

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Fernanda Maria de Souza

EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO POR METAIS NA MACROFAUNA BÊNICA
DE AMBIENTES ESTUARINOS

Pontal do Paraná

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CENTRO DE ESTUDOS DO MAR
PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS COSTEIROS E OCEÂNICOS

Fernanda Maria de Souza

EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO POR METAIS NA MACROFAUNA BÊNICA
DE AMBIENTES ESTUARINOS

Tese apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Doutora em Sistemas
Costeiros e Oceânicos, Universidade Federal do
Paraná.

Orientadores: Dr. Maurício G. Camargo

Dra. Eunice C. Machado

Linha de Pesquisa: Biologia e Ecologia de
Sistemas Costeiros e Oceânicos

Pontal do Paraná

2016

CATALOGAÇÃO NA FONTE:
UFPR / SiBi - Biblioteca do Centro de Estudos do Mar
Liliam Maria Orquiza - CRB-9/712

S729e Souza, Fernanda Maria de
Efeitos da contaminação por metais na macrofauna bêntica de ambientes estuarinos.
/ Fernanda Maria de Souza. – Pontal do Paraná, 2016.
89 f.; 29 cm.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Garcia de Carmargo.
Co-orientadora: Profª. Drª. Eunice da Costa Machado.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e
Oceânicos, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal
do Paraná.

1. Sedimentos. 2. Poluição. 3. Metais traço. 4. Qualidade ambiental. 5. Estressores
ambientais. 6. Experimento manipulativo de campo. I. Título. II. Camargo, Maurício
Garcia de. III. Machado, Eunice da Costa. IV. Universidade Federal do Paraná.

CDD 551.3



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Setor CIÊNCIAS DA TERRA
Programa de Pós Graduação em SISTEMAS COSTEIROS E OCEÂNICOS
Código CAPES: 40001016054P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em SISTEMAS COSTEIROS E OCEÂNICOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Tese de Doutorado de **FERNANDA MARIA DE SOUZA**, intitulada: "**Efeitos da contaminação por metais na macrofauna bêntica de ambientes estuarinos**", após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO.

Pontal do Paraná, 30 de Setembro de 2016.

MAURÍCIO GÁRCIA DE CAMARGO

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

LEONARDO SANDRINI NETO

Avaliador Interno (UFPR)

MARCO TADEU GRASSI

Avaliador Externo (UFPR)

PAULO DA CUNHA LANA

Avaliador Interno (UFPR)

KATIA NAOMI KUROSHIMA

Avaliador Externo (UNIVALI)

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Dr. Maurício Camargo e Dra. Eunice Machado, pelo apoio intelectual, pessoal e pela compreensão durante o árduo processo de concepção, execução e finalização deste trabalho.

Aos membros da banca: Prof. Marco Grassi, Katia Kuroshima, Paulo Lana e Leonardo Sandrini por aceitar avaliar este trabalho e contribuir para o melhor desenvolvimento do mesmo.

Ao professor Paulo Lana por todo apoio, conselhos e inspiração, e por me conceder livre acesso ao Laboratório de Bentos, sem o qual eu não poderia finalizar meu trabalho.

Aos professores César Martins, Marco Grassi, Guilherme Sippel, Renata Nagai e Henry Spach por me permitirem acesso aos seus laboratórios e equipamentos, solução de dúvidas e aconselhamentos durante o desenvolvimento desta tese.

Ao professor Luciano Lorenzi e à equipe do Laboratório de Bentologia – UNIVILLE pela parceria nas coletas e processamento de amostras da Babitonga.

Aos professores Leonardo Sandrini e Maikon Di Domênico pelo companheirismo no LAMEC 2.0 e também fora dele.

Ao PGSISCO pela oportunidade de realização deste projeto. A CAPES, CNPq, Fundação Araucária e Paranaguá Pilots pelo apoio financeiro, concessão de bolsas e financiamento de projetos, sem o qual este trabalho não seria viável.

Aos marinheiros do Centro de Estudos do Mar, Abrão, Josias, Mota, Roney e aos funcionários do Centro de Estudos do Mar.

Aos companheiros de coletas, laboratório e lupa: Eliandro, Gustavo, Andriely, Natiely, Ana Lúcia, Mihael, Moara, Wellington, Thayanne, Nálita, Lucas, Vitor, Vanessa, Morgana, Loana.

Ao Eliandro, meu companheiro de todos os momentos. Com você minha vida ficou mais simples, mais alegre, mais madura. Meus sonhos ficaram mais palpáveis, o meu chão mais sólido e o meu espírito mais livre. Amo você.

À minha família por me ensinar, desde sempre, a importância do aprendizado, do ambiente escolar, da figura do professor e a buscar e valorizar todo o conhecimento que me fosse oferecido.

Resumo

A contaminação por espécies metálicas no ambiente marinho tem se tornado um problema recorrente em muitos países. Uma vez no ambiente aquático, os metais são depositados nos sedimentos, gerando uma fonte potencial de contaminantes, mesmo após a desativação da fonte primária de poluição. Se biodisponíveis, os compostos metálicos podem ser absorvidos pelos organismos através de suas mucosas e membranas, impedindo o funcionamento metabólico normal de proteínas e moléculas. As consequências da exposição de organismos marinhos a altos teores de metais incluem alterações fisiológicas e genéticas, dependendo do grau de toxicidade do elemento contaminante. Este trabalho busca aplicar uma abordagem integrada para avaliação da contaminação por metais nos sedimentos de ambientes estuarinos e seus efeitos sobre as associações macrobênticas. Os objetivos deste trabalho são: (i) determinar o grau e a extensão da contaminação por metais em um estuário subtropical (ii) analisar a estrutura das associações macrobênticas em ambientes submetidos a diferentes estressores ambientais; (iii) estabelecer relações de causalidade entre a contaminação por metais e alterações na estrutura associações bênticas. O estudo consiste em três capítulos: 1- Geospatial assessment of trace metal pollution in surface sediments of a subtropical estuary; 2- Relações entre a estrutura das comunidades macrobênticas estuarinas e múltiplos estressores ambientais; 3- Efeitos da contaminação por Cobre e Zinco na macrofauna bêntica de baixios entremarés: um experimento manipulativo de campo. Com os resultados deste trabalho pudemos concluir que a Baía da Babitonga está sob um grau moderado de contaminação por Cromo, Cobre, Níquel e Zinco, que apresentaram valores entre TEL e PEL principalmente nas áreas internas, com baixa hidrodinâmica e maiores taxas de sedimentação, fatores que favorecem a acumulação de contaminantes associados ao material particulado em suspensão. Para a macrofauna bêntica, concluímos que tanto as características hidrodinâmicas e os teores de nutrientes como o gradiente de contaminação por metais pesados são importantes estruturadores da comunidade. Espécies reconhecidamente tolerantes ao enriquecimento orgânico, como o poliqueta *Prionospio steenstrupi*, e Oligochaetas apresentaram sensibilidade ao aumento das concentrações de metais, mostrando que os mecanismos de danos causados pela contaminação por metais podem ser muito diferentes dos mecanismos ativados pela contaminação orgânica. Ao final deste trabalho, foi possível identificar os efeitos do aumento das concentrações de metais, em especial de cobre e zinco sobre a estrutura das comunidades sublitorais da Baía da Babitonga e sobre a abundância de organismos em baixios entremarés, especialmente poliquetas e oligoquetas. Estas observações podem ser utilizadas para demonstrar a causalidade entre a contaminação dos sedimentos estuarinos por metais pesados e efeitos negativos sobre a abundância de organismos bênticos, mesmo aqueles considerados tolerantes à poluição.

Palavras-chave: Sedimentos; poluição; metais traço; qualidade ambiental; estressores ambientais; experimento manipulativo de campo.

Abstract

Metal contamination in marine environment has become a common issue in several countries. Once in the aquatic environment, metals are deposited in the sediments, becoming a potential contamination source, even after the primary source of pollution is deactivated. When bioavailable, metal compounds can be absorbed by organisms through their mucous and membranes, interfering with the metabolic functioning of proteins and molecules. High metal exposure may lead to physiological and genetic alterations, depending on the element toxicity. In this work we applied an integrated approach to evaluate metal contamination in estuarine sediments and the effects on macrobenthic organisms. The aim of this study was: (i) establish the degree and extent of metal contamination at Babitonga Bay, a subtropical estuary; (ii) assess the structure of macrobenthic assemblages under multiple environmental stressors; (iii) establish the causal relationships between metal contamination and structural changes in benthic assemblages. This thesis contains three chapters: 1- Geospatial assessment of trace metal pollution in surface sediments of a subtropical estuary; 2- Relations between estuarine macrobenthic communities structure and environmental stressors; 3- Effects of Copper and Zinc contamination on tidal flats benthic macrofauna: a field manipulative experiment. Our results suggest that Babitonga Bay is under a moderate contamination by Chromium, Copper, Nickel and Zinc, with sediment concentrations between TEL and PEL especially at internal areas, which presents low hydrodynamics and higher sedimentation rates, favoring deposition and accumulation of contaminants associated with suspended particulate. For the benthic macrofauna, we concluded that hydrodynamics, organic matter and trace metals contamination gradients are important community structurers. Widely known organic enrichment tolerant species, as the polychaete *Prionospio steenstrupi* and Oligochaetes appears to be sensitive to increasing concentrations of metals, an indicative that damage mechanisms linked to metal contamination might be very different from the ones triggered by organic contamination. We were also able to identify the effects of increasing concentrations of metals, particularly copper and zinc on the structure of subtidal communities of Babitonga Bay and on the abundance of intertidal organisms, especially polychaetes and oligochaetes. Our observations highlight the causal link between contamination of estuarine sediments by trace metals and the negative effects on abundance of benthic organisms, even those considered tolerant to pollution.

Key words: sediments; trace metal pollution; benthic estuarine health; environmental stressors; manipulative field experiment.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	8
Referências.....	10
CAPÍTULO 1	13
Geospatial assessment of trace metal pollution in surface sediments of a subtropical estuary	13
Abstract	13
Introduction	14
Materials and methods	15
Results and discussion.....	19
References.....	27
CAPÍTULO 2	36
Relações entre a estrutura das comunidades macrobênticas estuarinas e múltiplos estressores ambientais.....	36
Resumo.....	36
Introdução.....	37
Materiais e Métodos	38
Resultados.....	43
Discussão.....	51
Referências.....	55
CAPÍTULO 3	61
Efeitos da contaminação por Cobre e Zinco na macrofauna bêntica de baixios entremarés: um experimento manipulativo de campo.....	61
Resumo.....	61
Introdução.....	62
Materiais e métodos	63
Resultados.....	69
Discussão.....	77
Referências.....	80
CONCLUSÃO GERAL.....	86
Referências.....	88

INTRODUÇÃO GERAL

Com a crescente urbanização e consequente industrialização das regiões costeiras, a contaminação por espécies metálicas no ambiente marinho tem se tornado um problema recorrente em muitos países (Pan e Wang, 2012; Machado et al., 2016). As maiores fontes de poluição por metais em sistemas aquáticos incluem o processamento industrial de minérios, lixiviação de lixões e áreas agrícolas, queima de combustíveis fósseis, deposição atmosférica e despejo de efluentes domésticos e industriais (Bryan, 1976; Kennish, 2002).

Uma vez no ambiente aquático, os metais associam-se ao material particulado em suspensão tais como oxi-hidróxidos de ferro e manganês, e são depositados nos sedimentos, formando reservatórios relativamente estáveis (Salomons et al., 1987). Quando adsorvidos, os metais tornam-se menos biodisponíveis; no entanto, as camadas superficiais dos sedimentos são um compartimento ativo e estes elementos podem ser reprocessados e disponibilizados em solução. Este processo torna os sedimentos uma fonte potencial de contaminantes, mesmo após a desativação da fonte primária de poluição (Chapman et al., 1999; Burton, 2002).

A biodisponibilidade dos metais nos sedimentos marinhos depende da sua forma química e das características físico-químicas dos sedimentos. Se biodisponíveis, os compostos metálicos podem ser absorvidos pelos organismos através de suas mucosas e membranas. Como consequência, os níveis de metais presentes nos sedimentos podem ser diferentes daqueles observados nos organismos, dificultando o estabelecimento de relações de causalidade entre atividades humanas e os impactos sobre os ecossistemas costeiros (Tessier e Campbell, 1987; Alam et al., 2010).

Os níveis de metais na biota dependem do tipo de exposição, status fisiológico, especiação química dos elementos e ciclo de vida da espécie (Fattorini et al., 2005). Os invertebrados aquáticos acumulam metais em seus tecidos, sejam elementos essenciais ao metabolismo ou não, a partir da água intersticial, sedimentos adjacentes ou do alimento (Eisler, 1981; Kalman et al., 2014). A proporção de cada via de acumulação depende da biodisponibilidade dos metais, da dieta e hábitos de vida do organismo. Desta forma, espécies diferentes vivendo no mesmo habitat acumulam elementos em

diferentes concentrações e em partes distintas do corpo (Keil et al., 2008; Phillips e Rainbow, 1993; Zauke et al., 2003).

Os metais apresentam afinidade com enxofre e nitrogênio, elementos comuns em muitas proteínas e aminoácidos. Devido a essa afinidade, há uma variedade de sítios de ligação para os metais no interior das células, o que pode impedir o funcionamento metabólico normal de proteínas e moléculas e tornando-os potencialmente tóxicos (Rainbow, 1997). A concentração de metais acumulados nos organismos pode ser dividida em duas categorias: metais metabolicamente disponíveis e metais detoxificados (que não desempenham papel metabólico, essencial ou deletério). Os efeitos tóxicos dependem da concentração de metal bioacumulado na forma metabolicamente disponível. A toxicidade ocorre quando a taxa de assimilação excede as taxas de excreção e detoxificação combinadas e os efeitos tóxicos ocorrem quando há um acúmulo excessivo de metais na forma metabolicamente disponível (Rainbow, 2002; Rainbow, 2007; Rainbow e Luoma, 2011; Tan e Wang, 2012).

As consequências da exposição de organismos bênticos ou pelágicos a altos teores de metais incluem alterações fisiológicas e genéticas, dependendo do grau de toxicidade do elemento contaminante (Rainbow e White, 1989; Rainbow e Phillips, 1993). Para diferenciar o efeito dos impactos humanos da variabilidade natural, é necessário conhecer as concentrações de referência dos metais e as suas flutuações nos organismos, bem como compreender as estratégias de acumulação e detoxificação dos organismos estudados (Luoma e Rainbow, 2005).

A integração das respostas dos organismos bênticos à contaminação representa um componente relevante na avaliação da qualidade dos sedimentos (Morales-Caselles et al., 2008, 2009; Fukunaga et al., 2011). Entretanto, para que se possam obter boas respostas sobre o grau, fonte, e extensão da contaminação por metais, é importante utilizar mais de uma espécie com ampla distribuição na área de estudo (Luoma e Rainbow, 2008).

Neste contexto, a utilização de organismos bênticos é particularmente interessante, pois apresentam alta abundância, baixa mobilidade, além de desempenharem papel chave na teia trófica local, promovendo a transferência dos contaminantes para níveis mais altos da cadeia, e nos processos sedimentares (Ruus et al., 2002, 2005; Baird et al., 2007; Boyle et al., 2008). A quantificação dos

contaminantes nos organismos bênticos pode ser um indicador eficiente da qualidade ambiental, pois representa uma medida integrada de todas as fontes biodisponíveis ao organismo em um determinado período de tempo (Rainbow, 2006; Galassi et al., 2008).

Este trabalho busca aplicar uma abordagem integrada para avaliação da contaminação por metais nos sedimentos de ambientes estuarinos e seus efeitos sobre as associações macrobênticas. Os objetivos desta tese são: (i) determinar o grau e a extensão da contaminação por metais em um estuário subtropical (ii) analisar a estrutura das associações macrobênticas em ambientes submetidos a diferentes estressores ambientais; (iii) estabelecer relações de causalidade entre a contaminação por metais e alterações na estrutura associações bênticas. O estudo consiste em três capítulos: 1- Geospatial assessment of trace metal pollution in surface sediments of a subtropical estuary; 2- Relações entre a estrutura das comunidades macrobênticas estuarinas e múltiplos estressores ambientais; 3- Efeitos da contaminação por Cobre e Zinco na macrofauna bêntica de baixios entremarés: um experimento manipulativo de campo.

Referências

Alam, M.A., Gomes, A., Sarkar, S.K., Shuvaeva, O. V, Vishnevetskaya, N.S., Gustaytis, M.A., Bhattacharya, B.D., Godhantaraman, N., 2010. Trace metal bioaccumulation by soft-bottom polychaetes (Annelida) of Sundarban Mangrove Wetland, India and their potential use as contamination indicator. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85, 492–6.

Baird, D.J., Brown, S.S., Lagadic, L., Liess, M., Maltby, L., Moreira-Santos, M., Schulz, R., Scott, G.I., 2007. In situ-based effects measures: determining the ecological relevance of measured responses. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3, 259–67.

Boyle, D., Brix, K. V., Amlund, H., Lundebye, A.-K., Hogstrand, C., Bury, N.R., 2008. Natural Arsenic Contaminated Diets Perturb Reproduction in Fish. *Environmental Science & Technology*, 42, 5354–5360.

Bryan, G.W., 1976. Heavy Metal Contamination in the Sea, in: Johnston, R. (Ed.), *Marine Pollution*. Academic Press, p. 729.

Burton, G.A., 2002. Sediment quality criteria in use around the world. *Limnology* 3, 65–75.

Chapman, P.M., Wang, F., Adams, W.J., Green, A., 1999. Appropriate Applications of Sediment Quality Values for Metals and Metalloids Policy Analysis Appropriate Applications of Sediment Quality Values for Metals and Metalloids. *Environmental Science & Technology*, 33, 3937–3941.

Eisler, R., 1981. Trace metal concentrations in marine organisms. Pergamon Press, New York.

Fattorini, D., Notti, A., Halt, M.N., Gambi, M.C., Regoli, F., 2005. Levels and chemical speciation of arsenic in polychaetes: a review. *Marine Ecology*, 26, 255–264.

Fukunaga, A., Anderson, M.J., Webster-Brown, J.G., 2011. Assessing the nature of the combined effects of copper and zinc on estuarine infaunal communities. *Environmental Pollution*, 159, 116–24.

Galassi, S., Bettinetti, R., Neri, M.C., Jeannot, R., Dagnac, T., Bristeau, S., Sakkas, V., Albanis, T., Boti, V., Valsamaki, T., Falandysz, J., Schulte-Oehlmann, U., 2008. A multispecies approach for monitoring persistent toxic substances in the Gulf of Gdańsk (Baltic sea). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69, 39–48.

Kalman, J., Smith, B.D., Bury, N.R., Rainbow, P.S., 2014. Biodynamic modelling of the bioaccumulation of trace metals (Ag, As and Zn) by an infaunal estuarine invertebrate, the clam *Scrobicularia plana*. *Aquatic Toxicology*, 154, 121–130.

Keil, S., Broyer, C., Zauke, G.-P., Vautier, R., Ocean, S., Sea, W., 2008. Significance and Interspecific Variability of Accumulated Trace Metal Concentrations in Antarctic Benthic Crustaceans. *Int. Rev. Hydrobiologia*, 93, 106–126.

Kennish, M. J. 2002. Environmental threats and environmental future of estuaries. *Environmental Conservation*, 29(1), 78–107.

Luoma, S.N., Rainbow, P.S., 2008. Metal contamination in aquatic environments: science and lateral management. Cambridge University Press, Cambridge.

Luoma, S.N., Rainbow, P.S., 2005. Why Is Metal Bioaccumulation So Variable? Biodynamics as a Unifying Concept. *Environmental Science & Technology*, 39, 1921–1931.

Machado, A. A. S., Spencer, K., Kloas, W., Toffolon, M., & Zarfl, C. 2016. Metal fate and effects in estuaries: A review and conceptual model for better understanding of toxicity. *Science of the Total Environment*, 541, 268–281.

Morales-Caselles, C., Ramos, J., Riba, I., DelValls, T.Á., 2008. Using the polychaete *Arenicola marina* to determine toxicity and bioaccumulation of PAHS bound to sediments. *Environmental Monitoring and Assessment*, 142, 219–226.

Morales-Caselles, C., Riba, I., DelValls, T.Á., 2009. A weight of evidence approach for quality assessment of sediments impacted by an oil spill: The role of a set of biomarkers as a line of evidence. *Marine Environmental Research*, 67, 31–37.

Pan, K., & Wang, W.-X. 2012. Trace metal contamination in estuarine and coastal environments in China. *Science of the Total Environment*, 421–422, 3–16.

Phillips, D.J.H., Rainbow, P.S., 1993. Biomonitoring of trace aquatic contaminants, 2nd ed. Chapman & Hall, London.

Rainbow, P., 2006. Biomonitoring of trace metals in estuarine and marine environments. *Australas. J. Ecotoxicol.* 12, 107–122.

Rainbow, P.S., 2007. Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. *Environment International*, 33, 576–82.

Rainbow, P.S., 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution*, 120, 497–507.

Rainbow, P.S., 1997. Trace metal accumulation in marine invertebrates: marine biology or marine chemistry? *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 77, 195–210.

Rainbow, P.S., Luoma, S.N., 2011. Metal toxicity, uptake and bioaccumulation in aquatic invertebrates—Modelling zinc in crustaceans. *Aquatic Toxicologist*, 105, 455–465.

Rainbow, P.S., Phillips, D.J.H., 1993. Cosmopolitan biomonitors of trace metals. *Marine Pollution Bulletin*, 26, 593–601.

Rainbow, P.S., White, S.L., 1989. Comparative strategies of heavy metal accumulation by crustaceans: zinc, copper and cadmium in a decapod, an amphipod and a barnacle. *Hydrobiologia* 174, 245–262.

Ruus, A., Schaanning, M., Oxnevad, S., Hylland, K., 2005. Experimental results on bioaccumulation of metals and organic contaminants from marine sediments. *Aquatic Toxicology*, 72, 273–92.

Ruus, A., Uglund, K.I., Skaare, J.U., 2002. Influence of trophic position on organochlorine concentrations and compositional patterns in a marine food web. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 2356–2364.

Salomons, W., Rooij, N.M., Kerdijk, H., Bril, J., 1987. Sediments as a source for contaminants? *Hydrobiologia* 149, 13–30.

Tan, Q.-G., Wang, W.-X., 2012. Two-compartment toxicokinetic-toxicodynamic model to predict metal toxicity in *Daphnia magna*. *Environmental Science and Technology*, 46, 9709–15.

Tessier, A., Campbell, P.G.C., 1987. Partitioning of trace metals in sediments: Relationships with bioavailability. *Hydrobiologia* 149, 43–52.

Zauke, G.-P., Clason, B., Savinov, V.M., Savinova, T., 2003. Heavy metals of inshore benthic invertebrates from the Barents Sea. *Science of the Total Environment*, 306, 99–110.

CAPÍTULO 1

Geospatial assessment of trace metal pollution in surface sediments of a subtropical estuary

Autores: Fernanda M. Souza; Eliandro R. Gilbert; Eunice C. Machado; Luciano Lorenzi; Mauricio G. Camargo

Abstract

Marine sediments can provide useful environmental and geochemical information to research on marine pollution. Coastal regions are the final destination of human inland byproducts and potential reservoirs of metals, pesticides and other chemical compounds. Using Gaussian kriging interpolation, we assessed the levels and spatial distribution of total trace metals in 35 surface sediment samples of Babitonga Bay, a subtropical estuary, to determine the extent of total trace metal contamination and identify critical areas and potential anthropogenic sources. Metal concentrations did not exceed PEL levels, suggesting that, for these elements, there is no proved toxicity of sediments for the biota. Nevertheless, a large area presented concentrations between TEL and PEL levels, when adverse effects are possible and may occur occasionally. Although none of the 35 sampling sites were considered highly contaminated, higher metal (Cr, Cu, Ni, Pb and Zn), organic matter, total phosphorus concentrations and fine-grained sediments were found along the internal areas, particularly near industrialized zones. Considering that the major effluent inputs occur in a low hydrodynamics and depositional zone, the tendency to accumulate toxic compounds such as trace metals, pesticides, hydrocarbons and fecal sterols are magnified. Therefore, industrial and domestic wastewater treatment should be a priority to local government in order to prevent further environmental pressures and the resulting impacts.

Introduction

Coastal regions are the final destination of human inland byproducts and potential reservoirs of metals, pesticides and other chemicals (Chapman et al. 2002; Yamamuro and Kanai 2005). Although metals are naturally found in all ecosystems, its presence and concentration in the marine environment have been drastically increased due to human activities (Béthoux et al. 1990; Szefer et al. 1999). Contrary to organic pollutants that can be degraded into less toxic components through biological and chemical processes, metals are considered not degradable and metal pollution can incur into degradation of ecosystems that demand a variety of restoration efforts (Fairbrother et al. 2007). Toxic metals can be assimilated by organisms and, once inside the food web, be transferred to higher trophic levels. This can cause adverse effects in humans due to the consumption of contaminated food (Bryan et al. 1979; Ip et al. 2004; Morton and Blackmore 2001).

Marine sediments can provide useful environmental and geochemical information to research on marine pollution. Sediments act as a sink for metals, pesticides and other toxic substances as they adsorb these pollutants into suspended material and deposit them on the bottom, usually associated with the cohesive sediment fraction (silts and clay particles), which enables an integrated analyses of the ecosystem's health (Bartram and Ballance 1996; Burton and Scott 1992; Ellis et al. 2015). Metals concentration can vary from region to region, and adsorbed contaminants can be released to the water column through diffusion, resuspension and bioturbation, playing a significant role as a secondary contamination source (Aleksander-Kwaterczak and Helios-Rybicka 2009; Scheuhammer et al. 2007).

Assessing sediment quality is more complex than assessing water quality due to site-specific sediment characteristics, such as siltation, bioavailability, sorption kinetics, deposition and erosion, which do not influence the overlaying water column (Caeiro et al. 2005; Calmano and Forstner 1996). The cohesive sediment fraction (<63 μm) has the highest surface area-to-grain size ratio and humic substances content, as well as the main geochemical metallic ions' carriers among grain sizes, culminating on the higher concentrations of adsorbed metals (Forstner 1990; Moore et al. 1989). Also, metals in this sediment fraction are more easily available to biological organisms than those in the bulk sediments (Bryan and Langston 1992; Everaarts and Fischer 1992). Therefore, it is

important to evaluate the metal contamination in sediments and distinguish between human contribution and natural metal levels to establish adequate prevention and/or restoration programs (Chapman and Wang 2001; Machado et al. 2016).

Babitonga Bay is an important Brazilian estuary, which depicts a historical record of metal contamination due to untreated sewage discharge, industrial disposals, and harbor activities. Only 16% of the domestic sewages produced by the neighboring cities receive partial treatment, while the rest is dumped without any treatment (Grace et al. 2008; IBGE 2011). Domestic sewage contamination and linear alkylbenzene (LAB) concentrations were found close to the major urban areas (Martins et al. 2014), as well as the presence of TBT on sediments and organisms close to harbor regions (Oliveira et al. 2010, Rossato et al. 2016). Harbor expansion at the estuary's shore is another environmental stress factor due to dredging of navigational channels, acting as potential sources of resuspended contaminants from sediments into the water column and to the surrounding areas (Silveira et al, 2012; Roberts, 2012).

In the present study, we assessed the levels and spatial distribution of Co, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in surface sediments of Babitonga Bay through field measurements and gaussian kriging interpolation to determine the extent of metal contamination. Furthermore, we assess the relationship between metals distribution and sediment physico-chemicals characteristics and identify the potential anthropogenic sources of contamination.

Materials and methods

Study area and sampling procedures

Babitonga Bay (26°15'S; 48°40'W) cover approximately 160 km² of surface water as part of a large hydrographic complex with an area of 1400 km² (Fig. 1) (DNIT/IME, 2004). The inner section presents lower depths (4 meters in average) with large tidal flats and receives domestic and industrial sewage from urban areas while the main channel (3.8 Km wide and 28 meters maximum depth) connects the estuary to the Atlantic Ocean (Barros et al. 2010; Oliveira et al. 2006). The estuarine circulation is driven by astronomical and meteorological tides with amplitudes ranging from 0.14 to 1.53m and estimated residence time of 237 days (FEMAR, 2000, Amorin et al., 2006).

Along the estuary's hydrographic basin there are farmland activities with ample use of pesticides and chemical fertilizers. Industrial sewage is composed of metallurgical, metal-mechanic and textile waste, as well as residues from plastic, chemical, woodworking, mining and food industries (FATMA 2002).

We collected 35 samples along the estuary 2-3 km apart, covering the greatest area possible, including regions next to potential pollution sources (Fig. 1). At each site a sediment sample was taken for metal determinations, organic matter, total phosphorus, total nitrogen, calcium carbonate and grain size analyses, as well as measuring salinity and temperature *in situ* and the pH of the surface sediment. Sampling procedures were carried out along two consecutive days at May 2014.

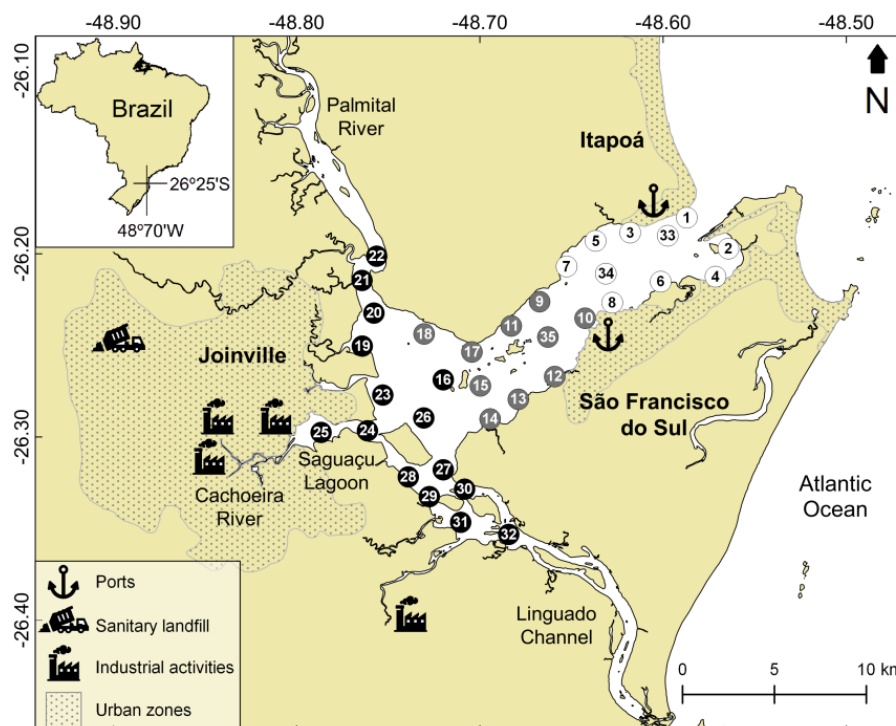


Figure 1 Babitonga Bay, sampling sites (1-35) and locations of industrial areas, sanitary landfill, São Francisco Port and Itapoá Port. Sampling sites were divided in three sectors: internal (black), median (gray) and external (white).

Samples were taken using a stainless-steel Petersen bottom sampler previously rinsed with Extran detergent, with a sampling area of 0.0567 m². Sediments were then put on plastic trays and the surface layer transferred to acrylic vials with a plastic scoop. All samples were properly identified and kept on ice prior to returning to the laboratory, when they were frozen (-20°C). All materials were previously decontaminated through immersion on 2% Extran solution for 24 hours, followed by immersion on a 10% HNO₃

solution for at least 72 hours and rinsed with ultrapure water (Milli-Q). After completely frozen sediments were freeze-dried for 72 hours, macerated on agate mortar, and sieved through a 63 µm nylon mesh to separate the cohesive fraction. Sieving reduces possible biases caused by the variability on sediment grain size (Birch 2003; Luoma 1990; Salomons and Förstner 1984). Samples were then partially extracted through microwave assisted acid digestion (Milestone Ethos Plus), following the EPA 3051A (USEPA 2007) protocol. This method extracts the more easily mobilized metals from the surface sediments, which presents the highest potential of exposition and assimilation by local fauna (Luoma et al. 1995).

After digestion samples were transferred to decontaminated falcon tubes, filtered to eliminate the insoluble fraction, and diluted to 50 ml with a 2% HNO₃ solution. Extracts were kept refrigerated until determination of the elements cobalt (Co) chromium (Cr), copper (Cu), nickel (Ni), lead (Pb) and zinc (Zn) through inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) in an Optima 7000 DV ICP-OES (PerkinElmer). Average recoveries of Standard Reference Material BCR701 - Lake Sediment (Extractable Trace Elements), Method Quantification Limit (MQL) and Method Detection Limit (MDL), calculated through the Hubaux and Vos (1970) statistical approach, are shown in Table 1.

Table 1 Average recoveries and standard deviation (n=3) of certified values for trace metals (in mg.Kg⁻¹). Standard reference material (BCR701), Recoveries (% Rec), Method Detection Limits (MDL in mg/L) and Method Quantification Limits (MQL in mg/L).

Element	BCR701	Present Study	% Rec	MDL	MQL
Co	--	16,81 ± 0,154	--	0,0027	0,0096
Cr	272	301,29 ± 4,43	110,77	0,0013	0,0046
Cu	275	321,49 ± 6,24	116,91	0,0026	0,0092
Ni	103	106,46 ± 1,67	103,36	0,0024	0,0087
Pb	143	144,38 ± 0,92	100,97	0,0072	0,0257
Zn	454	513,65 ± 5,31	113,14	0,0053	0,0189

Sediment grain size was determined through laser diffraction using a MICROTRAC Bluewave. Granulometric parameters were calculated using the method of moments in R (R Core Team 2015) using the rysgran package (Gilbert et al. 2012). Total organic matter (TOM) concentrations were determined using the gravimetric method after combustion in a furnace at 550 °C for 1 h. Total organic carbon (TOC) and nitrogen (TN) were determined by a dry combustion method with a Perkin Elmer 2400

CHN analyser. Total phosphorus was determined using the colorimetric method described by (Grasshoff et al. 1983).

Data analysis

Principal component analysis (PCA) was used to determine the common pollution sources for groups of samples using selected variables, which were transformed and scaled to maximize the normal distribution and to ensure that all variables had the same weight on the analyses (Legendre and Legendre, 1998).

Spatial distribution of trace metals, granulometry, organic matter and elemental composition were evaluated by simple kriging over a grid on the study site (Matheron 1971). A Box-Cox transformation was used to maximize the Gaussian adjustment of the selected variables (Box and Cox 1964). Empirical variograms were constructed to evaluate the behavior and spatial dependence of the selected environmental variables and to adjust the parameters of four correlation models (Exponential, Spherical, Matérn and Gaussian). The parameters adjusted based on the empirical variograms were then optimized by the maximum likelihood method. For each variable, the best correlation model was chosen based on log-likelihood values between models, on leave-one-out cross-validation method, and on the comparison between the measured and interpolated data. All geostatistics were performed with the geoR package (Ribeiro and Diggle 2016), and all maps produced with the GISTools (Brunsdon and Chen, 2014) and mapproj (Bivand and Lewin-Koh, 2015) packages in the software R (R Core Team 2015).

Metal concentrations were compared with sediment-quality guidelines for coastal waters: the effect range low (ERL) and effect range median (ERM) (Long and MacDonald, 1998); threshold effects level (TEL), which is the contamination level when fauna starts getting affected; and the probable effects level (PEL), which is the concentration at which probable effects to fauna are expected (Macdonald *et al.*, 1996). ERL and ERM values were derived using only chemical concentrations associated with adverse effects (Long *et al.*, 1995), whereas calculations of the TEL and PEL values incorporated concentrations associated with both effects and no observed effects (MacDonald *et al.*, 1996).

The potential to cause adverse biological effects was determined through the estimation of Sediment Quality Guideline Quotients (SQG-Qs) (Long and MacDonald, 1998):

$$SQG - Q = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{C_i}{PEL_i}}{n} \quad (1)$$

where C_i is the concentration of the i th contaminant analyzed, and PEL_i is its respective PEL guideline. The sediments were ranked as unimpacted (SQG-Q<0.1), moderately impacted (SQG-Q 0.1–1), and strongly impacted (SQG-Q>1) (MacDonald et al. 2004). In order to evaluate the SQG-Q spatial distribution along the Babitonga Bay, we overlaid the interpolated surfaces of Co, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn, and calculated the Sediment Quality Guideline Quotients at each grid cell.

Results and discussion

Chemical and grain size analysis of surface sediments revealed a majority of fine sands, with major amounts of cohesive sediments in the middle and internal sector (Fig. 2, Fig. 3, Tab. 2). Highest concentrations of organic matter and total phosphorus were found at the internal sector, and near São Francisco harbor, ranging from 0.2 to 13 % and 0.33 to 6.27 mg/g for the organic matter and TP, respectively (Fig. 2, Tab. 2). Sediment pH ranged from 6.2 to 7.8 (Tab. 2). Nine samples had pH values below 7, favoring remobilization and release of acid-labile metals from the sediment to the water column. Considering these sites, Cr, Cu, Ni and Zn concentrations were above TEL, Ni and Zn were also above ERL at sites 12, 19, 23, 26, 28 and 30 (Tab. 2, Fig. 2, Fig. 3). These sites are located at the internal sector of the estuary, while site 12 is located at the São Francisco harbor (Fig. 1).

Table 2 Textural and chemical data for surficial sediments (1–3 cm deep) of Babitonga Bay. Depth at the sampling site (Depth); pH of surficial sediment (pH); Sediment temperature (Sed T); Salinity of bottom water (Sal); Total Organic Matter (TOM); Calcium carbonate content (CaCO₃); Total Phosphorus content (TP); Percentage of silt and clay (Mud); Mean grain size (Classes).

Site	Depth	pH	Sed T (°C)	Sal	TOM (%)	CaCO ₃ (%)	TP (mg/g)	Mud (%)	Classes
1	24.19	7.85	23.0	34.5	2.3	5.43	0.73	66.98	Coarse silt
2	1.66	6.88	21.9	33.5	3.2	11.81	0.80	16.10	Fine sand
3	10.08	7.60	22.2	33.3	3.5	7.64	1.31	12.03	Medium sand
4	1.19	6.21	22.4	33.5	3.9	4.08	1.42	24.64	Fine sand
5	1.29	7.17	22.3	32.2	1.8	1.94	0.97	12.79	Fine sand
6	1.48	6.40	22.2	32.7	1.4	2.54	1.15	17.55	Fine sand
7	1.35	7.30	21.9	31.9	3.4	4.73	1.51	12.79	Fine sand
8	7.61	7.30	22.2	32.7	3.9	8.75	1.62	6.88	Fine sand
9	3.71	7.35	22.0	31.1	7.3	12.48	2.14	21.83	Fine sand
10	16.41	7.28	22.5	32.3	4.9	11.70	3.15	7.80	Fine sand
11	4.07	7.34	23.5	30.3	4.7	7.86	1.39	11.44	Fine sand
12	2.61	6.94	21.8	30.8	11.0	11.67	1.89	20.98	Fine sand
13	3.71	7.35	22.0	30.2	9.7	17.17	2.50	41.79	Very fine sand
14	0.95	7.26	23.0	29.5	4.7	5.32	1.47	11.48	Fine sand
15	3.66	7.33	22.1	29.5	4.1	9.37	2.24	9.53	Medium sand
16	3.18	7.24	21.2	30.1	5.7	11.79	2.61	20.70	Fine sand
17	5.87	7.65	24.1	29.4	0.8	3.99	0.42	1.09	Coarse sand
18	7.31	7.70	24.1	28.3	0.9	1.90	0.33	0.00	Coarse sand
19	2.55	6.89	22.0	26.8	5.4	8.45	4.92	48.67	Very fine sand
20	5.62	7.36	20.4	28.8	0.2	1.80	1.23	22.77	Medium sand
21	11.32	7.39	21.5	27.8	2.8	4.03	1.57	14.33	Fine sand
22	12.12	7.48	21.5	27.1	4.3	1.05	1.09	8.79	Medium sand
23	1.75	6.26	21.9	28.4	7.7	7.21	3.31	23.39	Fine sand
24	3.50	7.30	21.7	27.8	11.0	7.67	6.18	35.12	Very fine sand
25	2.31	7.16	20.6	26.3	10.0	6.53	5.65	31.25	Very fine sand
26	1.62	6.67	21.6	29.6	13.0	9.62	6.27	33.09	Very fine sand
27	1.64	7.10	22.3	28.7	2.6	3.34	3.35	14.16	Fine sand
28	1.82	6.82	21.0	28.4	3.3	2.82	2.06	20.30	Fine sand
29	7.45	7.00	20.6	28.4	1.1	1.27	0.77	26.99	Fine sand
30	0.52	6.41	21.7	27.9	7.0	6.12	3.06	20.50	Fine sand
31	3.35	7.05	21.0	28.0	9.6	16.62	4.56	27.94	Fine sand
32	1.07	7.02	21.0	27.0	9.2	6.36	3.88	19.66	Fine sand
33	19.48	7.66	23.1	33.9	0.5	15.58	0.51	0.00	Medium sand
34	13.28	7.59	22.5	33.1	3.4	2.06	2.32	7.99	Fine sand
35	9.69	7.24	22.9	31.7	2.5	10.16	3.39	84.85	Coarse silt

Mud content, TOC, OM and TP presented a quite similar distribution, with higher concentrations at internal areas close to urban runoff. Total nitrogen was also high at internal and median areas except for Linguado channel where concentrations were as low as the external sites (Fig. 2, Fig. 3). High mud contents are frequently related to TOC increase, suggesting high continental organic input (Mater et al., 2004; Alexandre et al., 2006).

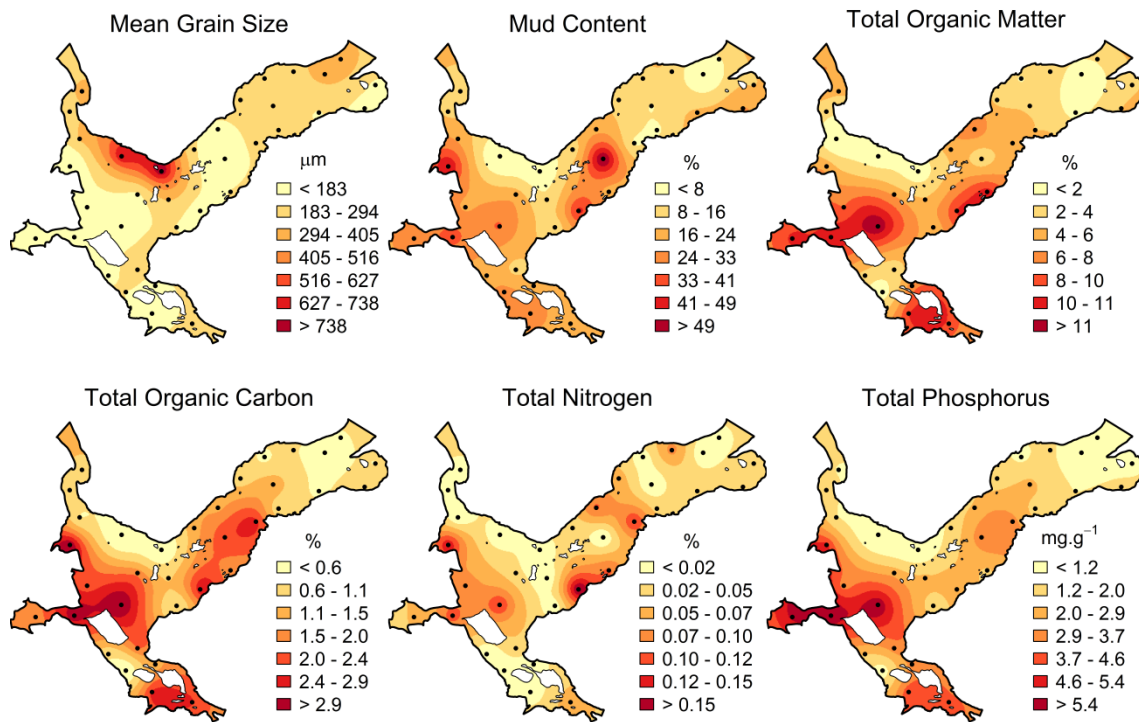


Figure 2 Spatial distribution patterns of Mean Grain Size, Mud Content, Total Organic Matter, Total Organic Carbon, Total Nitrogen and Total Phosphorus on surficial sediments of Babitonga Bay.

The first two axes of the PCA explained 75.7% of data variation (Fig. 3). Axis 1, which was responsible for 56.3% of the variation, was formed mainly by TOM, TP, Zn, Pb, Cr and Cu while axis 2 (19.4%) was formed mainly by Depth and pH. The PCA ordination illustrates a spatial and a contamination gradient along axis 1, where internal sites showed positive correlation with Mud, TOM, TP and most metals, whilst sites at the external sector along with sites 17 and 18 were negatively correlated with those vectors.

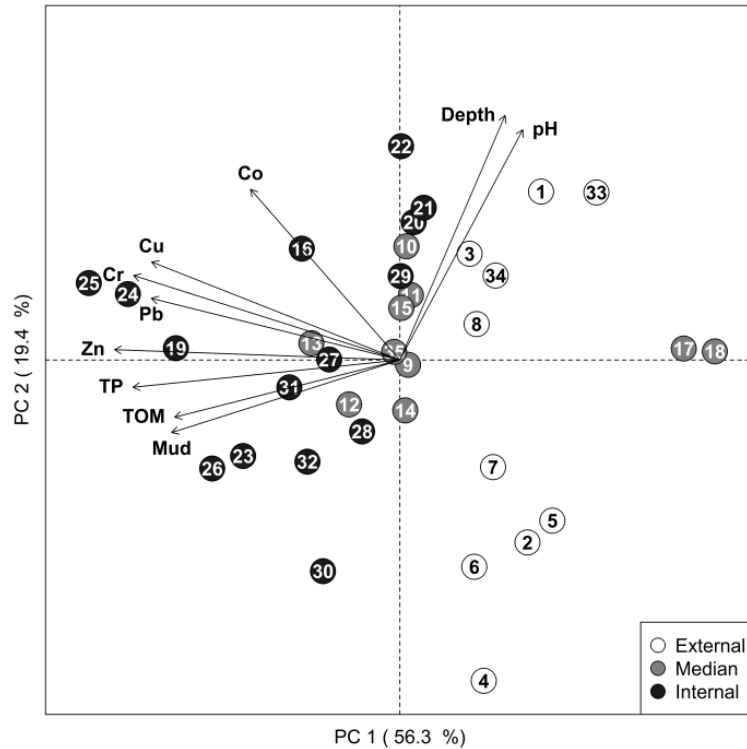


Figure 3 Principal Component Analysis (PCA) ordination diagram of sampling sites at Babitonga Bay for the first two axes. Vectors: Depth at the sampling site; pH of surficial sediment; percentage of silt and clay (Mud); Total Organic Matter (TOM); Total Phosphorus (TP); and concentrations of the elements Cobalt (Co), Copper (Cu), Chromium (Cr), Lead (Pb) and Zinc (Zn).

Metal concentrations above ERL and/or TEL were found for Cr, Cu, Ni and Zn. Copper and zinc concentrations were above ERL and/or TEL for 15 sites, ranging from 10.7 to 41.9 mg.Kg⁻¹ (Cu), and from 45.96 to 369 mg.Kg⁻¹ (Zn). Chromium and nickel concentrations were above ERL and/or TEL for 23 and 28 sites, respectively (Tab. 3, Fig. 4), ranging from 28.1 to 102.2 mg.Kg⁻¹ (Cr) and from 10.6 to 41.9 mg.Kg⁻¹ (Ni) (Tab. 3, Fig. 4). ERLs and TELs represent the low threshold concentrations below which adverse effects would be rarely expected. In contrast, ERMs and PELs represent the high threshold concentrations above which adverse effects upon benthic fauna are likely to occur (MacDonald et al., 2000). Values between the TEL and PEL comprise the range when adverse effects to fauna occasionally occur. The definitions of these ranges are based on the assumption that the toxicity resulting from exposure to a chemical increases with increasing concentration of the chemical in the sediment (Long et al. 1995).

Table 3 Average, maximum and minimum concentration of metals (mg.Kg^{-1}), sediment-quality guideline quotients (SQG-Q) on surface sediments from Babitonga Bay. Standard deviation (SD) and TEL/ PEL, ERL/ERM levels for chromium, copper, nickel, lead and zinc.

	Co	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	SQG_Q
Average	10.20	58.78	18.96	21.76	7.04	137.88	0.32
Maximum	14.29	102.18	41.83	41.86	14.39	369.00	0.64
Minimum	6.45	28.09	10.71	10.58	<MDL	45.96	0.14
SD	1.77	17.22	6.56	5.96	3.07	60.09	0.10
TEL		52.3	18.7	15.9	30.24	124	
PEL		160	108	42.8	112.18	271	
ERL		81	34	20.9	46.7	150	
ERM		370	270	51.6	218	410	

The highest metal concentrations were found at the internal sector, at sites with the highest concentrations of organic matter, total phosphorus, fine-grained sediments and lowest depths (Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4). The inner areas had low hydrodynamics and higher sedimentations rates. Furthermore, these are the preferred areas to pollutants deposition and accumulation (Vieira et al., 2008; Martins et al., 2014).

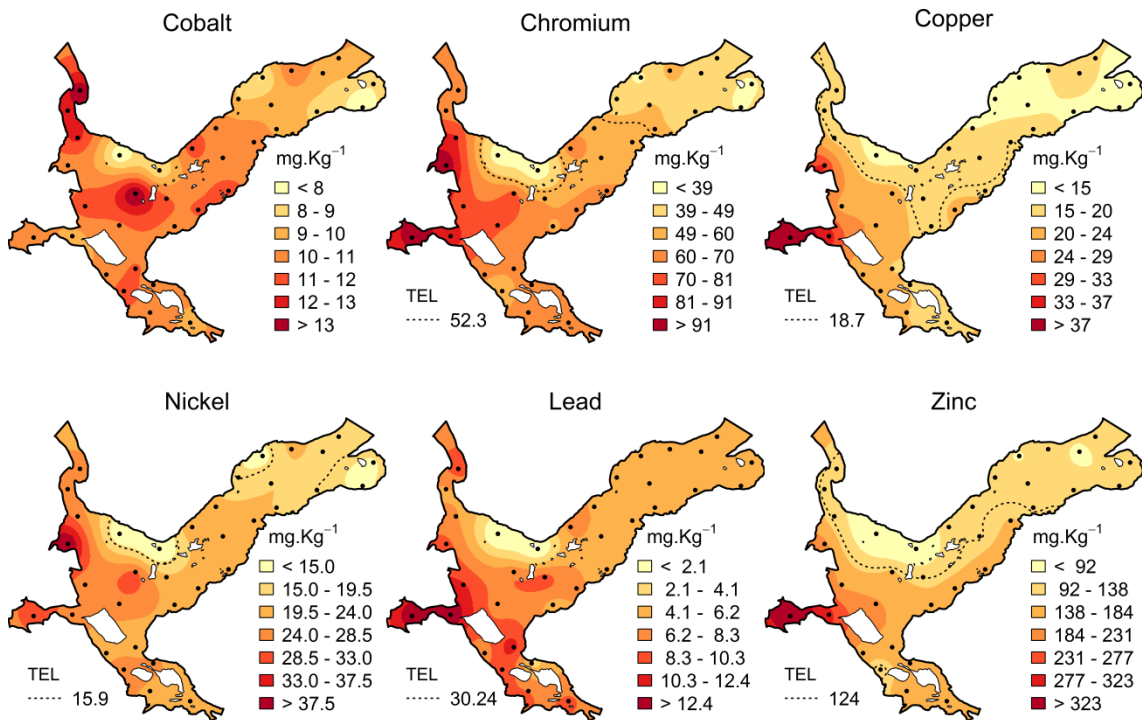


Figure 4 Spatial distribution patterns of Cobalt, Chromium, Copper, Nickel, Lead and Zinc concentrations in surface sediments of Babitonga Bay. Dotted line enclosures values above TEL for Chromium (52.3 mg.Kg^{-1}), Copper (18.7 mg.Kg^{-1}), Nickel (15.9 mg.Kg^{-1}), Lead (30.24 mg.Kg^{-1}) and Zinc (124 mg.Kg^{-1}).

Cobalt and lead distribution were quite homogeneous along the estuary with low concentrations for all samples, ranging from 6.45 to 14.29 mg.Kg^{-1} (Co) and from

<LDM to 14.39 mg.Kg⁻¹ (Pb). Although no lead concentration has been found above TEL, its distribution is similar to other elements, with higher concentrations at inner areas, which suggests a common source. The largest uses of lead is in the production of lead-zinc batteries and the manufacture of chemical compounds used, for example, in metallurgy, construction materials, coatings and dyes. Lead tends to remain tightly bound to sediments under oxidizing conditions. However, it may be released into the water column under reducing conditions and can accumulate to relatively high levels by aquatic biota. Organisms do not have essential metabolic requirements for lead and, generally, detoxify non-essential metals to avoid toxic effects. However, detoxified metals may or may not be excreted and can, therefore, accumulate (Kennish, 1992; Rainbow, 2002).

Sites 24, 25 and 19 presented the highest values for Cr, Cu, Ni, Pb and Zn, which makes it critical areas regarding metal concentrations. Sites 24 and 25 are located near a waste foundry sand deposit at the estuary's margins (Fig. 1). Deposits of waste foundry sand may represent a potential source of contamination, considering that rainfall and the presence of organic and inorganic acids favor the degradation and leaching of chemical elements to groundwater (Alves et al. 2014; Penkaitis and Sígolo 2012). Although these high levels, metal concentrations did not exceed PEL levels (when adverse effects on the fauna are expected), suggesting that, for these elements, there is no proved toxicity of sediments for the biota. Nevertheless, a large area presented concentrations between TEL and PEL levels, when adverse effects are possible and may occur occasionally. Oliveira et al. (2006) analysed sediments, water and organisms (such as oysters, fish and dolphins) in 24 sites along Babitonga Bay and detected the presence of As, Pb, Cd, Cr, Cu, Zn, Hg and Ni in all samples, specially in the Linguado Channel and at the Cachoeira River mouth, showing that these elements might be bioavailable.

Anthropogenic emissions of nickel are mostly due to burning of residual and fuel oil, followed by nickel metal refining, municipal incineration, steel production, and coal combustion (USEPA 1999). Nickel may present a major problem near towns, in industrial areas, or even in agricultural land receiving wastes such as sewage sludge (Cempel and Nikel 2006). Nevertheless there was no evidence that nickel biomagnifies in aquatic food webs since it's concentrations in organisms decrease with increasing

trophic level (McGeer et al. 2003; Suedel et al. 1994). Chromium is widely used in chemical industry for different applications such as pigments, metal plating, metallurgy, and in chemical production; and different species of Cr can be released into the environment (Unceta et al. 2010). Once released, Cr in contaminated water and soil has hazardous effects on fish and invertebrates (Lushchak et al. 2009; Wu et al. 2012).

Copper is a micronutrient for aquatic animals, becoming toxic to estuarine and marine invertebrate and fish when at elevated concentrations (Bury et al., 2003; Ferreira-Cravo et al., 2009; Lopes et al., 2011). Aqueous copper have been reported as a potent genotoxicant in fish cell lines, inducing DNA strand breaks and cell death (Manzl et al., 2004; Sandrini et al., 2009). Zinc is an essential micronutrient and can bioaccumulate in some organisms (MacDonald, 1994; Riba et al., 2005). The main sources of zinc to aquatic systems include urban effluents, smelting and refining activities, wood combustion, waste incineration, iron and steel production, and other atmospheric emissions (Jaagumagi, 1993). Sediments contaminated by Zn-enriched complex mixtures can be toxic to fish and benthic organisms (Anderson et al., 2007) although there is no evidence of biomagnification (Barwick & Maher, 2003).

Despite located in the median region, where most metal concentrations were high, sites 17 and 18 had the lowest levels of metals, nutrients and organic matter (Fig. 2 and Fig. 4). The lower metal concentrations at sites 17 and 18 may be due to its mean grain size, mostly coarse sand and relatively high depths (Tab. 2). These sites are close to the Palmital River, which is a drainage channel with a large freshwater discharge, high hydrodynamic and currents carrying fine sediments, nutrients and contaminants to other areas where it may settle (Schettini & Carvalho, 1999). Metals tend to sink adsorbed in the cohesive sediment fraction (<63 μm) and contamination can be diluted by a high proportion of sands. Although all samples have been sieved prior to the analysis through a 63 μm mesh, the relationship between metal input and metal concentration in sediments may be biased at these specific sites due to its granulometric heterogeneity.

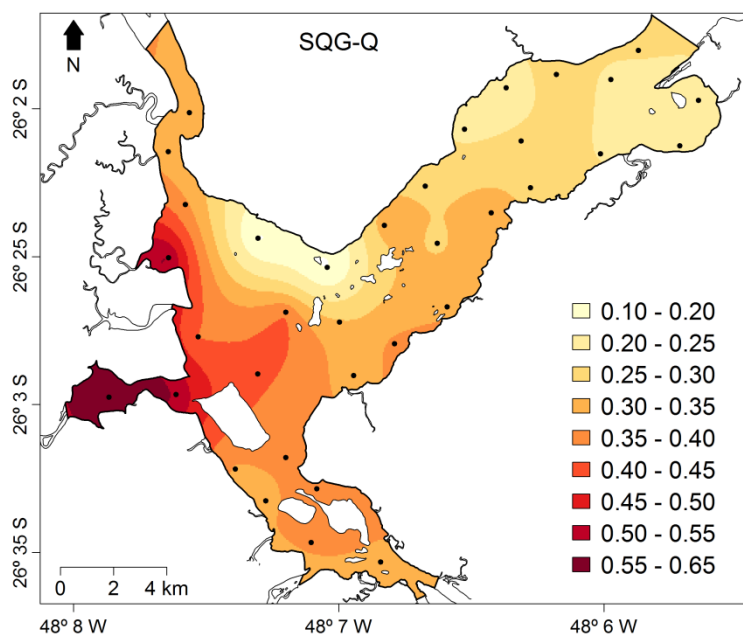


Figure 5 Spatial distribution patterns of Sediment Quality Guidelines Quotient calculated for surface sediments of Babitonga Bay. SQG-Q >0.1 moderately impacted.

The primary purpose of sediment quality guidelines is to protect aquatic biota from harmful and toxic effects of sediment bound contaminants and is a useful tool for evaluating potential for contaminated sediments to induce biological effects (Spencer and Macleod, 2002). SQG-Q ranged from 0.14 at site 17 up to 0.64 at site 25 (Fig. 5). According to MacDonald et al. (2004) classification, all 35 samples can be considered moderately impacted with SQG-Q higher than 0.1. The lowest SQG-Q values occurred at sites 18 and 19 along with the external sector, while the highest values were found at sites 24, 25 and 19. SQGs are generally used to classify and prioritize chemicals of potential concern in specific regions or areas for further investigation and management. Toxicity and bioaccumulation tests, and benthic community assessments can provide complementary information for assessing sediment quality (Long & MacDonald, 1998).

In comparison to other Brazilian estuarine systems, the highest concentration of copper at Babitonga Bay (41.8 mg.Kg^{-1}) was higher than Santos Bay (27.3 mg.Kg^{-1}) and lower than Paranaguá Bay (58 mg.Kg^{-1}) and Guanabara Bay (90.2 mg.Kg^{-1}). Nickel (41.9 mg.Kg^{-1}) was higher than Paranaguá Bay, Santos Bay and Sepetiba Bay (21, 22.3 and 27.1 mg.Kg^{-1} , respectively) and similar to concentrations found in Guanabara Bay (38.9 mg.Kg^{-1}), a highly polluted estuary (Carreira et al. 2002). The highest chromium concentration (102.2 mg.Kg^{-1}) was similar to Sepetiba Bay (92.9 mg.Kg^{-1}), higher than Paranaguá Bay (16 mg.Kg^{-1}) and Santos Bay (42.7 mg.Kg^{-1}), and lower than Guanabara

Bay (156 mg.Kg^{-1}) (Buruaem et al. 2013; Choueri et al. 2009; Cordeiro et al. 2015; Gomes et al. 2009).

Population growth and development of anthropogenic activities are the main stressors over estuarine environment, making these systems particularly susceptible to metal contamination (Mathews and Fisher, 2008). The Cachoeira River and the Palmital River receive a high amount of domestic and industrial waste from the Joinville city and neighboring areas. Due to the microtidal regime and the closure of the Linguado Channel in 1935, the internal sector of Babitonga Bay presents depositional characteristics with a low capacity for self-depuration and pollutant dispersal (Oliveira et al. 2006). Low levels of dissolved oxygen in Saguauçu Lagoon (sites 24 and 25) and high levels of fecal sterols and LABs can be related to anthropic input of organic matter and runoff from Joinville city (Barros et al. 2010; Martins et al. 2014). Similar to other contaminants, metals accumulate in estuarine sediments and may affect the structure and function of these ecosystems (Zonta et al., 2007). The combination of low hydrodynamics and high wastewater input can generate highly polluted environments with consequences to ecosystem's health and to life quality of people that live nearby and depend on its natural resources (Grace et al. 2008, Machado et al. 2016).

In general, Babitonga Bay has a moderate contamination level and potential for observing adverse biological effects. Although none of the 35 sampling sites were considered highly contaminated, higher metal and nutrient concentrations were found along the internal areas, particularly near industrialized zones. Considering that the major effluent inputs occur in a low hydrodynamics and depositional zone, the tendency to accumulate toxic compounds such as trace metals, pesticides, hydrocarbons and fecal sterols are magnified. This is a worldwide issue which many emerging countries are now facing due to the rapid increase of anthropogenic impacts on their coastal zones and lack of proper government regulatory controls (Kennish, 2002). Therefore, industrial and domestic wastewater treatment should be a priority to local government in order to prevent further environmental pressures and the resulting impacts.

References

Aleksander-Kwaterczak, U., Helios-Rybicka, E. (2009). Contaminated sediments as a potential source of Zn, Pb, and Cd for a river system in the historical

metalliferous ore mining and smelting industry area of South Poland. *Journal of Soils and Sediments*. 9, 13–22.

Alexandre, M.R., Huang, Y., Madureira, L.A.S. (2006). Avaliação de compostos orgânicos em sedimentos superficiais da Baía da Babitonga, Santa Catarina, Brasil. *Geochimica Brasiliensis*. 20, 208–218.

Alves, B.S.Q., Dungan, R.S., Carnin, R.L.P., Galvez, R., Carvalho Pinto, C.R.S. (2014). Metals in Waste Foundry Sands and an Evaluation of Their Leaching and Transport to Groundwater. *Water, Air, Soil Pollution*. 225, 1963.

Amorin, J.C.C., Elfrink, B., Carvalho, J., Casaroli, L. F. R. (2006). Diagnóstico dos estudos de circulação de água no Canal do Linguado e na Baía da Babitonga. In M. J. Cremer, P. R. D. Morales, & T. M. N. Oliveira (Eds.), *Diagnóstico Ambiental da Baía da Babitonga* (1st ed., pp. 20–80). Joinville: Editora Univille.

Anderson, B., Hunt, J., Phillips, B., Thompson, B., Lowe, S., Taberski, K., Scott Carr, R. (2007). Patterns and trends in sediment toxicity in the San Francisco Estuary. *Environmental Research*. 105, 145–155.

Barros, G.V., Martinelli, L.A., Oliveira Novais, T.M., Ometto, J.P.H.B., Zuppi, G.M. (2010). Stable isotopes of bulk organic matter to trace carbon and nitrogen dynamics in an estuarine ecosystem in Babitonga Bay (Santa Catarina, Brazil). *Science of the Total Environment*, 408, 2226–2232.

Bartram, J., Ballance, R. (1996). *Water Quality Monitoring - A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programmes*, Military Operations Research.

Barwick, M., Maher, W. (2003). Biotransference and biomagnification of selenium copper, cadmium, zinc, arsenic and lead in a temperate seagrass ecosystem from Lake Macquarie Estuary, NSW, Australia. *Marine Environmental Research*, 56(4), 471–502.

Béthoux, J., Courau, P., Nicolas, E., Ruiz-Pino, D. (1990). Trace metal pollution in the Mediterranean Sea. *Oceanologica Acta*, 13(4), 481–488.

Birch, G. F. (2003). A test of normalization methods for marine sediment, including a new post-extraction normalization (PEN) technique. *Hydrobiologia*, 492(1–3), 5–13.

Bivand, R., Lewin-Koh, N. (2015). *mapproj: Tools for Reading and Handling Spatial Objects*. R package version 0.8-37.

Box, G. E. P., Cox, D. R. (1964). An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, (ii), 211–252.

Brunsdon, C., Chen, H. (2014). Some further GIS capabilities for R. R package

version 0, 7-4.

Bryan, G. W., Langston, W. J. (1992). Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environmental Pollution*, 76:89–131.

Bryan, G. W., Waldichuk, M., Pentreath, R. J., Darracott, A. (1979). Bioaccumulation of Marine Pollutants [and Discussion]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1015), 483–505.

Burton, G. A., Scott, K. J. (1992). Sediment toxicity evaluations. *Environmental Science & Technology*, 26(11), 2068–2075

Buruaem, L.M., Castro, Í.B., Hortellani, M.A., Taniguchi, S., Fillmann, G., Sasaki, S.T., Petti, M.A.V., Sarkis, J.E.S., Bícigo, M.C., Maranhão, L.A., Davanso, M.B., Nonato, E.F., Cesar, A., Costa-Lotufo, L.V., Abessa, D.M.S. (2013). Integrated quality assessment of sediments from harbour areas in Santos-São Vicente Estuarine System, Southern Brazil. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 130:179–189.

Bury, N. R., Walker, P. A., Glover, C. N. (2003). Nutritive metal uptake in teleost fish. *Journal of Experimental Biology*, 206(1), 11–23.

Caeiro, S., Costa, M. H., Ramos, T. B., Fernandes, F., Silveira, N., Coimbra, A., Medeiros, G., Painho, M. (2005). Assessing heavy metal contamination in Sado Estuary sediment: An index analysis approach. *Ecological Indicators*, 5(2), 151–169.

Calmano, W., Forstner, U. (1996). *Sediments and Toxic Substances*. (W. Calmano & U. Förstner, Eds.). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Carreira, R. S., Wagener, A. L. R., Readman, J. W., Fileman, T. W., Macko, S. A., Veiga, Á. (2002). Changes in the sedimentary organic carbon pool of a fertilized tropical estuary, Guanabara Bay, Brazil: an elemental, isotopic and molecular marker approach. *Marine Chemistry*, 79(3–4), 207–227.

Cempel, M., Nikel, G. (2006). Nickel: a review of its sources and environmental toxicology. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(3), 375–382. article.

Chapman, P. M., & Wang, F. (2001). Assessing sediment contamination in estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(1), 3–22.

Chapman, P. M., Wang, F., Germano, J. D., & Batley, G. (2002). Pore water testing and analysis: the good , the bad , and the ugly. *Marine Pollution Bulletin*, 44, 359–366.

Choueri, R. B., Cesar, A., Torres, R. J., Abessa, D. M. S., Morais, R. D., Pereira, C. D. S., Nascimento, M.R.L., Mozeto, A.A., Riba, I., DelValls, T.A. (2009). Integrated sediment quality assessment in Paranaguá Estuarine System, Southern Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(7), 1824–1831.

Cordeiro, R. C., Machado, W., Santelli, R. E., Figueiredo, a. G., Seoane, J. C. S., Oliveira, E. P., Freire, a. S., Bidone, E. D., Monteiro, F. F., Silva, F. T., Meniconi, M. F. G. (2015). Geochemical fractionation of metals and semimetals in surface sediments from tropical impacted estuary (Guanabara Bay, Brazil). *Environmental Earth Sciences*, 74(2), 1363–1378.

DNIT / IME, 2004. Estudos Ambientais Da Baía Da Babitonga – Canal Do Linguado. 166.

Ellis, J. I., Hewitt, J. E., Clark, D., Taiapa, C., Patterson, M., Sinner, J., et al. (2015). Assessing ecological community health in coastal estuarine systems impacted by multiple stressors. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 473, 176–187.

Everaarts, J. M., & Fischer, C. V. (1992). The distribution of heavy metals (Cu, Zn, Cd, Pb) in the fine fraction of surface sediments of the North Sea. *Netherlands Journal of Sea Research*, 29(4), 323–331.

Fairbrother, A., Wenstel, R., Sappington, K., & Wood, W. (2007). Framework for Metals Risk Assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68(2), 145–227.

FATMA FUNDAÇÃO DE AMPARO AO MEIO AMBIENTE DE SANTA CATARINA (2002) Atlas Ambiental da Região de Joinville: Complexo Hídrico da Baía da Babitonga.

FEMAR, 2000. Catálogo de Estações Maregráficas Brasileiras. Rio de Janeiro 281.

Ferreira-Cravo, M., Ventura-Lima, J., Sandrini, J. Z., Amado, L. L., Geracitano, L. A., Rebelo, M., Bianchini, A., Monserrat, J. M. M. (2009). Antioxidant responses in different body regions of the polychaeta *Laeonereis acuta* (Nereididae) exposed to copper. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(2), 388–393.

Forstner, U. (1990). Inorganic chemistry and elemental speciation. In R. Baudo, J. P. Giesy, & H. Muntau (Eds.), *Sediments: Chemistry and Toxicity of In-Place Pollutants*. Boston: Lewis Publishers Inc.

Gilbert, E. R., Camargo, M. G., Sandrini, L. (2012) rysgran: Grain size analysis, textural classifications and distribution of unconsolidated sediments.

Gomes, F. C., Godoy, J. M., Godoy, M. L. D. P., Carvalho, Z. L., Lopes, R. T., Sanchez-Cabeza, J. A., Lacerda, L. D., Wasserman, J. C. (2009). Metal concentrations, fluxes, inventories and chronologies in sediments from Sepetiba and Ribeira Bays: A comparative study. *Marine Pollution Bulletin*, 59(4–7), 123–133.

Grace, V. B., Mas-Pla, J., Novais, T. O., Sacchi, E., & Zuppi, G. M. (2008). Hydrological mixing and geochemical processes characterization in an

estuarine/mangrove system using environmental tracers in Babitonga Bay (Santa Catarina, Brazil). *Continental Shelf Research*, 28(4–5), 682–695.

Grasshoff, K., Erhardt, M., Kremling, K. (1983) *Methods of seawater analysis*. Verlag Chemie, Weinheim, Germany

Hubaux, A., & Vos, G. (1970). Decision and detection limits for calibration curves. *Analytical Chemistry*, 42(8), 849–855.

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2011) Atlas de saneamento 2011.

http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/atlas_saneamento/default_zip.shtm. Accessed 3 December 2015.

Ip, C. C. M., Li, X. D., Zhang, G., Farmer, J. G., Wai, O. W. H., & Li, Y. S. (2004). Over one hundred years of trace metal fluxes in the sediments of the Pearl River Estuary, South China. *Environmental Pollution*, 132(1), 157–172.

Jaagumagi, R. (1993). Development of the Ontario provincial sediment quality guidelines for arsenic, cadmium, chromium, copper, lead, manganese, mercury, nickel, and zinc. Ministry of Environment and Energy, Ontario.

Kennish, M. J. (1992). *Ecology of estuaries: anthropogenic effects*. Marine science series, USA.

Kennish, M. J. (2002). Environmental threats and environmental future of estuaries. *Environmental Conservation*, 29(1).

Legendre, P. and Legendre, L. (1998) *Numerical Ecology*. 2nd English edition. Elsevier Science, Amsterdam

Long, E. R., & MacDonald, D. D. (1998). Recommended Uses of Empirically Derived, Sediment Quality Guidelines for Marine and Estuarine Ecosystems. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 4(5), 1019–1039.

Long, E. R., Macdonald, D. D., Smith, S. L., & Calder, F. D. (1995). Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental Management*, 19(1), 81–97.

Lopes, T. M., Barcarolli, I. F., de Oliveira, C. B., de Souza, M. M., & Bianchini, A. (2011). Mechanisms of copper accumulation in isolated mantle cells of the marine clam *Mesodesma mactroides*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(7), 1586–1592.

Luoma, S. N. (1990) Processes affecting metal concentrations in estuarine and coastal marine sediments, in: Furness, R. W., Rainbow, P. S. (ed) *Heavy Metals in the Marine Environment*. CRC Press Inc., Boca Raton, pp 51–66.

Luoma, S. N., Ho, Y. B., Bryan GW (1995) Fate, bioavailability and toxicity of silver in estuarine environments. *Marine Pollution Bulletin*, 31, 44–54.

Lushchak, O.V., Kubrak, O. I., Lozinsky, O. V., Storey, J. M., Storey, K. B., Lushchak, V. I. (2009) Chromium(III) induces oxidative stress in goldfish liver and kidney. *Aquatic Toxicology*, 93, 45–52.

Macdonald, D. D., Carr, R. S., Calder, F. D., Long, E. R., Ingersoll, C. G. (1996) Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. *Ecotoxicology* 5, 253–78.

MacDonald, D. D., Ingersoll, C. G., & Berger, T. A. (2000). Development and Evaluation of Consensus-Based Sediment Quality Guidelines for Freshwater Ecosystems. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39(1), 20–31.

MacDonald, D. D., Carr, R. S., Eckenrod, D., Greening, H., Grabe, S., Ingersoll, C. G., Janicki, S., Janicki, T., Lindscoog, R. A., Long, E. R., Pribble, R., Sloane, G., Smorong, D. E. (2004) Development, evaluation, and application of sediment quality targets for assessing and managing contaminated sediments in Tampa Bay, Florida. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46, 147–161.

MacDonald, D. D. (1994). *Approach to the Assessment of Sediment Quality in Florida Coastal Waters. Volume 1 - Development and Evaluation of Sediment Quality Assessment Guidelines*. British Columbia.

Machado, A. A. S., Spencer, K., Kloas, W., Toffolon, M., & Zarfl, C. (2016). Metal fate and effects in estuaries: A review and conceptual model for better understanding of toxicity. *Science of The Total Environment*, 541, 268–281.

Manzl, C., Enrich, J., Ebner, H., Dallinger, R., & Krumschnabel, G. (2004). Copper-induced formation of reactive oxygen species causes cell death and disruption of calcium homeostasis in trout hepatocytes. *Toxicology*, 196(1–2), 57–64.

Martins, C. C., Cabral, A. C., Barbosa-Cintra, S. C. T., Dauner, A. L. L., & Souza, F. M. (2014). An integrated evaluation of molecular marker indices and linear alkylbenzenes (LABs) to measure sewage input in a subtropical estuary (Babitonga Bay, Brazil). *Environmental Pollution*, 188, 71–80.

Mater, L., Alexandre, M. R., Hansel, F. A., & Madureira, L. A. S. (2004). Assessment of lipid compounds and phosphorus in mangrove sediments of Santa Catarina Island, SC, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 15(5), 725–734.

Matheron, G. (1971) The theory of regionalized variables and its applications, Les Cahiers du Centre de Morphologie Mathématique. École Nationale Supérieure des Mines de Paris.

Mathews, T., & Fisher, N. S. (2008). Evaluating the trophic transfer of cadmium, polonium, and methylmercury in an estuarine food chain. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(5), 1093.

McGeer, J. C., Brix, K. V, Skeaff, J. M., DeForest, D. K., Brigham, S. I., Adams, W. J., & Green, A. (2003). Inverse relationship between bioconcentration factor and exposure concentration for metals: Implications for hazard assessment of metals in the aquatic environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(5), 1017–1037.

Moore, J. N., Brook, E. J., & Johns, C. (1989). Grain Size Partitioning of Metals in Contaminated , Coarse-Grained River Floodplain Sediment: Clark Fork River, Montana, USA. *Environmental Geology and Water Sciences*, 14(2), 107–115.

Morton, B., & Blackmore, G. (2001). South China Sea. *Marine pollution bulletin*, 42(12), 1236–1263.

Oliveira, T. M. N., Tureck, C. R., Bassfeld, J. C., Torrens, B. M. O., Faria, J. M., & Brasil, K. (2006). Integridade ambiental da Baía da Babitonga: Características físico-químicas, microbiológicas e ecotoxicidade. In M. J. Cremer, P. R. D. Morales, & T. M. N. Oliveira (Eds.), *Diagnóstico Ambiental da Baía da Babitonga* (1st ed., pp. 20–80). Joinville: Editora Univille.

Oliveira, C. R., Santos, D., Madureira, L. A. S., & Marchi, M. R. R. (2010). Speciation of butyltin derivatives in surface sediments of three southern Brazilian harbors. *Journal of Hazardous Materials*, 181(1–3), 851–856.

Penkaitis, G., & Sígolo, J. B. (2012). Waste foundry sand. Environmental implication and characterization. *Geologia USP. Série Científica*, 12(3), 57–70.

R Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing.

Rainbow, P. S. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what?. *Environmental Pollution*, 120, 497–507.

Riba, I., Blasco, J., Jiménez-Tenorio, N., & DelValls, T. Á. (2005). Heavy metal bioavailability and effects: I. Bioaccumulation caused by mining activities in the Gulf of Cádiz (SW, Spain). *Chemosphere*, 58(5), 659–669.

Ribeiro, J.P.J., Diggle, P.J., (2016). geoR: Analysis of geostatistical data. R package version 1.7-5.2.

Roberts, D. A. (2012). Causes and ecological effects of resuspended contaminated sediments (RCS) in marine environments. *Environment International*, 40, 230–243.

Rossato, M., Castro, I. B., Paganini, C. L., Colares, E. P., Fillmann, G., & Pinho, G. L. L. (2016). Sex steroid imbalances in the muricid *Stramonita haemastoma* from

TBT contaminated sites. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(8), 7861–7868.

Salomons, W., & Förstner, U. (1984). *Metals in the Hydrocycle* (Vol. 66). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Sandrini, J. Z., Bianchini, A., Trindade, G. S., Nery, L. E. M., & Marins, L. F. F. (2009). Reactive oxygen species generation and expression of DNA repair-related genes after copper exposure in zebrafish (*Danio rerio*) ZFL cells. *Aquatic Toxicology*, 95(4), 285–291.

Schettini, C. A. F., & Carvalho, J. L. B. (1999). Caracterização hidrodinâmica do estuário do Rio Cubatão, Joinville. *Notas Técnicas da Facimar*, 3, 87–97.

Scheuhammer, A. M., Meyer, M. W., Sandheinrich, M. B., & Murray, M. W. (2007). Effects of Environmental Methylmercury on the Health of Wild Birds, Mammals, and Fish. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 36(1), 12–19.

Silveira, L.F., Benedet, L., Signorin, M., Bonanata, R. (2012) Evaluation of the relationships between navigation channel dredging and erosion of adjacent beaches in southern Brazil. ICCE 2012.

Spencer, K. L., & MacLeod, C. L. (2002). Distribution and partitioning of heavy metals in estuarine sediment cores and implications for the use of sediment quality standards. *Hydrology and Earth System Sciences*, 6(6), 989–998.

Suedel, B. C., Boraczek, J. A., Peddicord, R. K., Clifford, P. A., & Dillon, T. M. (1994). Trophic Transfer and Biomagnification Potential of Contaminants in Aquatic Ecosystems. In G. W. Ware (Ed.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (pp. 21–89). inbook, New York, NY: Springer New York.

Szefer, P., Glasby, G. P., Stüben, D., Kusak, A., Geldon, J., Berner, Z., Neumann, T., Warzocha, J. (1999). Distribution of selected heavy metals and rare earth elements in surficial sediments from the polish sector of the Vistula Lagoon. *Chemosphere*, 39(15), 2785–2798.

Unceta, N., Séby, F., Malherbe, J., & Donard, O. F. X. (2010). Chromium speciation in solid matrices and regulation: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(3), 1097–1111.

USEPA U.S. Environmental Protection Agency (1999) Integrated Risk Information System (IRIS) on Nickel Carbonyl, National Center for Environmental Assessment. Office of Research and Development, Washington, DC.

USEPA U.S. Environmental Protection Agency (2007) Method 3051: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. Test Methods Eval Solid Waste, 1–30.

Vieira, C. V., Horn-Filho, N. O., Bonetti, C. V. D. H. C., & Bonetti, J. (2008). Caracterização morfosedimentar e setorização do complexo estuarino da Baía da Babitonga/SC. *Boletim Paranaense de Geociências*, 62–63, 85–105.

Wu, Q., Qu, Y., Li, X., & Wang, D. (2012). Chromium exhibits adverse effects at environmental relevant concentrations in chronic toxicity assay system of nematode *Caenorhabditis elegans*. *Chemosphere*, 87(11), 1281–7.

Yamamuro, M., & Kanai, Y. (2005). A 200-year record of natural and anthropogenic changes in water quality from coastal lagoon sediments of Lake Shinji, Japan. *Chemical Geology*, 218(1–2), 51–61.

Zonta, R., Guerzoni, S., Pérez-Ruzafa, A., Jonge, V. N. (2007). Measuring and managing changes in estuaries and lagoons: Morphological and eco-toxicological aspects. *Marine Pollution Bulletin*, 55(10–12), 403–406.

CAPÍTULO 2

Relações entre a estrutura das comunidades macrobênticas estuarinas e múltiplos estressores ambientais

Autores: Souza, F. M., Gilbert, E. R., Brauko, K. M., Lorenzi, L., Machado, E. C., Camargo, M.

Resumo

Nós investigamos como modelos uni e multivariados refletem a saúde de ambientes estuarinos, baseados nas respostas das comunidades macrobênticas amostradas em 35 pontos ao longo da Baía da Babitonga, um estuário subtropical da região sul do Brasil, às variações de intensidade e área de abrangência de três categorias de estressores ambientais: hidrodinâmica, enriquecimento orgânico e contaminação por metais pesados. Os três gradientes foram bem correlacionados com padrões de variação da fauna, mostrando sua importância na dinâmica e distribuição das populações de organismos macrofaunais. O gradiente de contaminação por metais foi o que apresentou maior correlação com a comunidade bêntica. Isto indica que, dentre os múltiplos estressores operantes na baía, a estrutura da macrofauna bêntica foi mais fortemente influenciada pelo aumento da concentração de metais nos sedimentos. Segundo o índice de qualidade ambiental AMBI a baía está, em geral, sob status ecológico 'bom' e, comparando a classificação AMBI com os gradientes de qualidade ambiental, notamos maior concordância com o gradiente hidrodinâmico e de enriquecimento orgânico ($r = 0,50$ e $r = 0,47$), enquanto a correlação com o gradiente de contaminação por metais foi mais fraca ($r = 0,29$). Houve incoerências entre os táxons chave, sensíveis ou tolerantes, determinantes na separação das categorias de estresse do gradiente de contaminação por metais e os grupos ecológicos determinados pelo AMBI. *Hermundura tricuspis*, positivamente relacionada com o gradiente (tolerante) é classificada pelo AMBI como indiferente, enquanto *Prionospio steenstrupi*, espécie negativamente relacionada ao gradiente (sensível) é considerada oportunista de primeira ordem. *Sigambra sp.* foi determinante para os três gradientes analisados, sempre na categoria tolerante. A determinação da qualidade ambiental pelo índice AMBI foi insatisfatória diante dos claros efeitos dos metais sobre a fauna bêntica local, um provável reflexo da transferência das lógicas e teorias de respostas ao enriquecimento orgânico para os efeitos da contaminação por metais. Nesses casos, as classificações ecológicas dos táxons pelo índice devem ser cuidadosamente reavaliadas sob a perspectiva da ação de contaminantes genotóxicos.

Introdução

A estrutura dos ecossistemas é fortemente modificada por múltiplos estressores ambientais que operam por mecanismos cumulativos e interativos ainda pouco conhecidos (Crain et al., 2008; Sala et al., 2000). A intensidade dos impactos antropogênicos e o número de estressores aumentaram significativamente nas últimas décadas em consequência da crescente demanda por recursos naturais e do aumento das populações urbanas, principalmente em ambientes costeiros (Halpern et al., 2007). Os estressores são comumente associados à introdução de diversos tipos de contaminantes, perda de habitats, sobreexploração de espécies (Jackson et al., 2001), introdução de organismos invasores e às mudanças climáticas (Kappel, 2005; Sala et al., 2000; Venter et al., 2006).

Estuários são ecossistemas especialmente vulneráveis por receberem as descargas continental e urbana de extensas bacias de drenagem, retendo sedimentos, nutrientes, compostos orgânicos, metais pesados e outros contaminantes. Os serviços ecológicos prestados pelos estuários contemplam desde a retenção de contaminantes, produção de alimentos, áreas de recreação, até a formação da identidade cultural de comunidades. A sustentação de seus bens e serviços depende de processos ecológicos de alta complexidade e da diversidade dos habitats dentro de cada estuário (Thrush et al., 2013, Holder 2002). A identificação dos impactos cumulativos e interativos é fundamental para avaliar o grau de estresse destes ecossistemas e para direcionar estratégias de gestão mais integrativas e lógicas em situações reais.

A qualidade ambiental marinha pode ser estimada através de uma série de medidas univariadas de diferentes naturezas, como contagens de espécies indicadoras, medidas de diversidade e níveis de contaminantes (Borja et al., 2000; Labruno et al., 2012; Rosenberg et al., 2004). A capacidade de detecção de impactos das medidas univariadas consideradas isoladamente, no entanto, é de interpretação limitada entre diferentes habitats. Assim, valores similares de diversidade podem ser obtidos com espécies diferentes entre dois habitats (Clarke, 1993; Dufrene and Legendre, 1997). Desta forma, índices bióticos multivariados vêm sendo amplamente adotados para avaliação da saúde costeira por expressarem alterações funcionais decorrentes dos mais

variados vetores de impacto. Modelos multivariados incorporam respostas biológicas de toda a comunidade, contemplando tanto o número de espécies quanto o tipo de taxa associados a medidas de abundância ou biomassa relativas (Anderson and Willis, 2003; Anderson, 2008; Hewitt et al., 2005). Estes índices podem gerar diagnósticos mais sensíveis e ecologicamente relevantes usando o mesmo esforço necessário para gerar os índices univariados (Gray, 2000; Hewitt et al., 2005, 2009; Pohle, 2001).

Macroinvertebrados bênticos são elementos chave na produção secundária, ciclagem de nutrientes e como fontes de carbono que sustentam níveis tróficos superiores em muitos ecossistemas. Estes organismos atuam nos processos de fluxo de nutrientes entre sedimentos e coluna d'água através da bioturbação e bioirrigação, e apresentam respostas confiáveis às alterações ambientais, especialmente aos estressores que afetam os sedimentos física e quimicamente (Quintino et al., 2006). Por estas razões, organismos bênticos são frequentemente utilizados ou incorporados aos indicadores da saúde ambiental marinha (Birk et al., 2012; Thrush et al., 2013), assumindo papel fundamental na tomada de decisões que norteiam estratégias de preservação em situações reais de impactos (McLusky and Elliott, 2004). Contudo, o efeito de múltiplos estressores com diferentes graus de impacto sobre a comunidade bêntica é ainda pobremente conhecido.

A estrutura das comunidades geralmente é determinada através de técnicas multivariadas, que têm sido aplicadas com sucesso na detecção dos efeitos da poluição, inclusive para diferenciar comunidades submetidas a diferentes graus de perturbação (Ellis et al., 2000, Ellis et al., 2015, Hewitt et al., 2016). Neste contexto, nós investigamos como modelos uni e multivariados refletem a saúde de ambientes estuarinos, baseados nas respostas das comunidades macrobênticas às variações de intensidade e área de abrangência de múltiplos estressores ambientais, tais como enriquecimento orgânico e contaminação por metais pesados.

Materiais e Métodos

Área de Estudo

A Baía da Babitonga (26°15'S; 48°40'W) é o maior sistema estuarino do Estado de Santa Catarina (160 Km²). Sua bacia hidrográfica drena uma área de 1.400

km², onde são realizadas atividades agropecuárias como fruticultura e produção de grãos com ampla aplicação de herbicidas, inseticidas, fungicidas e adubos químicos. O setor industrial desenvolve atividades metalúrgicas, mecânicas e têxteis, além do ramo plástico, químico, madeireiro, mineração e alimentício (FATMA, 2002). O canal principal da Baía faz conexão entre o oceano Atlântico e o Canal do Linguado e o Rio Palmital, na área interna, que recebem efluentes domésticos e industriais das cidades adjacentes (Cremer *et al.* 2006; Barros *et al.* 2010).

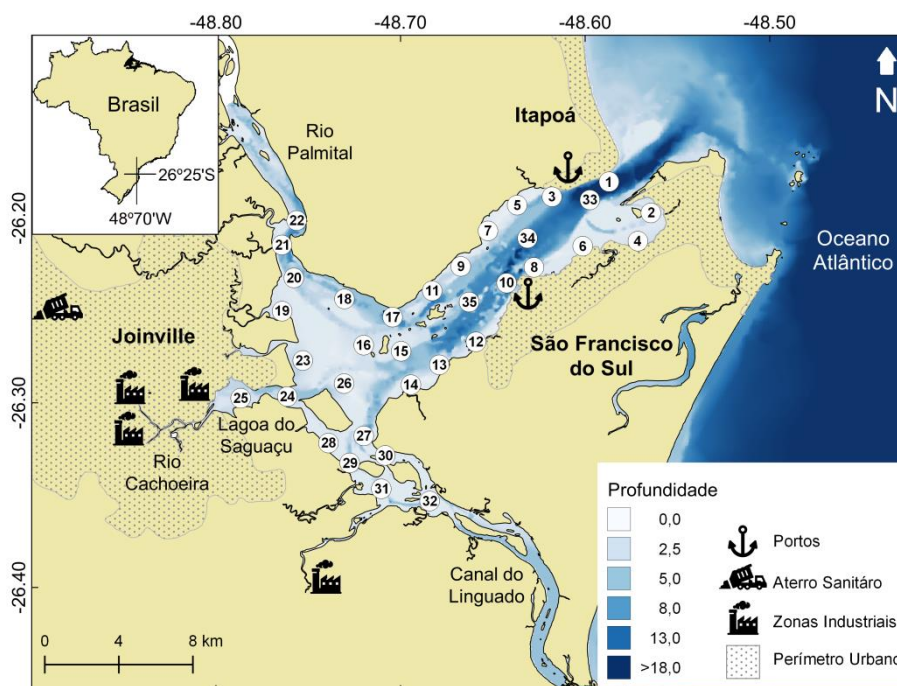


Figura 1 – Baía da Babitonga, pontos amostrais (1-35) e localização das áreas urbanizadas, atividades industriais, aterro sanitário e portos de São Francisco do Sul e Itapoá.

A bacia hidrográfica do rio Cachoeira está totalmente inserida na área urbana de Joinville (480 mil habitantes) e apresenta problemas de poluição. Em 2010, a rede de coleta de esgotos domésticos beneficiava apenas 14% da população do município, com três estações de tratamento em operação (AMAE, 2013; CAJ, 2013). O restante dos efluentes gerados nas residências e por grande parte das atividades econômicas é despejado *in natura* na rede de drenagem pluvial. Muitas pequenas e médias indústrias localizadas nesta área não possuem estação de tratamento de efluentes, e são as principais responsáveis pela poluição química do rio Cachoeira (FATMA, 2002).

Antes de seu fechamento em 1953, o Canal do Linguado formava uma conexão com o mar que possibilitava maior circulação e troca de água na região interna da Baía.

Desde então, a diminuição da circulação e da renovação das águas no interior da baía gerou uma área de assoreamento e deposição de sedimentos finos com tendência a acumular e potencializar os efeitos dos poluentes trazidos pelos rios afluentes (DNIT, 2004).

A Baía da Babitonga apresenta um histórico de contaminação por metais em sua porção interior, devido ao despejo de efluentes não tratados do município e do parque industrial de Joinville. A contaminação por efluentes domésticos e alquilbenzenos lineares (LABs) também já foi documentada próxima aos principais centros urbanos (Barros et al., 2010; Martins et al., 2014). A expansão portuária nas margens deste estuário é um fator relevante, uma vez que são necessárias dragagens para manutenção dos canais de navegação, causando a ressuspensão de sedimentos contaminados, disponibilizando contaminantes para as áreas adjacentes (Silveira et al, 2012; Roberts, 2012).

Amostragem e processamento de amostras

As amostragens ocorreram em maio de 2014, durante dois dias consecutivos. Foram amostrados 35 pontos ao longo do estuário (Fig. 1) de modo a cobrir a maior área possível, incluindo regiões próximas às potenciais fontes de poluição. Em cada ponto foi tomada uma amostra de sedimento para análises de metais (Cobalto, Cromo, Cobre, Níquel, Chumbo e Zinco), carbono orgânico, nitrogênio e fósforo totais, carbonato de cálcio e granulometria, além de medidas de salinidade e temperatura da água de fundo tomadas no local e pH do sedimento superficial (ver detalhes no Capítulo 1). Todas as amostras de sedimento foram coletadas por um pegador de fundo tipo Petersen em aço inox, com área de 0,06 m².

Para a macrofauna, três amostras foram tomadas em cada ponto, totalizando 105 amostras, e acondicionadas em sacos plásticos etiquetados e fixadas em solução de formol à 6 %. Após fixação, as amostras foram lavadas em peneira com malha de 0.5 mm de abertura e preservadas em álcool 70%. O material retido foi triado com auxílio de estereomicroscópio e os organismos foram contabilizados e identificados ao menor nível taxonômico possível.

Análise de dados

Foram calculadas medidas univariadas como abundância total (N), número de espécies (S) e o índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') baseado no logaritmo natural, que mede o grau de incerteza em prever a qual espécie pertencerá um indivíduo escolhido, ao acaso, de uma amostra com S espécies e N indivíduos. Quanto maior o valor H' maior a diversidade da comunidade. Além disso, foi calculado o índice AMBI (Borja et al., 2000), utilizando o software disponível em <http://ambi.azti.es>. O AMBI é baseado na distribuição da abundância de cada espécie em cinco grupos ecológicos, ranqueados de acordo com a sua sensibilidade a um progressivo gradiente de estresse (GE I - sensíveis, GE II – indiferentes, GE III - tolerantes à poluição, GE IV - espécies oportunistas de primeira ordem e GE V – oportunistas de segunda ordem), de acordo com o modelo de Grall & Glémarec (1997). Os resultados do AMBI variam de 0 (qualidade alta do ambiente) a 7 (ambiente extremamente poluído) (Borja et al., 2000, 2003). A classificação dos valores de AMBI foi baseada em Muxika et al. (2005): 'Ótimo', <1.2; 'Bom', 1.2–3.3; 'Moderado', 3.3–4.3; 'Pobre', 4.3–5.5; e 'Ruim', >5.5.

Para avaliar quais os principais estressores ambientais afetando a qualidade ambiental da Baía da Babitonga e como a comunidade macrobêntica responde às diferentes categorias de estressores, nós aplicamos a metodologia proposta por Ellis et al., (2015), baseada na seleção multivariada de modelos através de técnicas estatísticas de ordenação. Os estressores ambientais foram separados em três categorias: gradiente hidrodinâmico, caracterizado por parâmetros relacionados à textura dos sedimentos (diâmetro médio do grão, grau de seleção, porcentagem de sedimentos finos e teor de carbonato de cálcio); gradiente de enriquecimento orgânico (nitrogênio total, fósforo total e teor de matéria orgânica); e gradiente de contaminação por metais (concentração de Co, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn na fração fina dos sedimentos).

Modelos lineares baseados em distância (DistLM) foram utilizados em cada categoria de estressores para selecionar as variáveis que explicaram a maior porcentagem da variação da comunidade bêntica. Como variáveis preditoras foram utilizadas as variáveis correspondentes a cada gradiente e como variável resposta foi utilizada a matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis, calculada com base nas principais espécies macrobênticas, espécies que somaram mais de 80% da abundância total. O método de seleção foi Step-wise e o critério de seleção do melhor modelo foi o Critério

de Informação Akaike corrigido para amostras pequenas (AICc). A análise DistLM apontou que para o gradiente hidrodinâmico, profundidade e tamanho médio do grão foram as principais variáveis. Para o gradiente de enriquecimento orgânico foi selecionada apenas a MO e para o gradiente de contaminação por metais foram selecionados Cu e Zn, no entanto, Cr e Ni foram adicionados ao modelo por apresentarem valores acima das guias de qualidade do sedimento (ERL/CONAMA) (detalhes no Capítulo 1).

Para reduzir as informações multidimensionais em uma única variável representativa do gradiente de estresse ambiental, as variáveis selecionadas pelo DistLM de cada categoria foram submetidas à uma análise de componentes principais (PCA) e os escores do primeiro componente principal foram extraídos (Tab. 1). Uma análise de agrupamento não hierárquico foi realizada em cada gradiente para identificar possíveis grupos de amostras e gerar ‘categorias ecológicas’, que variaram entre ‘Saudável’ e ‘Impactado’, como forma de avaliar a qualidade ecológica dentro de um ambiente. Em seguida foram calculados os intervalos de valores das variáveis ambientais para cada categoria de cada gradiente. É importante considerar que essa classificação entre saudável e impactado é referente apenas aos pontos amostrados neste trabalho, e não deve ser utilizada como parâmetro de comparação com outros locais. Por exemplo, os pontos da Baía da Babitonga considerados muito impactados por metais neste estudo, podem não ser classificados como muito impactados em uma escala global.

Para determinar intensidade do relacionamento entre a composição das comunidades macrobênticas e os gradientes das três categorias de estressores ambientais foram realizadas análises canônicas de coordenadas principais (CAP). Na CAP, a matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis, criada com os dados de abundância das principais espécies macrofaunais, foi confrontada com o gradiente de estresse ambiental de cada categoria (gerado pelos escores da PCA), retornando o eixo que melhor indica a resposta da estrutura da comunidade macrofaunal em relação a cada gradiente de estresse ambiental. As espécies chave, sensíveis ou tolerantes, determinantes na separação das categorias de estresse em cada gradiente ambiental foram identificadas através de DistLM (Tab. 3). Todas as análises estatísticas foram realizadas no

suplemento PERMANOVA+ do software PRIMER 6 (Clarke e Gorley 2006; Anderson et al. 2008).

Tabela 1 – Detalhes dos três modelos associados às análises de coordenadas principais (CAP): gradiente hidrodinâmico, gradiente de enriquecimento orgânico e gradiente de contaminação por metais. As variáveis consideradas foram Profundidade no ponto amostrado (Prof), Tamanho médio do grão (Média), teores de matéria orgânica (MO), Cobre (Cu), Zinco (Zn), Cromo (Cr) e Níquel (Ni).

	Hidrodinâmico	Orgânico	Contaminação
Variáveis chave (DistLM)	Prof, Média	MO	Cu, Zn
Variáveis usadas no PCA	Prof, Média	-	Cu, Zn, Cr, Ni
Transformação	Log (Prof)	-	Log (Cu, Zn)
Gradiente de estresse	Eixo 1 Hidrodinâmico	MO	Eixo 1 Contaminação
Varição explicada pelo eixo 1 da PCA	67,70%	-	88%

Resultados

Os sedimentos da Baía da Babitonga são pobremente selecionados e compostos principalmente por areia fina. Os pontos mais profundos apresentam areias média e grossa enquanto os pontos mais internos (Lagoa do Saguacu) contem areia muito fina, com maiores teores de sedimentos finos (Fig. 2).

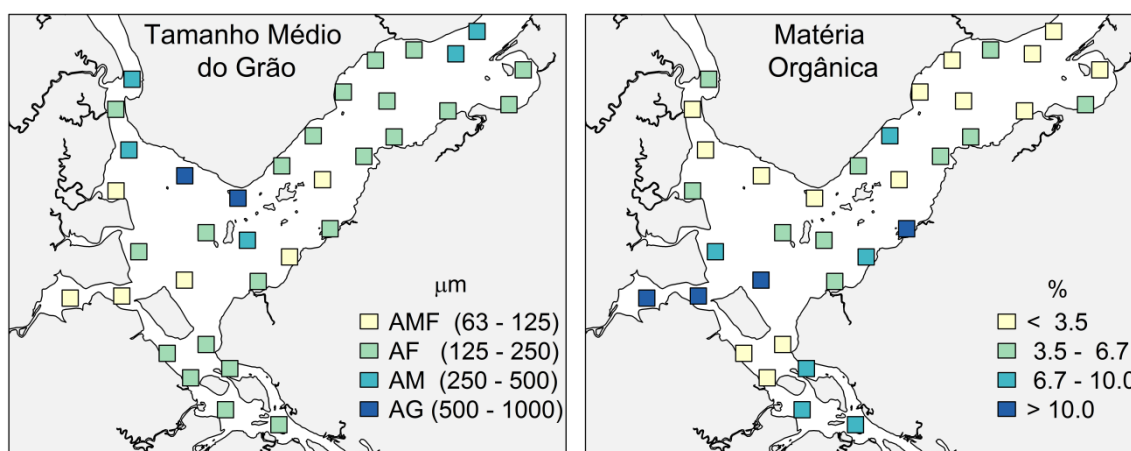


Figura 2 – Tamanho médio do grão: AMF = Areia Muito Fina (63 – 125 µm); AF = Areia Fina (125 – 250 µm); AM = Areia Média (250 – 500 µm); AG = Areia Grossa (500 – 1000 µm). Porcentagem de matéria orgânica nos pontos amostrais da Baía da Babitonga.

As maiores concentrações de matéria orgânica ocorreram nas áreas internas do estuário e no Canal do Linguado (Fig. 2). Estas áreas recebem a drenagem de regiões urbanas e apresentam menores profundidades e hidrodinâmica, o que favorece a deposição de sedimentos finos e MO. Os metais tiveram distribuição similar, com valores altos nos pontos 24, 25 e 19, locais que recebem a drenagem urbana na cidade de Joinville e, conseqüentemente, seu parque industrial. Cu e Zn apresentaram valores

máximos na Lagoa do Saguacu, enquanto Ni e Cr apresentaram valores mais altos no ponto 19, desembocadura de um canal artificial de drenagem da região nordeste da cidade de Joinville (Fig. 3). Mais detalhes sobre a distribuição dos metais nos sedimentos da Baía da Babitonga são apresentados no Capítulo 1.

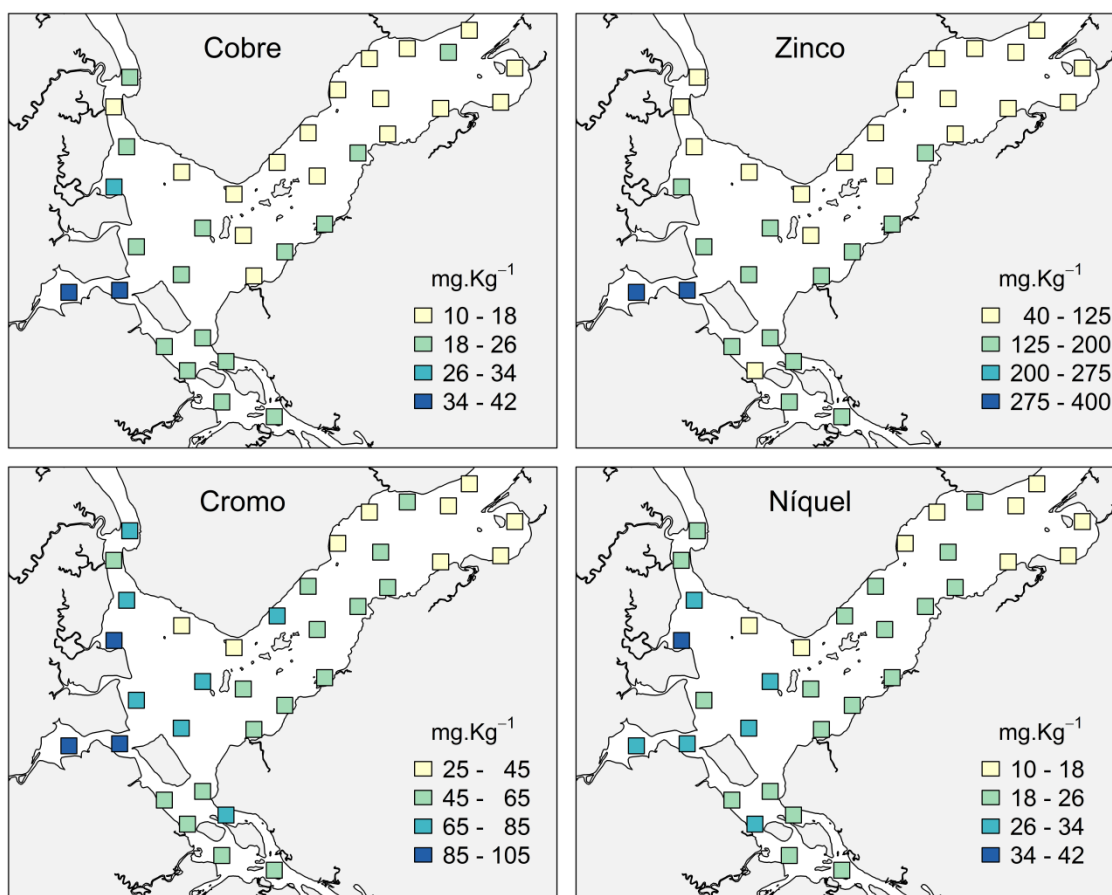


Figura 3 – Concentrações de Cobre, Níquel, Cromo e Zinco nos sedimentos superficiais da Baía da Babitonga.

No canal principal do estuário, a abundância total (N), número de espécies (S) e índice H' foram maiores próximos às margens e ilhas, enquanto na porção interna, os menores valores foram registrados dentro da Lagoa do Saguacu e no ponto mais interno do Rio Palmital (Fig. 4). 40% dos pontos apresentaram abundância inferior a 50 indivíduos, enquanto apenas 4 pontos tiveram abundância superior a 200 organismos, estes sempre próximos à desembocadura de gamboas.

A classificação dos pontos amostrais pelo AMBI foi bastante homogênea, com apenas 4 pontos na condição 'ótimo', 6 na condição 'moderado' e 25 na condição 'bom', a maioria no canal principal (Fig. 4). A região interna teve qualidade ambiental

mais heterogênea, com dois pontos de status ‘ótimo’ no Rio Palmital e pontos com status ‘moderado’ na Lagoa do Saguçu e Canal do Linguado. O status ‘moderado’ também ocorreu em dois pontos da área externa. Os status ‘pobre’ e ‘ruim’ não foram diagnosticados no estuário.

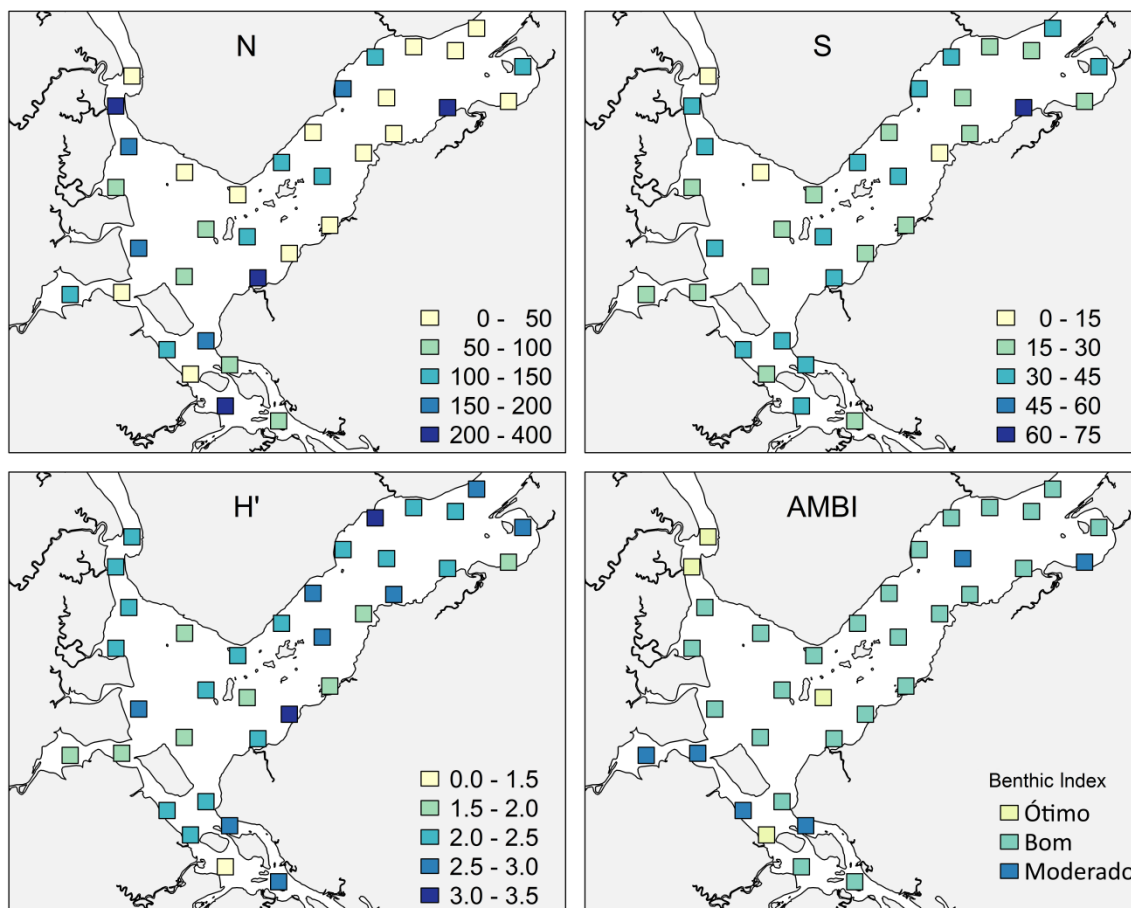


Figura 4 – Abundância total (N); Número de espécies (S); Índice de Shannon-Wiener (H') e classificação AMBI para os 35 pontos amostrais da Baía da Babitonga: Ótimo (<1.2); Bom (1.2–3.3); Moderado (3.3–4.3); Pobre (4.3–5.5); Ruim (>5.5).

Houve forte correlação entre a comunidade bêntica em resposta ao tamanho médio do grão e ao aumento da profundidade ($R^2 = 0,86$). O gradiente hidrodinâmico foi dividido em seis categorias, variando entre sedimentos mais grossos (750 a 854 μm) e maiores profundidades (5,87 a 7,31 m) na categoria 1, considerada saudável até o diâmetro médio de 77 a 223 μm e profundidades de 0,52 a 2,55 m na categoria 6 (impactado) (Tab. 3).

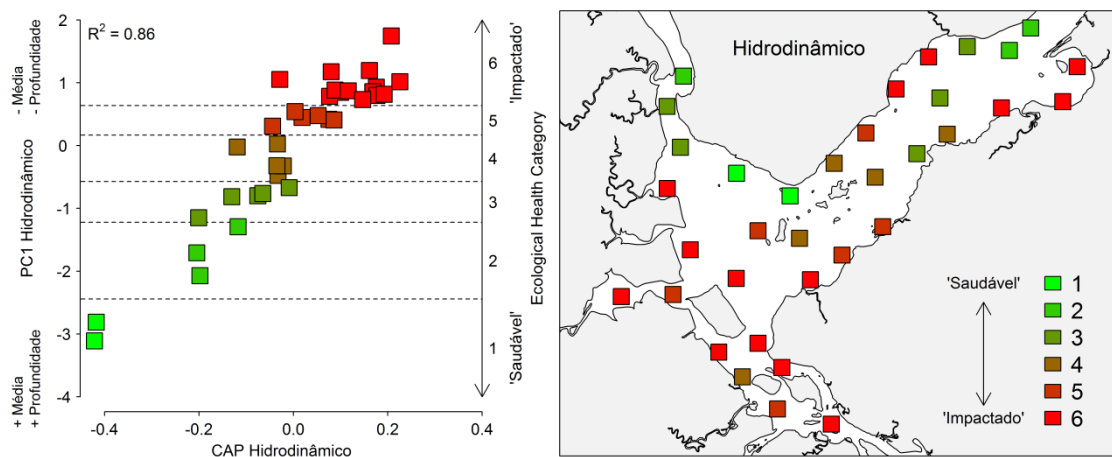


Figura 5 – Esquerda: Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP) para modelo multivariado do gradiente hidrodinâmico baseado nos 35 pontos amostrais da Baía da Babilonga. As linhas horizontais indicam categorias ecológicas variando entre ‘Saudável’ (1) e ‘Impactada’ (6). Direita: Mapa com a distribuição espacial das categorias ecológicas baseadas no gradiente hidrodinâmico na Baía da Babilonga.

Dos 35 pontos analisados, 40% foram inclusos na categoria 6, com menores profundidades e sedimentos mais finos. Estes pontos se concentram nas áreas rasas da baía, na Lagoa do Saguçu, Canal do linguado e margem sul e são áreas com menor hidrodinâmica, o que favorece a deposição de sedimentos finos (Fig. 5). Nas categorias 1, 2 e 3 foram alocados os pontos da desembocadura da baía e pontos mais profundos no Rio Palmital, que recebe um grande aporte hídrico continental (Schettini & Carvalho, 1999). A abundância, número de espécies, índice de Shannon-Wiener, e os valores de AMBI foram menores na categoria 1 e aumentaram progressivamente até a categoria 6 (Tab. 3). A correlação entre AMBI e o gradiente hidrodinâmico foi relativamente alta, quando comparada aos outros gradientes ($r = 0,50$).

Organismos da Família Syllidae e do gênero *Pionosyllis* estiveram negativamente relacionados com o gradiente hidrodinâmico, enquanto *Sigambra* sp., *Prionospio steenstrupi* e *Sthenelais limicola* foram positivamente relacionados, mostrando afinidade com áreas mais rasas e com sedimentos mais finos (Tab. 2). O AMBI classifica as espécies negativamente relacionadas ao gradiente, que apresentaram afinidade com áreas mais profundas e de sedimentos mais grossos, no grupo ecológico II (indiferentes). Já as espécies positivamente relacionadas são classificadas nos grupos III e IV, tolerantes e oportunistas de primeira ordem.

Tabela 2 – Espécies chave de cada gradiente determinadas pelo Modelo Linear Baseado em Distâncias (DistLM), Família, Classe e Grupo Ecológico (AMBI). Espécies que respondem negativamente são consideradas sensíveis. Espécies que respondem positivamente são consideradas tolerantes aos estressores de cada gradiente.

Gradiente	Associação	Táxon	Família	Classe	GE
Hidrodinâmico	+	<i>Sigambra</i> sp.	Pilargidae	Polychaeta	III
	+	<i>S. limicola</i>	Sigalionidae	Polychaeta	II
	+	<i>P. steenstrupi</i>	Spionidae	Polychaeta	IV
	-	Syllidae	Syllidae	Polychaeta	II
	-	<i>Pionosyllis</i> sp.	Syllidae	Polychaeta	II
Enriquecimento Orgânico	+	<i>Mytella</i> sp.	Mytilidae	Bivalvia	III
	+	<i>Sigambra</i> sp.	Pilargidae	Polychaeta	III
	+	<i>H. australis</i>	Cochliopidae	Gastropoda	IV
	-	Amphipoda		Malacostraca	I
	-	Crustacea			
Contaminação por Metais	-	<i>Scoloplos</i> sp.	Orbiniidae	Polychaeta	I
	+	<i>Sigambra</i> sp.	Pilargidae	Polychaeta	III
	+	<i>H. tricuspis</i>	Pilargidae	Polychaeta	II
	-	<i>P. steenstrupi</i>	Spionidae	Polychaeta	IV
	-	<i>G. multdens</i>	Goniadidae	Polychaeta	II

O gradiente de enriquecimento orgânico foi caracterizado apenas pela porcentagem de matéria orgânica e foi dividido em quatro categorias. A estrutura das associações macrofaunais esteve fortemente relacionada com os teores de MO ($R^2 = 0,61$), com 45% dos pontos alocados na categoria 2 (2,34 a 4,89 % MO). Na categoria 1 (0,21 a 1,84 % MO) encontram-se pontos no Rio Palmital e no canal principal da baía, enquanto na categoria 4 (9,18 a 13,26 % MO) foram alocados os pontos da Lagoa do Saguçu, canal do Linguado e proximidades (Fig. 6). A abundância de organismos e número de espécies foi maior nos pontos da categoria 1, diminuindo progressivamente até a categoria 4. Os valores de AMBI concordaram com o gradiente ($r = 0,47$), com menores valores nos pontos da categoria 1 e maiores na categoria 4 (Tab. 3).

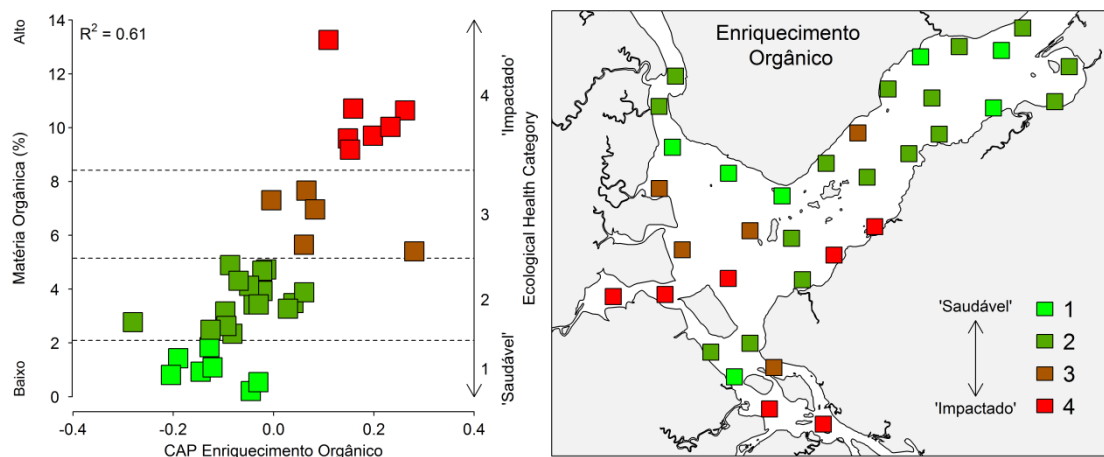


Figura 6 – Esquerda: Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP) para modelo de enriquecimento orgânico (% de matéria orgânica) baseado nos 35 pontos amostrais da Baía da Babitonga. As linhas horizontais indicam categorias ecológicas variando entre ‘Saudável’ (1) e ‘Impactada’ (4). Direita: Mapa com a distribuição espacial das categorias ecológicas baseadas no gradiente de enriquecimento orgânico na Baía da Babitonga.

Amphipodas, demais crustáceos e *Scoloplos* sp. estiveram negativamente relacionados com o gradiente de enriquecimento orgânico, enquanto *Mytella* sp., *Sigambra* sp. e *Heleobia australis* foram positivamente relacionados, mostrando afinidade com maiores concentrações de matéria orgânica (Tab. 2). O AMBI classifica as espécies inversamente relacionadas ao gradiente como sensíveis (GE I), já as espécies diretamente relacionadas são classificadas nos grupos ecológicos III e IV, tolerantes e oportunistas de primeira ordem, concordando com a “evolução” do gradiente.

O gradiente de contaminação por metais foi determinado pelas concentrações de Cu, Zn, Cr e Ni. Este gradiente apresentou a maior correlação entre as alterações na comunidade benthica e a concentração de metais nos sedimentos ($R^2 = 0,91$), indicando que este modelo pode ser usado para determinar os efeitos potenciais do aumento da concentração de metais sobre a fauna (Fig. 7). As concentrações de todos os metais aumentaram da categoria 1 a 4. 48% dos pontos foram alocados na categoria 3, compreendendo toda a região interna e mediana do estuário (Tab. 3). Três pontos estiveram na categoria 4 (impactado), são estes os pontos 19, 24 e 25, que recebem diretamente a drenagem urbana de Joinville, que também foram classificados nas categorias mais altas nos gradientes hidrodinâmico e de enriquecimento orgânico, com os menores valores de abundância e número de espécies, fazendo desta região a mais impactada da Baía da Babitonga.

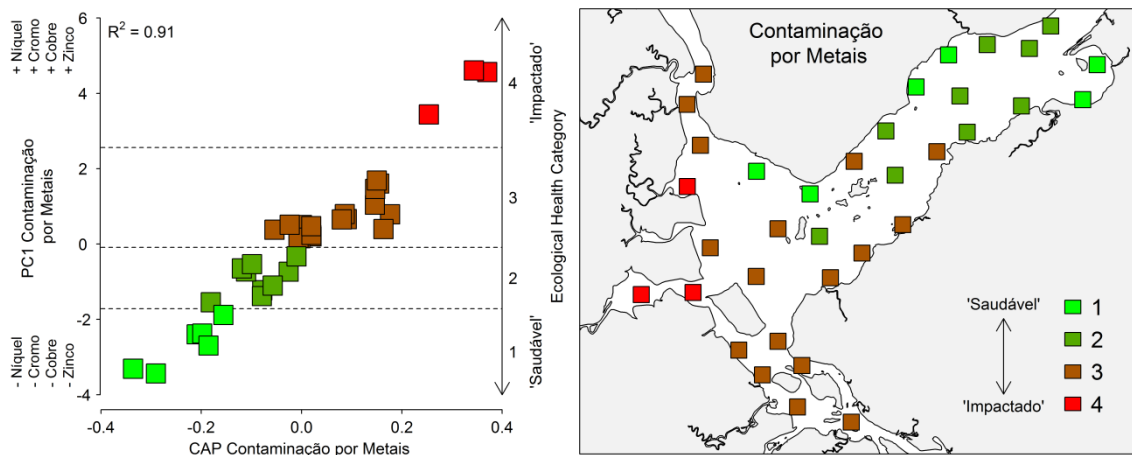


Figura 7 – Esquerda: Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP) para modelo multivariado do gradiente de contaminação por metais baseado nos 35 pontos amostrais da Baía da Babitonga. As linhas horizontais indicam categorias ecológicas variando entre ‘Saudável’ (1) e ‘Impactada’ (4). Direita: Mapa com a distribuição espacial das categorias ecológicas baseadas no gradiente de contaminação por metais na Baía da Babitonga.

Prionospio steenstrupi (GE IV) e *Glycinde multidentis* (GE II) estiveram negativamente relacionados com o gradiente de contaminação por metais e foram consideradas sensíveis, enquanto *Sigambra* sp. (GE III) e *Hermundura tricuspis* (GE II) foram positivamente relacionadas e consideradas tolerantes a maiores concentrações de metais no sedimento (Tab. 2). Para este gradiente não houve coerência entre a classificação ecológica do AMBI e a afinidade das espécies ao gradiente de contaminação. Espécies negativamente relacionadas ao gradiente, consideradas sensíveis pelo modelo, são classificadas como indiferentes ou oportunistas de primeira ordem pelo AMBI, enquanto espécies positivamente relacionadas ao gradiente são classificadas como indiferentes ou tolerantes. A correlação entre AMBI e o gradiente de contaminação por metais foi baixa, a menor entre os três gradientes analisados ($r = 0,29$).

Tabela 3 - Categorias ecológicas (CE) para os três modelos multivariados: Hidrodinâmico; Enriquecimento Orgânico e Contaminação por Metais. Valores médios (mínimos - máximos) para as variáveis associadas a cada modelo e suas categorias. n = número de pontos em cada categoria ecológica; Profundidade nos pontos amostrados (m); Finos = silte + argila; Média = tamanho médio do grão; MO = matéria orgânica; Cr = Cromo; Cu = Cobre; Ni = Níquel; Zn = Zinco; N = abundância total por amostra; S = número de taxa por amostra; H' = índice de Shannon-Wiener; e AMBI.

		CE	n	Profundidade	Finos (%)	Média (µm)	N	S	H'	AMBI										
Hidrodinâmico	1	2	6,6	(5,9-7,3)	0,6	(0,1-1,1)	802	(750-854)	9,8	(5,7-14)	11	(7-15)	2,1	(1,8-2,5)	1,28	(1,25-1,31)				
	2	3	18,6	(12,1-24,2)	5,4	(0,2-8,8)	348	(321-384)	27,6	(13,7-45)	21,3	(14-31)	2,4	(2,2-2,6)	1,32	(0,76-1,82)				
	3	5	11,3	(5,6-16,4)	13,4	(7,8-22,8)	240	(187-308)	87,7	(3,7-210)	23,2	(8-35)	2,2	(2,0-2,4)	2,19	(0,58-3,36)				
	4	5	6,5	(3,7-9,7)	22,4	(6,9-57)	195	(71-301)	87,6	(32-146)	32,4	(19-43)	2,4	(1,9-2,9)	1,59	(0,78-2,99)				
	5	6	3,3	(2,6-3,7)	28,1	(20,7-41,8)	146	(112-189)	76,6	(25-297)	23,8	(15-30)	2,1	(1,1-2,0)	2,53	(1,59-3,35)				
	6	14	1,5	(0,5-2,6)	21,9	(11,5-48,7)	163	(77-223)	139	(46-334)	31,7	(15-64)	2,4	(1,5-3,1)	2,66	(1,47-4,12)				
		EHC	n	MO (%)	Finos (%)			N	S	H'	AMBI									
Enriquecimento Orgânico	1	7	0,98	(0,21-1,84)	11,6	(0,1-27)			101	(5,7-334)	28,3	(7-64)	2,3	(1,8-3,1)	1,45	(1,02-1,88)				
	2	16	3,6	(2,34-4,89)	15,3	(6,9-57)			101	(3,7-231)	28,7	(8-43)	2,4	(1,9-2,9)	2,15	(0,58-4,12)				
	3	5	6,59	(5,40-7,66)	27	(20,5-48,7)			76	(25,3-165)	28,2	(22-32)	2,6	(2,2-2,8)	2,54	(1,59-3,43)				
	4	7	10,5	(9,18-13,3)	29,9	(19,7-41,8)			97	(25-297)	21,9	(15-30)	1,9	(1,1-3,0)	2,93	(2,27-3,42)				
		EHC	n	Cr	Cu	Ni	Zn	Finos	N	S	H'	AMBI								
Contaminação por Metais	1	6	35,3	(28,1-42)	12,5	(10,7-15,3)	13,5	(10,6-15,8)	79	(46-103)	11,3	(0,1-24,6)	85	(5,7-179)	25,7	(7-42)	2,4	(1,8-3,1)	2,13	(1,25-4,12)
	2	9	49,9	(42,2-58,2)	15,7	(14,1-18,1)	18,9	(15,9-20,6)	112	(81-122)	15,8	(0,22-57)	85	(15-334)	31,9	(15-64)	2,5	(1,9-2,9)	2,15	(0,78-3,36)
	3	17	65,2	(54,4-83,0)	19,8	(17,3-23,8)	24,2	(21,3-28,8)	146	(113-188)	20,4	(7,8-41,8)	111	(3,7-297)	26,6	(8-37)	2,2	(1,1-3,0)	2,1	(0,58-3,81)
	4	3	95,8	(87,7-102,2)	37	(33,4-41,8)	33	(26,6-41,9)	288	(199-369)	38,4	(31,3-48,7)	74	(26,3-144)	19,3	(15-22)	1,8	(1,5-2,2)	3,3	(3,14-3,42)

A partição das variâncias mostrou que as diferenças na hidrodinâmica e na concentração de metais foram os fatores individuais que explicaram as maiores proporções de variação observadas na composição da fauna (Tab. 4). A maior parte da variância foi explicada pela interação entre os 3 gradientes (28,7 %), em relação aos fatores isolados, e pode ser resultado da afinidade dos íons metálicos com a fração fina dos sedimentos, tornado áreas com menor hidrodinâmica mais suscetíveis à deposição de metais, matéria orgânica e outros contaminantes.

Tabela 4 - Porcentagem relativa de variação da composição da comunidade bêntica explicada por diferentes fontes de estresse calculadas pelo método de partição das variâncias.

Grupos de estressores	%
Hidrodinâmico	18,2
Enriquecimento Orgânico	4,8
Contaminação por Metais	14,1
Hidrodinâmico * Orgânico	22,1
Hidrodinâmico * Metais	25,1
Orgânico * Metais	16,0
Hidrodinâmico * Orgânico * Metais	28,7

Discussão

Os pontos mais impactados do estuário foram localizados em sua região interna, Lagoa do Saguçu, Canal do Linguado e margem sul, segundo as análises canônicas dos modelos de coordenadas principais (CAP models). Estas áreas recebem diretamente a drenagem das áreas urbanas dos municípios de Joinville e São Francisco do Sul. São regiões com menor hidrodinâmica e maior potencial de deposição e acúmulo de sedimentos finos e contaminantes (Vieira et al., 2008; Martins et al., 2014).

Os três gradientes ambientais apontados pelas análises foram bem correlacionados com padrões de variação da fauna, mostrando sua importância na dinâmica e distribuição das populações de organismos macrofaunais. O gradiente de contaminação por metais foi o que apresentou maior correlação com as alterações na comunidade bêntica. Isto indica que, dentre os múltiplos estressores operantes na baía, a estrutura da macrofauna bêntica foi mais fortemente influenciada pelo aumento da concentração de metais nos sedimentos. É importante considerar que a maior parte da mudança na estrutura das associações macrofaunais foi explicada pela interação entre os três gradientes. Isto é esperado, uma vez que o destino dos metais no ambiente

estuarino está intimamente ligado à hidrodinâmica e processos de sedimentação locais. Os metais associam-se ao material particulado em suspensão e a oxi-hidróxidos de ferro e manganês e são depositados nos sedimentos, geralmente associados à fração fina (Burton, 2002, Chapman, 2002; Yamamuro e Kanai, 2005).

Segundo o índice de qualidade ambiental AMBI a baía está, em geral, sob status ecológico ‘*bom*’, o que foi expresso em 71% dos pontos, a maioria no canal principal. Comparando a classificação AMBI com os gradientes de qualidade ambiental, notamos maior concordância com o gradiente hidrodinâmico e de enriquecimento orgânico ($r = 0,50$ e $r = 0,47$), enquanto a correlação com o gradiente de contaminação por metais foi mais fraca ($r = 0,29$). Apenas os pontos da Lagoa do Saguau estiveram em uma categoria mais impactada e receberam o status ‘moderado’.

As respostas da fauna ao acúmulo de contaminantes de origem orgânica nos sedimentos estão essencialmente associadas a mudanças nas vias de nutrição, modos de alimentação e a mecanismos de tolerância fisiológica à diminuição da disponibilidade de oxigênio associada a este tipo de poluição. Consequentemente, em ambientes organicamente enriquecidos há a dominância de taxa pertencentes à guildas tróficas mais generalistas, de hábitos mais oportunistas ou r-estrategistas, e fisiologicamente mais resistentes à falta de oxigênio (Pearson & Rosenberg, 1978; Cardell et al., 1999; Brauko et al., 2016). Estas respostas da fauna fundamentam o índice AMBI, e possivelmente restringem sua aplicação aos estressores orgânicos. O índice já teve, inclusive, desempenho satisfatório em resposta a contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (Muniz et al., 2005, Muxika et al., 2005), que também são fontes orgânicas e desencadeiam respostas por vias similares às do enriquecimento nutricional sobre a fauna bêntica.

Dessa forma, é possível que a classificação dos táxons nos cinco grupos ecológicos propostos pelo AMBI não reflita de forma coerente a realidade de ambientes sujeitos a múltiplos estressores, entre eles a contaminação por substâncias tóxicas e metais pesados. Os mecanismos de danos aos organismos por metais podem ser muito diferentes dos mecanismos ativados pela contaminação orgânica. Uma das vias mais afetadas por metais é a genotóxica, que envolve quebra e perda de material genético no núcleo de células somáticas e, eventualmente, de gametas (Amiard-

Triquet et al., 2013, Nunes et al., 2016). Este tipo de mecanismo de ação de metais, a nível sub-celular, será manifestado nos níveis de populações ou comunidades somente nas próximas gerações ou sub-populações das espécies impactadas. O índice AMBI não contempla este tipo de parâmetro e não é sensível aos possíveis efeitos de curto prazo em níveis sub-celulares, a menos que já estejam refletidos no nível de comunidades com o passar das gerações.

Neste sentido, um animal considerado pelo AMBI um oportunista ou tolerante ao excesso de matéria orgânica pode ter desempenho oposto sob a influência de metais. Nossos resultados mostram algumas incoerências entre os táxons chave, sensíveis ou tolerantes, determinantes na separação das categorias de estresse em cada gradiente ambiental e os grupos ecológicos determinados pelo AMBI. Houve coerência apenas para os gradientes hidrodinâmico e de enriquecimento orgânico, onde as espécies indicadas como sensíveis são de fato classificadas pelo AMBI como sensíveis (GE I) ou indiferentes (GE II). Já as espécies determinantes para o gradiente de contaminação por metais receberam classificações conflitantes. *H. tricuspis*, positivamente relacionada com o gradiente (tolerante) é classificada pelo AMBI como indiferente, enquanto *Prionospio steenstrupi*, espécie negativamente relacionada ao gradiente (sensível) é considerada oportunista de primeira ordem. *Sigambra sp.* foi determinante para os três gradientes analisados, sempre na categoria tolerante. *H. tricuspis* e *Scoloplos sp.* também foram tolerantes, mas apenas à contaminação por metais.

Nossos resultados sugerem que grupos ecológicos que agregam táxons de mesmo modo de vida e/ou estratégia alimentar não possuem, necessariamente, os mesmos mecanismos biológicos de respostas a genotóxicos. Baixas concentrações de metais podem causar efeitos deletérios em poliquetas (Reish e Gerlinger, 1997; Bonnard *et al.*, 2009), o que pode não acontecer, necessariamente, diante de baixas cargas orgânicas (Dean, 2008). A complexidade de respostas a metais pode ser ainda maior, visto que alguns poliquetas apresentam mecanismos para resistir aos efeitos tóxicos dos metais, podendo adaptar-se às condições adversas e desenvolver maior tolerância em relação àqueles da mesma espécie que vivem em sedimentos não poluídos (Mouneyrac *et al.*, 2003; Gillet *et al.*, 2008).

Ambiguidades em diagnósticos fornecidos pelo índice AMBI têm sido apontadas quando sob múltiplos vetores de contaminação incluindo metais e enriquecimento orgânico (Cai et al., 2014; Tweedley et al., 2015; Rabaoui et al., 2015), sintomas da necessidade de mais estudos envolvendo experimentos manipulativos de campo e abordagens multivariadas. A realidade neste caso é especialmente captada pelas abordagens multivariadas, onde os modelos selecionados incorporam as variáveis que afetam ou governam a estrutura da fauna, mesmo em ambientes sujeitos a múltiplos estressores com efeitos sinérgicos, em diferentes intensidades e escalas de impacto.

Quanto à qualidade ambiental, nossos resultados indicam que a Baía da Babitonga está sob um grau moderado de contaminação, principalmente nas áreas internas, com baixa hidrodinâmica e maiores taxas de sedimentação, fatores que favorecem a acumulação de contaminantes associados ao material particulado em suspensão. Embora as características hidrodinâmicas e os teores de matéria orgânica sejam importantes estruturadores da comunidade, a estrutura das associações bênticas se correlacionou de maneira mais significativa com o gradiente de contaminação por metais. As mudanças na estrutura das comunidades encontradas apontam claramente o início dos efeitos de substâncias tóxicas, com potencial transferência para níveis mais elevados da cadeia trófica marinha. Uma vez incorporados pela fauna bêntica, os metais sofrem bioacumulação e podem ser transferidos para níveis tróficos superiores, oferecendo risco ao consumo humano (Doğan-Sağlamtimur e Kumbur, 2010; Casado-Martinez et al., 2013; Kalman et al., 2014). Estas áreas encontram-se sob maior vulnerabilidade e devem ser consideradas em monitoramentos pelos órgãos ambientais competentes.

Esforços para o controle do descarte de efluentes como a ampliação do sistema de coleta e tratamento de esgoto doméstico e a fiscalização mais intensa do destino de efluentes industriais são essenciais para cessar o processo de deterioração da saúde da Baía da Babitonga. O chamado deflúvio superficial urbano (“runoff” urbano) é uma fonte importante de poluição difusa para diversos poluentes como metais pesados, principalmente Cu, Pb e Cd, e compostos orgânicos, que podem contaminar os corpos d’água receptores (Prestes et al., 2006; Murakami et al., 2009; Kayhanian et al., 2012;

Kumar et al., 2013) e deve ser considerado nas práticas de tratamento e controle de impactos sobre os ambientes costeiros.

Este estudo trouxe evidências dos impactos de múltiplos estressores sobre a estrutura de comunidades macrobênticas de ambientes estuarinos urbanizados. Apesar da interação e possível potencialização dos efeitos dos diferentes estressores locais, os modelos multivariados gerados permitiram a identificação de gradientes e nuances de impactos sobre a fauna não antes estudados. As pressões antrópicas são muitas, de naturezas distintas, e todas interagem com o ambiente estuarino já naturalmente “estressado” (Elliot e Quintino, 2007), gerando alterações ambientais de difícil distinção (Ellis et al., 2015).

A determinação da qualidade ambiental pelo índice AMBI foi insatisfatória diante dos claros efeitos dos metais sobre a fauna bêntica local, um provável reflexo da transferência das lógicas e teorias de respostas ao enriquecimento orgânico para os efeitos da contaminação por metais. Nesses casos, as classificações ecológicas dos táxons pelo índice devem ser cuidadosamente reavaliadas sob a perspectiva da ação de contaminantes genotóxicos. Por fim, os resultados deste estudo podem embasar as práticas e políticas de gestão das águas costeiras brasileiras para metais e contaminação orgânica, que ainda não se beneficiam de parâmetros que envolvam o bentos marinho como bioindicador robusto de impactos antrópicos interativos sobre a saúde de habitats costeiros.

Referências

AMAE, 2013. Agência Municipal de Regulação dos Serviços de Água e Esgotos de Joinville. URL <http://www.amae.sc.gov.br>

Amiard-Triquet, C., Mouneyrac, C., & Berthet, B. 2013. Polychaetes in Ecotoxicology. In J.-F. Féraud & C. Blaise (Eds.), *Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology* (pp. 893–908). Dordrecht: Springer Netherlands.

Anderson, M.J., Willis, T.J., 2003. Canonical Analysis of Principle Coordinates: A useful method of constrained ordination for ecology. *Ecology* 84, 511–525.

Anderson, M. J.; Gorley, R. N.; Clarke, K. R. 2008. *Permanova+ for PRIMER: guide to software and statistical methods*. PRIMER-E Ltd., Plymouth, United Kingdom. 214 p.

Anderson, M.J., 2008. Animal-sediment relationships re-visited: Characterising

species' distributions along an environmental gradient using canonical analysis and quantile regression splines. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 366, 16–27.

Barros, G.V., Martinelli, L.A., Oliveira Novais, T.M., Ometto, J.P.H.B., Zuppi, G.M., 2010. Stable isotopes of bulk organic matter to trace carbon and nitrogen dynamics in an estuarine ecosystem in Babitonga Bay (Santa Catarina, Brazil). *Science of the Total Environment*, 408, 2226–2232.

Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A., Poikane, S., Solimini, A., Van De Bund, W., Zampoukas, N., Hering, D., 2012. Three hundred ways to assess Europe's surface waters: An almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecological Indicators*, 18, 31–41.

Bonnard, M., Romeo, M., & Amiard-Triquet, C. 2009. Effects of Copper on the Burrowing Behavior of Estuarine and Coastal Invertebrates, the Polychaete *Nereis diversicolor* and the Bivalve *Scrobicularia plana*. *Human and Ecological Risk Assessment*, 15(1), 11–26.

Borja, A., Franco, J., Pérez, V., Erez, V.P., Environment, M., 2000. A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40, 1100–1114.

Borja, A., Franco, J., & Muxika, I. 2003. Classification tools for marine ecological quality assessment: the usefulness of macrobenthic communities in an area affected by a submarine outfall. *ICES - International Council for the Exploration of the Sea*.

Brauко, K. M., Muniz, P., Martins, C. de C., & da Cunha Lana, P. 2016. Assessing the suitability of five benthic indices for environmental health assessment in a large subtropical South American estuary. *Ecological Indicators*, 64, 258–265.

Burton, G. A. 2002. Sediment quality criteria in use around the world. *Limnology*, 3(2), 65–76.

Cai, W., Borja, Á., Liu, L., Meng, W., Muxika, I., & Rodríguez, J. G. 2014. Assessing benthic health under multiple human pressures in Bohai Bay (China), using density and biomass in calculating AMBI and M-AMBI. *Marine Ecology*, 35(2), 180–192.

CAJ, 2013. Companhia de Águas de Joinville. URL <http://www.aguasdejoinville.com.br>.

Cardell, M. J., Sardà, R., & Romero, J. 1999. Spatial changes in sublittoral soft-bottom polychaete assemblages due to river inputs and sewage discharges. *Acta Oecologica*, 20(4), 343–351.

Casado-Martinez, M. C., Smith, B. D., & Rainbow, P. S. 2013. Assessing metal bioaccumulation from estuarine sediments: comparative experimental results for the polychaete *Arenicola marina*. *Journal of Soils and Sediments*, 13(2), 429–440.

Chapman, M. G. 2002. Patterns of spatial and temporal variation of macrofauna under boulders in a sheltered boulder field. *Austral Ecology*, 27(2), 211–228.

Clarke, K.R., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*. 18, 117–143.

Clark, K.R., Gorley, R.N., 2006. Primer v6: UserManual/Tutorial. PRIMER-E Ltd, Plymouth, UK

Crain, C.M., Kroeker, K., Halpern, B.S., 2008. Interactive and cumulative effects of multiple human stressors in marine systems. *Ecol. Lett.* 11, 1304–1315.

Cremer, M.J., Morales, P.R.D., Oliveira, T.M.N., 2006. Diagnóstico ambiental da Baía da Babitonga. Ed. da UNIVILLE, Joinville.

Dean, H. K. 2008. The use of polychaetes (Annelida) as indicator species of marine pollution : a review. *International Journal of Tropical Biology*, 56(4), 11–38.

DNIT, 2004. DEPARTAMENTO NACIONAL DE INFRA-ESTRUTURA DE TRANSPORTE. Relatório Final dos Estudos Ambientais da Baía da Babitonga – Canal do Linguado.

Doğan-Sağlamtimur, N., & Kumbur, H. 2010. Metals (Hg, Pb, Cu, and Zn) Bioaccumulation in Sediment, Fish, and Human Scalp Hair: A Case Study from the City of Mersin Along the Southern Coast of Turkey. *Biological Trace Element Research*, 136(1), 55–70.

Dufrene, M., Legendre, P., 1997. Species Assemblages and Indicator Species: The Need for a Flexible Asymmetrical Approach. *Ecol. Monogr.* 67, 345.

Elliott, M., & Quintino, V. 2007. The Estuarine Quality Paradox, Environmental Homeostasis and the difficulty of detecting anthropogenic stress in naturally stressed areas. *Marine Pollution Bulletin*, 54(6), 640–645.

Ellis, J. I., Schneider, D. C., & Thrush, S. F. 2000. Detecting anthropogenic disturbance in an environment with multiple gradients of physical disturbance, Manukau Harbour, New Zealand. *Hydrobiologia*, 440(1/3), 379–391.

Ellis, J.I., Hewitt, J.E., Clark, D., Taiapa, C., Patterson, M., Sinner, J., Hardy, D., Thrush, S.F., 2015. Assessing ecological community health in coastal estuarine systems impacted by multiple stressors. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 473, 176–187.

FATMA, 2002. FUNDAÇÃO DE AMPARO AO MEIO AMBIENTE DE SANTA CATARINA. Atlas Ambiental da Região de Joinville: Complexo Hídrico da Baía da Babitonga.

Gillet, P., Mouloud, M., Durou, C., & Deutsch, B. 2008. Response of *Nereis diversicolor* population (Polychaeta, Nereididae) to the pollution impact – Authie and Seine estuaries (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 76(2), 201–210.

Grall, J., Glemarec, M., 1997. Using Biotic Indices to Estimate Macrobenthic Community Perturbations in the Bay of Brest. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 44 (Supplement A), 43–53.

Gray, J., 2000. The measurement of marine species diversity, with an application to the benthic fauna of the Norwegian continental shelf. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 250, 23–49.

Halpern, B.S., Selkoe, K.A., Micheli, F., Kappel, C. V, 2007. Evaluating and Ranking the Vulnerability of Global Marine Ecosystems to Anthropogenic Threats. *Conservation Biology*, 21, 1301–1315.

Hewitt, J.E., Anderson, M.J., Thrush, S.F., 2005. Assessing and monitoring ecological community health in marine systems. *Ecological Applications*, 15, 942–953.

Hewitt, J. E., Anderson, M. J., Hickey, C. W., Kelly, S., & Thrush, S. F. 2009. Enhancing the Ecological Significance of Sediment Contamination Guidelines through Integration with Community Analysis. *Environmental Science & Technology*, 43(6), 2118–2123.

Hewitt, J. E., Ellis, J. I., & Thrush, S. F. 2016. Multiple stressors, nonlinear effects and the implications of climate change impacts on marine coastal ecosystems. *Global Change Biology*, 22(8), 2665–2675.

Holder, J.V., 2002. Chemistry and the environment. In: Clark, J.H., MacQuarrie, D. (Eds.), *Handbook of Green Chemistry and Technology*. Blackwell Science Ltd, Oxford, pp. 67-78

Jackson, J.B.C., Kirby, M.X., Berger, W.H., Bjorndal, K.A., Botsford, L.W., Bourque, B.J., Bradbury, R.H., Cooke, R., Erlandson, J., Estes, J.A., Hughes, T.P., Kidwell, S., Lange, C.B., Lenihan, H.S., Pandolfi, J.M., Peterson, C.H., Steneck, R.S., Tegner, M.J., Warner, R.R., 2001. Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems. *Science*. 293, 629–37.

Kalman, J., Smith, B. D., Bury, N. R., & Rainbow, P. S. 2014. Biodynamic modelling of the bioaccumulation of trace metals (Ag, As and Zn) by an infaunal estuarine invertebrate, the clam *Scrobicularia plana*. *Aquatic toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 154, 121–130.

Kappel, C. V., 2005. Losing pieces of the puzzle: Threats to marine, estuarine, and diadromous species. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 3, 275–282.

Kayhanian, M., Fruchtman, B. D., Gulliver, J. S., Montanaro, C., Ranieri, E., & Wuertz, S. 2012. Review of highway runoff characteristics: Comparative analysis and universal implications. *Water Research*, 46(20), 6609–6624.

Kumar, M., Furumai, H., Kurisu, F., & Kasuga, I. 2013. Potential mobility of heavy metals through coupled application of sequential extraction and isotopic exchange: comparison of leaching tests applied to soil and soakaway sediment. *Chemosphere*, 90(2), 796–804.

Labrune, C., Romero-Ramirez, A., Amouroux, J.M., Duchêne, J.C., Desmalades, M., Escoubeyrou, K., Buscail, R., Grémare, A., 2012. Comparison of ecological quality indices based on benthic macrofauna and sediment profile images: A case study along an organic enrichment gradient off the Rhône River. *Ecological Indicators*, 12, 133–142.

Martins, C.C., Cabral, A.C., Barbosa-Cintra, S.C.T., Dauner, A.L.L., Souza, F.M., 2014. An integrated evaluation of molecular marker indices and linear alkylbenzenes (LABs) to measure sewage input in a subtropical estuary (Babitonga Bay, Brazil). *Environmental Pollution*. 188C, 71–80.

McLusky, D.S., Elliott, M., 2004. *The estuarine ecosystem: ecology, threats, and management*, 3rd ed. Oxford University Press, Oxford.

Mouneyrac, C., Mastain, O., Amiard, J. C., Amiard-Triquet, C., Beaunier, P., Jeantet, A.-Y., et al. 2003. Trace-metal detoxification and tolerance of the estuarine worm *Hediste diversicolor* chronically exposed in their environment. *Marine Biology*, 143(4), 731–744.

Murakami, M., Fujita, M., Furumai, H., Kasuga, I., & Kurisu, F. 2009. Sorption behavior of heavy metal species by soakaway sediment receiving urban road runoff from residential and heavily trafficked areas. *Journal of Hazardous Materials*, 164(2–3), 707–712.

Muniz, P., Venturini, N., Pires-Vanin, a. M. S., Tommasi, L. R., & Borja, Á. 2005. Testing the applicability of a Marine Biotic Index (AMBI) to assessing the ecological quality of soft-bottom benthic communities, in the South America Atlantic region. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 624–637.

Muxika, I., Borja, A., & Bonne, W. 2005. The suitability of the marine biotic index (AMBI) to new impact sources along European coasts. *Ecological Indicators*, 5(1), 19–31.

Nunes, S. M., Josende, M. E., Ruas, C. P., Gelesky, M. A., Júnior, F. M. R. da S., Fattorini, D., et al. 2016. Biochemical responses induced by co-exposition to arsenic and titanium dioxide nanoparticles in the estuarine polychaete *Laeonereis acuta*. *Toxicology*. In Press.

Pearson, T. H., & Rosenberg, R. 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography & Marine Biology: An Annual Review*, (16), 229–311.

Pohle, G., 2001. Assessment of regional benthic impact of salmon mariculture within the Letang Inlet, Bay of Fundy. *ICES Journal of Marine Science*, 58, 417–426.

Prestes, E. C., Anjos, V. E., Sodr e, F. F., & Grassi, M. T. 2006. Copper, Lead and Cadmium Loads and Behavior in Urban Stormwater Runoff in Curitiba, Brazil. *Journal of Brazilian Chemistry Society*, 17(1), 53–60.

Quintino, V., Elliott, M., Rodrigues, A.M., 2006. The derivation, performance and role of univariate and multivariate indicators of benthic change: Case studies at

differing spatial scales. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 330, 368–382.

Rabaoui, L., El Zrelli, R., Ben Mansour, M., Balti, R., Mansour, L., Tlig-Zouari, S., & Guerfel, M. 2015. On the relationship between the diversity and structure of benthic macroinvertebrate communities and sediment enrichment with heavy metals in Gabes Gulf, Tunisia. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 95(2), 233–245.

Reish, D.J., Gerlinger, T.V., 1997. A review of the toxicological studies with polychaetous annelids. *Bulletin of Marine Sciences*, 60, 584–607.

Roberts, D.A., 2012. Causes and ecological effects of resuspended contaminated sediments (RCS) in marine environments. *Environment International*, 40, 230–43.

Rosenberg, R., Blomqvist, M., Nilsson, H.C., Cederwall, H., Dimming, A., 2004. Marine quality assessment by use of benthic species-abundance distributions: A proposed new protocol within the European Union Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 49, 728–739.

Sala, O.E., Chapin, F.S., Armesto, J.J., Berlow, E.L., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D.M., Mooney, H.A., Oesterheld, M., Poff, N.L., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M., Wall, D.H., 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* (80-.). 287, 1770–4.

Silveira, L.F., Benedet, L., Signorin, M., Bonanata, R. (2012) Evaluation of the relationships between navigation channel dredging and erosion of adjacent beaches in southern Brazil. *ICCE 2012*.

Thrush, S.F., Townsend, M., Hewitt, J.E., Davies, K., Lohrer, A.M., Lundquist, C., Cartner, K., 2013. The Many Uses and Values of Estuarine Ecosystems, in: JR, D. (Ed.), *Ecosystem Services in New Zealand – Conditions and Trends*. Manaaki Whenua Press, Lincoln, New Zealand, pp. 226–237.

Tweedley, J. R. R., Warwick, R. M. M., & Potter, I. C. C. 2015. Can biotic indicators distinguish between natural and anthropogenic environmental stress in estuaries? *Journal of Sea Research*, 102, 10–21.

Venter, O., Brodeur, N.N., Nemiroff, L., Belland, B., Dolinsek, I.J., Grant, J.W.A., 2006. Threat to Endangered Species in Canada. *Bioscience* 56, 7.

Vieira, C. V., Horn-Filho, N. O., Bonetti, C. V. D. H. C., & Bonetti, J. 2008. Caracterização morfosedimentar e setorização do complexo estuarino da Baía da Babitonga/SC. *Boletim Paranaense de Geociências*, 62–63, 85–105.

Yamamuro, M., & Kanai, Y. 2005. A 200-year record of natural and anthropogenic changes in water quality from coastal lagoon sediments of Lake Shinji, Japan. *Chemical Geology*, 218(1–2), 51–61.

CAPÍTULO 3

Efeitos da contaminação por Cobre e Zinco na macrofauna bêntica de baixios entremarés: um experimento manipulativo de campo

Autores: Souza, F. M., Gilbert, E. R., Machado, E. C., Camargo, M. G.

Resumo

O impacto da exposição de Cobre e Zinco na estrutura da macrofauna bêntica foi investigado através de um experimento manipulativo de campo. Os tratamentos atribuídos foram: contaminação por Cobre (Cu), Zinco (Zn), combinação entre Cobre e Zinco (CZ), controle de procedimento (CT), e sedimento não manipulado (NM) em dois baixios entremarés com amostragens mensais ao longo de 90 dias. Embora ao término do experimento as concentrações nos tratamentos com adição de metais tenham sido maiores que as concentrações nos tratamentos controle e do que as concentrações iniciais, a transferência dos metais para o sedimento não ocorreu de forma linear e houve grande diferença entre os baixios. As concentrações mais altas ocorreram após 30 dias, para Cu e Zn no Baixio 1 e no após 60 dias para Zn no Baixio 2. A estrutura das comunidades macrofaunais se alterou de formas diferentes em cada baixio e interações envolvendo tratamentos experimentais foram significativas apenas no Baixio 1, onde os tratamentos Cu e CZ apresentaram maior efeito sobre a fauna. Para os dois baixios, a fauna das unidades que receberam o tratamento apenas com sulfato de zinco (Zn) não diferiu em relação à fauna das unidades controle de procedimento e não manipuladas. Os principais *taxa* que apresentaram diferenças significativas foram Oligochaeta, Poliquetas e Crustáceos, especialmente *Prionospio steenstrupi* e *Caprella* sp. Baixios entremarés são ambientes muito dinâmicos e naturalmente estressados, e as comunidades destes ambientes estão em constante rearranjo estrutural. Estes fatores fazem com que a fauna destes ambientes seja resiliente e bem adaptada a estressores diversos. Os efeitos de metais em comunidades bênticas, quando detectados, variam muito entre tempos e locais, e fatores externos são responsáveis por grande parte da variação encontrada, dificultando a predição dos efeitos dos metais sobre estas comunidades.

Introdução

Os metais estão entre os contaminantes inorgânicos mais abundantes em ambientes aquáticos (Halpern et al., 2007). Ao contrário dos compostos orgânicos, os metais não podem ser degradados e se acumulam nos sedimentos e organismos (Bertin e Averbeck, 2006; Seebaugh et al., 2005). Embora muitos metais sejam elementos essenciais, quando em altas concentrações podem se tornar tóxicos e causar impactos persistentes às comunidades bênticas. A toxicidade dos metais varia de acordo com características ambientais tais como, como espécie química, salinidade, pH e temperatura (Bryan, 1971; Machado et al., 2016).

Interações entre diferentes contaminantes; processos ecológicos como competição, migração e recrutamento; e a variabilidade física do ambiente podem afetar a acumulação, a persistência e a toxicidade de muitos contaminantes e modificar as respostas das comunidades ante um agente tóxico (Fukunaga et al., 2011). Com isso, os efeitos encontrados em laboratório podem ser diferentes dos que ocorrem na natureza (McLusky et al., 1986; Johnston e Keough, 2003; Belzunce-Segarra et al., 2015). Os impactos causados por um distúrbio podem variar também por diferenças de sensibilidade entre as espécies e na estrutura e composição das comunidades entre locais e tempos distintos (Inglis e Kross, 2000; Lindegarth e Hoskin, 2001). Além disso, organismos podem desenvolver tolerância a distúrbios específicos, tornando difícil a predição de impactos ecológicos dos contaminantes em testes de toxicidade em laboratório (Bryan, 1974; Klerks e Levinton, 1993).

Estudos em campo tem a vantagem de que todas as variáveis, exceto a que está sendo manipulada, podem variar naturalmente (Connell, 1974). A principal vantagem de se realizar estudos em comunidades naturais em um determinado local e tempo é a possibilidade de analisar muitas populações e as interações que podem ocorrer entre elas. Comunidades naturais são, geralmente, compostas por muitas espécies e podem responder aos contaminantes de uma forma diferente do que uma única ou poucas espécies em ambiente controlado (Cairns, 1983). Além disso, os efeitos dos metais podem ocorrer de forma direta ou indireta, dependendo da estrutura da comunidade (Nunes et al, 2008; Bere et al., 2016). Se a presença do contaminante diminui a abundância e a competitividade das espécies dominantes, a abundância de competidores inferiores pode aumentar porque a competição foi alterada, mas não por

um resultado direto do contaminante (Lindegarth e Underwood, 2002; Fleeger et al., 2003; Johnston e Keough, 2003).

As evidências de impactos por metais na macrofauna bêntica em campo surgem principalmente da observação de padrões correlativos. A maioria destes estudos demonstra que a diversidade das comunidades tende a diminuir com o aumento das concentrações de metais e que há diferenças na estrutura das comunidades na presença de altas concentrações (Warwick, 2001; Bere et al., 2016; Ellis et al., 2015; Piló et al., 2015). No entanto, estudos correlativos não demonstram relações de causalidade entre o grau de contaminação e as alterações observadas nas comunidades (Mayer-Pinto et al., 2010). A detecção destes padrões repetidamente em estudos independentes pode ser utilizada para avaliar a capacidade preditiva de modelos correlativos entre contaminantes e comunidades. Porém, evidências inequívocas das relações de causalidade podem ser melhor obtidas através de experimentos manipulativos (Underwood, 1997). Experimentos manipulativos em campo são necessários para testar hipóteses sobre os efeitos da poluição em condições ambientais relevantes e para que se possa compreender como os efeitos dos contaminantes variam espacialmente e temporalmente (Lindegarth e Underwood, 1999; Mayer-Pinto et al., 2010).

Neste trabalho, nós testamos as relações causais entre o incremento das concentrações de Cobre e Zinco nos sedimentos de baixios entremarés e alterações na estrutura das comunidades macrobênticas. A hipótese testada é de que se a contaminação do sedimento por metais causa efeitos deletérios aos organismos bênticos, então, nas áreas contaminadas, as comunidades apresentarão diminuição densidade total, número de espécies e densidade das espécies numericamente dominantes em relação às áreas não manipuladas, e esse efeito será maior quanto maior o tempo e a concentração de metais nos sedimentos. Para tanto, nós realizamos um experimento manipulativo de campo onde as comunidades macrobênticas naturais foram submetidas ao aumento artificial das concentrações de cobre e zinco nos sedimentos.

Materiais e métodos

Área de estudo

Este experimento foi desenvolvido em dois baixios entremarés da Ilha Rasa da Cotinga, Complexo Estuarino de Paranaguá (Baixio 1 - 25°30'36.81"S, 48°27'16.89"O; Baixio 2 - 25°31'34.24"S, 48°24'21.09"O). Os baixios selecionados estão distantes aproximadamente cinco quilômetros e apresentam composição granulométrica similar, compostas principalmente por areias finas e médias, pobremente selecionadas. O teor de sedimentos finos é, em média, de 16,5% no Baixio 1 e 17,8% no Baixio 2, enquanto o teor de matéria orgânica é de 3,6% para o Baixio 1 e 3,8% para o Baixio 2.

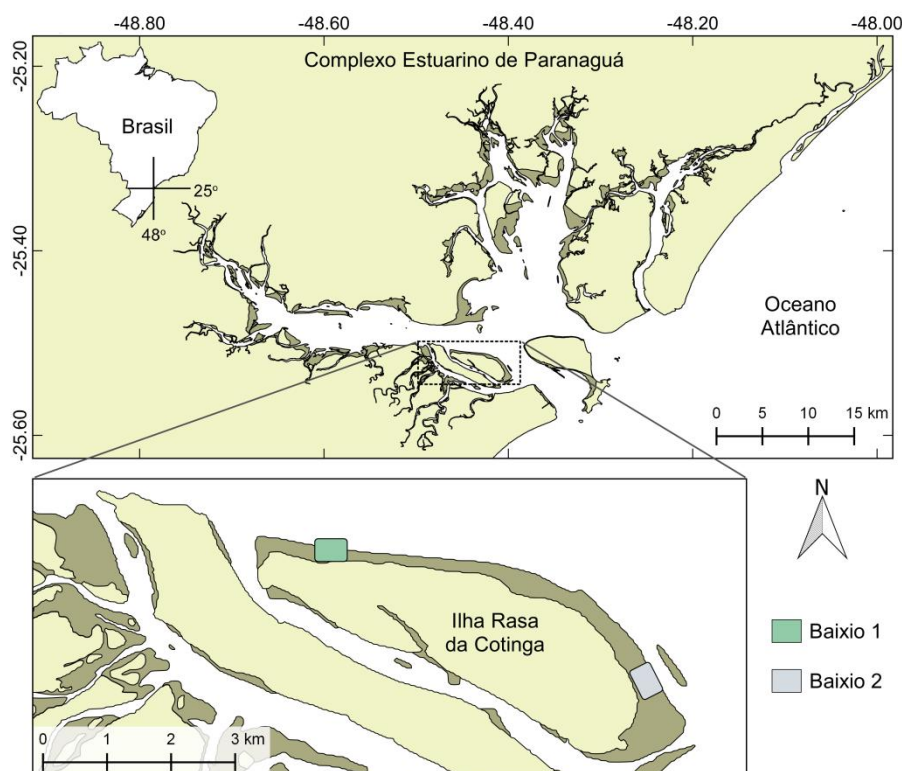


Figura 1 – Complexo Estuarino de Paranaguá com destaque para a Ilha Rasa da Cotinga, local de implementação do delineamento experimental replicado em duas áreas (Baixios) similares.

Delineamento experimental

Foram geradas áreas de sedimento manipulado, denominadas unidades experimentais (UE), que consistem em áreas circulares de 1 m² dispostas em uma grade de 5 x 3 UE distantes 8 metros entre si (Fig. 2). Para cada UE foi atribuído aleatoriamente um dos seguintes tratamentos experimentais: contaminação por Cobre (Cu), contaminação por Zinco (Zn), contaminação combinada por Cobre e Zinco (CZ), controle de procedimento (CT), e sedimento não manipulado (NM), sem alocação de blocos experimentais, totalizando 3 UEs para cada tratamento experimental. A técnica

utilizada neste experimento foi descrita por Lindegarth & Underwood (1999) e foi aplicada com sucesso em sedimentos de sublitoral por Morrisey et al. (1996) e regiões entremarés por Lindegarth e Underwood (2002). O delineamento foi replicado em cada Baixio.

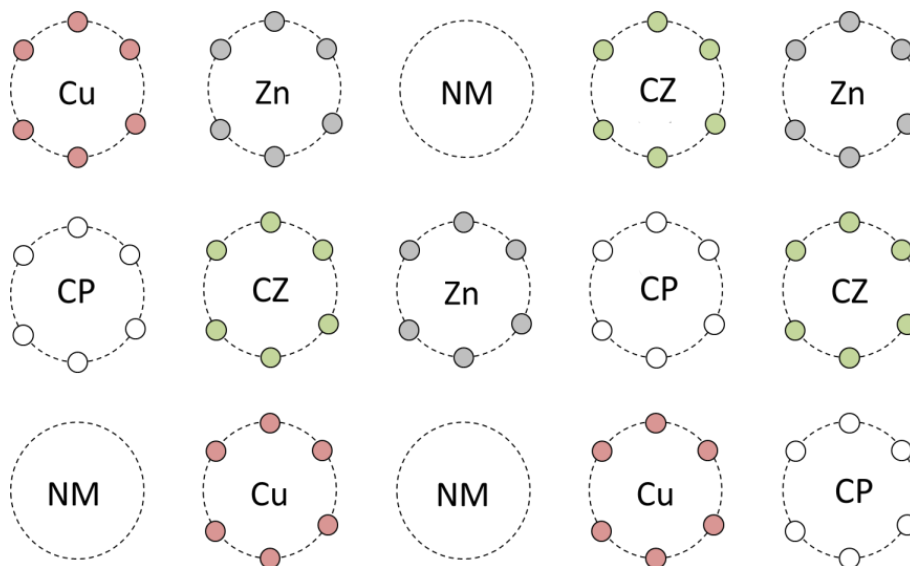


Figura 2- Esquema das unidades experimentais estabelecidas para cada tratamento e distribuição dos blocos experimentais no perímetro de cada unidade. Cu = Cobre; Zn = Zinco; CZ = Cobre/Zinco; CP = Controle de Procedimento; NM = Não Manipulado.

Os metais foram incorporados a blocos de gesso através da dissolução de sulfato de cobre e sulfato de zinco em água deionizada, de acordo com o método aplicado por Morrisey et al. (1996) e Lindegarth e Underwood (1999 e 2002) (Fig. 3).

Os blocos de cada tratamento seguiram a seguinte composição:

- Cobre (Cu): 200 g de sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$); 350 g de gesso e 450 ml de água deionizada.
- Zinco (Zn): 200g de sulfato de zinco heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); 350 g de gesso e 450 ml de água deionizada.
- Combinação Cobre e Zinco (CZ): 100 g de sulfato de cobre, 100g de sulfato de zinco, 350g de gesso e 450 ml de água deionizada.
- Controle de Procedimento (CP): 450 g de gesso e 550 ml de água deionizada.

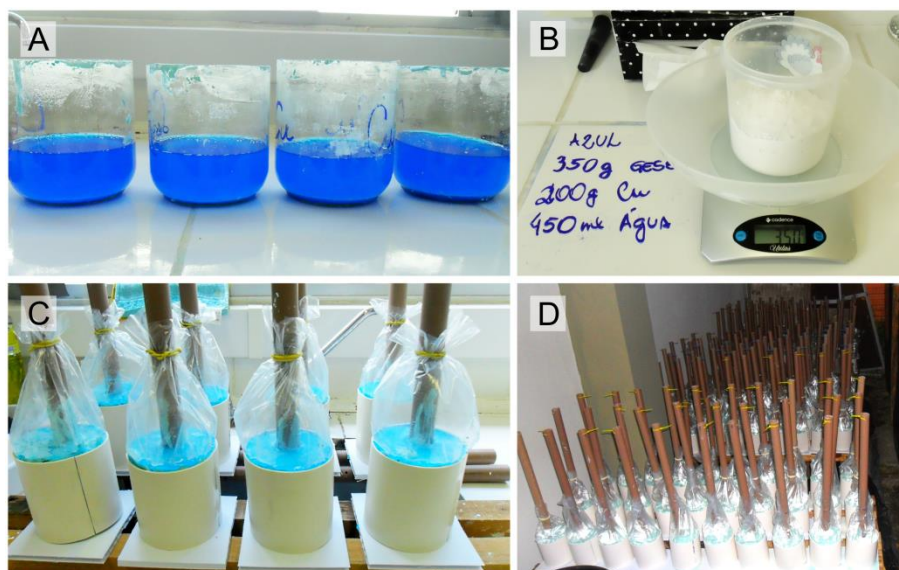


Figura 3 – A: Solução de sulfato de cobre; B: Gesso sendo pesado para preparação dos blocos experimentais; C: Confeção dos blocos de gesso em moldes de PVC com estaca central para sinalização em campo; D: Blocos aguardando secagem para implementação do experimento em campo.

Os blocos foram moldados em cilindros de PVC com 10 cm de diâmetro e secos por pelo menos 30 dias antes do início do experimento (Fig. 3C e Fig. 3D). Foram alocados seis blocos no perímetro de cada círculo correspondente à UE, enterrados aproximadamente 10 cm abaixo da superfície (Fig. 2 e Fig. 4A). Este procedimento causou a contaminação do sedimento adjacente através da dissolução dos blocos experimentais, de modo que no interior do círculo a concentração do metal no sedimento seja suficientemente alta para causar alterações nas comunidades bênticas (Fig. 4A e Fig. 4B).

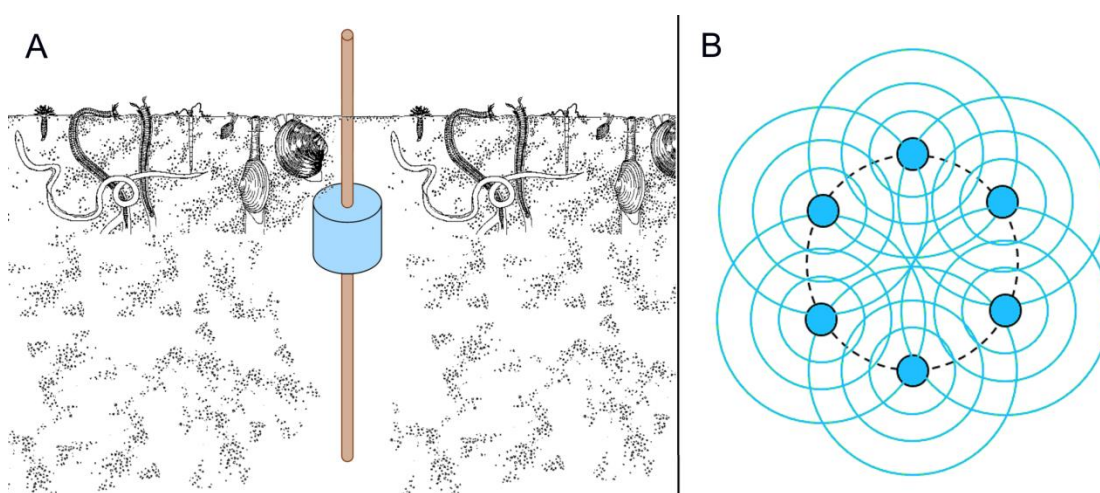


Figura 4 – (A) Esquema ilustrando a alocação do bloco experimental enterrado a 10 cm da superfície dos sedimentos; (B) Esquema ilustrando a área contaminada gerada pela dissolução dos blocos alocados no perímetro da Unidade Experimental.

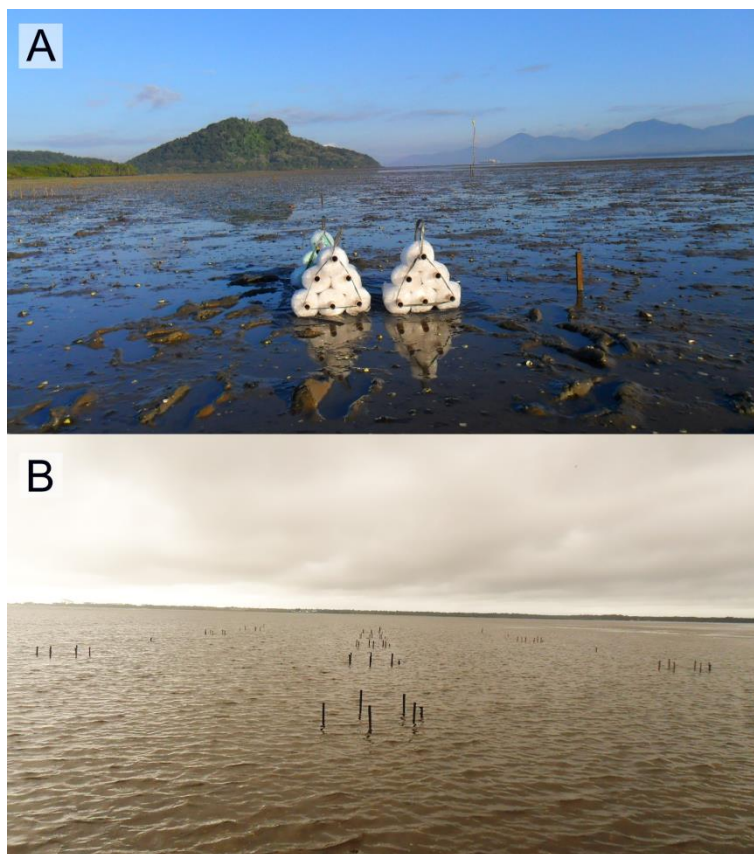


Figura 5 – (A) Blocos de gesso transportados ao local de implementação do experimento; (B) Baixo submerso evidenciado a demarcação das Unidades Experimentais.

Amostragem

Amostras de fauna foram tomadas nos tempos T0 (no momento da implementação do experimento), 30, 60 e 90 dias após a introdução dos contaminantes. Em cada unidade experimental foram tomadas três amostras de fauna com *corer* de PVC com 10 cm de diâmetro e 10 cm de profundidade. As amostras de fauna foram fixadas em formaldeído 4%, lavadas em malha de 0,5 mm e os organismos foram triados e identificados ao menor nível taxonômico possível.

O experimento realizado por Morrisey et al. (1996) demonstrou que o período de 1 mês é suficiente para causar o aumento da concentração de metais e consequentes efeitos nas associações bênticas. As UEs foram amostradas repetidamente em cada período e as amostras foram consideradas na análise como plenamente independentes, baseado nos resultados de Lindegarth e Underwood (2002), que não encontraram efeitos significativos de amostragens repetidas em unidades experimentais de 1 metro de diâmetro. As amostragens sobrepostas podem causar distúrbios físicos, mas a mesma intensidade de distúrbio foi aplicada a todos os tratamentos experimentais;

então, os eventuais efeitos deste distúrbio não serão confundidos com os efeitos dos metais testados.

Para analisar a persistência das concentrações de metais nas unidades amostrais, uma amostra de sedimento foi tomada quinzenalmente cada unidade experimental. A concentração dos metais no sedimento foi analisada na fração fina (<63µm). O sedimento foi submetido à digestão ácida assistida por microondas através do método EPA 3051a utilizando 10 mL de ácido nítrico (HNO₃, 65%; Merck). A determinação das concentrações de cobre e zinco foi realizada por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado em um Optima 7000 DV ICP-OES (PerkinElmer). A validação analítica foi efetuada através da digestão do material de referência certificado BCR701 - Lake Sediment (Extractable Trace Elements), limite de quantificação do método e o limite de detecção do método (MDL) calculado através do método de Hubaux and Vos (1970) (Tab. 1).

Tabela 1 - Recuperação média e desvio padrão (n=3) dos valores certificados (mg.Kg⁻¹). Material certificado de referência (BCR701); Recuperação (% Rec); Limite de Detecção do Método (LDM - mg/L) e Limite de Quantificação do Método (LQM - mg/L).

Elemento	BCR701	Recuperação	% Rec	LDM	LQM
Cu	275	321,49 ± 6,24	116,91	0,0026	0,0092
Zn	454	513,65 ± 5,31	113,14	0,0053	0,0189

Análise de dados

A hipótese geral desse estudo considera que a exposição à concentrações elevadas de Cobre e Zinco causará alterações na comunidade macrofaunal que serão observadas através da redução da abundância total, número de espécies e abundância das espécies numericamente dominantes. Essa hipótese pode ser testada pela interação entre os tratamentos experimentais (Tr) e o tempo de exposição (Te), onde se espera que a estrutura da comunidade não se altere ao longo do tempo nas UEs não manipuladas e de controle de procedimento mas apresente os efeitos preditos nas UEs com concentrações de metais artificialmente manipuladas.

O delineamento amostral adotado permite isolar outras fontes de variação que poderiam mascarar a resposta da comunidade macrofaunal ao tratamento experimental aplicado. Variações temporais na estrutura da comunidade podem ser detectadas testando isoladamente o tempo, independentemente dos tratamentos. Por outro lado, a

variabilidade espacial pode ser avaliada nas unidades experimentais não manipuladas, enquanto que a variabilidade da resposta da fauna à exposição aos diferentes metais pode ser avaliada nas unidades experimentais com incremento artificial nas concentrações de Cu e Zn.

O experimento foi replicado em dois baixios que foram analisados separadamente devido à grande variabilidade das comunidades macrobênticas entre os locais. O tratamento experimental (Tr) foi considerado fixo e com 5 níveis (Não manipulado- NM, Controle do Procedimento - CP, Cobre - Cu, Zinco - Zn e combinação entre Cobre e Zinco - CZ), as unidades experimentais (UE) foram consideradas aleatórias com 3 níveis e aninhadas ao tratamento experimental, o tempo de exposição (Te) foi considerado fixo com 4 níveis (0, 30, 60 e 90 dias) e ortogonal ao tratamento experimental e às unidades experimentais.

Para cada baixio, o modelo linear foi aplicado a uma análise de variância multivariada permutacional (PERMANOVA) tendo como variável resposta a matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis calculada com base nas principais espécies macrobênticas. O mesmo modelo linear foi aplicado para avaliar as variações no número de espécies, e na abundância total e dos taxa numericamente dominantes encontrados em cada baixio. Os testes univariados foram realizados através de análises de variância permutacional (PERANOVA) baseada em distância euclidiana (Anderson, 2001). Além dos testes de hipóteses foram calculados os componentes de variação para estimar a porcentagem da variabilidade total associada a cada fonte de variação do modelo linear.

Resultados

Concentração dos metais

As concentrações de cobre e zinco apresentaram padrões diferentes entre os Tratamentos e Baixios. Para cobre, as maiores liberações ocorreram no Baixio 1, no tratamento apenas com sulfato de cobre (Cu), enquanto o zinco foi melhor transferido para o sedimento no tratamento CZ, onde os blocos de gesso continham os dois elementos. A liberação máxima de cobre ocorreu após 30 dias, no T30, com aumento de 275% no Baixio 1 e 111% no Baixio 2, ambos no Tratamento Cu. Para zinco, os incrementos máximos ocorreram no Tratamento CZ, com 104% no Baixio 1, T30 e

227% no Baixo 2, T60. Ao final do experimento, no T90, houve queda nas concentrações, mas ainda se mantiveram superiores às concentrações obtidas em T0 (Fig. 6, Tab. 2).

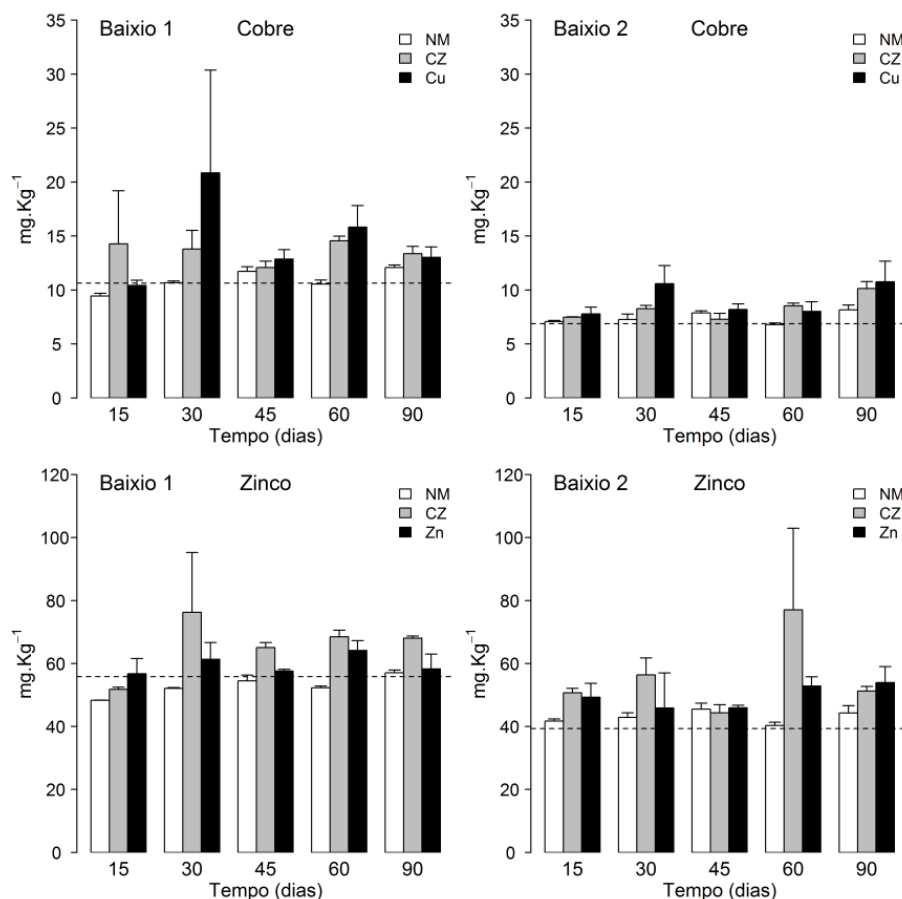


Figura 6: Concentrações (média \pm erro padrão; n=3) de cobre e zinco no sedimento das Unidades Experimentais nos tempos T15 à T90 no Baixo 1 e Baixo 2. Tratamentos experimentais: NM (Não Manipulado), CZ (Cobre e Zinco), Cu (Cobre) e Zn (Zinco). A linha tracejada representa a média das concentrações de cobre e zinco nas unidades Não Manipuladas no tempo T0.

De maneira geral, as concentrações de Cu e Zn nos sedimentos foram maiores no B1, mesmo nos tratamentos controle (NM e CP), e, ao contrário do esperado, não houve aumento progressivo das concentrações nos tratamentos experimentais ao longo do tempo.

Tabela 2: Porcentagem de aumento das concentrações nos sedimentos em relação ao tratamento NM no Tempo T0. Incremento máximo (Max), média e desvio padrão de incremento no T90 (Final) (n=3).

Site	Trat	Cobre		Zinco	
		Max (%)	Final (%) ± DP	Max (%)	Final (%) ± DP
B1	CZ	80,44	25,76 ± 11,03	104,58	21,86 ± 2,03
	Cu	275,18	22,47 ± 15,93	---	---
	Zn	---	---	28,58	4,37 ± 14,55
B2	CZ	63,86	47,46 ± 16,02	227,63	30,39 ± 6,23
	Cu	111,29	56,63 ± 47,99	---	---
	Zn	---	---	66,57	37,13 ± 22,43

Efeitos sobre a Fauna

Foram coletados 27507 organismos pertencentes a 86 taxa e divididos em 10 classes. A densidade de organismos foi maior no Baixio 1, com 90 indivíduos por *corer*, em média, enquanto no Baixio 2 a densidade média foi de 60 indivíduos por *corer*. No geral, a abundância total e número de espécies foi menor nas unidades contaminadas do que nas unidades controle, mas este padrão variou entre os tempos e tratamentos.

Os dois baixios selecionados para o experimento apresentaram resultados diferentes e foram analisados separadamente. Oligochaeta foi táxon o mais abundante nos dois baixios, seguido por *Sigambra* sp., *Caprella* sp. e *Prionospio steenstrupi* no Baixio 1 e por *Anomalocardia flexuosa*, *Monokalliapseudes schubartii* e bivalves não identificados no Baixio 2 (Tab. 3).

Tabela 3 - Abundância (N), dominância (%) e dominância acumulada (%ac) dos 10 taxa mais representativos identificados no estudo.

Total	N	%	%ac	Baixio 1	N	%	%ac	Baixio 2	N	%	%ac
Oligochaeta	8616	31,32	31,32	Oligochaeta	5573	33,71	33,71	Oligochaeta	3043	27,72	27,72
<i>P. steenstrupi</i>	2752	10,00	41,33	<i>Sigambra</i> sp.	2316	14,01	47,72	<i>A. flexuosa</i>	1132	10,31	38,04
<i>Caprella</i> sp.	2588	9,41	50,74	<i>Caprella</i> sp.	2220	13,43	61,15	<i>M. schubartii</i>	954	8,69	46,73
<i>Sigambra</i> sp.	2448	8,90	59,64	<i>P. steenstrupi</i>	1867	11,29	72,45	Bivalves	916	8,35	55,07
<i>A. flexuosa</i>	1361	4,95	64,58	Nemertea	514	3,11	75,56	<i>P. steenstrupi</i>	885	8,06	63,14
Bivalves	1327	4,82	69,41	Capitellidae	487	2,95	78,50	<i>B. striata</i>	766	6,98	70,12
Capitellidae	1073	3,90	73,31	Bivalves	411	2,49	80,99	Capitellidae	586	5,34	75,46
<i>M. schubartii</i>	1042	3,79	77,10	<i>G. multidentis</i>	402	2,43	83,42	<i>Caprella</i> sp.	368	3,35	78,81
<i>B. striata</i>	928	3,37	80,47	<i>L. culveri</i>	282	1,71	85,12	<i>G. multidentis</i>	345	3,14	81,95
<i>G. multidentis</i>	747	2,72	83,19	Lumbrineridae	270	1,63	86,76	Nemertea	225	2,05	84,00

Nas análises multivariadas houve diferenças significativas nas interações envolvendo Tratamento e Tempo apenas para o Baixio 1, indicando que as alterações na estrutura da comunidade bêntica previstas pelo delineamento experimental ocorreram apenas neste baixio (Tab. 4). As diferenças significativas observadas entre Tempos ocorreram ao longo de todo o experimento para os dois baixios, e são

variações que não foram causadas pelas manipulações experimentais. Entre Unidades Experimentais ocorreram diferenças significativas apenas nos tratamentos Cu e CZ no Baixo 1 e Cu e Zn no Baixo 2, enquanto nos tratamentos Controle de Procedimento e Não Manipulado, as unidades experimentais se mantiveram homogêneas ao longo do experimento. A maior parte da variação para os dois baixios se concentrou no resíduo (>60%), que representa a variabilidade entre réplicas.

Tabela 4- PERMANOVA para análises multivariadas e univariadas. As análises univariadas foram realizadas para abundância total (Abund. Total), número de espécies, abundância de Oligochaeta, Polychaeta, Bivalvia e Malacostraca, e para as espécies numericamente dominantes. Valores destacados apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$). Componentes de Variação estão apresentados em porcentagem (CV). Tr = Tratamento, Te = Tempo, UE(Tr) = Unidades Experimentais, Res = Resíduo.

	Tratamento		Tempo		UE(Tr)		TrxTe		TexUE(Tr)		Res
	F	CV	F	CV	F	CV	F	CV	F	CV	CV
Multivariada											
Baixio 1	0,90	0,00	15,59	22,21	1,97	4,95	2,19	9,04	1,12	2,36	61,44
Baixio 2	1,13	0,39	14,46	25,50	1,73	3,75	1,06	0,56	1,37	7,75	62,05
Baixio 1											
Abund. Total	0,55	0,00	24,61	25,57	4,89	15,81	3,40	18,27	1,61	12,60	27,75
Nº de espécies	0,70	0,00	5,73	19,23	0,99	0,00	1,39	12,47	1,46	19,33	48,97
Oligochaeta	0,14	0,00	27,57	26,85	4,01	18,04	3,69	19,11	0,94	0,00	36,01
Polychaeta	1,18	3,57	17,21	22,03	4,00	15,6	2,80	16,44	1,38	11,18	31,18
Bivalvia	0,80	0,00	12,80	27,64	1,63	10,25	0,87	0,00	1,47	17,70	44,41
Malacostraca	1,54	5,58	17,44	24,3	2,56	10,23	2,26	15,09	2,01	16,45	28,35
<i>P. steenstrupi</i>	1,82	6,09	20,37	25,28	0,84	0,00	4,72	24,80	0,77	0,00	43,83
Caprella	1,41	5,17	15,30	22,92	2,72	11,03	2,29	15,40	1,95	16,42	29,06
<i>Sigambra sp.</i>	0,45	0,00	6,79	18,69	4,74	22,16	0,90	0,00	1,72	19,47	39,67
Baixio 2											
Abund. Total	0,80	0,00	9,13	21,63	2,01	11,21	1,31	9,46	1,74	19,17	38,54
Nº de espécies	0,20	0,00	3,56	15,78	1,48	9,74	0,47	0,00	1,85	25,95	48,53
Oligochaeta	2,07	9,70	11,07	22,95	2,09	11,73	0,92	0,00	1,55	16,73	38,88
Polychaeta	0,56	0,00	5,16	16,15	1,76	14,12	1,61	13,85	0,90	0,00	55,88
Bivalvia	0,71	0,00	17,85	26,33	3,06	15,96	1,32	8,14	1,24	11,10	38,47
Malacostraca	1,01	1,05	5,90	21,87	3,86	13,98	0,40	0,00	5,34	34,47	28,64
<i>A. flexuosa</i>	1,21	5,31	11,62	20,45	2,14	14,39	1,90	13,37	0,82	0,00	46,48
<i>M. schubartii</i>	0,54	0,00	6,31	22,17	5,47	16,71	0,52	0,00	5,55	33,73	27,38
<i>P. steenstrupi</i>	1,43	6,52	23,20	31,37	1,91	11,79	0,88	0,00	1,09	7,72	42,60

Considerando as análises univariadas do Baixio 1, apenas o número de espécies, a classe Bivalvia e o poliqueta *Sigambra sp.* não apresentaram diferenças significativas na interação TrxTe (Tab. 4). Analisando os testes pareados para a interação TrxTe, vimos que houve diferenças significativas entre os tratamentos principalmente no tempo T0 e no tempo T90. No T0, as abundâncias foram maiores nos tratamentos Cu e CZ, porém, as diferenças observadas neste tempo podem ser consideradas diferenças espaciais naturais, já que não houve interferência dos tratamentos experimentais. Nos tempos T30 e T60 as unidades experimentais se tornaram homogêneas, com diminuição das abundâncias nos tratamentos Cu e CZ, aproximando-as dos demais tratamentos (Fig. 7 e Fig. 8). No tempo T90 os tratamentos foram diferentes pela diminuição das abundâncias nos tratamentos Cu e CZ, tornando-as distintas dos tratamentos controle (NM e CP). A classe Polychaeta foi a que apresentou maior resposta à contaminação por metais, com redução significativa da abundância ao termino do experimento nos três tratamentos com adição de metais (Fig. 8).

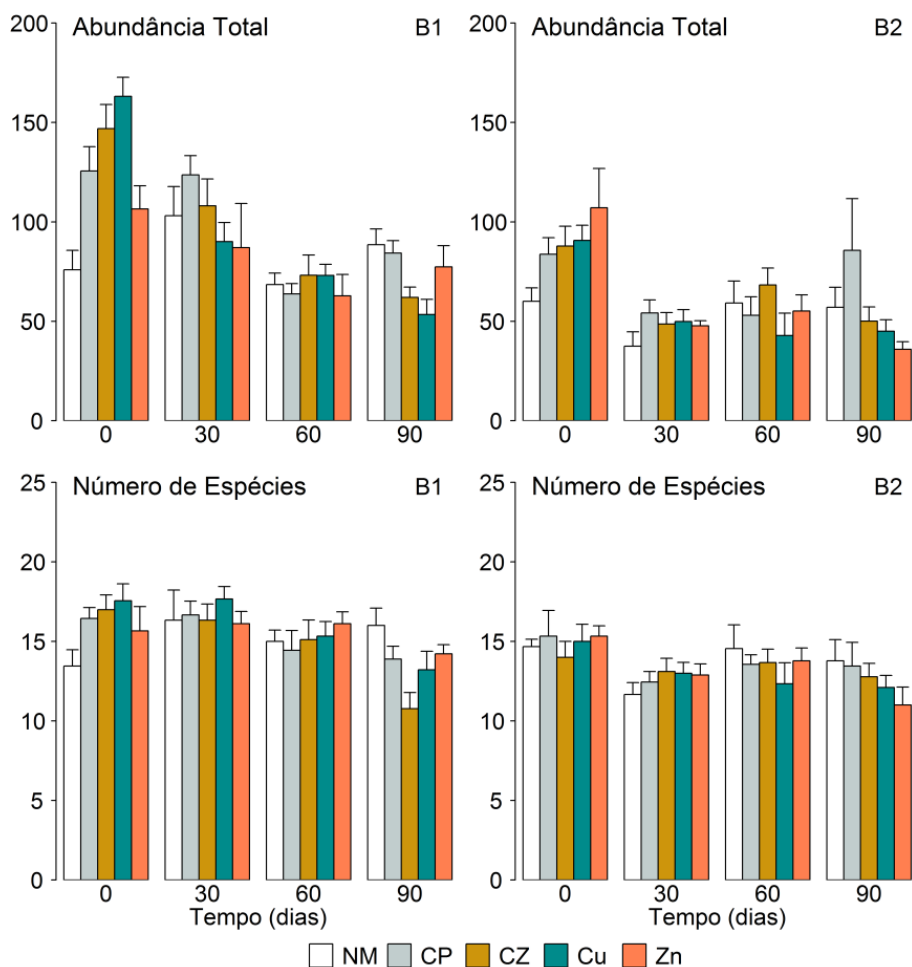


Figura 7 – Abundância total e número de espécies (média \pm erro padrão; n = 9) em cada Tratamento (NM, CP, CZ, Cu, Zn) dos Baixios 1 e 2, ao longo dos tempos amostrais (T0, T30, T60, T90).

O padrão geral observado no Baixio 1 foi diferente apenas para Bivalvia, cujas abundâncias aumentaram ao longo do experimento e *Sigambra* sp., que apresentou diferenças apenas entre Tempos, diminuindo ao longo do experimento em todos os tratamentos. *Caprella* sp. foi uma das espécies numericamente dominantes no Baixio 1 e o seu padrão de ocorrência tendenciou a distribuição de Malacostraca, que apresentou o mesmo comportamento (Fig. 8). De maneira geral, as abundâncias nas unidades do tratamento Zn não variaram ao longo do experimento, exceto para *P. steenstrupi*, em que as abundâncias diminuíram entre os tempos T0 e T60, com aumento no T90. (Fig. 8).

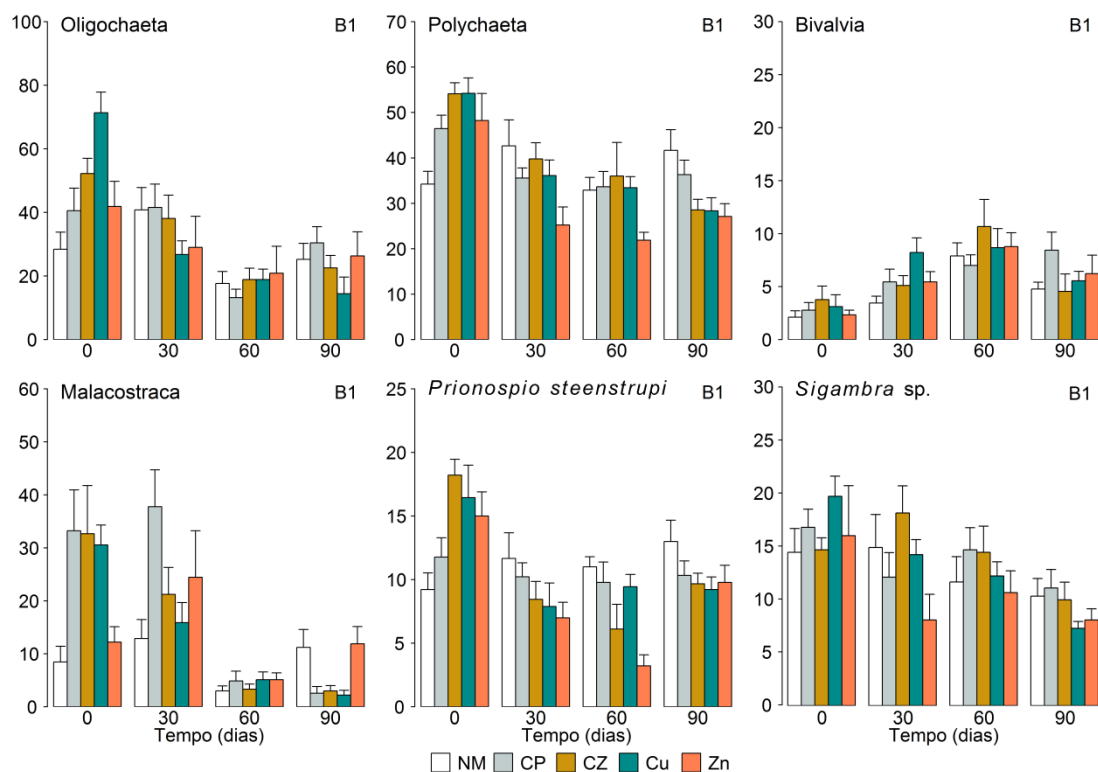


Figura 8 – Abundância (média \pm erro padrão; $n = 9$) de Oligochaeta, Polychaeta, Bivalvia, Malacostraca, *Prionospio steenstrupi* e *Sigambra sp.* em cada Tratamento (NM, CP, CZ, Cu, Zn) do Baixo 1, ao longo dos tempos amostrais (0, 30, 60 e 90 dias).

No Baixo 2, diferenças significativas ocorreram principalmente entre os Tempos amostrais e também entre Unidades Experimentais (Tab. 4). Houve diminuição da abundância ao longo do tempo, especialmente nos tratamentos com adição de metais (CZ, Cu e Zn) (Fig. 7 e Fig. 9). No T90 é possível perceber abundâncias e número de espécies relativamente menores nos tratamentos CZ, Cu e Zn, quando comparados aos controles (NM e CP). No entanto, a interação TrxTe não foi significativa, indicando que o efeito dos tratamentos experimentais sobre a estrutura das comunidades não foi observado. A maior parte da variação se concentrou na escala do resíduo, seguido de Tempo (Tab. 4).

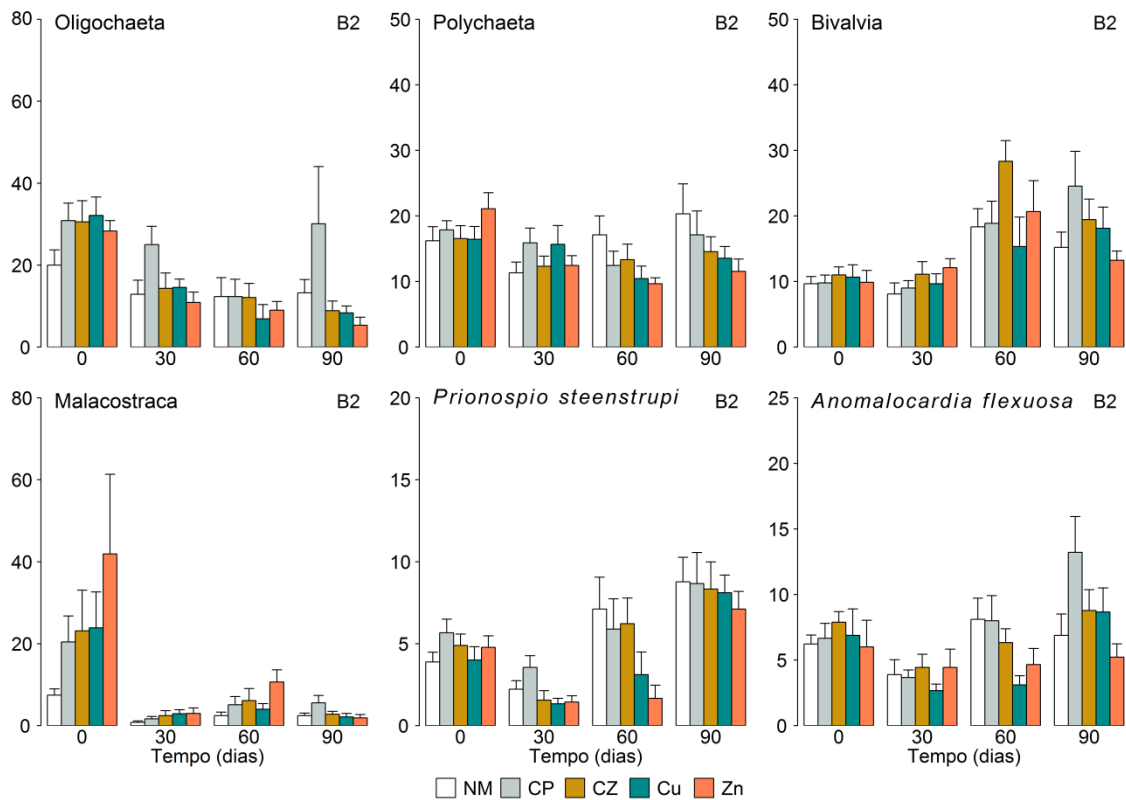


Figura 9 - Abundâncias (média \pm erro padrão; n = 9) de Oligochaeta, Polychaeta, Bivalvia, Malacostraca, *Prionospio steenstrupi*, *Anomalocardia flexuosa* em cada Tratamento (NM, CP, CZ, Cu, Zn) do Baixio 2, ao longo dos tempos amostrais (T0, T30, T60, T90).

Os testes pareados confirmaram que, para o Baixio 2, as abundâncias foram maiores no T0 e se tornaram relativamente homogêneas até o fim do experimento. Este padrão foi diferente para Bivalves e *A. flexuosa*, onde as abundâncias nos tempos T0 e T30 foram iguais e maiores que no T60 e T 90. Para *P. steenstrupi*, houve diminuição da abundância nos tratamentos com adição de metais até o tempo T60, com aumento no T90, similar ao padrão observado no Baixio 1, embora sem diferenças significativas (Fig. 7 e Fig. 9). *M. schubartii* foi uma das espécies numericamente dominantes no Baixio 2 mas ocorreu somente em T0, em todos os tratamentos. Apenas alguns indivíduos foram contabilizados nos outros tempos amostrais. Este padrão de ocorrência tendenciou a distribuição de Malacostraca, que apresentou o mesmo comportamento de *M. schubartii* (Fig. 9).

Discussão

O objetivo principal deste estudo foi testar os efeitos da contaminação por cobre e zinco sobre a estrutura da comunidade bêntica e abundância de taxa individuais em baixios entremarés. Diversos estudos identificaram altas concentrações de cobre e zinco em sedimentos de áreas contaminadas por despejo de efluentes urbanos e industriais (Dzikowitzky et al, 2014, Buruaem , et al., 2013, Bakary et al., 2015, Souza et al., in prep), bem como a toxicidade de sedimentos contaminados e seus efeitos deletérios sobre invertebrados marinhos (Campos et al., 2016) e sobre a estrutura das comunidades macrobênticas, diminuindo a diversidade e abundância de organismos (Sánchez-Moyano et al., 2010, Fukunaga et al., 2011; Rainbow e Luoma, 2011, Colombo et al, 2016).

Ao contrário do que foi previsto, a transferência dos metais para o sedimento não ocorreu de forma linear com aumento progressivo das concentrações ao longo do tempo. Além disso, tanto a retenção de metais nos sedimentos quanto os momentos de maior concentração de metais foram diferentes entre os dois baixios analisados. Embora as concentrações finais nos tratamentos com adição de metais tenham sido maiores que no início do experimento, as concentrações mais altas ocorreram após 30 dias para Cobre e Zinco no Baixio 1 e após 60 dias para Zinco no Baixio 2. O tratamento com adição de zinco apresentou menor transferência para o sedimento, com máximos de apenas 28% no Baixio 1 e 66% no Baixio 2. Em experimento similar, realizado por Lindegarth e Underwood (2002) as concentrações de metais no sedimento aumentaram em até 870% em um dos locais, enquanto apenas 95% em outro, com grandes diferenças entre unidades experimentais. Porém, apesar da maior contaminação experimental em seu estudo, a macrofauna bêntica não apresentou resposta clara aos metais analisados.

As variações temporais foram relevantes na estruturação das comunidades e podem ter mascarado os efeitos da manipulação experimental. Entretanto, embora grande parte da variação tenha se concentrado entre réplicas e Tempos, no Baixio 1 foi possível observar os efeitos dos tratamentos sobre a abundância da fauna, principalmente para Cobre e combinação entre Cobre e Zinco onde as abundâncias diminuíram quanto maior o tempo de exposição aos contaminantes. Os principais taxa

que apresentaram redução na abundância relativa quando expostos ao incremento de cobre foram Oligochaeta, Poliquetas (principalmente pequenos oportunistas como *P. steenstrupi*), e Crustáceos (*Caprella* sp). A fauna das unidades que receberam o tratamento apenas com sulfato de zinco não apresentou variação em relação aos controles.

A sensibilidade dos organismos a um determinado contaminante depende de seu modo de vida (mobilidade e estratégia alimentar) e das vias de exposição (água intersticial, ingestão de sedimentos) (Eggleton and Thomas, 2004, Han et al., 2005). Espécies mais sensíveis geralmente estão sujeitas a mais vias de exposição, por exemplo, detritívoros epibênticos que podem acumular metais via ingestão de sedimentos e matéria orgânica, e via água intersticial. No entanto, a relação entre acumulação e toxicidade não é direta e depende das vias de assimilação e da fisiologia do animal (Borgmann, 2003; Simpson, 2005; Simpson e King, 2005). Se a principal via de exposição de uma espécie é a água intersticial, e esta contém baixas concentrações de metais, a probabilidade de resposta será menor em comparação com espécies que acumulam metais via ingestão de sedimentos (Simpson, 2005; Simpson e King, 2005).

Organismos da Subclasse Oligochaeta e poliquetas da família Spionidae, como *P. steenstrupi*, são considerados oportunistas, tolerantes ao enriquecimento orgânico e contaminação, muito abundantes e amplamente distribuídos em estuários, especialmente em áreas de deposição (Pearson & Rosenberg, 1978; Hilbig e Blake, 2000; Omena et al., 2012; Souza et al., 2013). São organismos que se alimentam de depósitos de matéria orgânica, superficial ou subsuperficial (Giere, 2006; Jumars et al., 2015), e estão expostos à contaminação presente na água intersticial e através da ingestão de sedimentos. Embora Oligochaetas possuam mecanismos de detoxificação eficientes, podendo desenvolver resistência à contaminação por metais (Klerks & Levinton, 1989; Bouché et al., 2000), estes organismos apresentaram diminuição nas abundâncias em resposta à contaminação testada neste experimento.

Crustáceos são considerados o grupo marinho mais sensível à poluição (Warwick 2001; Dauvin 2008). Organismos da família Caprellidae possuem hábitos detritívoros e são amplamente distribuídos em ambientes estuarinos. Têm sido

estudados como potenciais indicadores de contaminação devido a sua mobilidade relativamente sedentária, ciclo de vida curto e desenvolvimento direto, o que possibilita uma rápida resposta às variações ambientais (Takeuchi et al., 2001, Guerra-García, et al., 2009). Além disso, podem acumular altas concentrações de metais mesmo em locais com menor grau de contaminação, o que indica seu potencial de bioacumulação (Guerra-García et al., 2010). Por outro lado, embora bivalves filtradores sejam os principais organismos utilizados como bioindicadores da qualidade ambiental, devido a sua importância econômica e ecológica (Feldstein et al., 2003), eles bioacumulam apenas os compostos dissolvidos na água e no material particulado em suspensão, e seu ciclo de vida longo torna sua resposta mais adequada ao monitoramento de contaminações crônicas do que à impactos pontuais de curta duração (Guerra-García et al., 2010). Essas características dos bivalves podem justificar a ausência de resposta desses organismos, principalmente *Anomalocardia flexuosa*, ao aumento das concentrações de cobre e zinco nos sedimentos dos baixios estudados.

O Baixio 2 apresentou menores concentrações de Cu e Zn, em relação ao Baixio 1, para a maioria dos tempos e tratamentos. Com isto, a contaminação experimental pode não ter sido suficiente para causar efeitos sobre a estrutura das comunidades macrofaunais. A abundância dos organismos não diminuiu significativamente nas unidades contaminadas em relação aos controles, e a variabilidade entre Tempos e entre Unidades Experimentais foi maior do que entre os Tratamentos. Isto mostra que a maior parte das diferenças encontradas não foi predita *a priori* e, portanto, não foi causada pelas manipulações experimentais, mas por processos naturais. Em estudos realizados na mesma região, Souza *et al.*, 2016 observaram alta variabilidade da macrofauna bêntica de baixios nas menores escalas temporais e espaciais estudadas, quinzenas e dezenas de metros.

Em revisão feita por Mayer-Pinto et al. (2010), observou-se que os efeitos de metais em comunidades bênticas, quando são detectados, variam muito entre tempos e locais, e fatores externos são responsáveis por grande parte da variação encontrada, dificultando a predição dos efeitos dos metais sobre as comunidades. Baixios entremarés são ambientes dinâmicos e naturalmente estressados. Os organismos que vivem nestes ambientes estão sujeitos a longos períodos de dissecação, variações

diárias de temperatura devido à exposição solar durante a maré baixa, desestabilização do sedimento superficial e variações de salinidade e pH causadas por períodos de alta pluviosidade e drenagem terrestre (Bouma et al., 2001, Bolam et al., 2004, Pilditch et al., 2008). Estes fatores podem causar eventos de alta mortalidade e afetar a dispersão e recrutamento de organismos, removendo espécies menos adaptadas a agentes estressores diversos (Dauer, 1984, Pagliosa e Lana, 2000). Desta forma, a fauna residente de baixios entremarés está em constante rearranjo estrutural (Egres et al., 2012, Negrello-Filho e Lana, 2013, Greenfield et al., 2016). Essa heterogeneidade em pequena escala é responsável por concentrar a variação na escala do resíduo (Souza et al., 2016), o que foi observado na maioria dos taxa analisados.

Este estudo foi baseado em observações prévias de relações correlativas entre concentrações de metais pesados e a estrutura da macrofauna bêntica. Nossos resultados diferiram do previsto em relação à contaminação experimental dos sedimentos, que ocorreu de forma não linear e em menor intensidade. Apesar disso, ainda foi possível identificar os efeitos do aumento das concentrações de cobre e zinco sobre a abundância de organismos, especialmente poliquetas e oligoquetas. Estas observações podem ser utilizadas para demonstrar a causalidade entre a contaminação dos sedimentos estuarinos por metais pesados e efeitos negativos sobre a abundância de organismos bênticos, mesmo aqueles considerados tolerantes a poluição.

Referências

Anderson, M.J.M., (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 32–46.

Bakary, I., K. M. Yao, O. A. Etchian, M. B. Soro, A. Trokourey, & Y. Bokra, (2015). Zinc, copper, cadmium, and lead concentrations in water, sediment, and *Anadara senilis* in a tropical estuary. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187: 762.

Belzunce-Segarra, M. J., Simpson, S. L., Amato, E. D., Spadaro, D. A., Hamilton, I. L., Jarolimek, C. V, & Jolley, D. F. (2015). The mismatch between bioaccumulation in field and laboratory environments: Interpreting the differences for metals in benthic bivalves. *Environmental Pollution*, 204, 48–57.

Bere, T., Dalu, T., & Mwedzi, T. (2016). Detecting the impact of heavy metal contaminated sediment on benthic macroinvertebrate communities in tropical streams. *Science of the Total Environment*, 572, 147–156.

Bertin, G., Averbeck, D., (2006). Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review). *Biochimie*, 88, 1549–1559.

Bolam, S. G., Whomersley, P., Schratzberger, M., (2004). Macrofaunal recolonization on intertidal mudflats: effect of sediment organic and sand content. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 306, 157–180.

Borgmann, U. (2003). Derivation of cause-effect based sediment quality guidelines. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 60(3), 352–360.

Bouché, M.-L., Habets, F., Biagiante-Risbourg, S., & Vernet, G. (2000). Toxic Effects and Bioaccumulation of Cadmium in the Aquatic Oligochaete Tubifex tubifex. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46(3), 246–251.

Bouma, H., Duiker, J., & Vries, P. De. (2001). Spatial pattern of early recruitment of *Macoma balthica*(L.) and *Cerastoderma edule*(L.) in relation to sediment dynamics on a highly dynamic intertidal. *Journal of Sea Research*, 45, 79–93.

Bryan, G.W., (1974). Adaptation of an estuarine Polychaete to sediments containing high concentrations of heavy metals, in: Vernberg, F.J., Vernberg, W.. (Eds.), *Pollution and Physiology of Marine Organisms*. Elsevier, New York, pp. 123–135.

Bryan, G.W., (1971). The effects of heavy metals (other than mercury) on marine and estuarine organisms. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 177, 389–410.

Buruaem, L.M., Castro, Í.B., Hortellani, M.A., Taniguchi, S., Fillmann, G., Sasaki, S.T., Petti, M.A.V., Sarkis, J.E.S., Bicego, M.C., Maranhão, L.A., Davanzo, M.B., Nonato, E.F., Cesar, A., Costa-Lotufo, L.V., Abessa, D.M.S., (2013). Integrated quality assessment of sediments from harbour areas in Santos-São Vicente Estuarine System, Southern Brazil. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 130, 179–189.

Cairns, J., (1983). Are single species toxicity tests alone adequate for estimating environmental hazard? *Hydrobiologia*, 100, 47–57.

Campos, B. G., Cruz, A. C. F., Buruaem, L. M., Rodrigues, A. P. C., Machado, W. T. V, & Abessa, D. M. S. (2016). Using a tiered approach based on ecotoxicological techniques to assess the ecological risks of contamination in a subtropical estuarine protected area. *Science of the Total Environment*, 544, 564–573.

Colombo, V., V. J. Pettigrove, A. A. Hoffmann, & L. A. Golding, (2016). Effects of *Lumbriculus variegatus* (Annelida, Oligochaete) bioturbation on zinc sediment chemistry and toxicity to the epi-benthic invertebrate *Chironomus tepperi* (Diptera: Chironomidae). *Environmental Pollution*, 216: 198–207.

Connell, J., (1974). Ecology: field experiments in marine ecology, in: Mariscal, R. (Ed.), *Experimental Marine Biology*. Academic Press, New York, pp. 21–54.

Dauer, D. M. (1984). High resilience to disturbance of an estuarine polychaete community. *Bulletin of Marine Science*, 34(1), 170–174.

Dauvin, J. C. (2008). Effects of heavy metal contamination on the macrobenthic fauna in estuaries: The case of the Seine estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 57(1–5), 160–169.

Dsikowitzky, L., I. Nordhaus, C. H. Sujatha, P. S. Akhil, K. Soman, & J. Schwarzbauer, (2014). A combined chemical and biological assessment of industrial contamination in an estuarine system in Kerala, India. *Science of the Total Environment*, 485–486: 348–362.

Eggleton, J., & K. V. Thomas, (2004). A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. *Environment International*, 30: 973–980.

Egres, A. G., Martins, C. C., Oliveira, V. M. De, & Lana, P. D. C. (2012). Effects of an experimental in situ diesel oil spill on the benthic community of unvegetated tidal flats in a subtropical estuary (Paranaguá Bay, Brazil). *Marine Pollution Bulletin*, 64(12), 2681–2691.

Ellis, J. I., Hewitt, J. E., Clark, D., Taiapa, C., Patterson, M., Sinner, J., et al. (2015). Assessing ecological community health in coastal estuarine systems impacted by multiple stressors. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 473, 176–187.

Feldstein, T., Kashman, Y., Abelson, A., Fishelson, L., Mokady, O., Bresler, V., & Erel, Y. (2003). Marine molluscs in environmental monitoring. *Helgolander Marine Research*, 57(3–4), 212–219.

Fleeger, J.W., Carman, K.R., Nisbet, R.M., (2003). Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment* 317, 207–233.

Fukunaga, A., Anderson, M. J., & Webster-Brown, J. G. (2011). Assessing the nature of the combined effects of copper and zinc on estuarine infaunal communities. *Environmental Pollution*, 159(1), 116–124.

Giere, O. (2006). Ecology and Biology of Marine Oligochaeta – an Inventory Rather than another Review. *Hydrobiologia*, 564(1), 103–116.

Greenfield, B., Kraan, C., Pilditch, C., & Thrush, S. (2016). Mapping functional groups can provide insight into ecosystem functioning and potential resilience of intertidal sandflats. *Marine Ecology Progress Series*, 548, 1–10.

Guerra-García, J. M., Baeza-Rojano, E., Cabezas, M. P., Díaz-Pavón, J. J., Pacios, I., & García-Gómez, J. C. (2009). The amphipods *Caprella penantis* and *Hyale schmidtii* as biomonitors of trace metal contamination in intertidal ecosystems of Algeciras Bay, Southern Spain. *Marine Pollution Bulletin*, 58(5), 783–786.

Guerra-García, J. M., Ruiz-Tabares, A., Baeza-Rojano, E., Cabezas, M. P., Díaz-Pavón, J. J., Pacios, I., et al. (2010). Trace metals in *Caprella* (Crustacea:

Amphipoda). A new tool for monitoring pollution in coastal areas? *Ecological Indicators*, 10(3), 734–743.

Halpern, B. S., Selkoe, K. A., Micheli, F., Kappel, C. V. (2007). Evaluating and Ranking the Vulnerability of Global Marine Ecosystems to Anthropogenic Threats. *Conservation Biology*, 21(5), 1301–1315.

Han, J., D. Ma, X. Quan, J. Wang, & Q. Yan, (2005). Bioavailability of zinc in the sediment to the estuarine amphipod *Grandidierella japonica*. *Hydrobiologia* 541: 149–154.

Hilbig, B., & Blake, J. a. (2000). Long-term analysis of polychaete-dominated benthic infaunal communities in Massachusetts Bay, U.S.A. *Bulletin of Marine Science*, 67(1), 147–164.

Hubaux, A., & Vos, G. (1970). Decision and detection limits for calibration curves. *Analytical Chemistry*, 42(8), 849–855.

Inglis, G.J., Kross, J.E., (2000). Evidence for systemic changes in the benthic fauna of tropical estuaries as a result of urbanization. *Marine Pollution Bulletin*, 41, 367–376.

Johnston, E.L., Keough, M.J., (2003). Competition modifies the response of organisms to toxic disturbance. *Marine Ecology Progress Series*, 251, 15–26.

Jumars, P. a, Dorgan, K. M., & Lindsay, S. M. (2015). Diet of Worms Emended: An Update of Polychaete Feeding Guilds. *Annual Review of Marine Science*, 7(1), 497–520.

Klerks, P. L.; Levinton, J. S. (1989). Rapid evolution of metal resistance in a benthic oligochaete inhabiting a metal-polluted site. *The Biological Bulletin*, 176, 135–141.

Lindegarh, M., Hoskin, M., (2001). Patterns of distribution of macro-fauna in different types of estuarine, soft sediment habitats adjacent to urban and non-urban areas. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 52, 237–247.

Lindegarh, M., Underwood, A. J., (2002). A manipulative experiment to evaluate predicted changes in intertidal, macro-faunal assemblages after contamination by heavy metals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 274, 41–64.

Lindegarh, M., Underwood, A. J., (1999). Technical Note: Using an Experimental Manipulation of Contaminants in Intertidal Sediments. *Mar. Ecol.* 8, 495–401.

Machado, A. A. S., Spencer, K., Kloas, W., Toffolon, M., & Zarfl, C. (2016). Metal fate and effects in estuaries: A review and conceptual model for better understanding of toxicity. *Science of The Total Environment*, 541, 268–281.

Mayer-Pinto, M., Underwood, A. J.J., Tolhurst, T., Coleman, R. A. A., (2010). Effects of metals on aquatic assemblages: What do we really know? *J Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 391, 1–9.

McLusky, D.S., Bryant, V., Campbell, R., (1986). The effects of temperature and salinity on the toxicity of heavy metals to marine and estuarine invertebrates. *Oceanography and Marine Biology an Annual Review*, 24, 481–520.

Morrisey, D., Underwood, A., Howitt, L., (1996). Effects of copper on the faunas of marine soft-sediments: an experimental field study. *Marine Biology*, 125, 199–213.

Negrello-Filho, O. A., & Lana, P. C. (2013). Short-term stability of estuarine benthic assemblages: are storms pattern-defining events? *Zoologia (Curitiba)*, 30(3), 266–272.

Nunes, M., Coelho, J. P., Cardoso, P. G., Pereira, M. E., Duarte, A. C., & Pardal, M. A. (2008). The macrobenthic community along a mercury contamination in a temperate estuarine system (Ria de Aveiro, Portugal). *Science of The Total Environment*, 405(1–3), 186–194.

Omena, E. P., Lavrado, H. P., Paranhos, R., & Silva, T. A. (2012). Spatial distribution of intertidal sandy beach polychaeta along an estuarine and morphodynamic gradient in an eutrophic tropical bay. *Marine Pollution Bulletin*, 64(9), 1861–1873.

Pagliosa, P. R., & Lana, P. C. (2000). Population dynamics and secondary production of *Nereis oligohalina* (Neredidae: Polychaeta) from a subtropical marsh in southeast Brazil. *Bulletin of Marine Science*, 67(1), 259–268.

Pearson, T. H., & Rosenberg, R. (1978). Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography & Marine Biology: An Annual Review*, (16), 229–311.

Pilditch, C. A., Widdows, J., Kuhn, N. J., Pope, N. D., & Brinsley, M. D. (2008). Effects of low tide rainfall on the erodibility of intertidal cohesive sediments. *Continental Shelf Research*, 28(14), 1854–1865.

Piló, D., Pereira, F., Carriço, A., Cúrdia, J., Pereira, P., Gaspar, M. B., & Carvalho, S. (2015). Temporal variability of biodiversity patterns and trophic structure of estuarine macrobenthic assemblages along a gradient of metal contamination. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 167, 286–299.

Rainbow, P. S., & S. N. Luoma, (2011). Metal toxicity, uptake and bioaccumulation in aquatic invertebrates—Modelling zinc in crustaceans. *Aquatic Toxicology*, 105: 455–465.

Sánchez-Moyano, J. E., I. García-Asencio, & J. C. García-Gómez, (2010). Spatial and temporal variation of the benthic macrofauna in a grossly polluted estuary from southwestern Spain. *Helgoland Marine Research*, 64: 155–168.

Seebaugh, D. R., Goto, D., Wallace, W.G., (2005). Bioenhancement of cadmium transfer along a multi-level food chain. *Marine Environmental Research*, 59, 473–91.

Simpson, S. L. (2005). Exposure–Effect Model for Calculating Copper Effect Concentrations in Sediments with Varying Copper Binding Properties: A Synthesis. *Environmental Science & Technology*, 39(18), 7089–7096.

Simpson, S. L., & King, C. K. (2005). Exposure-Pathway Models Explain Causality in Whole-Sediment Toxicity Tests. *Environmental Science & Technology*, 39(3), 837–843.

Souza, F. M., Brauko, K. M., Lana, P. C., Muniz, P., & Camargo, M. G. (2013). The effect of urban sewage on benthic macrofauna: A multiple spatial scale approach. *Marine Pollution Bulletin*, 67(1–2), 234–240.

Souza, F. M., Brauko, K. M., Gilbert, E. R., Martins, C. C., Lana, P. C., & Camargo, M. G. (2016). Complex spatial and temporal variation of subtropical benthic macrofauna under sewage impact. *Marine Environmental Research*, 116, 61–70.

Souza, F. M., Gilbert, E. R., Machado, E. C., Lorenzi, L., Camargo, M. G., (In prep.) Geospatial assessment of heavy metal pollution in surface sediments of a subtropical estuary.

Takeuchi, I., Takahashi, S., Tanabe, S., & Miyazaki, N. (2001). Caprella watch: a new approach for monitoring butyltin residues in the ocean. *Marine Environmental Research*, 52(2), 97–113.

Warwick, R. M. (2001). Evidence for the Effects of Metal Contamination on the Intertidal Macrobenthic Assemblages of the Fal Estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 42(2), 145–148.

Underwood, A. J., (1997). *Experiments in Ecology: Their Logical Design and Interpretation Using Analysis of Variance*. Cambridge University Press.

CONCLUSÃO GERAL

Os objetivos deste trabalho foram: (i) determinar o grau e a extensão da contaminação por metais na Baía da Babitonga; (ii) analisar a estrutura das associações macrobênticas em ambientes submetidos a diferentes estressores ambientais e; (iii) estabelecer relações de causalidade entre a contaminação por metais e alterações na estrutura das associações bênticas.

Concluimos, com base nos resultados, que a Baía da Babitonga apresenta um grau moderado de contaminação por Cr, Cu, Ni e Zn, em níveis situados entre os valores de TEL e PEL. A contaminação é mais pronunciada nas áreas internas, com baixa hidrodinâmica e maiores taxas de sedimentação, fatores que favorecem a acumulação de contaminantes associados ao material particulado em suspensão. A contaminação observada no interior da baía, mais precisamente na Lagoa do Saguçu, tem como principal fonte o despejo de efluentes industriais e domésticos dos municípios adjacentes, através da drenagem superficial urbana e de áreas agrícolas que fazem uso de fertilizantes e pesticidas. A precariedade e baixa abrangência do sistema de coleta e tratamento de esgoto doméstico e industrial da região podem ser consideradas questões chave a serem abordadas para cessar o processo de deterioração da saúde ambiental da Baía da Babitonga.

Para a macrofauna bêntica, concluimos que tanto as características hidrodinâmicas e os teores de nutrientes como o gradiente de contaminação por metais pesados são importantes estruturadores da comunidade. Espécies reconhecidamente tolerantes ao enriquecimento orgânico, como o poliqueta *Prionospio steenstrupi*, e Oligochaetas apresentaram sensibilidade ao aumento das concentrações de metais, mostrando que os mecanismos de danos causados pela contaminação por metais podem ser muito diferentes dos mecanismos ativados pela contaminação orgânica. Além disso, as adaptações destes organismos a alterações nas vias de nutrição, modos de alimentação e seus mecanismos de tolerância fisiológica à diminuição da disponibilidade de oxigênio podem não ser adequadas para resistir a múltiplos estressores, tais como a contaminação por substâncias tóxicas e metais pesados.

Esses resultados indicam que grupos ecológicos que agregam táxons de mesmo modo de vida e/ou estratégia alimentar não possuem, necessariamente, os mesmos mecanismos biológicos de respostas a agentes tóxicos. Assim, é plausível afirmar que os índices de qualidade ambiental desenvolvidos com base na resposta dos organismos

ao enriquecimento orgânico podem não ser capazes de refletir a realidade dos múltiplos estressores que afetam a estrutura de comunidades macrobênticas de ambientes estuarinos urbanizados. Considerando que baixas concentrações de metais podem causar efeitos deletérios em poliquetas (Reish e Gerlinger, 1997; Bonnard *et al.*, 2009), o que pode não acontecer, necessariamente, diante de baixas cargas orgânicas (Dean, 2008), uma espécie considerada oportunista ou tolerante ao excesso de matéria orgânica pelo índice AMBI pode ter desempenho oposto sob a influência da contaminação por metais.

A sensibilidade dos organismos a um determinado contaminante depende de seu modo de vida (mobilidade e estratégia alimentar) e das vias de exposição (água intersticial, ingestão de sedimentos) (Eggleton and Thomas, 2004, Han et al., 2005). Espécies mais sensíveis geralmente estão sujeitas a mais vias de exposição, por exemplo, detritívoros epibênticos, que podem acumular metais através da ingestão de sedimentos e matéria orgânica e pelo contato com a água intersticial.

Organismos da Subclasse Oligochaeta e poliquetas da família Spionidae, como *P. steenstrupi*, são considerados pequenos oportunistas, tolerantes ao enriquecimento orgânico e contaminação, muito abundantes e amplamente distribuídos em estuários, especialmente em áreas de deposição (Pearson & Rosenberg, 1978; Hilbig e Blake, 2000; Omena et al., 2012; Souza et al., 2013). São organismos que se alimentam de depósitos de matéria orgânica, superficial ou subsuperficial (Giere, 2006; Jumars et al., 2015), e estão expostos à contaminação presente na água intersticial e através da ingestão de sedimentos. A contaminação experimental de sedimentos por cobre e zinco mostrou que organismos reconhecidamente oportunistas como Oligochaetas e *P. steenstrupi* podem apresentar o mesmo padrão de resposta a contaminação por cobre que crustáceos, que são considerados o grupo marinho mais sensível à poluição (Warwick 2001; Dauvin 2008).

Ao final deste trabalho, foi possível identificar os efeitos do aumento das concentrações de metais, em especial de cobre e zinco sobre a estrutura das comunidades sublitorais da Baía da Babitonga e sobre a abundância de organismos em baixos entremarés, especialmente poliquetas e oligoquetas. Estas observações podem ser utilizadas para demonstrar a causalidade entre a contaminação dos sedimentos

estuarinos por metais pesados e efeitos negativos sobre a abundância de organismos bênticos, mesmo aqueles considerados tolerantes à poluição.

Referências

Bonnard, M., Romeo, M., & Amiard-Triquet, C. 2009. Effects of Copper on the Burrowing Behavior of Estuarine and Coastal Invertebrates, the Polychaete *Nereis diversicolor* and the Bivalve *Scrobicularia plana*. *Human and Ecological Risk Assessment*, 15(1), 11–26.

Dauvin, J. C. (2008). Effects of heavy metal contamination on the macrobenthic fauna in estuaries: The case of the Seine estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 57(1–5), 160–169.

Dean, H. K. 2008. The use of polychaetes (Annelida) as indicator species of marine pollution : a review. *International Journal of Tropical Biology*, 56(4), 11–38.

Eggleton, J., & K. V. Thomas, (2004). A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events. *Environment International*, 30: 973–980.

Giere, O. (2006). Ecology and Biology of Marine Oligochaeta – an Inventory Rather than another Review. *Hydrobiologia*, 564(1), 103–116.

Han, J., D. Ma, X. Quan, J. Wang, & Q. Yan, (2005). Bioavailability of zinc in the sediment to the estuarine amphipod *Grandidierella japonica*. *Hydrobiologia* 541: 149–154.

Hilbig, B., & Blake, J. a. (2000). Long-term analysis of polychaete-dominated benthic infaunal communities in Massachusetts Bay, U.S.A. *Bulletin of Marine Science*, 67(1), 147–164.

Jumars, P. a, Dorgan, K. M., & Lindsay, S. M. (2015). Diet of Worms Emended: An Update of Polychaete Feeding Guilds. *Annual Review of Marine Science*, 7(1), 497–520.

Omena, E. P., Lavrado, H. P., Paranhos, R., & Silva, T. a. (2012). Spatial distribution of intertidal sandy beach polychaeta along an estuarine and morphodynamic gradient in an eutrophic tropical bay. *Marine Pollution Bulletin*, 64(9), 1861–1873.

Pearson, T. H., & Rosenberg, R. 1978. Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography & Marine Biology: An Annual Review*, (16), 229–311.

Reish, D.J., Gerlinger, T.V., 1997. A review of the toxicological studies with polychaetous annelids. *Bulletin of Marine Sciences*, 60, 584–607.

Souza, F. M., Brauko, K. M., Lana, P. C., Muniz, P., & Camargo, M. G. (2013). The effect of urban sewage on benthic macrofauna: A multiple spatial scale approach. *Marine Pollution Bulletin*, 67(1–2), 234–240.

Warwick, R. M. (2001). Evidence for the Effects of Metal Contamination on the Intertidal Macrobenthic Assemblages of the Fal Estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 42(2), 145–148.