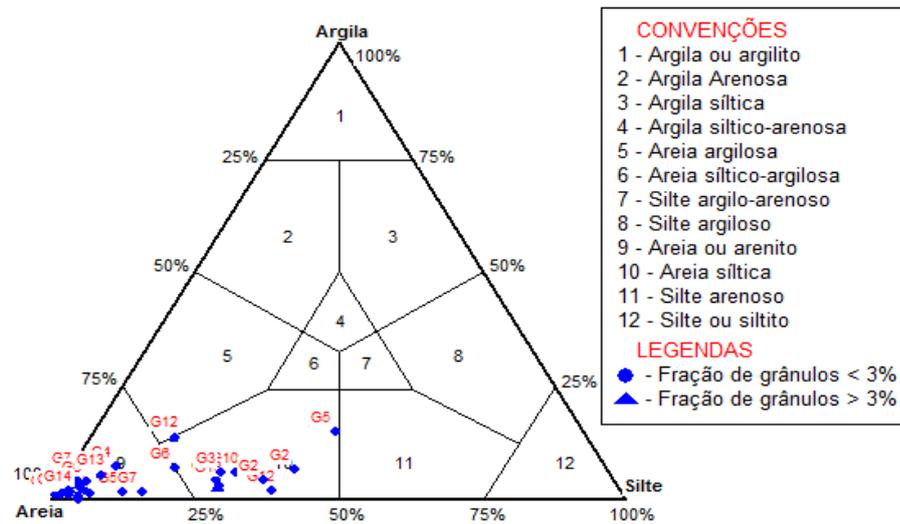


Figura 12 – Diagrama de Shepard com a classificação granulométrica para os pontos amostrais no inverno.

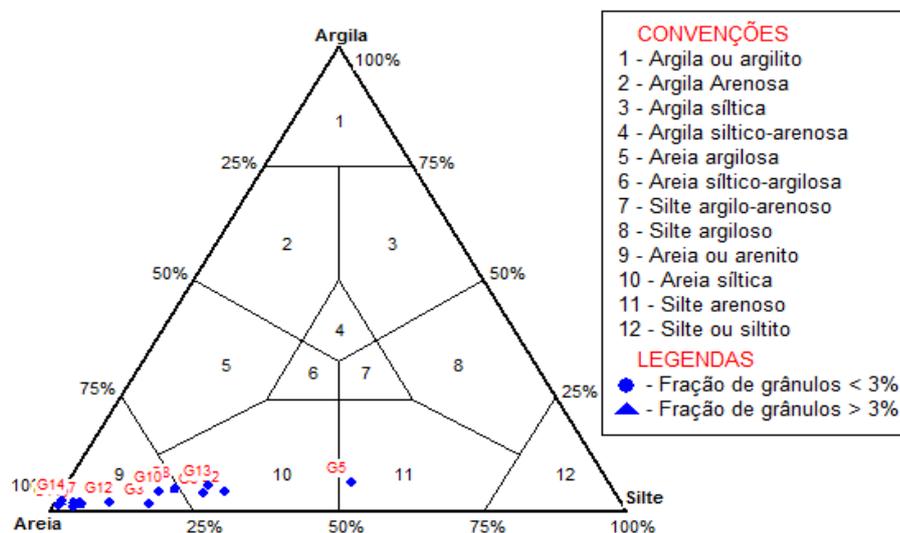


Figura 13 – Diagrama de Shepard com as classificações granulométricas para os pontos amostrais no verão.

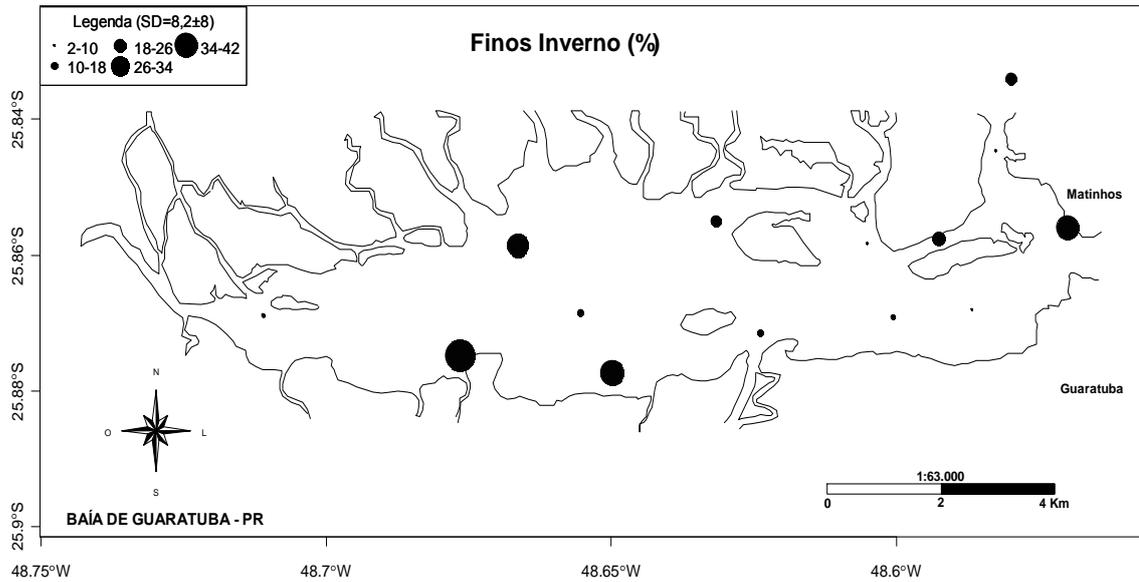


Figura 14 – Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a distribuição de sedimentos finos em porcentagem através das médias das campanhas de inverno. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala e o SD é o desvio padrão das médias.

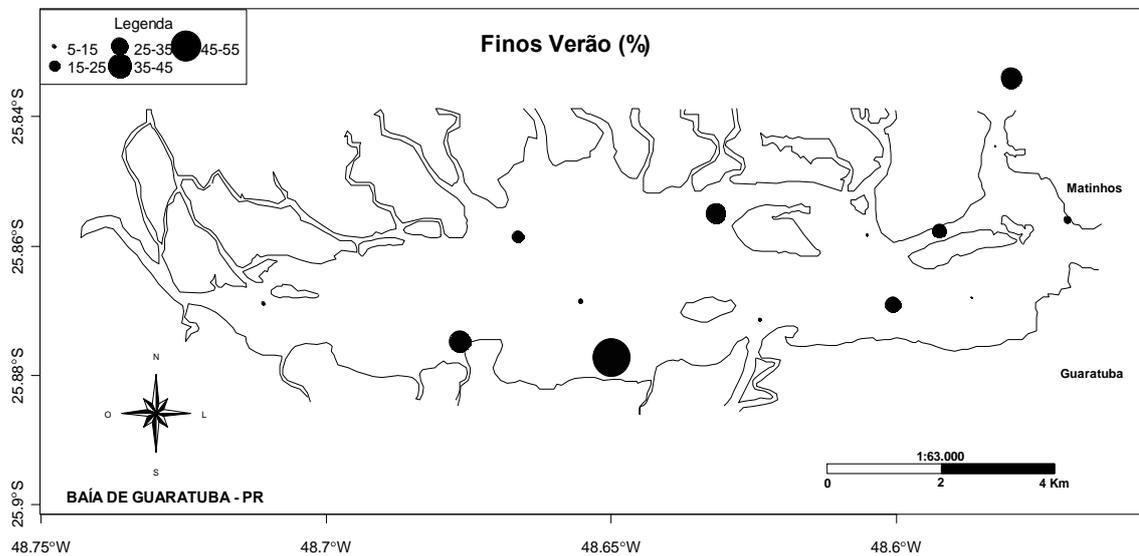


Figura 15 – Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a distribuição de sedimentos finos em porcentagem para o verão. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

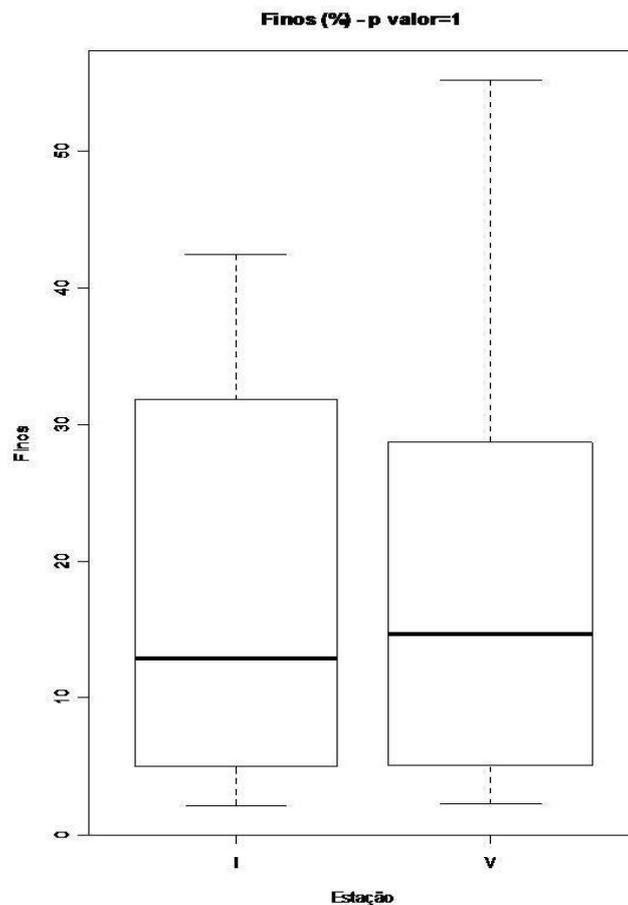


Figura 16 – Concentração de sedimentos finos (%) nas estações de inverno (I) e verão (V). O valor de  $p$  é igual a 1.

De acordo com Zem (2005), a Baía vem apresentando alteração na distribuição dos sedimentos, quando comparados a estudos realizados nos anos de 1988, 1989 e 2003. Estas alterações podem ser conseqüências das interações entre fatores naturais e antrópicos, pois a supressão da vegetação para a ocupação e a realização de atividades econômicas como a agropecuária promovem comprovadamente a erosão superficial do solo e o aumento do aporte de sedimentos finos para rios que deságuam na Baía.

Sanders *et al.* (2006) sugerem que as lavouras de banana e arroz têm aumentado anualmente em produção aproximadamente 6%. Este desenvolvimento agrícola tem colaborado para alterações no ambiente da bacia de drenagem e para o aumento dos níveis de mercúrio em direção ao ambiente estuarino adjacente. Segundo os autores, o aumento nas concentrações de mercúrio em sedimentos

recentes é justificado pela maior concentração de finos nas camadas superficiais dos testemunhos analisados.

### 3.3. Matéria Orgânica

Os teores de matéria orgânica (M.O.) variaram de 2,5 a 24,8 % no inverno e de 5,4 a 40,2 % no verão (Figuras 17 e 18). O boxplot da figura 19 indica marginalmente diferença significativa entre as estações ( $p$ -valor=0,08), onde os maiores valores registrados no verão devem-se provavelmente à maior pluviosidade atribuída à estação, fomentando um incremento no aporte de material advindo dos rios para o interior da baía e o aumento da produtividade biológica.

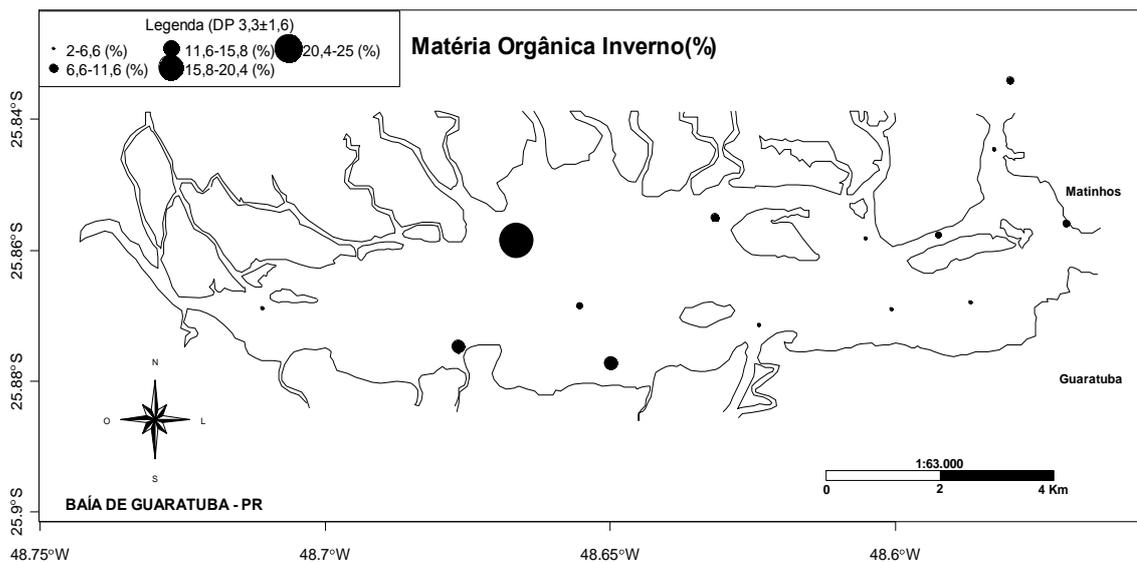


Figura 17 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de matéria orgânica nos respectivos pontos amostrais através das médias das campanhas de inverno. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala. E o SD é o desvio padrão das médias.

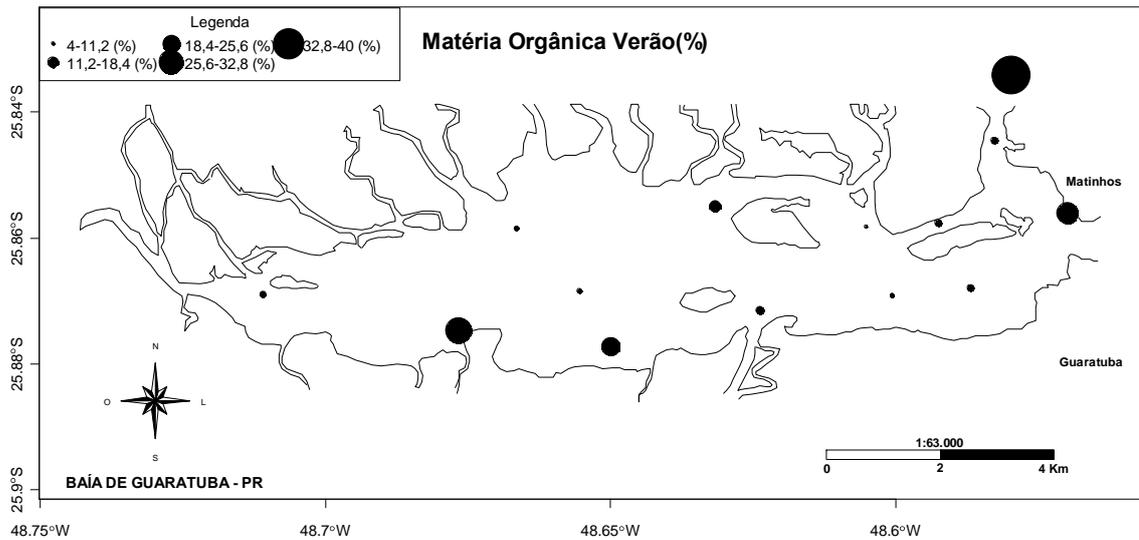


Figura 18 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de matéria orgânica nos respectivos pontos amostrais na campanha de verão. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

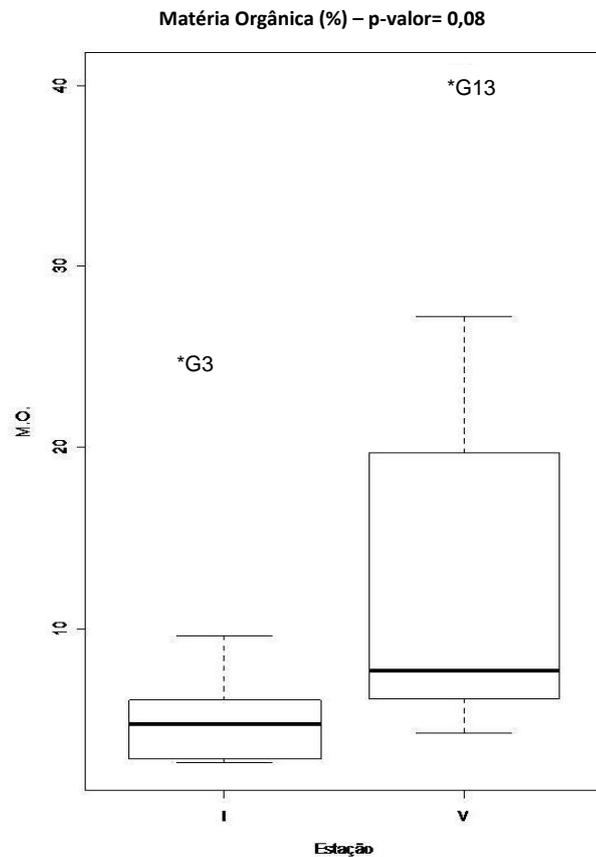


Figura 19 – Concentração de matéria orgânica (%) nas estações de inverno (I) e verão (V). O valor de p é igual a 0,008, extremamente significativo. G3 e G13 foram considerado outliers.

A presença de altas concentrações de MO no ponto G13 no verão deve-se provavelmente ao posicionamento deste ponto amostral, que está à montante do late clube e ao lado cultivo de ostra na região do Cabaraquara. O aumento do metabolismo dos organismos no verão devido às altas temperaturas faz com que estes excretem mais resíduos biológicos contribuindo para incremento de matéria orgânica no local.

Além disso, o late clube Caiobá contribui para esta região com resíduos de combustíveis fósseis, óleos de motores, entre outros resíduos como águas de limpeza (contendo detergentes e resíduos orgânicos). O ponto G3 também apresentou altas concentrações de MO no inverno, este ponto pertence a uma região abrigada por ilhas, que têm como característica reter o material orgânico, neste caso aportado pelos rios das Pedras e Palmeiras.

### **3.4. Carbonatos**

O teor de carbonatos geralmente está relacionado à presença de conchas e material de origem biogênica, podendo influenciar a distribuição dos sedimentos se não forem removidos das análises granulométricas. A concentração de carbonatos foi variável, oscilando de 2,18 a 10,5 % no inverno e de 0,28 a 25,3 % no verão (Figuras 20 e 21). Com o auxílio do boxplot observou-se uma diferença significativa entre as estações do ano ( $p$ -valor=0,03), que pode ser atribuída à maior produtividade biológica no verão. O ponto G6 apresentou um número elevado de conchas no sedimento (carbonatos = 25,3%).

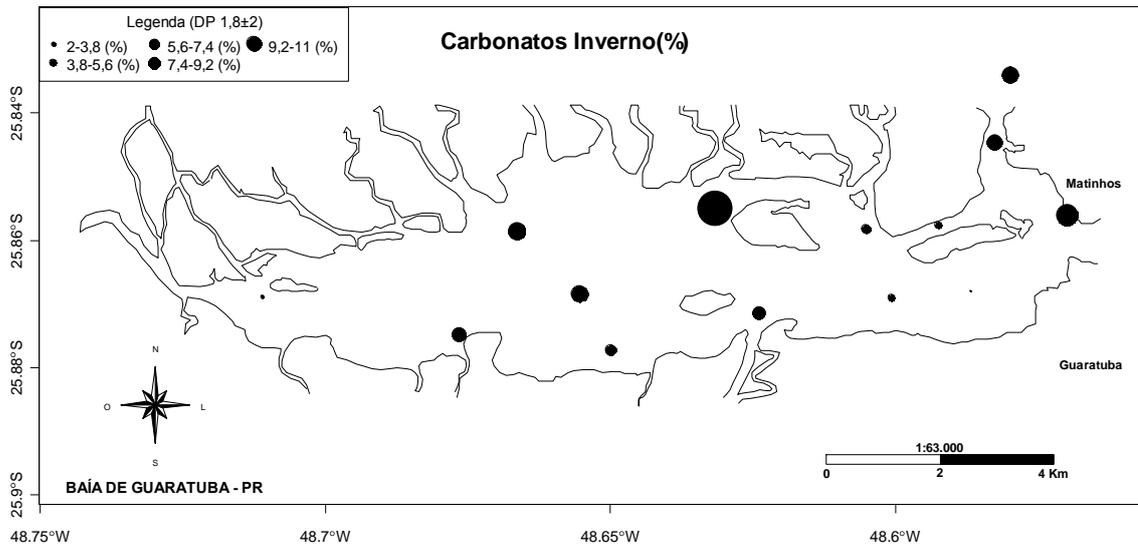


Figura 20 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de carbonatos nos respectivos pontos amostrais através das médias das campanhas de inverno. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala. E o DP é o desvio padrão das médias

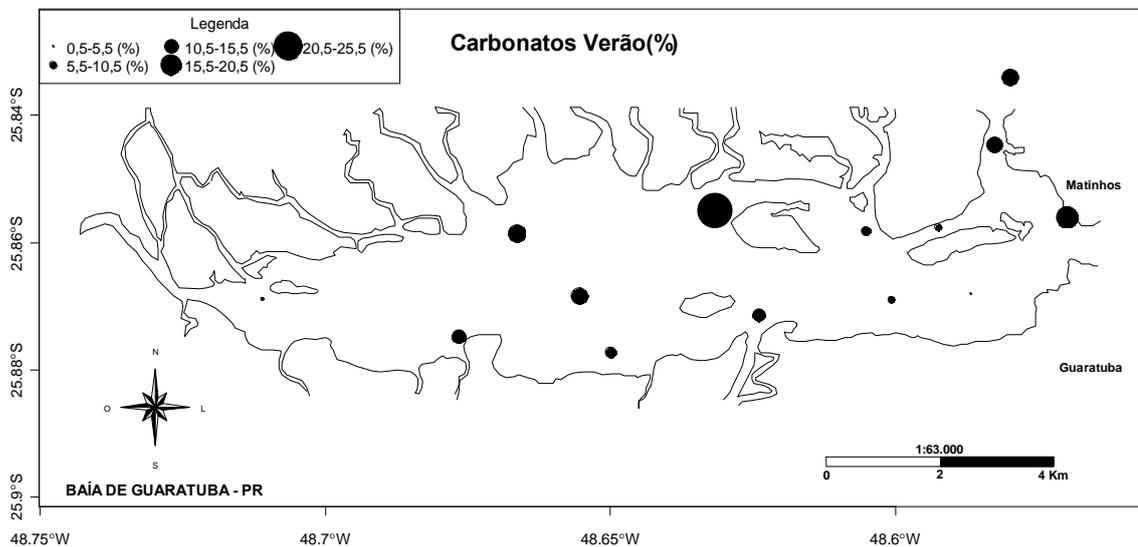


Figura 21 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de carbonatos nos respectivos pontos amostrais na campanha de verão. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

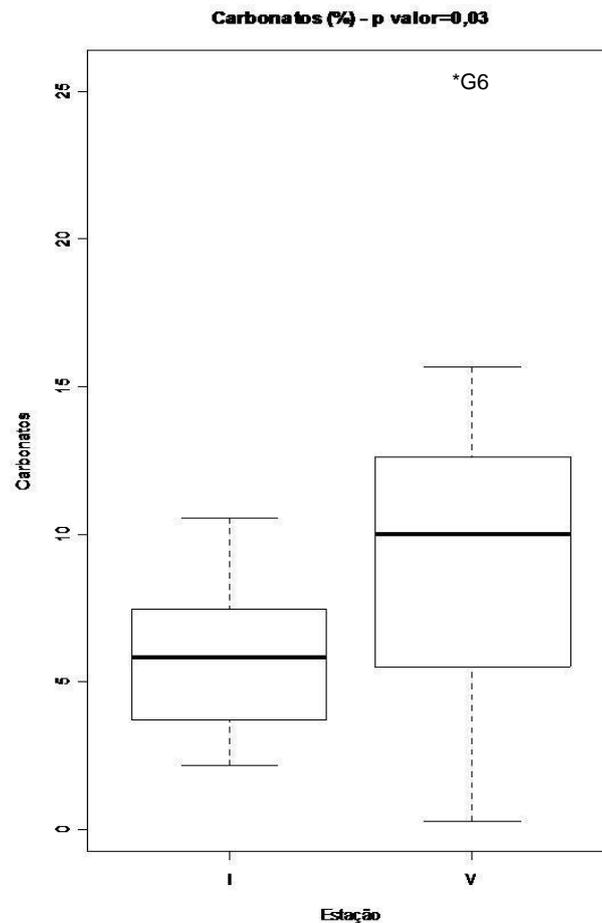


Figura 22 – Concentração de carbonatos (%) nas estações de inverno(I) e verão (V) da concentração de carbonatos em porcentagem. O valor de  $p$  é igual a 0,008 extremamente significativo.

### 3.5. Carbono Orgânico (COT), Nitrogênio (NT) e Fósforo Totais (PT)

Os teores de carbono orgânico total (COT) variaram de 13,3 a 26,7 mg C.g<sup>-1</sup> (0,2 a 2,25%) no inverno e 1,7 a 39,2 mg C.g<sup>-1</sup> (0,01 a 3,18%) no verão (Figuras 23 e 24). O boxplot elaborado (Figura 25) não indicou diferença significativa entre os períodos estudados. Como esperado no verão, os pontos amostrais que apresentaram altos teores de matéria orgânica, também se destacam pelos elevados teores de COT.

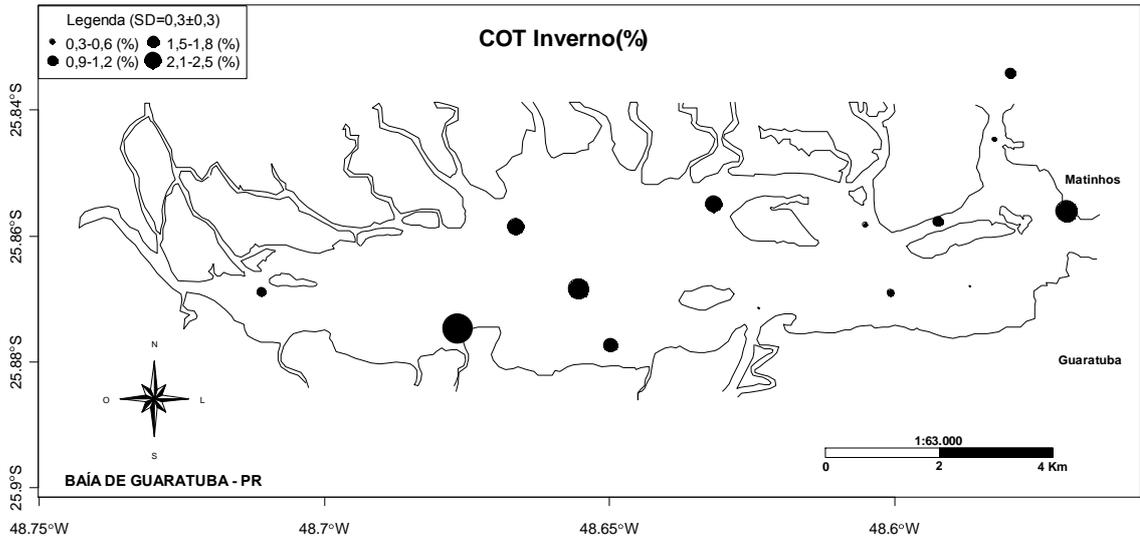


Figura 23 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de carbono orgânico total nos respectivos pontos amostrais através das médias das campanhas de inverno. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala. E o SD é o desvio padrão das médias

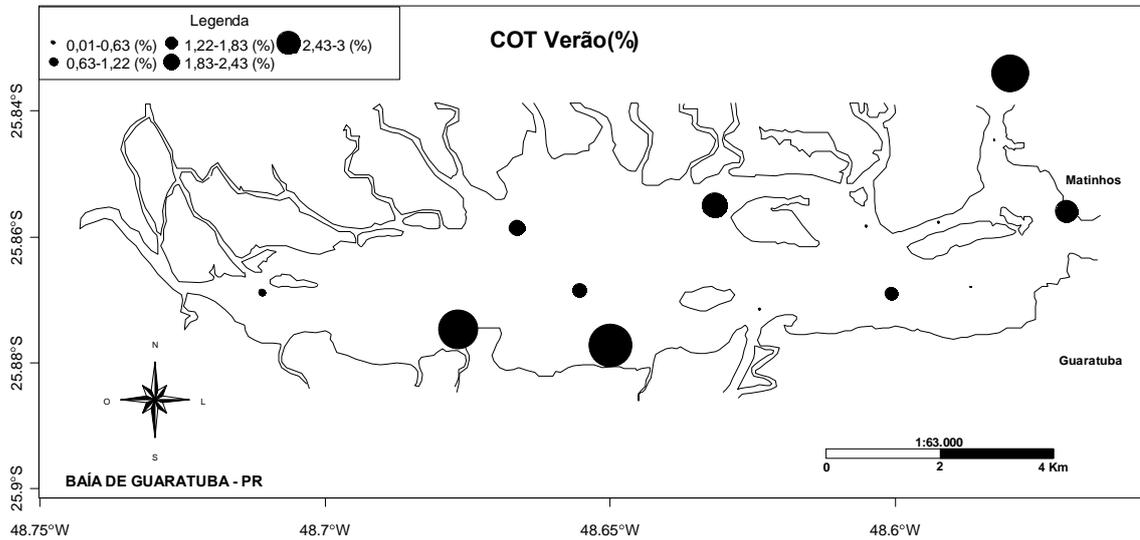


Figura 24 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de carbono orgânico total nos respectivos pontos amostrais na campanha de verão. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

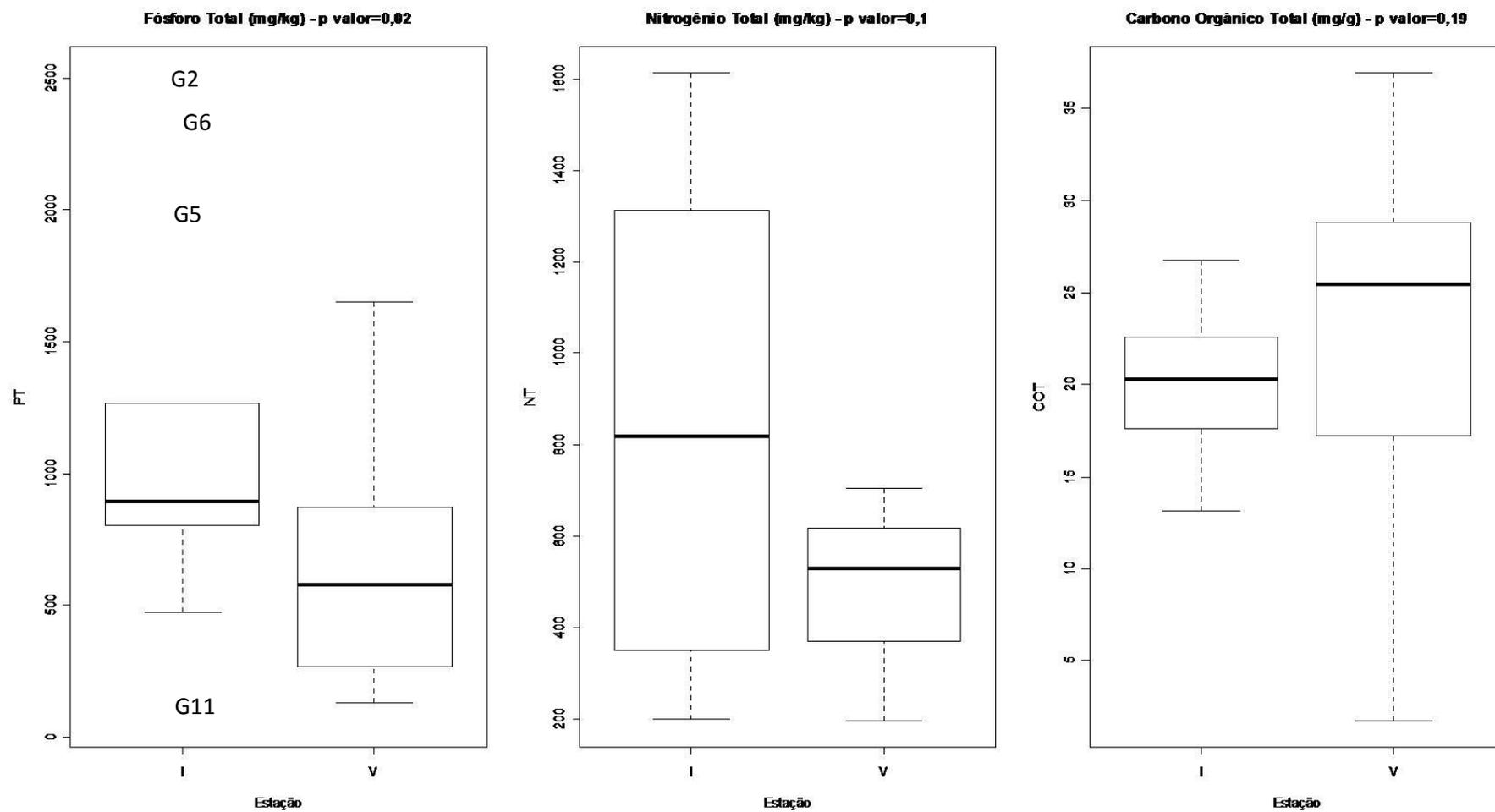


Figura 25 – Concentrações de carbono orgânico total ( $\text{mg C.g}^{-1}$ ), nitrogênio e fósforo totais ( $\text{mg. Kg}^{-1}$ ) nas estações de inverno (I) e verão (V). Apenas o fósforo total apresentou diferença significativa.

As concentrações de nitrogênio total no sedimento foram maiores nas amostras de inverno, com valores oscilando de 198 a 1613 mg.Kg<sup>-1</sup> e no verão de 195 a 705 mg.Kg<sup>-1</sup>. O ponto G5, adjacente à desembocadura do Rio Boguaçu, apresentou as maiores concentrações no inverno enquanto que no verão, o máximo foi registrado no ponto G2. (Figura 26 e 27).

Não houve diferença significativa entre as estações para o nitrogênio (Figura 25), apesar do valor encontrado no ponto G5 ser duas vezes maior que o encontrado no ponto G2 no verão. Isto pode ser relacionado à grande variação deste elemento nos diferentes pontos amostrais, que não permitiu visualizar um gradiente espacial.

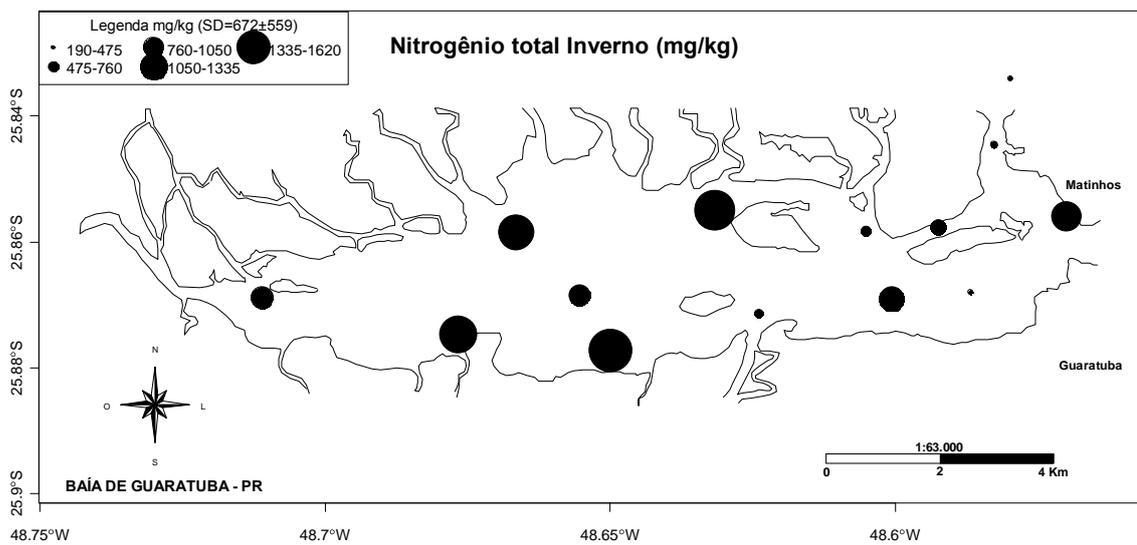


Figura 26 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de nitrogênio total nos pontos amostrais através das médias das campanhas de inverno. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala. E o SD é o desvio padrão das médias.

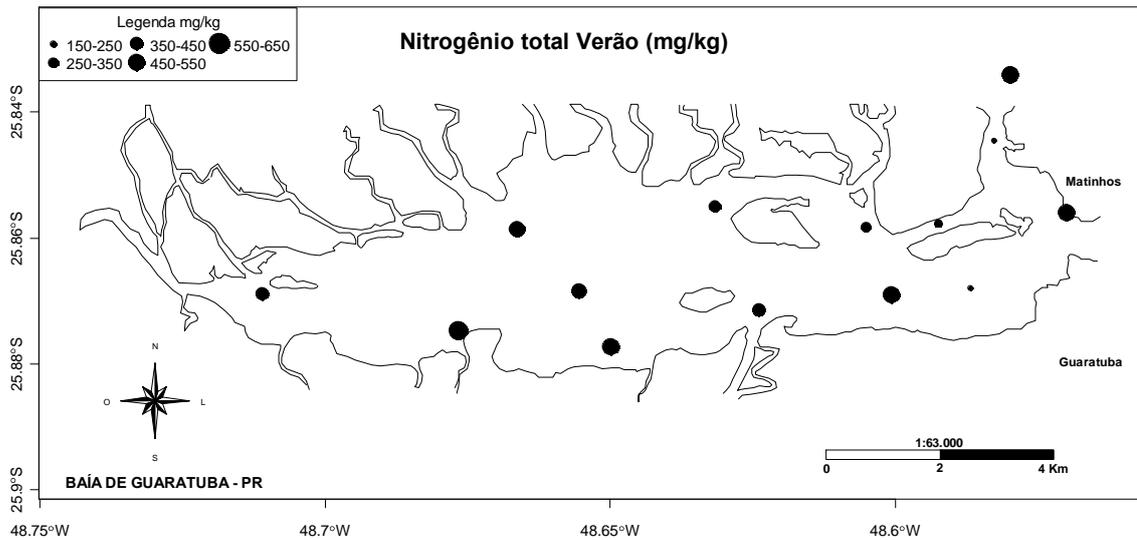


Figura 27 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de nitrogênio total nos pontos amostrais para a campanha de verão. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

No inverno os valores de fósforo total nos sedimento oscilaram de 60,5 à 2518 mg.Kg<sup>-1</sup> e no verão de 131 à 1651 mg.Kg<sup>-1</sup>. Houve diferença significativa entre as estações do ano para este elemento ( $p$ -valor=0,02), com valores mais elevados no inverno (Figura 25).

O PT no inverno apresentou valores que ultrapassaram o alerta sugerido pela legislação CONAMA 344/04 de 2000 mg.Kg<sup>-1</sup>, nos pontos G2 acima citado e G12 com 2358 mg.Kg<sup>-1</sup>. O ponto G5 neste mesmo período apresentou 1974 mg.Kg<sup>-1</sup>, valor próximo do alerta (Figura 28). Estes mesmos pontos apresentaram os valores elevados para o nitrogênio no inverno. A partir disso foi possível identificar o setor mediano, onde se encontra a zona máxima de turbidez (MARONE *et al.*, 2004), como o local que apresenta o maior enriquecimento de nutrientes nos sedimento. Os valores mais altos foram encontrados adjacentes ao rio Boguaçu, portanto este tributário pode ser considerado um importante contribuinte no incremento destes elementos para o estuário.

O ponto G5 e G2 possuem altos teores de finos, devido sua localização adjacente ao rio Boguaçu e a presença de baixios no seu entorno, caracterizando-se

como locais preferenciais de deposição e sujeitos ao depósito de materiais, advindos da drenagem urbana de Guaratuba, tributados pelo rio. O ponto G12 se localiza ao lado do *Ferry boat*, caracteriza-se como uma região crítica que pode estar sendo impactada pela introdução de fósforo advindo de atividades ali realizadas, pois em seu entrono localiza-se diversos estabelecimentos comerciais, como lanchonetes, restaurantes e marinas.

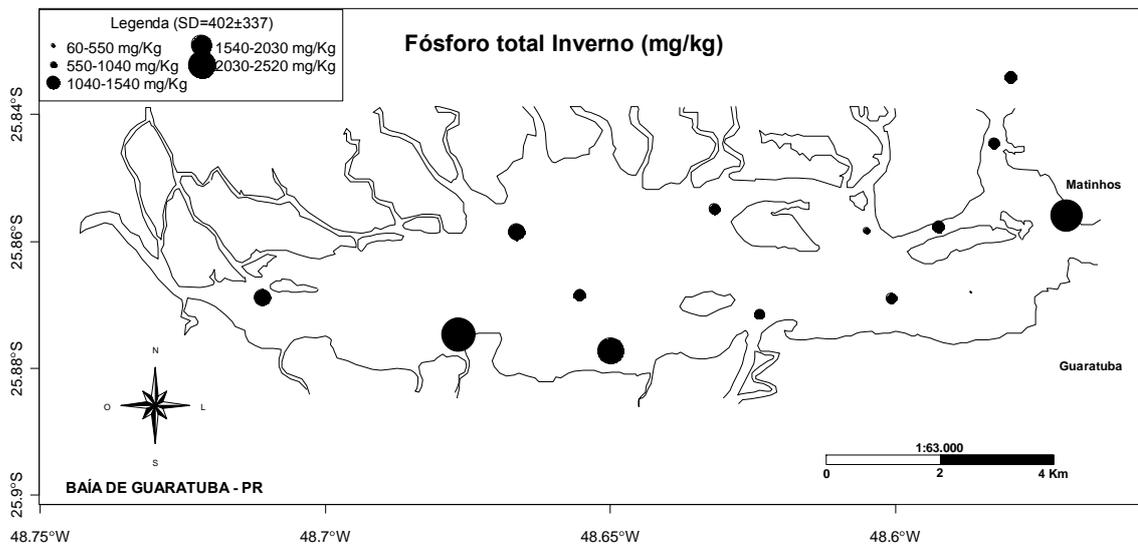


Figura 28 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de fósforo total nos pontos amostrais através das médias das campanhas de inverno. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala. E o SD é o desvio padrão das médias

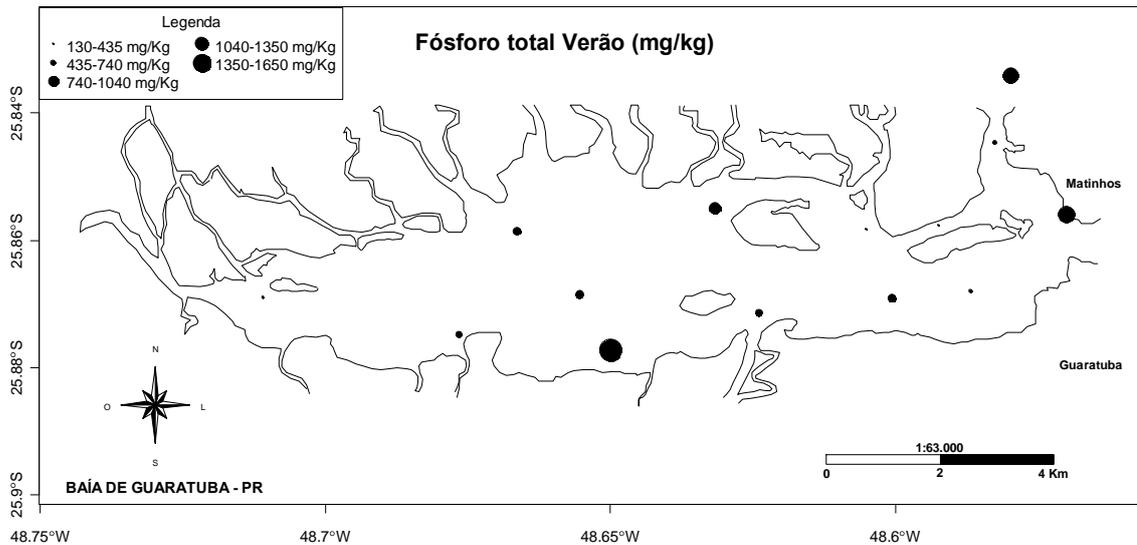


Figura 29 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de fósforo total nos pontos amostrais para a campanha de verão. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

O fósforo é um elemento chave para os ciclos biogeoquímicos, devido seu papel como nutriente. A habilidade de alguns organismos marinhos, como as cianobactérias, de fixar o nitrogênio, faz do fósforo, o fator limitante à longo prazo, para a produtividade de regiões marinhas. Em regiões costeiras, o maior impacto antrópico sobre o ciclo do fósforo resulta da introdução de efluentes urbanos e de fertilizantes fosfatados por lixiviação nos ambientes aquáticos (MACKENZIE *et al.*, 1993).

A CONAMA n° 344/04, resolução que dá diretrizes sobre sedimentos a serem dragados e suas disposições, sugere que valores a partir de 2000 mg.Kg<sup>-1</sup> para sedimentos marinhos indicam a possibilidade de risco ao ambiente. Portanto, o setor mediano da baía merece especial atenção, devido às fontes potenciais de contaminação encontradas próxima a esta região, por descarte de efluentes e deposição de sedimentos enriquecidos em nutrientes dos solos agrícolas adjacentes.

O aumento de nutrientes em sistemas costeiros pode resultar em eutrofização. Mizercowiski (2007) estudou os processos de eutrofização da Baía de Guaratuba e encontrou valores altos de aporte de nutrientes para a coluna d'água estes

nutrientes poderiam ser de origem antrópica. A partir destes dados e de outras informações como as pressões humanas na região e a dinâmica do estuário, a autora classifica a suscetibilidade estuarina como alta, sugere que a Baía de Guaratuba não possui a capacidade de diluir e/ou exportar nutrientes.

Brandini (2008), caracterizando a biogeoquímica da Baía de Guaratuba analisou amostras de sedimentos coletadas em junho de 2004 no inverno. A autora encontrou valores para COT de 15 a 60 mg.g<sup>-1</sup>, para NT de 500 a 4800 mg.Kg<sup>-1</sup> e para o PT de 150 a 650 mg.Kg<sup>-1</sup>. Os valores encontrados no presente trabalho estão dentro da faixa reportada por esta autora, exceto o fósforo que apresenta valores mais altos.

Segundo Mizercowiski (2007), além dos cultivos intensivos de banana à montante, a Baía apresenta uma forte pressão antrópica sazonal próximo de sua desembocadura, a qual pode não ser amortecida pelas características hidrodinâmicas ao longo do ano. A ampla faixa de variação dos valores dos parâmetros, considerados pela autora, demonstra que a qualidade da água da Baía de Guaratuba apresenta oscilações substanciais em curta escala de tempo e de espaço.

As concentrações de nutrientes e carbono orgânico foram analisadas através de métodos não tão precisos, quando comparados a métodos de caracterização isotópica, utilizados para caracterização da origem de MO e, portanto, os resultados aqui expressos devem ser considerados como medidas aproximadas.

No entanto, é importante considerar o conjunto de fatos que cercam estes resultados e ressaltar que o sistema tem apresentado altas taxas de assoreamento (SANDERS *et.al*, 2006), e um enriquecimento de nutrientes, especialmente o fósforo nos últimos anos, os quais podem ser reflexos das atividades degradantes na bacia de drenagem.

Estuários apresentam diversas fontes de matéria orgânica, comparados aos oceanos costeiros e profundos, portanto é fundamental diferenciar a origem destas fontes. (BIANCHI, 2007). A natureza da matéria orgânica nos sedimentos pode influenciar os processos de transportes, os ciclos dentro do sistema, a especiação e a disponibilidade de contaminantes orgânicos e metais (CARRIE *et. al.*, 2009).

Para identificar em caráter quantitativo e qualitativo, os aportes orgânicos de origem antrópica seria necessário o uso de marcadores geoquímicos específicos. A detecção da contaminação por esgotos no ambiente marinho pode ser realizada através dos marcadores químicos de contaminação fecal, que aparecem como alternativa em relação aos métodos microbiológicos mais comumente utilizados, pois são menos susceptíveis às mudanças ambientais que as bactérias (MARTINS *et al.*, 2008).

### 3.5.1. Razões C:N:P

As relações molares entre C, N e P da matéria orgânica são expressas pela razão de Redfield para plâncton oceânico, com valores de 106:16:1. O equivalente desta razão para plantas terrestres é de 510:4:1 e para a matéria orgânica acumulada nos sedimentos é de 250:20:1 (MACKENZIE *et al.*, 1993). Em estuários a razão de Redfield tem se mostrado geralmente superior e/ou inferior à razão predita de C:N:P (106:16:1), isto é devido aos processos de denitrificação e o enriquecimento de nutrientes através de atividades antrópicas (BIANCHI, 2007).

Para interpretação das razões neste estudo, foi utilizada a razão prevista para a matéria orgânica acumulada nos sedimentos (250:20:1) (MACKENZIE *et al.*, 1993).

As razões não apresentaram diferença significativa entre as estações do ano (Figura 30). Os valores de C:N foram maiores que o esperado, de aproximadamente 12,5, indicando que as fontes de matéria orgânica para o sistema são primordialmente terrígenas. Para C:P e N:P os valores foram menores que os esperados (250 e 20), em quase todos os pontos nas duas estações do ano para N:P e para C:P exceto G11 (verão e inverno), G1, G9 e G10 no verão, indicando que o sistema é muito enriquecido em fósforo.

A introdução de fósforo por atividades humanas reside no despejo de efluentes e lixiviação de solos agrícolas enriquecidos em fertilizantes fosfatados. O aumento das concentrações de fósforo resulta na eutrofização de ambientes aquáticos, pois o fósforo em lagos, estuários e águas costeiras é o nutriente limitante.

A razão entre nitrogênio e fósforo pode apresentar valores menores que o esperado, em decorrência da perda de NT através de processos de denitrificação nos sedimentos e a rápida adsorção de fósforo pelas partículas de sedimento.

Por se tratar de um corpo d'água raso, os sedimentos da Baía de Guaratuba podem estar sofrendo constante ressuspensão, através da passagem de barcos e correntes, por exemplo. Este processo promove o decréscimo das concentrações de nitrogênio e o aumento de fósforo nos sedimentos de fundo, uma vez que o nitrogênio é transferido para a coluna d'água como amônio, enquanto que o fósforo na forma de fosfato possui alta afinidade pelo material orgânico particulado em suspensão (MPS). Durante a ressuspensão este fósforo é adsorvido ao MPS, precipitado e novamente acumulado nos sedimentos de fundo (SANTOS, *et al.*, 2004).

Entretanto, alguns valores foram inferiores a 1, o que resulta em preocupação, uma vez que este resultado é um indicativo da existência de fontes antrópicas para este excesso de fósforo. Os principais pontos com estas características ( $N:P \leq 1$ ) são justamente os mesmos já citados (G5, G2 e G12) com altos teores destes nutrientes (NT e PT), agora acompanhados dos pontos G7, G13 e G14. O ponto G6 está situado na margem oposta à desembocadura do rio Boguaçu, o G13 ao lado do Cultivo do Cabaraquara e o G14 ao lado do clube Caiobá (Figura 31 e 32), pontos também sujeitos à impactos em virtude de suas localizações e atividades realizadas no entorno.

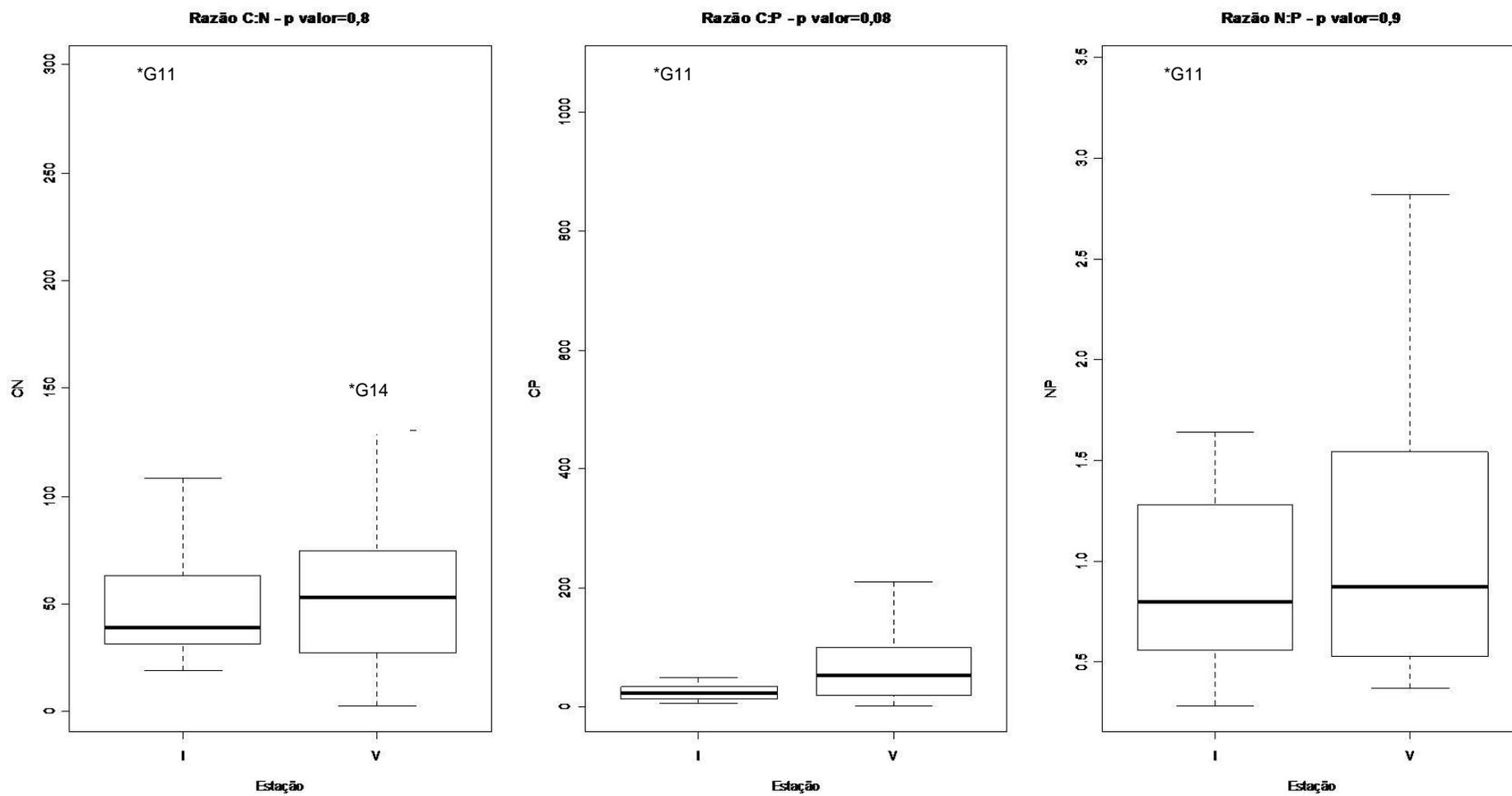


Figura 30 – Razões de C:N, C:P e N:P Nas estações de inverno (I) e verão (V).

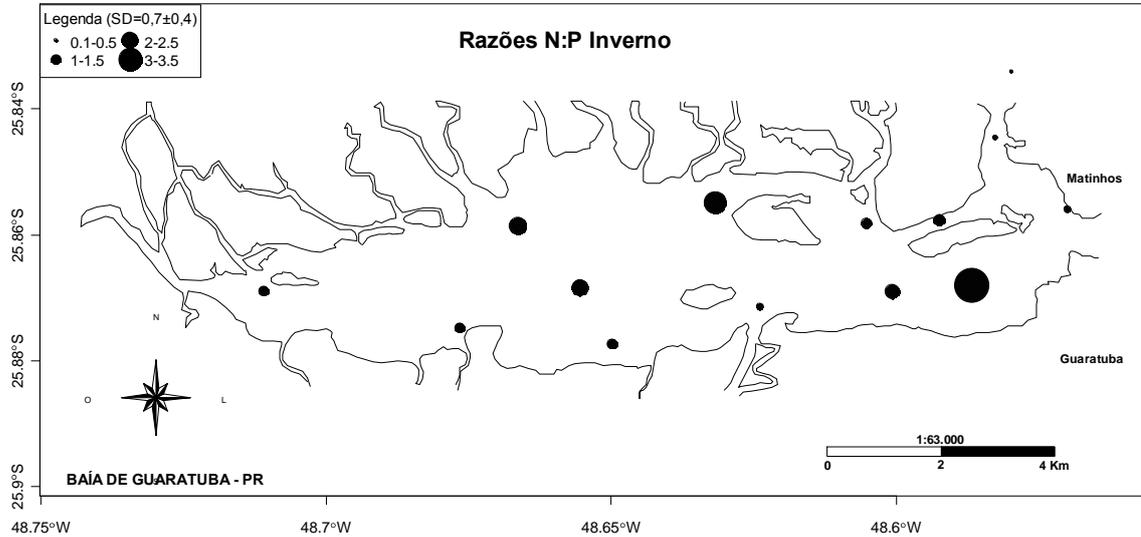


Figura 31 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando as razões N:P nos respectivos pontos amostrais através das médias das campanhas de inverno. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala. E o SD é o desvio padrão das médias

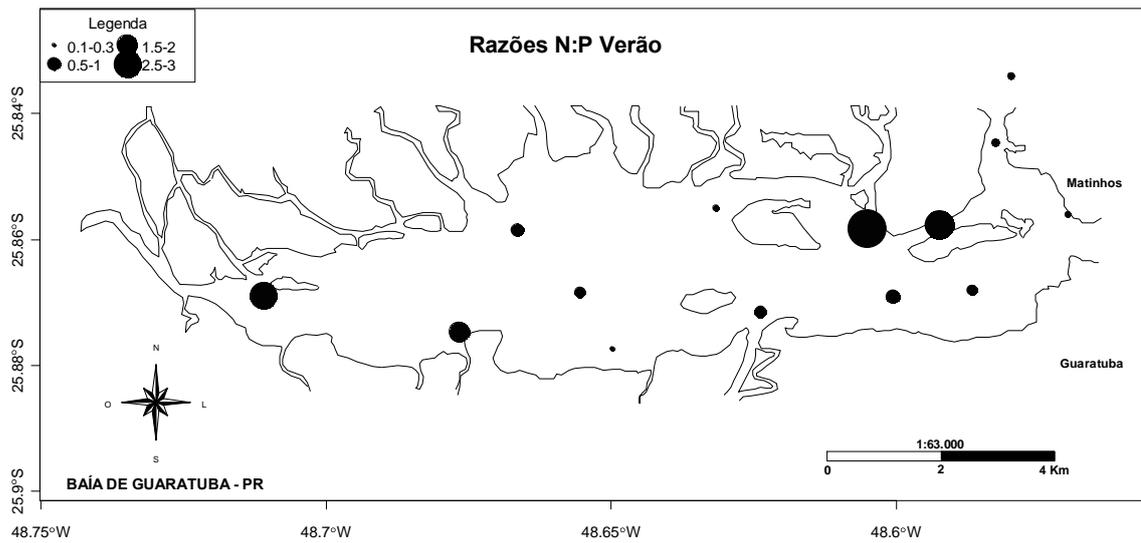


Figura 32 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando as razões N:P nos respectivos pontos amostrais para a campanha de verão. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

### 3.6. Metais

Os sedimentos superficiais da baía de Guaratuba, de modo geral, apresentaram concentrações de metais cádmio (Cd), zinco (Zn), cobre (Cu) e chumbo (Pb) dentro do esperado para estuários pouco impactados por metais.

Órgãos internacionais como a USEPA (Agência de proteção ambiental Norte Americana) e a Environment Canada, e aqui no Brasil as resoluções CONAMA sugerem valores alertas para concentrações de alguns destes elementos metálicos e compostos orgânicos nocivos na água e sedimentos.

A tabela 2 apresenta os resultados das análises de metais para os pontos amostrais para as duas extrações efetuadas. Nas últimas linhas da tabela constam os valores alertas sugeridos Environmental Canada (2002), onde PEL significa “*Probable Effect Level*”, nível de efeito provável, acima do qual existe efeito tóxico provável sobre a biota e TEL significa “*Threshold Effect Level*”, ou seja, nível de efeito limiar, acima do qual ocasionalmente pode ser observado efeito tóxico sobre a comunidade biológica.

Existem limitações quanto ao uso destas comparações, pois há diferença entre ecossistemas canadenses e brasileiros, ambientes destes dois países diferem em diversos aspectos, no entanto o Brasil não possui nenhuma referência a respeito da qualidade de sedimentos, a res. CONAMA 344/04 que estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras é única legislação que se refere a este compartimento no país e tem como base diversas legislações internacionais como Environment Canadá, USEPA, União Européia e critérios sugeridos pelo próprio CONAMA para o estabelecimento de valores limítrofes.

As concentrações de Cu, Pb, Cd e Zn obtidas a partir da extração fraca apresentaram valores inferiores aos limites sugeridos em todos os pontos amostrais. Portanto, os metais ligados aos sedimentos superficiais da baía de Guaratuba não parecem estar “biodisponíveis”, ou seja, estão associados fortemente aos sedimentos. Deve-se ponderar que estes limites sugeridos (TEL e PEL) se referem à extração forte, incluindo os elementos que compunham a matriz mineralógica. Não há legislações que delimitem valores para a fração biodisponível de metais.

As concentrações dos elementos quantificados neste estudo apresentam valores abaixo das encontradas em ambientes com nível de pressão antrópica maior. Como é o caso da Baía de Santos, Baía de Sepetiba e baía de Paranaguá. (Tabela 4).

As principais fontes de metais para estuários são a deposição atmosférica, os aportes fluviais e atividades antrópicas. Para a região de Guaratuba, as possíveis fontes antrópicas de metais seriam os efluentes urbanos, resíduos agrícolas e resíduos de navegação (combustíveis e biocidas). Ferreira (2006) estudando ácidos húmicos para a Baía de Guaratuba encontrou valores similares aos verificados no presente trabalho (Zn = 14 a 68 mg.Kg<sup>-1</sup>, Pb = 1,5 a 10, mg.Kg<sup>-1</sup> e Cu = 4 a 10 mg.Kg<sup>-1</sup>). A única exceção foi cádmio, não detectado pelo método utilizado pelo autor. Desta maneira os dados encontrados por Ferreira (2006), não serão utilizados como backgrounds, pois foram extraídos por método diferente do presente estudo e analisados através de espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES).

Tabela 3 – Concentrações de cádmio (Cd), zinco (Zn), cobre (Cu) e chumbo (Pb) em mg.Kg<sup>-1</sup> nos pontos amostrais e os limites estabelecidos pela legislação canadense, com destaque para os valores que excederam tais limites.

Pontos	Extração Forte				Pontos	Extração Fraca			
	Cd	Zn	Cu	Pb		Cd	Zn	Cu	Pb
<b>G1</b>	0,47	4,38	17,63	5,18	<b>G1</b>	0,17	0,62	1,89	1,89
<b>G2</b>	0,30	9,84	13,92	6,61	<b>G2</b>	0,10	0,85	5,56	1,65
<b>G3</b>	0,40	8,42	17,08	5,64	<b>G3</b>	0,15	0,70	8,49	1,79
<b>G4</b>	0,49	3,77	7,94	5,69	<b>G4</b>	0,07	0,92	0,58	1,38
<b>G5</b>	0,33	8,13	13,66	6,51	<b>G5</b>	0,22	0,84	3,35	1,94
<b>G6</b>	0,84	6,00	12,45	5,36	<b>G6</b>	0,40	0,87	4,81	2,51
<b>G7</b>	0,49	14,35	13,31	6,02	<b>G7</b>	0,22	1,72	5,64	2,45
<b>G8</b>	0,37	6,65	22,78	4,30	<b>G8</b>	0,10	0,39	0,71	1,77
<b>G9</b>	2,77	3,01	10,15	7,09	<b>G9</b>	0,12	1,46	0,81	1,59
<b>G10</b>	0,25	5,99	9,36	5,94	<b>G10</b>	0,10	1,29	1,86	1,49
<b>G11</b>	0,58	4,97	5,31	6,09	<b>G11</b>	0,20	1,30	1,49	2,15
<b>G12</b>	0,43	5,20	14,60	7,03	<b>G12</b>	0,10	1,51	1,04	2,27
<b>G13</b>	0,50	7,60	9,10	6,66	<b>G13</b>	0,24	1,76	1,45	1,52
<b>G14</b>	0,19	32,66	3,23	4,96	<b>G14</b>	0,09	2,14	1,39	2,07
<b>TEL</b>	0,6	123,1	35,7	35		-	-	-	-
<b>PEL</b>	3,5	315	197	91,3		-	-	-	-

Os metais podem estar presentes na forma livre em solução na água intersticial, complexados à matéria orgânica ou ligados diretamente aos grãos.

(LAMBERSON *et al.*, 1992). Quando comparada aos compostos orgânicos apolares a dinâmica dos metais nos sedimentos, incluindo aqui a água intersticial e a interface sedimento-água, são muito mais complexas (ZAGATO & BERTOLETTI, 2006).

Segundo Van Cappellen & Wang (1995), os sedimentos superficiais funcionam como reatores biogeoquímicos, onde o metal depositado participa de vários processos, incluindo reações microbiológicas, transformações redox, trocas adsorção-desorção, precipitação e dissolução de minerais. Esses processos controlam a especiação de metais e, portanto, o retorno dessas substâncias ao ambiente da interface sedimento/água ou sua retenção no sedimento, interferindo também em sua biodisponibilidade.

Kennish (1997) compilou concentrações totais em sedimentos de vários estuários do mundo e obteve médias que foram utilizados aqui a fim de obter uma comparação especulativa da Baía de Guaratuba e os valores descritos pelo autor.

### **3.6.1. Zinco**

As concentrações de zinco variaram de 3 a 32,65 mg.Kg<sup>-1</sup> na extração forte (Figura 33) e de 0,58 a 8,49 mg.Kg<sup>-1</sup> (Tabela 3) na extração fraca, sendo mais expressivas na desembocadura do rio Boguaçu (G7 = 14,3 mg.Kg<sup>-1</sup>) e ao lado do late Clube Caiobá (G14 = 32,6). Segundo Kennish (1997) as concentrações de zinco em estuários variam de 100 mg.Kg<sup>-1</sup> a 3000 mg.Kg<sup>-1</sup>.

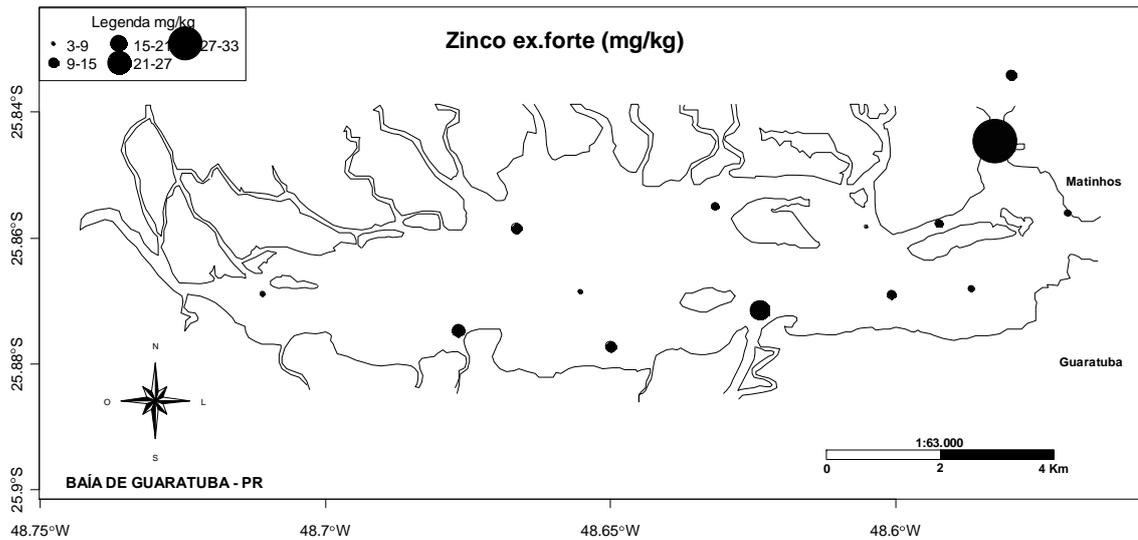


Figura 33 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de Zinco nos respectivos pontos amostrais na extração forte. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

### 3.6.2. Cobre

Os teores de cobre nos sedimentos superficiais da Baía de Guaratuba ficaram entre 3,22 e 22,78 mg.Kg<sup>-1</sup> na extração forte (Figura 34) e de 0,58 a 8,49 mg.Kg<sup>-1</sup> na extração fraca (Tabela 3). Em média para estuários relativamente prístinos o nível médio de cobre fica em torno de 10 mg.Kg<sup>-1</sup> e em estuários impactados os níveis médios são de 2000 mg.Kg<sup>-1</sup> (KENNISH, 1997).

O cobre é um elemento essencial, necessário aos organismos em quantidades reduzidas. Porém, em concentrações superiores aos limites sugeridos este elemento pode ser tóxico e com potencial para bioacumulação. Entre as fontes antropogênicas associadas ao cobres está a mineração, atividades de fundição, estações de energia e incineração, biocidas e fertilizantes (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

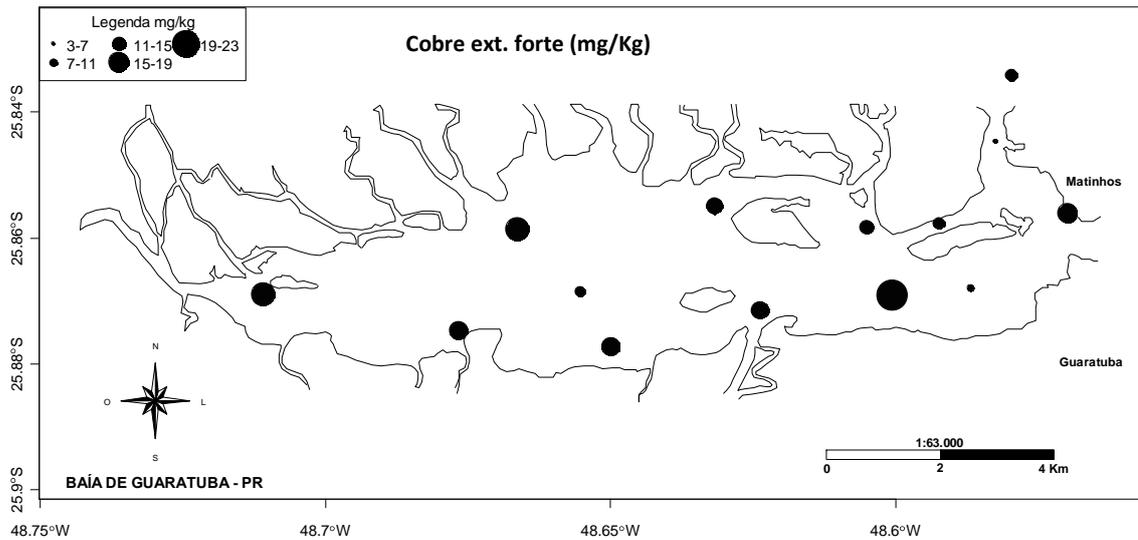


Figura 34 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de Cobre nos respectivos pontos amostrais na extração forte. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

### 3.6.3. Cádmiio

O cádmio apresentou valores elevados na extração forte (Figura 35), variando de 0,19 à 2,76 mg.Kg<sup>-1</sup>. Como mencionado anteriormente, 3 pontos amostrais G6, G9 e G11 exibiram concentrações que ultrapassaram os limites de TEL. No entanto, os teores encontrados na extração fraca (Tabela 3) nestes pontos estiveram abaixo deste nível crítico. Na extração fraca, o cádmio variou entre 0,09 e 0,4 mg.Kg<sup>-1</sup>. Kennish (1997), sugere valores  $\leq$  que 0,2 mg.Kg<sup>-1</sup> a 10 mg.Kg<sup>-1</sup> para sedimentos estuarinos.

A produção mundial de Cd está em torno de 15.000 toneladas/ano, sendo aplicado principalmente na galvanopalia, como constituinte de pigmentos e estabilizantes de plásticos, fertilizantes fosfatados e drenagem de minas. O cádmio é considerado um metal altamente tóxico para alguns organismos, acumula-se em tecidos animais e vegetais e microorganismos. Embora apresente níveis de bioacumulação, não há evidências de biomagnificação deste elemento para a cadeia

trófica (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006). Em Guaratuba a possível fonte de cádmio para o ambiente seriam os fertilizantes utilizados nas lavouras de banana e arroz.

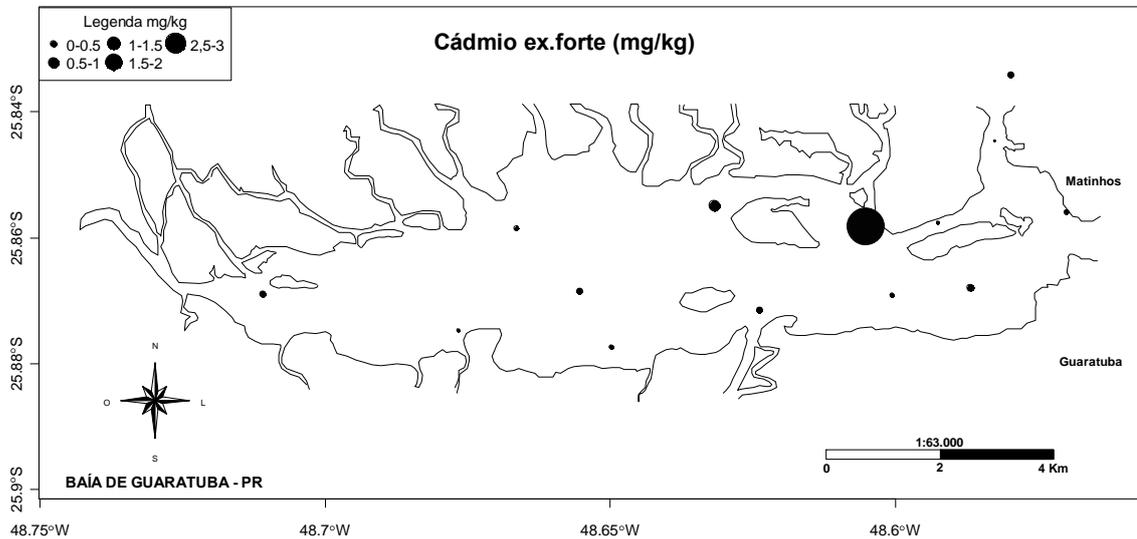


Figura 35 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de Cádmio nos respectivos pontos amostrais na extração forte. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

### 3.6.4. Chumbo

O chumbo apresentou concentrações que oscilaram de 4,30 a 7,10 mg.Kg<sup>-1</sup> (Figura 36) na extração forte e de 1,37 a 2,51 mg.Kg<sup>-1</sup> (Tabela 3) na extração fraca. Para sedimentos estuarinos Kennish (1997) indica que podem ser encontrados valores de aproximadamente 25 até 2700 mg.Kg<sup>-1</sup>. Segundo Zagatto & Bertoletti (2006), uma variedade de organismos podem assimilar e acumular altas concentrações de chumbo. No entanto como no cádmio não há indícios de biomagnificação. O chumbo é utilizado em indústrias de tintas, baterias, tubulações e como aditivo em derivados do petróleo.

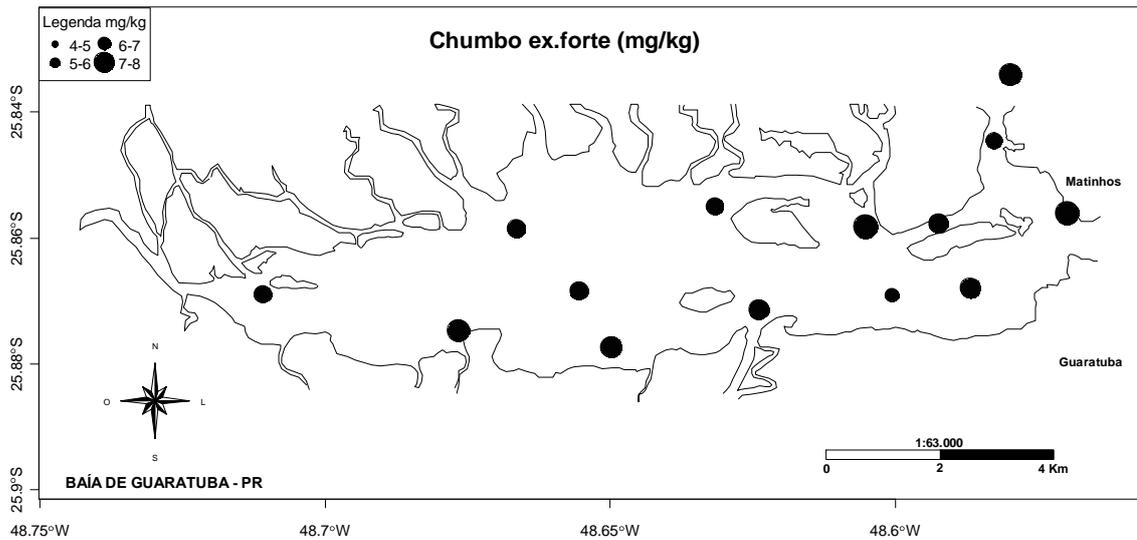


Figura 36 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a concentração de Chumbo nos respectivos pontos amostrais na extração forte. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

A tabela 4 apresenta dados de trabalhos realizados na baía de Paranaguá, baía de Santos, baía de Sepetiba e o trabalho de Ferreira sobre a baía de Guaratuba. As concentrações de cádmio superam locais como o estuário de Santos que é considerada a maior região portuária do país, e Paranaguá que também possui um Porto e recebe efluentes da FOSPAR S.A., empresa produtora de fertilizantes.

Tabela 4 – Concentrações de Cu, Cd, Pb e Zn em alguns sistemas costeiros brasileiros.

Local	Cu	Cd	Pb	Zn	Autor/ano
Baía de Paranaguá	1,2 - 21,9	0,06-0,45	1,8-8,4	6,5-90,3	Sá, <i>et al.</i> 2004
Baía de Paranaguá	0,04-16,2	-	0,3-29,7	41,3-80,5	Choueri, <i>et al.</i> 2009
Baía de Sepetiba	-	10 -396	-	10-800	Molisani & Machado, 2004
Estuário de Santos	-	0,5-1,5	2-205	7,6-312	Abessa, 2002
Baía de Guaratuba	40-10	-	1,5-10	14-68	Ferreira, 2006
Baía de Guaratuba	3,2-22,8	0,2-2,7	4,3-7,1	3-32,6	Este estudo

Pode-se sugerir que as prováveis fontes que explicam as elevadas concentrações de cádmio nos sedimentos superficiais da baía de Guaratuba, podem ser, além da origem natural, a deposição atmosférica e a descarga dos rios contendo resíduos de fertilizantes das lavouras à montante.

### 3.7. Testes de toxicidade

Os resultados dos testes de toxicidade podem indicar efeitos potenciais das condições ambientais sobre o organismo-teste, os quais podem ocorrer devido às diversas substâncias presentes no sedimento. Esta afirmação indica que os efeitos observados nos testes de toxicidade representam a resposta biológica produzida pelo efeito sinérgico e/ou antagônico das substâncias avaliadas. Além disso, indicam também, com vantagem sobre as análises químicas, o efeito final da mistura destas substâncias, inclusive daquelas não medidas.

#### 3.7.1. Interface sedimento-água

Os testes referentes às campanhas amostrais de inverno foram realizados nos meses de setembro dos respectivos anos de amostragem, enquanto os testes da campanha de verão foram efetuados em maio de 2010 (Figuras 38 e 39). É recomendado pelos protocolos de testes de toxicidade que o armazenamento das amostras não ultrapasse o limite de dois meses.

Para esses experimentos, o controle analítico foi feito utilizando ensaios conduzidos com substâncias de referência. O valor médio de CL 50 dos 3 testes de substância de referência feitos com embriões de ouriço foi de  $1,52 \pm 0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ . Valores similares foram encontrados por Rumbold & Snedaker (1997) para *Echinometra lucunter* ( $1,2 \pm 0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ ), e para *Litechynus variegatus* por Abessa *et al.*, (2002) ( $1,91 \pm 0,81 \text{ mg.L}^{-1}$ ), utilizando o DSS como substância de referência.

A toxicidade foi verificada a partir da comparação entre as médias dos pontos com o controle (branco), aquele contendo apenas água de diluição. Todos os controles utilizados apresentaram mais de 80% de larvas normais.

Todos os pontos amostrais apresentaram toxicidade para o tratamento de interface sedimento-água nas duas estações do ano estudadas, com níveis mais elevados no setor interno, pontos próximos a desembocadura que possuem atividades humanas no seu entorno e tendência a maior toxicidade durante o verão. No entanto, não houve diferença significativa entre os períodos (Figura 37).

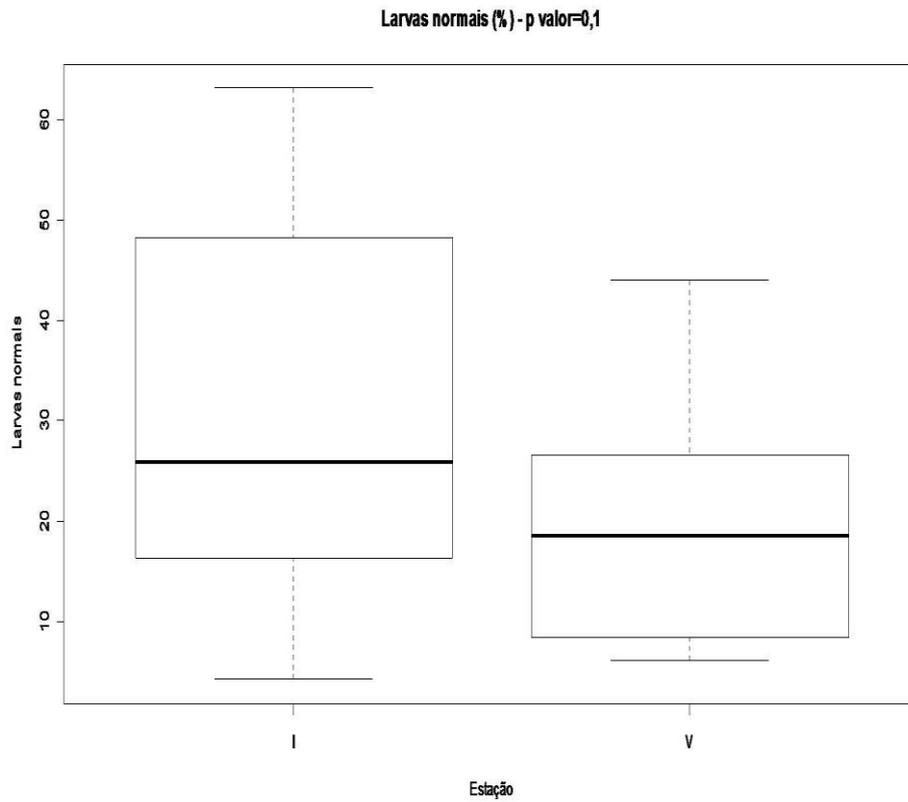


Figura 37 – Desenvolvimento normal das larvas de *E. lucunter* (%), nos testes realizados no inverno (I) e verão (V).

Apesar de não ter sido identificada diferença significativa entre as estações do ano, foi nítida a diminuição de larvas normais para todos os pontos amostrais no verão (Figuras 38, 39, 40 e 41).

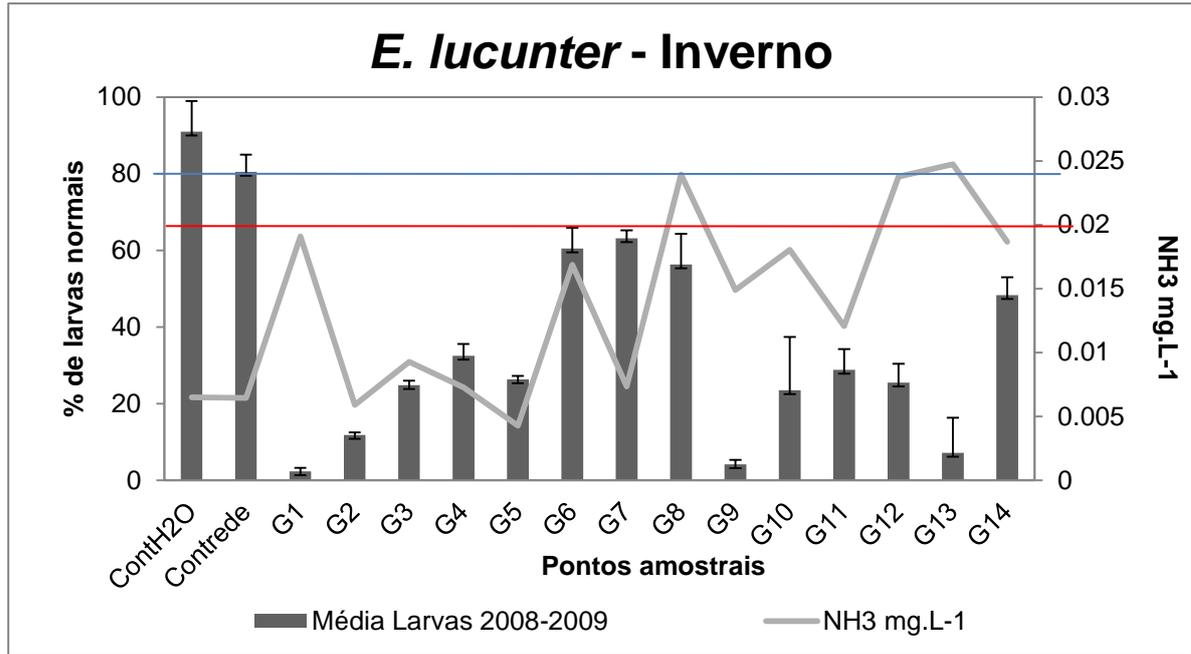


Figura 38 - Porcentagem (%) de larvas normais de *E. lucunter* versus valores de  $\text{NH}_3$  ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) para o verão. A linha vermelha denota o valor de 80% de normalidade e a vermelha o limite de amônia não-ionizada.

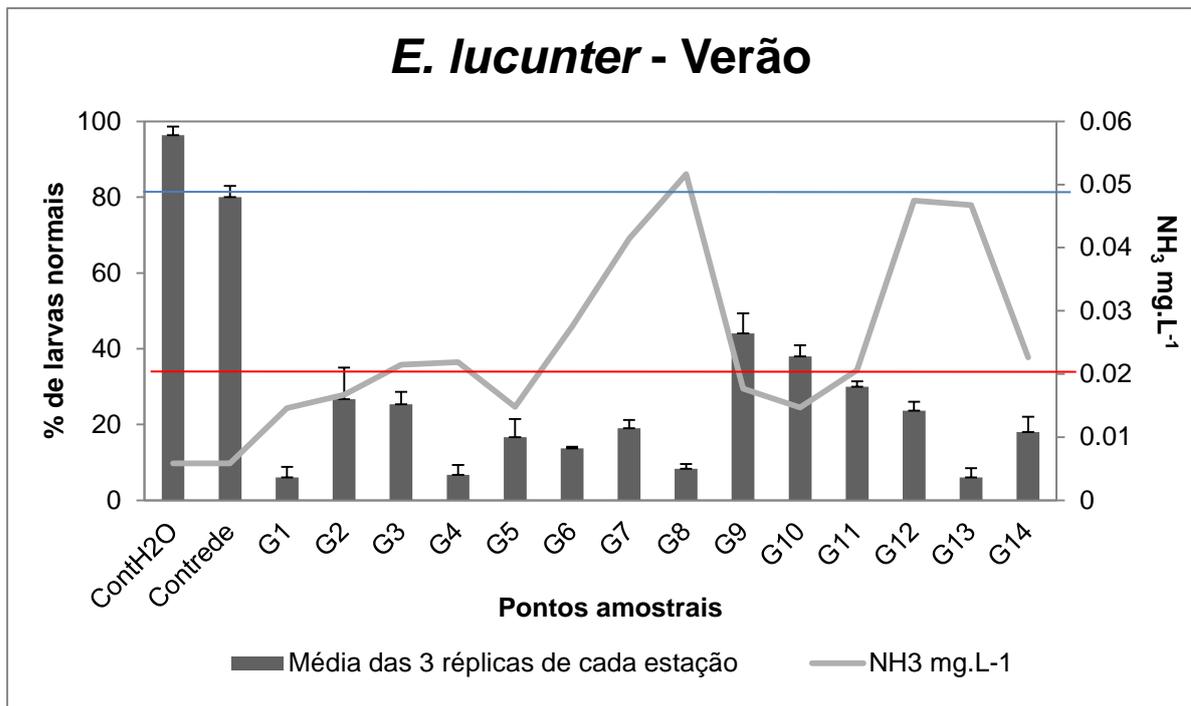


Figura 39 - Porcentagem (%) de larvas normais de *E. lucunter* versus valores de  $\text{NH}_3$  ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) para o inverno. A linha azul denota o valor de 80% de normalidade e a vermelha o limite de amônia não-ionizada.

Nos testes realizados, as concentrações de amônia não-ionizada foram, em vários pontos amostrais, maiores do que o tolerado pelos organismos de  $0,02 \text{ mg.L}^{-1}$

<sup>1</sup> de NH<sub>3</sub>, segundo a USEPA (1995). A salinidade dos testes com *E. lucunter* foi de 35±2, a temperatura foi mantida constante em 25±2°C e a quantidade de Oxigênio dissolvido permaneceu acima de 4,0 mg.L<sup>-1</sup> durante os testes.

A tabela 5 apresenta os valores de amônia não-ionizada NH<sub>3</sub> mg.L<sup>-1</sup> finais e iniciais de cada ponto amostral e para as duas estações.

A amônia é formada pelo resultado da decomposição bacteriana da matéria orgânica contendo nitrogênio. A degradação da uréia, resíduos de efluentes industriais e domésticos, plantas e matéria orgânica animal, resulta na formação de amônia não-ionizada (NH<sub>3</sub>) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (BURGESS *et al.*, 2003).

Como resultado do acúmulo em ambientes bênticos de resíduos orgânicos e material contendo compostos nitrogenados, elevadas concentrações de NH<sub>3</sub> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> são freqüentemente encontradas nos sedimentos. A presença destes compostos é bastante comum em regiões eutrofizadas, enriquecidas em nutrientes derivados de atividades antropogênicas, com níveis expressivos de NH<sub>3</sub> que é a forma mais tóxica (BURGESS *et al.*, 2003).

Tabela 5 - Concentrações iniciais e finais de NH<sub>3</sub> nos quatorze pontos amostrais, nas duas campanhas (inverno e verão). Os valores encontrados foram comparados ao valor alerta de 0,02 mg.L<sup>-1</sup> de NH<sub>3</sub>. Os números em destaque atingiram ou ultrapassaram o valor limite.

Pontos amostrais	NH <sub>3</sub> mg.L <sup>-1</sup> Inverno		NH <sub>3</sub> mg.L <sup>-1</sup> Verão	
	Inicial	Final	Inicial	Final
G1	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	0,01
G2	0,01	0,01	0,01	<b>0,02</b>
G3	0,01	0,01	0,01	<b>0,02</b>
G4	0,01	0,01	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>
G5	0,00	0,00	0,01	0,01
G6	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>
G7	0,01	0,01	0,01	<b>0,04</b>
G8	<b>0,03</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>	<b>0,05</b>
G9	<b>0,03</b>	0,01	0,01	<b>0,02</b>
G10	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	0,01	0,01
G11	0,01	0,01	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>
G12	0,01	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
G13	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,05</b>
G14	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>	<b>0,02</b>
Controles	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>

A presença de níveis mais altos de nutrientes (especialmente em G2, G5 e G7) e matéria orgânica (em G2, G3, G5, G12, G13), possivelmente de origem antropica, pode ter relação com os dados de amônia e toxicidade.

Em ambientes poluídos, a amônia encontrada em altas concentrações nos sedimentos pode ser considerada um produto tóxico e não um fator interferente. No entanto não há informações confiáveis sobre a concentração de amônia em ambientes costeiros, que permitam a diferenciação da origem de  $\text{NH}_3$  (LOSSO *et al.*, 2007). Portanto, a melhor forma de se avaliar um local enriquecido com nutrientes amoniacais através de testes de toxicidade é a integração das diversas informações e dados disponíveis (BURGESS *et al.*, 2003).

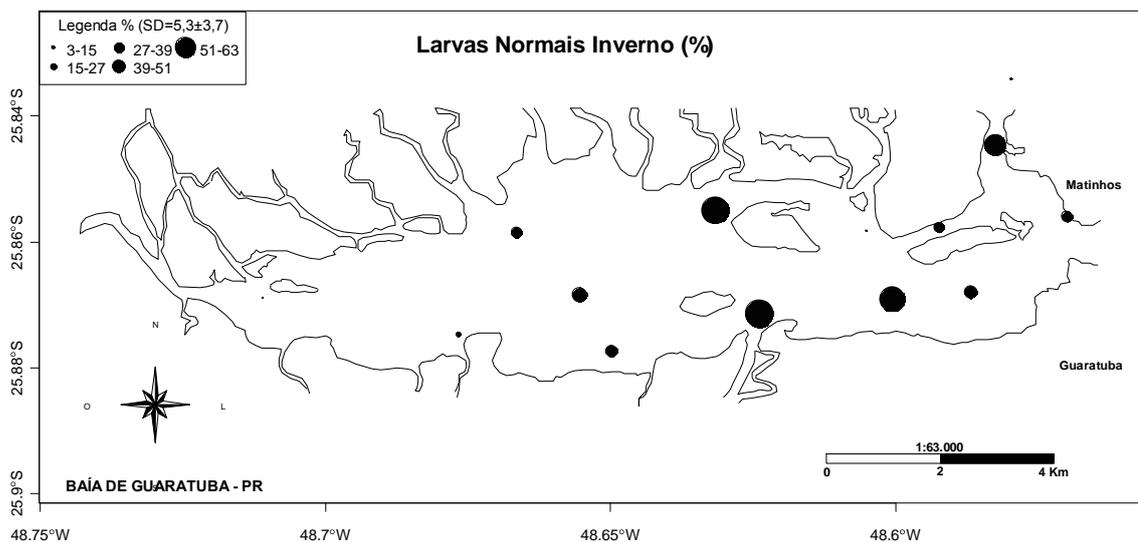


Figura 40 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando as taxas de larvas normais nos respectivos pontos amostrais na campanha de verão. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

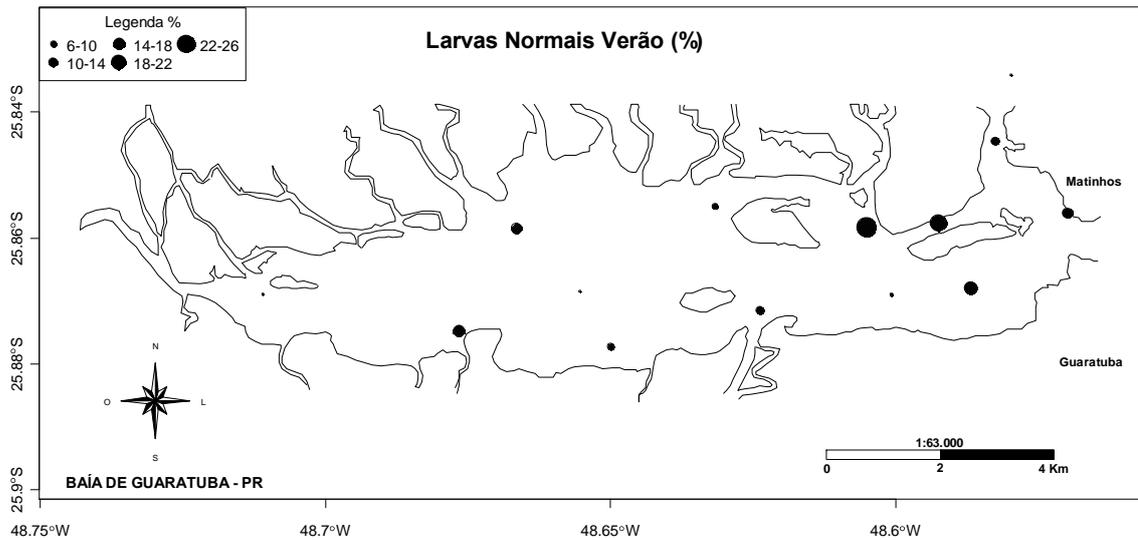


Figura 41 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando as taxas de larvas normais nos respectivos pontos amostrais na campanha de verão. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

A amônia pode ser apontada como importante, mas não o único agente tóxico para as larvas de ouriço na maioria dos pontos amostrais, pois alguns deles apresentaram concentrações dentro dos padrões aceitáveis para esta espécie química do nitrogênio.

A tabela 6 resume os pontos e as estações do ano indicando a presença ou ausência da amônia como interferente. O ponto G5 foi o único que não apresentou interferência da amônia para os dois períodos, G7 não teve interferência no inverno e G10 no verão. Todos os outros pontos amostrais apresentaram interferência da amônia.

Tabela 6 – Representação dos pontos que apresentaram interferência da amônia nos períodos investigados. A ausência de X representa os pontos onde não houve interferência de  $\text{NH}_3$ .

Ponto	Inverno	Verão
G1	X	X
G2		X
G3		X
G4		X
G5		
G6	X	X
G7		X
G8	X	X
G9	X	X
G10	X	
G11	X	X
G12		X
G13	X	X
G14	X	X

Quando a amônia não é o maior causador da anormalidade e/ retardo de desenvolvimento das larvas, testes de toxicidade com embriões de ouriço do mar são indicados para avaliar a fração solúvel (elutriatos, interface sedimento-água e águas intersticiais) dos possíveis contaminantes associados aos sedimentos superficiais (LOSSO *et al.*, 2004). No entanto, deve-se ponderar que em ambientes e períodos de temperatura elevada há maior degradação da matéria orgânica pelas bactérias que disponibilizam amônia para o ambiente, além disso no verão com o aumento da população flutuante na cidade o aporte de esgoto contendo  $\text{NH}_3$  se eleva.

### 3.7.2. Sedimento integral

No teste de toxicidade com sedimento integral apenas as estações G6, G9, G10 e G11 não apresentaram diferença significativa com o controle (Figura 42 e 43).

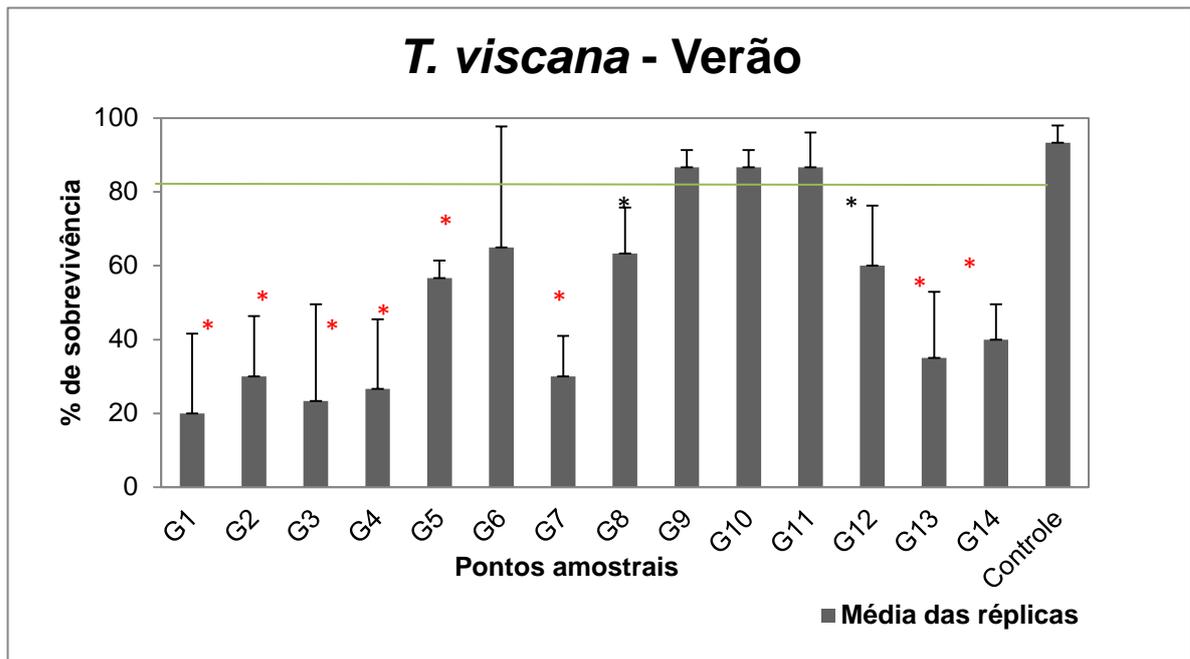


Figura 42 - Porcentagem (%) organismos sobreviventes nos sedimentos coletados no verão. Os asteriscos vermelhos indicam os pontos que apresentaram diferença significativa com controle ( $p \leq 0,05$ ) e, os pretos, diferenças marginais ( $p \leq 0,05 \geq 0,07$ )

Em relação às variáveis físico-químicas indicadoras da qualidade da água mensuradas no início e no final do experimento nos frascos teste, o oxigênio dissolvido esteve sempre acima de  $4 \text{ mg.L}^{-1}$ , o pH variou entre 7,5 e 8,02 e a salinidade manteve-se entre 32 e 36. A temperatura manteve-se constante a  $25 \pm 1$  °C e a concentração de  $\text{NH}_3$  variou entre 0,001 a  $0,005 \text{ mg.L}^{-1}$  no início e final do experimento, respectivamente.

De acordo com os critérios propostos por Melo & Abessa (2002) para aceitabilidade de testes com *T. viscana* o pH deve ser maior que 7,0, a salinidade entre 30 e 36, o oxigênio dissolvido acima de  $3 \text{ mg.L}^{-1}$ , o teor de amônia não-ionizada abaixo de  $0,10 \text{ mg.L}^{-1}$  e temperatura de  $25 (\pm 2)$  °C. As condições da água dos experimentos aqui relatados foram consideradas adequadas.

Conforme a distribuição espacial dos pontos amostrais observa-se que onde a influência marinha é maior a toxicidade foi menor, exceto para G13 e G14 que também são influenciados por atividades antrópicas e onde foram detectadas concentrações elevadas de fósforo e MO para estes dois pontos. Geralmente no verão é aplicado pesticida em lavouras, e somando isso aos maiores influxo de

esgotos e material fluvial, possivelmente a toxicidade na região interna e mediana (G1, G2, G3, G4, G5, G7 e G8) é causada tais compostos.

Os resultados dos testes de toxicidade aguda com o anfípoda representam um alerta, pois apenas quatro dos quatorze pontos não apresentaram diferença significativa com o controle. *T. viscana* é um animal adequado ao uso em testes de toxicidade de sedimento, pois preenche a maioria dos requisitos recomendáveis a um organismo teste, como, por exemplo, o hábito escavador, que assegura uma exposição máxima aos contaminantes retidos no sedimento, entrando em contato com a água intersticial e com as partículas do sedimento (MELO, 1993).

Segundo Melo *et al.*, (1995), sedimentos preparados em laboratório contendo somente partículas finas (argilas) ou somente areias mais grossas causaram um efeito negativo na sobrevivência dos organismos testados, sugerindo que tais fatores podem resultar em respostas falsas de toxicidade positiva. Porém, Abessa (1996) observou que sedimentos coletados em campo, com as mais variadas composições granulométricas, não afetaram significativamente a sobrevivência dos indivíduos expostos.

O tamanho do grão é um interferente preocupante em testes de sedimento integral com anfípodas. Durante a ingestão de detritos agregados ao sedimento, os grãos finos podem entupir as brânquias dos organismos e no caso de grãos maiores há possibilidade de causar grande gasto energético. *T. viscana* não apresenta grande sensibilidade à lama, mas devem ser preferencialmente submetidos a testes que contenham uma mistura de tamanhos de grãos (MELO & NIPPER, 2007).

Portanto, os sedimentos testados estavam dentro do “*range*” considerado adequado para a espécie, neste caso pobremente selecionado, não sendo esperados efeitos físicos causados pela granulometria sobre a sobrevivência dos organismos.

Os testes de toxicidade baseiam-se na observação de respostas apresentadas pelos organismos teste após a exposição às amostras que contenham (ou não) substâncias tóxicas. No caso de sedimentos, fatores adicionais como granulometria, teor de carbono orgânico (para testes com sedimento integral) e teor de amônia (para testes com interface sedimento-água) podem eventualmente

influenciar os resultados produzindo falsos positivos (efeito negativo devido ao interferente e não aos contaminantes). Tais fatores devem ser avaliados cuidadosamente e considerados na interpretação dos resultados (ABESSA, 2002).

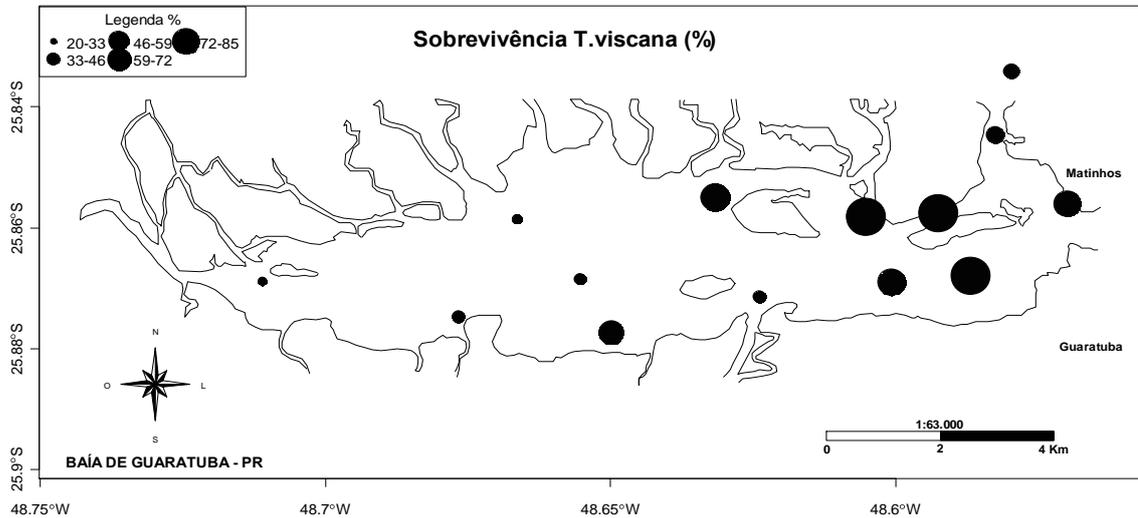


Figura 43 - Mapa de distribuição de bolhas por proporção, ilustrando a taxa de sobrevivência dos anfípodos nos respectivos pontos amostrais na campanha de verão. A legenda indica o intervalo de valores que foi utilizado para a elaboração da escala.

A tabela 7 resume a toxicidade de cada ponto para os dois testes agudo e crônico.

Tabela 7- Toxicidade dos sedimentos superficiais dos 14 pontos investigados na Baía de Guaratuba

Pontos amostrais	Teste crônico de interface via interface sedimento – água com <i>E. lucunter</i>	Teste agudo via sedimento integral com <i>T. viscana</i>
G1	Tóxico	Tóxico
G2	Tóxico	Tóxico
G3	Tóxico	Tóxico
G4	Tóxico	Tóxico
G6	Tóxico	Não-tóxico
G7	Tóxico	Tóxico
G8	Tóxico	Tóxico
G9	Tóxico	Não-tóxico
G10	Tóxico	Não-tóxico
G11	Tóxico	Não-tóxico
G12	Tóxico	Tóxico
G13	Tóxico	Tóxico
G14	Tóxico	Tóxico

### 3.8. Matrizes de Correlação

No presente estudo as matrizes de correlação foram utilizadas com o intuito de observar tendências gerais entre todas as variáveis investigadas.

A tabela 8 apresenta os valores de  $r^2$  para o inverno. Observou-se que a porcentagem de larvas normais não apresentou correlação com nenhuma das outras variáveis analisadas. Portanto, não foi possível identificar as causas da toxicidade detectada pelo desenvolvimento anormal das larvas através da sua correlação com as variáveis. Isso reforça o efeito da amônia alterando o padrão de toxicidade que seria esperado com base na análise das outras variáveis analisadas, e também o efeito de uma possível causa não medida (como pesticidas e alguns compostos não analisados presentes nos esgotos).

As larvas normais apresentaram sua maior correlação (0,4) com a quantidade de carbono orgânico nos sedimentos. A partir disso pode ser especulado que a qualidade (origem) da fonte da matéria orgânica, contendo ou não substâncias potencialmente tóxicas, poderia auxiliar e elucidar as questões relativas à toxicidade crônica apresentada pelos sedimentos superficiais no inverno. A toxicidade neste período, foi atribuída à presença de amônia não-ionizada e à efeitos antagônicos e/ou sinérgicos e de potenciação ocasionados por outros compostos não medidos.

Em ambientes naturais os organismos não estão expostos a um único contaminante, e sim a diferentes condições ambientais e substâncias ao mesmo tempo. Os efeitos sinérgicos são desencadeados quando a combinação de duas substâncias potencialmente tóxicas é muito maior que a soma dos efeitos individuais destas ( $1+1=5$ ). Efeitos de potenciação ocorrem quando um contaminante somente apresenta toxicidade na presença de outro ( $0+1=4$ ). Efeitos antagônicos ocorrem quando dois contaminantes juntos interferem um no outro, ou um interferente com outro contaminante que co-existe no meio (por exemplo, onde  $2+3=4$  ou  $3+0=1$ ) (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

Tabela 8 – Matriz de correlação das variáveis analisadas no inverno (confeccionada a partir dos valores médios das campanhas amostrais de 2008 e 2009). Os valores em destaque foram os que apresentaram p valor  $\leq 0,05$ .

	Carbonatos	C:N	COT	C:P	Finos	Larvas normais	M.O.	N:P	NT
C:N	-0,38								
COT	<b>-0,57</b>	0,4							
C:P	-0,43	<b>0,95</b>	0,35						
Finos	<b>0,67</b>	-0,46	<b>-0,75</b>	-0,36					
Larvas normais	-0,12	-0,02	0,4	0	-0,23				
M.O.	0,49	-0,28	-0,4	-0,19	<b>0,64</b>	-0,14			
N:P	-0,2	0,43	0,39	<b>0,63</b>	-0,04	0,14	0,25		
NT	0,3	<b>-0,58</b>	-0,29	-0,38	<b>0,71</b>	0,04	<b>0,54</b>	-0,28	
PT	<b>0,53</b>	<b>-0,58</b>	<b>-0,75</b>	-0,47	<b>0,87</b>	-0,27	0,34	-0,23	<b>0,68</b>

A correlação positiva entre sedimentos finos, matéria orgânica e nutrientes (NT e PT), se deve a processos comuns a estas variáveis, como a tendência em se depositar nos locais de baixa energia e por isso, apresentam concentrações elevadas nos mesmos locais (G5, G12 e G2). O acúmulo de M.O. facilita a retenção de nutrientes e substâncias tóxicas, isto porque a M.O. apresenta sítios ativos de ligação com elementos químicos e por sua afinidade química com compostos orgânicos.

Na matriz de correlação para o verão (Tabela 8), não foram incluídas as concentrações de metais submetidos à extração fraca, devido os baixos valores encontrados para os dois tratamentos (forte e fraca). Como dito anteriormente, as matrizes de correlação são utilizadas aqui com o intuito de observar tendências gerais.

Tabela 9 – Matriz de correlação de Pearson para as variáveis analisadas no verão. Os valores em destaque foram os que apresentaram p valor  $\leq 0,05$ .

	Carbonatos	Cd	C:N	COT	C:P	Cu	Finos	Larvas normais	M.O.	Sob. Anfípoda	N:P	NT	Pb	PT
<b>Cd</b>	-0,04													
<b>C:N</b>	-0,32	0,05												
<b>COT</b>	-0,22	0,09	<b>0,66</b>											
<b>C:P</b>	-0,49	<b>0,54</b>	<b>0,59</b>	<b>0,51</b>										
<b>Cu</b>	-0,01	-0,1	<b>-0,67</b>	-0,22	-0,33									
<b>Finos</b>	0,24	-0,25	<b>-0,59</b>	-0,49	-0,46	0,31								
<b>Larvas normais</b>	-0,24	<b>0,5</b>	0,39	0,31	<b>0,71</b>	-0,27	-0,16							
<b>M.O.</b>	0,29	-0,22	<b>-0,59</b>	<b>-0,8</b>	<b>-0,55</b>	-0,05	<b>0,55</b>	-0,23						
<b>Sob. Anfípoda</b>	-0,15	0,4	0,26	-0,09	0,42	-0,32	0,02	<b>0,54</b>	-0,15					
<b>N:P</b>	-0,47	<b>0,58</b>	0,14	0,29	<b>0,84</b>	0,08	-0,29	<b>0,56</b>	-0,36	<b>0,52</b>				
<b>NT</b>	0,26	-0,2	<b>-0,91</b>	-0,43	<b>-0,66</b>	<b>0,67</b>	<b>0,56</b>	-0,41	<b>0,52</b>	-0,45	-0,21			
<b>Pb</b>	0,04	0,4	-0,25	-0,25	0,09	-0,26	0,16	<b>0,5</b>	<b>0,52</b>	0,23	0,14	0,18		
<b>PT</b>	0,45	-0,27	<b>-0,63</b>	<b>-0,57</b>	<b>-0,78</b>	0,2	<b>0,68</b>	-0,43	<b>0,61</b>	-0,09	<b>-0,71</b>	<b>0,6</b>	0,29	
<b>Zn</b>	0,13	-0,32	<b>0,5</b>	0,16	-0,06	-0,39	-0,17	-0,08	-0,04	-0,24	-0,3	-0,35	-0,31	-0,11

Como pode ser observado na tabela 9, a taxa de desenvolvimento de larvas normais correlacionou-se positivamente com as concentrações de cádmio, a razão N:P, o chumbo, a taxa de sobrevivência dos anfípodos e com razão C:P. A taxa de sobrevivência dos anfípodos mostrou-se correlacionada a razão N:P e ao desenvolvimento larval normal.

A correlação positiva entre a razão N:P e o desenvolvimento das larvas pode indicar que o fósforo já discutido na seção 5.5, tenha colaborado para a toxicidade dos sedimentos, ou seja, quanto maior foi a razão maior também foi o desenvolvimento de larvas normais. As baixas razões observadas, próximas de 1 onde o esperado é 20, indicam que há o enriquecimento de fósforo no estuário. As fontes de fósforo e outras substâncias que possam estar induzindo efeitos sinérgicos de toxicidade podem ter fontes comuns (lavouras e esgotos).

As larvas de ouriço são mais sensíveis aos fatores ambientais, como a amônia não-ionizada. O desenvolvimento anormal das larvas foi influenciado por possíveis efeitos sinérgicos, como a presença de  $\text{NH}_3$  e outras substâncias investigadas ou não no presente estudo.

A correlação positiva entre o desenvolvimento normal das larvas de ouriço e as concentrações de cádmio e chumbo indica que o Cd não constituiu a causa da toxicidade nesse tipo de experimento. Este elemento pode ter influenciado na toxicidade somente nos pontos G6, G9 e G11, nos quais suas concentrações (extração forte) ultrapassaram o limite de PEL da Environmental Canada (ver Tabela 3). Sedimentos destes mesmos pontos apresentaram toxicidade para as larvas de ouriço, mas não afetaram a sobrevivência dos anfípodos. O que reforça a interferência da amônia na interpretação da toxicidade embriolarval em estuários, mas não descarta o efeito sinérgico entre o Cd e os demais constituintes dos sedimentos superficiais.

Uma alternativa que pode ser aplicada nestes casos onde a amônia representa grande interferência é a utilização do método descrito como *avaliação e identificação de toxicidade* (TIE) que consiste na aplicação de ferramentas para investigar as causas da toxicidade em efluentes, águas receptoras, águas intersticiais e sedimentos. Este método tem a habilidade de reduzir as concentrações da toxicidade de determinados interferentes (por exemplo, amônia) que pode confundir os resultados, acusando um falso positivo. Esta alteração deixa tais interferentes em níveis que não afetem a interpretação dos resultados. Um dos

principais métodos aplicados na TIE é a manipulação das amostras através da aplicação da alga *Ulva lactuca*, onde a retirada da amônia é realizada através da metabolização da amônia pela alga como nutriente (LOSSO *et al.*, 2007).

Como observado para o período de inverno, os sedimentos finos novamente aparecem correlacionados aos nutrientes e à matéria orgânica no verão, juntamente com a razão C:N.

A matéria orgânica é considerada importante para a caracterização dos sedimentos, águas naturais superficiais, efluentes domésticos e depósitos de resíduos sólidos urbanos. As propriedades que controlam a preservação de matéria orgânica nos sedimentos de fundo são o tamanho do grão, concentração de nutrientes, condições da água de fundo, e mesmo que a concentração de MO seja baixa, esta pode influenciar na disponibilidade dos metais para ambiente (BIANCHI, 2007).

Os efluentes domésticos têm seu volume maximizado devido ao aumento significativo na densidade demográfica causado pelo aumento populacional transitório presente no verão na baía Guaratuba, decorrente do turismo. Brandini (2008) considera a baía um sistema de armazenamento de matéria orgânica e, segundo Mizercosvisk (2007), o sistema não tem capacidade de exportar, e/ou diluir toda carga de nutrientes que recebe.

A intensa atividade biogeoquímica que ocorre entre a água de fundo e a camada superficial dos sedimentos afeta diretamente a qualidade do corpo d'água, na interface com o sedimento através da troca de solutos (WANG *et al.*, 2008). A água da interface separa a coluna d'água do sedimento superficial, onde a difusão molecular tipicamente domina o transporte de solutos. A interface sedimento/água para o material particulado corresponde à transição de uma taxa de deposição relativamente rápida para uma taxa de deposição muito mais lenta. Dessa forma, comparado à coluna d'água, a interface sedimento/água pode ser vista como um ambiente semi-confinado, caracterizado por um longo tempo de residência de material particulado. Essas condições favorecem um extenso processamento biogeoquímico de materiais depositados e o estabelecimento de gradientes na composição da água intersticial (VAN CAPPELLEN & WANG, 1995).

A distribuição dos elementos Zn, Cu e Pb na região estudada apresentaram baixas concentrações quando comparadas a outras com maior desenvolvimento

urbano e industrial. Porém para o Cd, ocorreram altos níveis em alguns pontos, conforme exceto para cádmio conforme já discutido anteriormente. Nos ecossistemas aquáticos, os metais encontram-se nas fases solúveis, no material particulado em suspensão, sedimentos e biota. Os principais mecanismos determinantes desta partição incluem adsorção, complexação, precipitação e incorporação biológica (BIANCHI, 2007).

A solubilidade de íons metálicos é favorecida em condições de baixo pH, já que a solubilidade dos metais-hidróxidos aumenta, assim como a capacidade de adsorção de superfícies sólidas diminui e os Íons  $H^+$  competem com os metais pelos sítios de coordenação em moléculas orgânicas. O aumento da dureza diminui a solubilidade de muitos metais, devido à competição dos cátions (especialmente  $Ca^{2+}$  e  $Mg^{2+}$ ) por sítios de ligação. Por isso, sedimentos próximos à fluxos fluviais tendem a conter maiores concentrações de metais solubilizados que sedimentos em salinidades mais altas (BIANCHI, 2007).

Os sedimentos ricos em argila, contendo elevadas proporções de minerais de óxido de Fe ou Al, têm elevada capacidade de sorção. Sorção é a capacidade dos sedimentos aderirem e absorverem soluções, por isso a sorção de substâncias em solução a este compartimento depende fortemente das variáveis que caracterizam a água de fundo, como o pH e oxigênio dissolvido (LIU *et al.*, 2003).

Assim, para os organismos cuja rota de exposição se dê via dérmica, pela difusão direta, as fases solúveis (água intersticial e interface sedimento-água) exercem um papel importante na mobilidade dos metais para os sedimentos, interferindo na toxicidade deste compartimento. Os sulfetos formados em condições anóxicas, quando em condições oxidantes (redução de sulfato), podem reagir com muitos íons de metais de transição bivalente como o cádmio, cobre, chumbo e zinco, para formar precipitados extremamente insolúveis. Por isso quando possível, os sulfetos voláteis devem ser quantificados juntamente com a concentração de metais totais (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

Como já mencionado, as baixas concentrações dos metais investigados no presente estudo (extrações forte e fraca) e as correlações positivas observadas entre estas e a sobrevivência das sensíveis larvas de *Echinometra Lucunter*,

sugerem que estes elementos não são os mais importantes para a toxicidade dos sedimentos superficiais da Baía de Guaratuba.

Além disso, como dito anteriormente não há legislações com limites confiáveis que possam servir de ferramentas de comparação para metais, onde estejam bem estabelecidos os níveis que realmente causam efeito nos organismos.

Ademais, a metodologia de extração forte, em estudos ecotoxicológicos deve ser levada em consideração (ABESSA, 2002), uma vez que foi utilizado no presente estudo, o organismo escavador detritívoro *Tiburonella viscana*. No entanto, as maiores concentrações encontradas nos pontos G6, G9 e G11 de cádmio, não apresentaram interferência na sobrevivência dos anfípodos, pois estes não apresentaram diferenças significativas com o controle, isto indica que o cádmio não foi responsável pela toxicidade apresentada.

Os estuários são ambientes complexos e dinâmicos, que recebem grandes quantidades de poluentes oriundos de áreas urbanas e zonas industriais. Entre os vários contaminantes, os metais despertam preocupação especial, devido à sua persistência no meio ambiente, sua reciclagem biogeoquímica e os riscos ecológicos que podem provocar. Altas concentrações de metais em sedimentos, entretanto não indicam necessariamente contaminação antrópica, em virtude dos diferentes níveis de background, origem das rochas que constituem o ambiente em questão e propriedades dos sedimentos. A ocorrência natural e especiação química de metais podem dificultar a avaliação de sedimentos aquáticos potencialmente contaminados (WANG *et al.*, 2008).

Por outro lado, os resultados aqui reportados demonstram a importância da integração de estudos de toxicidade com outras ferramentas para uma avaliação mais eficiente da qualidade ambiental em sistemas estuarinos, como a baía de Guaratuba. Neste sentido seriam de extrema valia o uso de biomarcadores, definidos como qualquer resposta biológica, variando de molecular a comportamental, frente à presença de um contaminante no meio ambiente. (WALKER, 2006).

Como a maioria dos xenobióticos exerce seus efeitos tóxicos através de interações com biomoléculas, é de suma importância que se conheça o destino e o efeito dos poluentes nos baixos níveis de organização biológica para que se possam adotar estratégias de biomonitoramento, avaliação de impactos e manejo ambiental (LIVINGSTONE, 1993).

Testes mutagênicos também poderiam ser considerados, uma vez que modificações genéticas podem ser passadas às novas gerações e causar alterações em populações inteiras. Esta e outras ferramentas, tais como marcadores geoquímicos podem ser utilizadas para sanar dúvidas e identificar problemas neste ambiente.

#### 4. CONCLUSÕES

- O estuário encontra-se em processo de enriquecimento de nutrientes, especialmente fósforo. As concentrações de PT no inverno ultrapassaram em três pontos amostrais os valores alertas preconizados pela resolução CONAMA 344 dispõe sobre a disposição do material dragado no país. Estes valores indicam possível interferência antrópica nos aportes deste nutriente. Tais fontes podem ser tanto do despejo de esgoto das cidades de Guaratuba e Matinhos, quanto da lixiviação dos solos utilizados para agricultura, através da aplicação de agrotóxicos nas culturas. Entretanto, a hipótese de que estes altos valores podem ter origem natural não deve ser descartada, já que se trata de um ambiente estuarino com grande aporte de matéria orgânica advindo dos manguezais.
- As concentrações elevadas de fósforo e as baixas razões de N:P são indícios da suscetibilidades deste ecossistema ao processo de eutrofização.
- As concentrações de metais Cu, Cd, Pb e Zn estiveram abaixo dos valores alertas indicados por órgão ambientais como a Resolução CONAMA 344/04 e a Environmental Canada. Apenas o Cádmio no tratamento conduzido pela extração forte apresentou em três pontos amostrais (G6, G9 e G11), valores acima de  $0,6 \text{ mg.Kg}^{-1}$  (TEL), mas não ultrapassaram o nível de PEL de  $3,5 \text{ mg.Kg}^{-1}$ .
- Os testes com o ouriço do mar *E. lucunter*, foram inconclusivos, para a maioria dos pontos amostrais, principalmente devido à concentração de amônia não-ionizada que excedeu os limites toleráveis por esta espécie. No entanto sua maior sensibilidade sugere que a toxicidade dos sedimentos superficiais da baía de Guaratuba pode ser atribuído à efeitos sinérgicos que resultaram da interação entre a amônia e/ou outros elementos tóxicos presentes no sistema e não investigados.
- O teste com anfípoda indicou toxicidade para grande parte dos pontos amostrais, exceto quatro (G6, G9, G10 e G11). Tal resultado constitui um alerta, pois as duas formas de exposição (interface sedimento-água e sedimento integral) apresentaram correlação positiva. Além disso, a condição de organismo escavador atribui ao *T. viscana* uma exposição máxima aos

constituintes do sedimento (MELO & ABESSA, 2002). Portanto, toxicidade dos sedimentos superficiais para o anfípoda na região interna e mediana no verão (G1, G2, G3, G4, G5, G7 e G8) pode ser causada por compostos orgânicos (pesticidas, hormônios, detergentes, etc), pois nesta estação do ano são aplicados pesticida em lavouras e os influxos de esgotos e material fluvial aumentam. Na região mais urbanizada do estuário (G12, G13 e G14) a toxicidade pode ser atribuída às atividade de navegação e turismo (marinas, iates clubes e *Ferry boat*).

- Não se devem medir esforços para a elaboração de diagnósticos que apresentem segurança e qualidade de dados para monitoramentos ambientais e avaliações da qualidade de ecossistemas. Para isso é necessário maior investimento de agências governamentais de controle ambiental e de agências privadas, em tecnologias e novos estudos que aprimorem a qualidade dos dados gerados dentro das universidades.

## 5. RECOMENDAÇÕES

- Estudos posteriores necessitam ser efetuados para elucidar a interferência da amônia não ionizada, de maneira a fornecer informações mais seguras sobre a aplicabilidade de testes com larvas de equinodermo para regiões enriquecidas naturalmente com nutrientes. Sugere-se que em trabalhos futuros seja realizada a retirada da amônia através da aplicação da TIE (*Toxicity Identification and Evaluation*). Tal aplicação permite a identificação de compostos químicos tóxicos ou classes químicas causadoras da toxicidade observada.
- O uso de marcadores geoquímicos específicos também é indicado para futuros estudos neste ambiente, uma vez que, aparentemente, as fontes mais significativas do enriquecimento de nutrientes para este sistema são os efluentes domésticos e a matéria orgânica terrígena. Recomenda-se ainda, a quantificação de compostos orgânicos que permitam identificar resíduos gerados pelo uso de fertilizantes nas plantações localizadas à montante da baía.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABESSA, D. M. S. (1996) **Testes de toxicidade de sedimentos da região de Santos-SP Brasil, (24S,46W), utilizando o anfípodo escavador *Tiburonella viscana* (Crustacea- Platyischnopidae) Thomas & Barnard (1983)**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico. São Paulo, SP. 97p.
- ABESSA, D. M. S. (2002) **Avaliação da qualidade de sedimentos do Sistema Estuarino de Santos, SP, Brasil**. Tese de doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo, 340p.
- ABESSA, D. M. S. et AL. (2002). **Sensibilidade de *Lytechinus variegatus*: comparação entre três populações do Estado de São Paulo**. Anais do II Congresso Brasileiro de Pesquisas Ambientais, Santos, SP (03 e 04/06/2002).
- ABESSA, D.M.S, SOUZA, E. C. P. M., TOMMASI, L.R. (2006) **Utilização de testes de toxicidade na avaliação da qualidade de sedimentos marinhos**. Revista de Geologia, Vol. 19, nº 2, 253-261.
- ABESSA, D.M.S. et al. (1998). **Use of the burrowing amphipod *Tiburonella viscana* as tool in marine sediments contaminant assessment**. Brazilian Archives of Biology and Technology, vol 41, nº 2, pg 225-230.
- ABNT NBR 15350. (2006) **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea)**.
- ADAMS, W.J., KIMERLE, R.A. & BARNETT, J.W., (1992), **Sediment quality and aquatic life assessment**. Environmental Science and Technology, v. 26, nº 10, p. 1864-1875p.
- AZEVEDO, A.F. CHASIN, A. M. (2003) **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos - SP, Ed.Rima,. São Paulo, Intertox.
- BAISCH, P. LIMA, G.P. (2006). **Análise de carbonatos totais dos sedimentos**. In: LANA et AL., **Avaliação de estuários brasileiros: aspectos metodológicos**. Instituto milênio. Séries 22. Rio de Janeiro, Museu Nacional.
- BAUMGATEN, M. G. Z; BARROS, J. M.; NIENCHESKI, L. F. H. **Manual de análises em oceanografia química**. Ed. Furg, Rio Gande, 132p. 1996.
- BIANCH, T.S. **Biogeochemistry of estuaries**. Oxford University press, 2007. 687p.
- BRANDINI, N. (2008). **Biogeoquímica da Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil: Origem, metabolismo, balanço de massa e destino da matéria orgânica biogênica**. Tese de doutorado. Pós Graduação em Geociências, Universidade Federal Fluminense. Niterói, Rio de Janeiro, 277p.
- BRENDOLAN, R.A., GOMES, S.A. (2003) **Uso do Psamobentos em Estudos de Ecotoxicologia Marinha no Brasil**. Revisão Bibliográfica com Ênfase em Substâncias do Petróleo. 2º congresso brasileiro de P&D em Petróleo & Gás.

BURGUES, R.M. et al. (2003) **Removal of ammonia toxicity in marine sediment TIEs: a comparison of Ulva lactuca, zeolite and aeration methods.** Marine Pollution Bulletin, vol 46, pg 607-618p.

CAMARGO, M. G (2006). **SysGran: um sistema de código aberto para análises granulométricas do sedimento.** Revista Brasileira de Geociências, vol. 36, nº2, 371-378p.

CARRIE et AL. (2009) **Characterization of organic matter in surface sediments of the Mackenzie River Basin, Canada.** International Journal of Coal Geology. vol 77, 416–423p.

CESAR, A. et al. (1997) **Testes de toxicidade aquática no controle da poluição.** Universidade Santa Cecília. Laboratório de Ecotoxicologia. Santos SP, 4º Ed.

CESAR, A., MARÍN, A., MARÍN-GUIRAO, L., VITA, R.(2004) **Amphipod and sea urchin test do assess the toxicity of Mediterranean sediments: the case of Portmán Bay.** Scientia Marina, vol 68, 205-213p.

CETESB. 1992. **Água do mar - Teste de toxicidade crônica de curta duração com Lytechinus variegatus Lamarck, 1816 (Echinodermata: Echinoidea).** Norma Técnica L5.250. São Paulo, CETESB, 16p.

CHAPMAN, P (2002) **Integrating toxicology and ecology: putting the “eco” into Ecotoxicology.** Marine Pollution Bulletin, vol 44,7–15p.

CHAPMAN, P. et al. (2002) **Issues in sediment toxicity and ecological risk assessment.** Marine Pollution Bulletin, vol 44, 271–278p.

CHAPMAN, P. M. & LONG, E. R. (1983). **The use of bioassays as part of a comprehensive approach to marine pollution assessment.** Marine Pollution Bulletin, vol 14, nº 3, 81-84p.

CHOUERI, R.B. (2009). **Integrated sediment quality assessment in Paranaguá Estuarine System, Southern Brazil.** Ecotoxicology and Environmental Safety, vol 72, 1824–1831p.

CONAMA nº 344. (2004) **Ministério do Meio Ambiente.** Disponível em: [www.mma.gov.br/port/conama/res/res04/res34404.xml](http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res04/res34404.xml). Acessado em: 03 de julho de 2009.

ENVIRONMENTAL CANADA (2002). **Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of aquatic life: Summary tables.** Disponível em: [http://www.elaw.org/system/files/sediment\\_summary\\_table.pdf](http://www.elaw.org/system/files/sediment_summary_table.pdf). Acessado em 05 de outubro de 2010.

FERREIRA, A. R. (2006) **Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e sedimentos retirados da Baía de Guaratuba – PR e avaliação do nível de poluição ambiental.** Tese (Pós-graduação em Química), Setor de Ciências Exatas Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná.

FOLK R.L.,WARD W.C. (1957) **Brazos river bar : a study of significant of grain size parameters.** J. Sediment. Petrol. 27 : 3-26p.

- FRONZA, L. (2006) **Capacidade de Liberação de Hidrocarbonetos dos Sedimentos de Áreas Contaminadas do Estuário da Lagoa dos Patos – RS.** Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em oceanografia física, química e geológica, Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande – RS, 200p.
- GEFFARD, O. BUDZINSKI, H., HILLS, E. (2002) **The effects of decanted sediments on embryogenesis in oysters.** *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 23, n° 7, pg 1655–1661p.
- GRASSHOFF K.; KREMLING K.; EHRHARDT M. (1999). **Methods of Seawater Analysis**, 3rd, completely rev. and extended ed. – Weinheim New York Chichester Brisbane Singapore Toronto, 419 p.
- KENNISH, M.J. (1997) **Practical Handbook of Estuarine and Marine Pollution.** Marine Science Series, CRC Press,.
- LAMBERSON, J. O.; DeWITT, T.H. & SWARTZ, R. C. (1992). **Assessment of sediment toxicity to marine benthos.** In: BURTTON, Jr., G.A. (Ed.) **Sediment toxicity assessment.** Boca Raton: Lewis Publishers, cap. 9, 183-211p.
- LEI.ADV. (2008). **Direito ambiental. Resolução Conama n.º 01 de 23/01/86, artigo 1º.** Disponível em: <http://www.lei.adv.br/001-86.htm> . Acessado em 5 de junho de
- LIU et AL. (2003) **Multivariate statistical study of heavy metal enrichment in sediments of the Pearl River Estuary Environmental Pollution.** Vol 121, 377–388p.
- LIVINGSTONE, D.R. (1993). **Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarker in the aquatic environment.** *J. Chem. Tech. Biotechnol.* v. 57, p. 195-211p.
- LOSSO, C. *et al.* (2007). **Potential role of sulfide and ammonia as confounding factors in elutriate toxicity bioassays with early life stages of sea urchins and bivalves.** *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 66, 252–257p.
- LOSSO, C., *et al.* (2004). **Evaluation of surficial sediment toxicity and sediment physico-chemical characteristics os representative sites in the Lagoon of Venice (Italy).** *Journal of marine systems*, vol 51, pg 281-292p.
- MACKENZIE, W.R. CHOU, F.L. (1993) **Interactions of C,N,P and S Biogeochemical cycles and global changes.** Vol 4, Global Environmental Changes series I.
- MARONE, E. *et al.* (2004) **Hydrodynamic of Guaratuba Bay, PR, Brazil.** *Journal of coastal research*, vol 39, pg 1879-1893p.
- MARTINS et AL. (2008) **Marcadores Orgânicos De Contaminação Por Esgotos Sanitários Em Sedimentos Superficiais Da Baía De Santos, São Paulo** *Quim. Nova*, Vol. 31, No. 5, 1008-1014p.
- MELO, S. L. R & ABESSA, D. M. S. (2002). **Testes de toxicidade com sedimentos marinhos utilizando anfípodos como organismo-teste.** In: Nascimento, I.; E. C. P. M. Sousa; M.G. Nipper (Eds.). **Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil.** Editora Artes Gráficas, Salvador/BA. Cap.XIV, pg.163-1778p.

MELO, S. L. R. (1993). **Testes de toxicidade com sedimentos marinhos: adequação de metodologia para o anfípodo escavador *Tiburonella viscana***. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos. São Carlos. 172p.

MELO, S.L.R. & NIPPER, M. **Sediment toxicity tests using the burrowing amphipod. *Tiburonella viscana* (Amphipoda: Platyschnopidae)** *Ecotoxicology and Environmental Safety* Volume 66, Issue 3, March 2007, Pages 412-420.

MELO, S.L.R., ABESSA, D.M.S. (2002) **Testes de toxicidade com sedimentos marinhos utilizando anfípodos**. In: Nascimento, I., Sousa, E.C.P.M. & Nipper, M.G. (Eds.). **Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil (Cap. XIV)**. Editora Artes Gráficas, Salvador, 163-1778p.

MELO, S.L.R.(1995). **Testes de toxicidade com sedimentos marinhos: adequação de metodologia para o anfípodo escavador *Tiburonella viscana***. Tese de Mestrado. Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, 1993. 172 pp

MIZERKOWSKI, B. D. (2007) **Modelo Comparativo do Estado Trófico Estuarino: Babitonga, Guaratuba, Laranjeiras e Cananéia**. Dissertação (Mestrado em Sistemas Costeiros e Oceânicos). Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná, PR. 134p.

MOLISANI, M.M., MARINS, R.V., MACHADO, W., PARAQUETTI, H.H.M., BIDONE, E.D., LACERDA, L.D., (2004). **Environmental Changes in Sepetiba Bay, SE, Brazil. Regional Environmental Change**, v. 4, p. 17–27.

NADELLA *et al.* (2009) **Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossolus*) and the protective effect of dissolved organic carbon. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 149 (2009) 340–348p.**

NIPPER, M. (2000). **Current approaches and future directions for contaminant-related impact assessment in coastal environments: Brazilian perspective**. *Aquatic ecosystems Health and management society*. vol 3, 433-447p.

NIPPER, M. et al. (1998). **Sediment Toxicity And Benthic Communities In Mildly Contaminated Mudflats**. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 17, No. 3, pp. 502–510p.

NIPPER, M.G., GREENSTEIN, D.J., BAY, S.M., (1989), **Short and long-term sediment toxicity test methods with the amphipod *Grandidierella japonica***. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol 8, 1191-1200p.

PATCHNEELAM, S.M. *et al.* (2010) **A historical evaluation of antropogenic impact I coastal ecosystems by geochemical signatures**. *J. Braz. Chem. Soc.* Vol 00, nº00, 1-6p.

PIETZSCH, R., PATCHINEELAM, S.R., TORRES, J.P.M. **Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments from a subtropical estuary in Brazil**. *Marine Chemistry*, vol 118, pg 56-66, 2010.

PRÓSPERI, V.A., ARAÚJO, M.M.S. **Teste de toxicidade crônica com *Lytechinus variegatus* (Lamarck, 1986) e *Echinometra lucunter* (Linnaeus, 1758) (Echinodermata: Echinoidea)**. In: Nascimento, I., Sousa, E.C.P.M. & Nipper, M.G. (Eds.). **Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil (Cap. IX)**. Editora Artes Gráficas, Salvador, 163-1778, 2002.

PUSCEDDU, F.H. ALEGRE, G.F. PEREIRA, C.D.S. CESAR, A. (2007) **Avaliação da Toxicidade do Sedimento do Complexo Estuarino de Santos Empregando Ouriços-do-mar *Lytechinus variegatus* (Echinoidea: Echinodermata)**. *Jornal Brasileiro da Sociedade de Ecotoxicologia, SETAC-Brasil*, V. 2, n° 3, pg 237-242.

RIBEIRO, M.A.T.S.B. (2006). **Metais pesados (Al, Fe, Mn, Cr, Ni, Ti) no sedimentosuperficial do estuário de Guaratuba, PR**. Monografia de conclusão do curso de Oceanografia. Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 108p.

RUMBOLD, D. G. & SNEDAKER, S. C., (1997), **Evaluation of bioassays to monitor surface microlayer toxicity in tropical marine waters**. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, vol 32, n° 2, 135-140p.

SÁ F. MACHADO, E.C., ANGULO, R. *et al* (2004). **Arsenic and Heavy metals in Sediments near Paranaguá Port, Southern Brazil** *Journal of Coastal Research*, vol 391066 – 1068p.

SANDERS, C.J. *et al*. (2006) **Mercury flux to estuarine sediments, derived from Pb-210 and Cs-137 geochronologies (Guaratuba Bay, Brazil)**. *Marine Pollution Bulletin*, vol 52, 1085-1089p.

SANDERS, C.J. *et al*. (2008) **Contrasting mercury and manganese deposition in a mangrove-dominated estuary (Guaratuba bay, Brazil)**. *Geo. Mar.* vol 28, 239-244p.

SANTOS, I.R., BAISCH, P., LIMA, G.T.N.P. & SILVA FILHO, E.V. **Nutrients in surface sediments of Mirim Lagoon, Brazil-Uruguay border**. *Acta Limnologica Brasiliensia*, v. 16, n. 1, p. 85-94, 2004.

SEDNET (2004) **European Sediment Network**. SedNet 2002-2004. Disponível em: <http://www.sednet.org/2002-2004.htm>. Acessado em: 02 de outubro de 2010.

SEMA(2006). **Plano de Manejo da Área de Proteção Ambiental de Guaratuba**. Secretaria De Estado Do Meio Ambiente E Recursos Hídricos (SEMA). Instituto Ambiental Do Paraná. Programa Proteção Da Mata Atlântica – Pró-Atlântica/Paraná. Curitiba, Paraná.

SOTO, E. G. *et al*. (1994) **Extraction and speciation of inorganic arsenic in marine sediments**. *The Science of the Total Environment*. Vol 141, 87 – 91p.

STRICKLAND, J.I.H.; PARSONS, T.R. (1972). **A practical handbook of seawater analysis**. *Fish. Res. Board. Can. Bull.*, Ottawa, 167 pg.

SUGUIO, K. 1973. **Introdução à Sedimentologia**. Edgar Blücher, EDUSP, São Paulo. 317p.

SUTHERLAND, R.A. (2004) **Metal extraction from road-deposited sediments using nine partial decomposition procedures**. Applied Geochemistry, vol 19, 947–955p.

SWARTZ, R. C.; DeBEN, W. A.; JONES, J. K. P.; LAMBERSON, J. O. & COLE, F. A. 1985. **Phoxocephalid amphipod bioassay for marine sediment toxicity**. In: Symposium on Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, 7, Philadelphia, ASTM, p.284-307.

TODESCHINI, M. E. **Dinâmica espacial e temporal das características físicas e químicas do Rio Cubatão e ordenação espacial da bacia hidrográfica**. Curitiba, 2004. Dissertação (Mestrado em Geologia Ambiental), Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

TOYOTA et AL. (1982) **The determination of Mn, Fe, Ni, Cu and Zn in seawater by atomic absorption spectrometry after coprecipitation with lanthanum hydroxide**. Journal of the Oceanographical Society of Japan. Vol. 38, 357-361p.

USEPA. US Environmental Protection Agency. **Short-Term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to West Coast Marine and Estuarine Organisms**. EPA/600/R-95/136, US Environmental Protection Agency. Cincinnati, OH, 1995.

VAN CAPPELLEN, J. & WANG, Y. (1995). **Metal cycling in surface sediments: modeling the interplay of transport and reaction**. In: Metal contaminated aquatic sediments. ALLEN, H.E. (ed). Ann Arbor Press, Inc., cap. 2, p. 21-64.

WALKER, C.H. *et al.* (1996). **Principles of Ecotoxicology**. Londres: Taylor & Francis.

WANG et al. (2008) **Effects of organic matter on phosphorus release kinetics in different trophic lake sediments and application of transition state theory**. Journal of Environmental Management. vol 88, 845–852p.

ZAGATTO, P. A. BERTOLETTI, E. (2006) **Ecotoxicologia aquática: Princípios e aplicações**. São Carlos, Editora Rima 463p.

ZEM, R. C. (2005) **Dinâmica sedimentar da Baía de Guaratuba – PR. 87 f.. Universidade Federal do Paraná**. Monografia apresentada como requisito de conclusão de curso de Graduação em Oceanografia, UFPR. Pontal do Paraná.

ZEM, R.C.; MARONE, E.; PATCHINEELAM, S.M. (2005). **Síntesis comparativa de métodos de análisis granulométrico de sedimentos**. In: XXV Congreso De Ciencias Del Mar De Chile Y Xi Congreso Latino Americano De Ciencias Del Mar, Viña Del Mar, Chile. p. 211.

**ANEXOS**

Anexo 1 – Variáveis físico-químicas da água de fundo. Valores médios dos dados de 2008 e 2009

<b>Água de Fundo - Inverno (Médias 2008-2009)</b>					
<b>Ponto amostral</b>	<b>Profundidade (SD=1,1±)</b>	<b>Salinidade (SD=3,8±)</b>	<b>Temperatura (SD=0,96±)</b>	<b>pH (SD=0,13±)</b>	<b>OD mg.L<sup>-1</sup> (SD=0,13±)</b>
<b>G1</b>	1,5	6	19,25	7,305	6,807246054
<b>G2</b>	3,5	19	20	7,615	6,755256995
<b>G3</b>	2,5	21,5	19,75	7,625	6,859027613
<b>G4</b>	4,25	21	20	7,81	7,478538373
<b>G5</b>	1,75	23	18	7,725	7,379955453
<b>G6</b>	2,5	25	19,5	7,83	7,570811822
<b>G7</b>	6,75	31	20	7,925	7,163432784
<b>G8</b>	8,25	29,5	20	7,89	7,035062365
<b>G9</b>	3	24	19,5	7,655	7,054106605
<b>G10</b>	3,25	26	19,5	7,865	7,227427609
<b>G11</b>	6,75	34,5	20	8,075	7,834522455
<b>G12</b>	3,75	27,5	18	7,84	7,18692516
<b>G13</b>	2,75	30	18	7,91	7,214959819
<b>G14</b>	4	30,5	18,5	8,055	7,256717207

Anexo 2 – Variáveis físico-químicas da água de fundo no ano de 2010

<b>Ponto amostral</b>	<b>Prof. (m)</b>	<b>Temp(°C)</b>	<b>Salinidade</b>	<b>OD mg.L<sup>-1</sup></b>	<b>pH</b>
<b>G1</b>	1,5	20,5	8	6,002767	6,59
<b>G2</b>	2,3	21,5	15	4,992443	6,99
<b>G3</b>	2	22	21	4,972036	7,21
<b>G4</b>	3,5	21,5	22	5,284187	7,41
<b>G5</b>	1,2	21	17	6,33287	7,09
<b>G6</b>	2,4	22,2	30	6,782053	7,05
<b>G7</b>	3,7	21,7	26	2,887355	7,75
<b>G8</b>	7	22,5	30	6,006167	7,95
<b>G9</b>	3,3	22	32	6,840953	7,92
<b>G10</b>	1,8	22	29	5,467589	7,89
<b>G11</b>	4	23	33	5,890527	7,97
<b>G12</b>	10	22	31	5,791002	7,79
<b>G13</b>	1,5	22,5	20	6,324417	7,29
<b>G14</b>	5	22	30	6,044825	7,66

Anexo 3 - Resultados Sedimentológicos e Geoquímicos. Valores médios dos resultados de 2008 e 2009

<b>Ponto amostral</b>	<b>COT (mg/g)</b>	<b>MO (%)</b>	<b>PT (mg/Kg)</b>	<b>NT (mg/Kg)</b>	<b>Finos (%)</b>	<b>Carbonatos (%)</b>	<b>CN</b>	<b>CP</b>	<b>NP</b>
<b>G1</b>	21,38	2,92	1263,28	848,12	4,99	3,71	41,27391	45,04222	2,091214
<b>G2</b>	14,51	9,60	2518,19	1373,50	42,39	7,51	26,19168	14,12619	2,341791
<b>G3</b>	16,74	24,85	1225,19	1313,16	31,81	8,74	26,83537	36,74099	3,892535
<b>G4</b>	25,73	4,85	922,87	787,79	10,15	6,47	51,92226	75,97637	3,644632
<b>G5</b>	17,88	9,60	1973,94	1613,52	35,12	5,54	31,38802	24,03145	2,148168
<b>G6</b>	26,75	6,06	813,31	1491,23	15,75	5,57	43,20411	97,91576	4,042959
<b>G7</b>	22,59	3,00	751,03	349,04	10,09	6,34	68,11144	88,67565	1,183885
<b>G8</b>	19,91	2,83	803,59	954,75	6,55	4,94	35,18084	64,91458	2,81086
<b>G9</b>	22,26	2,60	472,78	369,08	4,63	2,18	65,10357	126,5465	1,002588
<b>G10</b>	17,60	4,60	903,48	589,57	19,65	6,09	34,09253	61,00049	2,362875
<b>G11</b>	24,55	2,76	60,53	197,73	2,11	2,18	340,7628	2756,528	5,852896
<b>G12</b>	13,18	5,49	2358,21	1096,31	33,48	9,54	19,74428	15,13692	1,516701
<b>G13</b>	18,16	5,71	884,85	208,39	17,13	10,55	121,1159	58,31237	0,150835
<b>G14</b>	20,63	2,86	812,68	294,45	4,30	2,76	84,83849	66,76039	0,363883

## Anexo 4 – Resultados Sedimentológicos e Geoquímicos do ano 2010

<b>Ponto amostral</b>	<b>Carbonatos (%)</b>	<b>Finos (%)</b>	<b>COT (mg/g)</b>	<b>PT (mg/kg)</b>	<b>MO (%)</b>	<b>NT (mg/Kg)</b>	<b>CN</b>	<b>CP</b>	<b>NP</b>
<b>G1</b>	2,943203071	5,318	23,76361	240,2167	7,014293	478,575	57,93077	255,5582	0,602989
<b>G3</b>	10,52579949	32,326	19,28148	458,013	27,21569	704,9951	31,90811	108,7535	0,28466
<b>G4</b>	13,22485207	18,16	35,43679	610,1953	6,122449	584,4165	70,74221	150,0258	0,580652
<b>G5</b>	12,59672838	6,465	36,92496	657,4062	5,437352	554,5348	77,68514	145,0997	0,660002
<b>G6</b>	8,331670325	55,157	19,58565	1651,239	19,75473	617,163	37,02413	30,64138	0,559235
<b>G7</b>	25,37213099	28,698	17,22098	871,1604	12,85714	437,7152	45,90003	51,06697	1,690178
<b>G8</b>	9,527107242	5,0662	28,79613	550,278	8,368421	502,5689	66,84751	135,1862	0,841447
<b>G9</b>	5,519833811	23,305	16,46263	625,2838	4,996035	635,0348	30,24464	68,01465	1,144756
<b>G10</b>	6,836091411	4,846	27,67783	131,0736	4,263158	369,777	87,32508	545,5032	2,201922
<b>G11</b>	5,389514944	21,055	28,20455	143,7904	7,630522	311,1197	105,7641	506,7219	0,756931
<b>G12</b>	0,283286119	2,3591	27,18253	269,0855	7,767762	208,6567	151,9862	260,9637	7,12984
<b>G13</b>	15,65432099	11,134	12,7242	1259,384	21,92216	607,6824	24,42872	26,10075	0,327253
<b>G14</b>	12,55458515	29,875	1,734548	1196,969	40,2635	636,5893	3,178877	3,743552	1,036882
<b>G15</b>	12,12268744	2,265	29,47714	323,4563	7,58056	195,2115	176,1679	235,4237	1,194048

Anexo 5 – Dados gerados no teste de substância de referência para ouriço do mar.

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
 USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
 Version 1.5

DSS

Proportion Conc. Responding	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls	Predicted
Control	100	5	0.0500	0.0000	0.0492
0.3200	100	19	0.1925	0.1507	0.1756
0.5600	100	35	0.3525	0.3190	0.2753
1.0000	100	41	0.4125	0.3821	0.4014
1.8000	100	57	0.5675	0.5451	0.5408
3.2000	100	69	0.6850	0.6687	0.6727

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 1.289  
 Chi - Square for Heterogeneity  
 (tabular value at 0.05 level) = 7.815

Mu = 0.180934  
 Sigma = 0.724876

Parameter	Estimate	Std. Err.	95% Confidence Limits	
Intercept	4.750393	0.074307	( 4.604751,	4.896035)
Slope	1.379546	0.192477	( 1.002291,	1.756801)
Spontaneous Response Rate	0.049187	0.021564	( 0.006921,	0.091454)

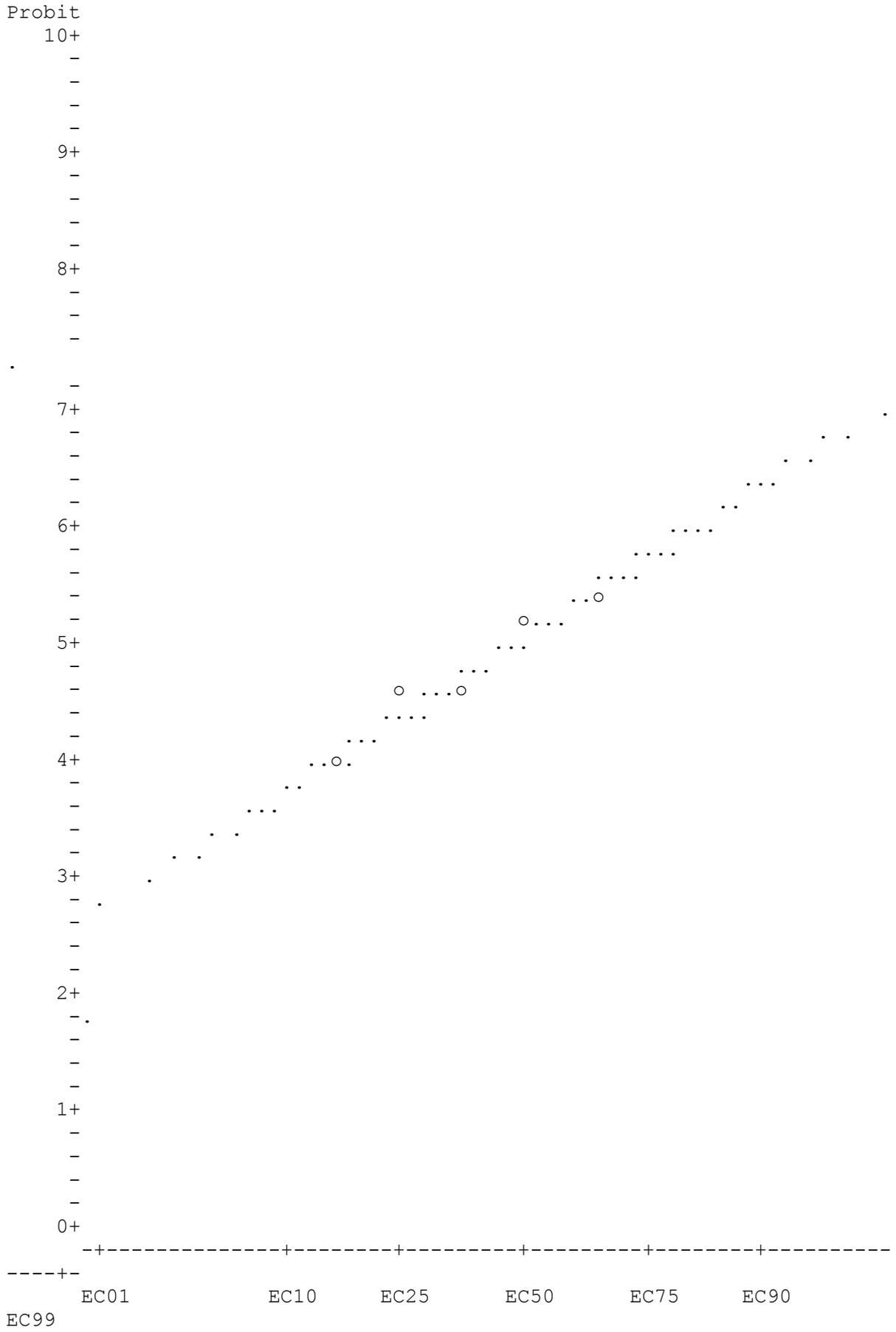
DSS

## Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.031	0.008	0.071
LC/EC 5.00	0.097	0.036	0.176
LC/EC 10.00	0.179	0.081	0.286
LC/EC 15.00	0.269	0.141	0.399
LC/EC 50.00	1.517	1.194	1.985
LC/EC 85.00	8.555	5.385	18.513
LC/EC 90.00	12.881	7.490	32.240
LC/EC 95.00	23.620	12.163	73.640
LC/EC 99.00	73.657	29.994	348.995

DSS

PLOT OF ADJUSTED PROBITS AND PREDICTED REGRESSION LINE



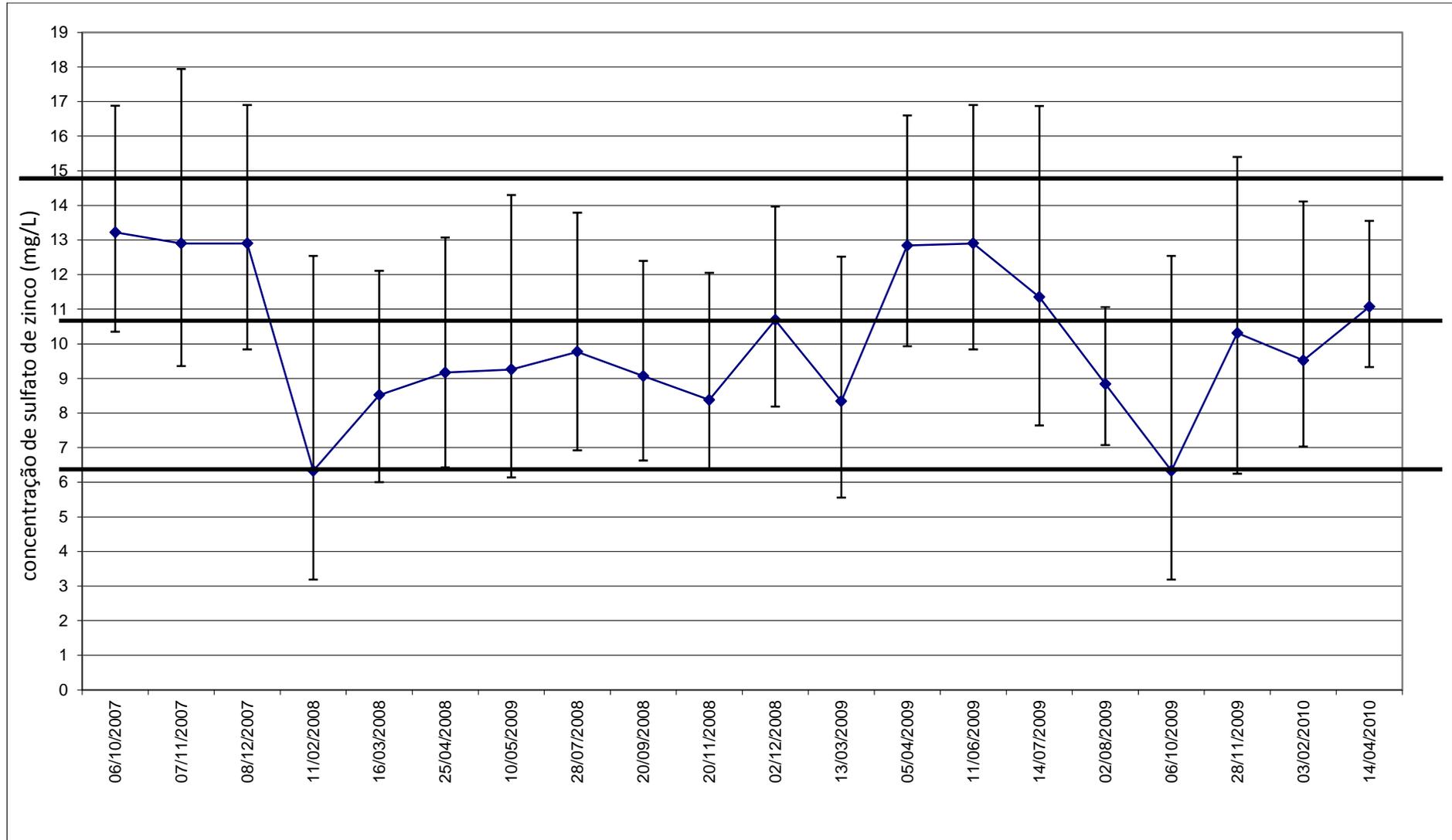
Anexo 6a – Resultados dos testes com larvas de ouriço do mar em cada ponto amostral de cada ano investigado. Valores médios de desenvolvimento larval normal (%) das réplicas.

	2008	2009	2010
<b>ContH2O</b>	85,33	96,67	96,33
<b>Contrede</b>	77,33	83,67	80,00
<b>G1</b>	1,67	3,00	6,00
<b>G2</b>	12,33	11,33	26,67
<b>G3</b>	24,00	25,67	25,33
<b>G4</b>	34,67	30,33	6,67
<b>G5</b>	25,67	27,00	16,67
<b>G6</b>	56,67	64,33	13,67
<b>G7</b>	61,67	64,67	19,00
<b>G8</b>	62,00	50,67	8,33
<b>G9</b>	3,33	5,00	44,00
<b>G10</b>	33,33	13,67	38,00
<b>G11</b>	32,67	25,00	30,00
<b>G12</b>	29,00	22,00	23,67
<b>G13</b>	0,67	13,67	6,00
<b>G14</b>	51,67	45,00	18,00

Anexo 6 – Resultados do teste com anfípoda em cada ponto amostral no ano de 2010. das médias do teste com anfípoda. Valores médios de mortalidade (%) nas réplicas.

Pontos amostrais	Média das réplicas
<b>G1</b>	20
<b>G2</b>	30
<b>G3</b>	23,33333
<b>G4</b>	26,66667
<b>G5</b>	56,66667
<b>G6</b>	65
<b>G7</b>	30
<b>G8</b>	63,33333
<b>G9</b>	86,66667
<b>G10</b>	86,66667
<b>G11</b>	86,66667
<b>G12</b>	60
<b>G13</b>	35
<b>G14</b>	40
<b>Controle</b>	93,33

Anexo 7 – Carta controle anfípoda.



## Anexo 8 – Classificação granulométrica 2008

	<b>Média</b>	<b>Classificação</b>	<b>Mediana</b>	<b>Seleção</b>	<b>Classificação</b>	<b>% Cascalho</b>	<b>% Areia</b>	<b>% Silte</b>	<b>% Argila</b>
<b>G1</b>	2,07	Areia fina	1,896	1,222	Pobrememente selecionado	0,02237	93,34	4,075	2,567
<b>G2</b>	4,321	Silte grosso	3,415	1,752	Pobrememente selecionado	0	60,71	34,81	4,481
<b>G3</b>	4,176	Silte grosso	3,361	2,016	Muito pobrememente selecionado	0,04584	67,46	26,53	5,972
<b>G4</b>	3,29	Areia muito fina	3,214	1,161	Pobrememente selecionado	0,2112	85,1	7,602	7,083
<b>G5</b>	5,292	Silte médio	4,786	2,04	Muito pobrememente selecionado	0,03876	43,14	41,99	14,83
<b>G6</b>	4,278	Silte grosso	3,232	1,902	Pobrememente selecionado	0	74,65	18,06	7,294
<b>G7</b>	3,029	Areia muito fina	3,059	0,7765	Moderadamente selecionado	3,853	92,31	1,506	2,328
<b>G8</b>	3,026	Areia muito fina	3,035	0,9915	Moderadamente selecionado	0,137	91,81	4,034	4,015
<b>G0</b>	1,989	Areia média	1,929	0,4121	Bem selecionado	0,0358	97,93	1,074	0,9627
<b>G10</b>	1,806	Areia média	1,798	0,3604	Bem selecionado	0	95,92	2,51	1,568
<b>G11</b>	2,864	Areia fina	2,816	0,3274	Muito bem selecionado	0	97,17	1,322	1,509
<b>G12</b>	4,462	Silte grosso	3,237	2,135	Muito pobrememente selecionado	1,079	71,37	14,74	12,81
<b>G13</b>	2,546	Areia fina	2,642	1,538	Pobrememente selecionado	0,8942	88,57	5,764	4,773
<b>G14</b>	2,381	Areia fina	2,303	0,5296	Moderadamente selecionado	2,606	93,94	2,116	1,344

## Anexo 9 – Classificação granulométrica 2009

	<b>Média</b>	<b>Classificação</b>	<b>Mediana</b>	<b>Seleção</b>	<b>Classificação</b>	<b>% Cascalho</b>	<b>% Areia</b>	<b>% Silte</b>	<b>% Argila</b>
<b>G1</b>	2,075	Areia fina	1,968	0,851	Moderadamente selecionado	0,1044	96,56	2,385	0,9519
<b>G2</b>	4,547	Silte grosso	3,804	1,684	Pobrememente selecionado	0,2827	54,22	39,03	6,463
<b>G3</b>	4,163	Silte grosso	3,443	1,659	Pobrememente selecionado	0,1286	68,76	26,63	4,485
<b>G4</b>	3,138	Areia muito fina	3,183	0,4844	Bem selecionado	0	94,39	3,877	1,729
<b>G5</b>	3,446	Areia muito fina	3,345	0,7912	Moderadamente selecionado	0	86,57	11,59	1,836
<b>G6</b>	2,825	Areia fina	2,867	1,267	Pobrememente selecionado	8,137	85,72	4,641	1,5
<b>G7</b>	3,532	Areia muito fina	3,332	0,9208	Moderadamente selecionado	0,4628	83,19	14,9	1,444
<b>G8</b>	3,192	Areia muito fina	3,223	0,3779	Bem selecionado	0,01714	94,92	4,597	0,4638
<b>G9</b>	2,79	Areia fina	2,755	0,6523	Moderadamente selecionado	0,2935	92,48	6,015	1,211
<b>G10</b>	4,34	Silte grosso	3,43	1,726	Pobrememente selecionado	0	64,78	29,15	6,073
<b>G11</b>	2,943	Areia fina	2,91	0,3651	Bem selecionado	0	98,62	0,4242	0,957
<b>G12</b>	4,136	Silte grosso	3,476	1,316	Pobrememente selecionado	0	60,6	37,43	1,97
<b>G13</b>	1,612	Areia média	1,327	2,498	Muito pobrememente selecionado	20,14	56,15	22,19	1,527
<b>G14</b>	2,95	Areia fina	2,894	0,4443	Bem selecionado	0,04052	94,82	4,333	0,8024

## Anexo 10 – Classificação granulométrica 2010

	<b>Média</b>	<b>Classificação</b>	<b>Mediana</b>	<b>Seleção</b>	<b>Classificação</b>	<b>% Cascalho</b>	<b>% Areia</b>	<b>% Silte</b>	<b>% Argila</b>
<b>G1</b>	2,221	Areia fina	2,229	1,057	Pobrememente selecionado	0	94,68	3,162	2,156
<b>G2</b>	4,062	Silte grosso	3,417	1,352	Pobrememente selecionado	0,2051	67,47	28,03	4,296
<b>G3</b>	3,573	Areia muito fina	3,292	1,269	Pobrememente selecionado	0	81,84	16,46	1,7
<b>G4</b>	3,178	Areia muito fina	3,167	0,6154	Moderadamente selecionado	0	93,54	4,471	1,994
<b>G6</b>	5,02	Silte médio	5,055	1,627	Pobrememente selecionado	0,442	44,4	49,32	5,837
<b>G6</b>	4,242	Silte grosso	3,388	1,446	Pobrememente selecionado	0,2234	71,08	24,93	3,768
<b>G7</b>	2,893	Areia fina	3,143	1,149	Pobrememente selecionado	7,363	87,57	4,174	0,8922
<b>G8</b>	3,81	Areia muito fina	3,129	1,547	Pobrememente selecionado	1,268	75,42	19,29	4,015
<b>G9</b>	2,619	Areia fina	2,663	0,4648	Bem selecionado	0	95,15	3,843	1,003
<b>G10</b>	3,805	Areia muito fina	3,204	1,375	Pobrememente selecionado	0,1337	78,81	16,58	4,475
<b>G11</b>	2,62	Areia fina	2,65	0,4875	Bem selecionado	0,2359	97,4	0,9781	1,381
<b>G12</b>	3,213	Areia muito fina	3,213	0,7368	Moderadamente selecionado	0,3214	88,55	9,121	2,013
<b>G13</b>	4,1	Silte grosso	3,436	1,521	Pobrememente selecionado	0,6107	69,51	24,8	5,075
<b>G14</b>	2,952	Areia fina	2,932	0,3932	Bem selecionado	1,633	96,1	0,882	1,383

