LUÍS FABIANO JOAQUIM DE OLIVEIRA

ESTUDO DA QUALIDADE DO SEDIMENTO ATRAVÉS DE TESTE DE TOXICIDADE E MARCADORES DE ESGOTO NA ENSEADA DE UBATUBA - SP, BRASIL. INFLUÊNCIA DO AUMENTO DA POPULAÇÃO DE VERANEIO

Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências, área de Oceanografia Biológica.

Orientadora:

Profª. Eduinetty Ceci Pereira Moreira de Sousa

SÃO PAULO

2009

Universidade de são Paulo

Instituto Oceanográfico

ESTUDO DA QUALIDADE DO SEDIMENTO ATRAVÉS DE TESTE DE TOXICIDADE E MARCADORES DE ESGOTO NA ENSEADA DE UBATUBA - SP, BRASIL. INFLUÊNCIA DO AUMENTO DA POPULAÇÃO DE VERANEIO

LUÍS FABIANO JOAQUIM DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de Oceanografia Biológica.

Julgada em ___/___/2009

_____ _____

Prof[a]. Eduinetty Ceci Pereira Moreira de Sousa Conceito

_____ _____

Prof(a). Dr(a). Conceito

_____ _____

Prof(a). Dr(a). Conceito

OLIVEIRA, LUÍS FABIANO JOAQUIM DE
ESTUDO DA QUALIDADE DO SEDIMENTO ATRAVÉS DE TESTE DE TOXICIDADE E MARCADORES DE ESGOTO NA ENSEADA DE UBATUBA-SP, BRASIL. INFLUÊNCIA DO AUMENTO DA POPULAÇÃO DE VERANEIO. Luís Fabiano Joaquim de Oliveira – São Paulo, 2009.

Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de Oceanografia Biológica.

1 Enseada de Ubatuba; 2 Teste de Toxicidade; 3 Sedimento; 4 Esteróis Fecais

"Um dia, a Terra vai adoecer. Os pássaros cairão do céu, os mares vão escurecer e os peixes aparecerão mortos na correnteza dos rios. Quando esse dia chegar, os índios perderão seu espírito. Mas vão recuperá-lo para ensinar o homem branco a reverência pela sagrada terra. Ai, então, todas as raças vão se unir .... "

(Profecia feita a mais de 200 anos por "OLHOS DE FOGO", uma velha índia Cree)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a PROFESSORA CECI pela oportunidade e pela confiança dada a uma pessoa que caiu de pára-quedas em seu laboratório, apoio nas horas que muito precisei tanto na realização deste trabalho como na vida pessoal.

A minha querida MÃE Dona Matilde, e meu grande PAI Seu Oliveira, amo vocês demais, e meus irmãos Zé e Paulinha, valeu pela correção do português. FAMÍLIA - TUDO NA VIDA!!!!! Dedico essa dissertação a vocês.....

A todos do Lecotox – Laboratório de Ecotoxicologia Marinha que formam a família Lecotox: *Márcia, Lelê, Camilo, Karlota, Fabijanes, Aline, Mônica, Tullus, Gustavo, Claudia, Lilian e Bauer* que me ajudaram com idéias, coletas, testes, risadas e muitas risadas e a outras pessoas que se tornaram da Família Lecotox como *Profa. Bia, André, e Marilia* do IPEN que me apoiaram em muitos momentos..... VALEU GALERA!!!!

Ao pessoal da UNISANTA Augusto Cesar e Fernando Cortez por algumas dicas nos testes.

As professoras Rosa e Marcia Bicego e a Satie pelo análises químicas.

E a todos da base de Ubatuba que ajudaram e muitos nos trabalhos, especialmente ao Jonathan, e as meninas da cozinha Dona Cida, Bete e Vânia. E ao pessoal da tripulação do Velliger II Ozi (Oziel), Daico e Manuel que com eles qualquer coleta fica tranquila.

Ao técnico Tomás Edson conhecido como Tomazinho ou Edinho pelo auxílio nas análises granulométricas. Ao José Carlos da oficina que me

ajudou com confecções de materiais que precisei. A todos os funcionários da Biblioteca, ao pessoal do transporte, apoio logístico e serviço de base.

Aos meus grandes amigos do IO: *CAU* (responsável pelo meu ingresso), *Thais, Caia, Mau, Sandrinha, Fausto, Fabio Prior, Fabio Japonês, Juliano, Carol loirão, Betina, Karen, Paula, Cíntia(s), Michelle, Carol, a Uruguaia Naty, Newtão e Cassia, Luisinho, Cabelo, Frango*, as meninas da química *Josi* e *Cecília*, aos brothers da geo *Piseta* e *Betinho*.

Aos meus amigos da RUA..... POVO REDEENSE.....meu salve.....

A dois amigos que na verdade são dois Irmãos que conheci no Mackenzie: *Carlinha e Binho.*

As brejas de sexta na BIO.

Agradeço a CAPES pela bolsa estudo concedida.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS i

LISTA DE TABELAS iii

RESUMO vi

ABSTRACT vii

1. INTRODUÇÃO 1

2. ÁREA DE ESTUDO 6

3. OBJETIVO 9

4. MATERIAL E MÉTODOS 10

4.1. Coleta das amostras 10

4.2. Extração e preparo das amostras 13

4.2.1. Extração e preparo das amostras para o teste com Água Intersticial 13

4.2.2. Preparo das amostras para o teste de Interface Água/Sedimento 14

4.2.3. Preparo das amostras para o teste de sedimento total 16

4.3. Teste com embriões de *Lytechinus variegatus* 16

4.4. Teste com *Tiburonella Viscana* 18

4.5. Análise granulométrica 19

4.6. Esteróis Fecais 20

4.7. Análise Estatística 21

5. RESULTADOS 22

5.1. Primeira Campanha 22

5.1.1. Granulometria 22

5.1.2. Testes de toxicidade embriolarvais com *Lytechinus variegatus* 23

5.1.2.1. Água Intersticial 23

5.1.2.1.1. Análises Estatísticas 29

5.1.2.2. Interface Água/Sedimento 31

5.1.2.2.1. Análises estatísticas 33

5.1.2.3. Teste de sensibilidade ao lote de larvas de *Lytechinus variegatus* 34

5.1.3. Teste de toxicidade com *Tiburonella viscana* 35

5.1.3.1. Análises Estatísticas 37

5.1.3.2. Teste de sensibilidade ao lote de *Tiburonella viscana* 39

5.2. Segunda Campanha 40

5.2.1. Granulometria 40
5.2.2. Esteróis Fecais 42
5.2.3. Teste de toxicidade embriolarval com *Lytechinus variegatus* 43
5.2.3.1. Água Intersticial 43
5.2.3.1.1. Análises Estatísticas 48
5.2.3.2. Interface Água/Sedimento 50
5.2.3.2.1. Análises Estatísticas 52
5.2.3.3. Teste de sensibilidade do lote de larvas de *Lytechinus variegatus* 53
5.2.4. Teste de toxicidade com *Tiburonella viscana* 54
5.2.4.1. Análises Estatísticas 56
5.2.4.2. Teste de sensibilidade do lote de *Tiburonella viscana* 58
5.3. Comparação dos resultados dos testes de toxicidade entre as duas campanhas 60
5.3.1. Teste de toxicidade embriolarval com *Lytechinus variegatus* 60
5.3.1.1. Água Intersticial - Concentração de 25% 60
5.3.1.2. Água intersticial - Concentração de 50% 62
5.3.1.3. Água intersticial - Concentração de 100% 64
5.3.1.4. Interface Água/Sedimento 66
5.3.2. Teste de toxicidade com *Tiburonella viscana* 67
5.4. Integração dos resultados dos testes de toxicidade 68
6. DISCUSSÃO 70
6.1. Considerações sobre o local de trabalho 70
6.2. Marcadores orgânicos 72
6.3. Testes de toxicidade 75
7. CONCLUSÃO 79
8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA 80

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 -	Localização da área de estudo.	07
FIGURA 02 -	Estações de coleta na Enseada de Ubatuba	11
FIGURA 03 -	Estação de coleta na Ilha Anchieta	11
FIGURA 04 -	Embarcação Veliger II, utilizada para as coletas	12
FIGURA 05 -	Coleta das amostras realizada com Van-Veen	13
FIGURA 06 -	Extração da água intersticial	14
FIGURA 07 -	Material usado no teste de interface água/sedimento	15
FIGURA 08 -	Conjunto de tubos de ensaio do teste de interface água/sedimento	15
FIGURA 09-	Conjunto de recipientes preparado para o teste com sedimento total	16
FIGURA 10A -	Ovo de *Lytechinus variegatus*	18
FIGURA 10B -	Larva pluteus normal com 24 h de desenvolvimento	18
FIGURA 11A -	Material utilizado para coleta de anfípodo	19
FIGURA 11B -	Técnica de coleta	19
FIGURA 11C -	Anfípodos adultos	19
FIGURA 12 -	Porcentagem de areia, silte e argila nas amostras de sedimento da Primeira Campanha	23
FIGURA 13-	Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* do teste com água intersticial na concentração de 25%, realizada na Primeira Campanha	27
FIGURA 14 -	Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* do teste com água intersticial na concentração de 50%, realizada na Primeira Campanha	28
FIGURA 15 -	Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* do teste com água intersticial na concentração de 100%, realizada na Primeira Campanha	29
FIGURA 16 -	Porcentagem de larvas normais do teste interface água/sedimento com embriões de *Lytechinus variegatus*, Primeira Campanha	32

FIGURA 17 -	Porcentagem de sobrevivência no teste com *Tiburonella viscana* na Primeira campanha	37
FIGURA 18 -	Porcentagem de areia, silte e argila presentes nas amostras de sedimento coletadas na Segunda Campanha.	41
FIGURA 19-	Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* do teste com água intersticial nas concentrações de 25%, realizada na Segunda Campanha	46
FIGURA 20 -	Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* do teste com água intersticial nas concentrações de 50%, realizada na Segunda Campanha	47
FIGURA 21 -	Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* do teste com água intersticial nas concentrações de 100%, realizada na Segunda Campanha	48
FIGURA 22 -	Porcentagem de larvas normais do teste interface água/ sedimento com embriões de *Lytechinus variegatus*, por estação	51
FIGURA 23 -	Porcentagem de sobrevivência do teste com *Tiburonella viscana* para as amostras de sedimento na Segunda Campanha	56
FIGURA 24 -	Comparação entre Primeira e Segunda Campanha da porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* do teste com água intersticial na concentração de 25%	60
FIGURA 25 -	Comparação entre Primeira e Segunda campanha da porcentagem de larvas normais do teste com água intersticial na concentração de 50%	62
FIGURA 26 -	Comparação entre Primeira e Segunda Campanha da porcentagem de larvas normais do teste com água intersticial na concentração de 100%	64
FIGURA 27 -	Comparação entre Primeira e Segunda Campanha para porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* do teste de Interface água/sedimento	66
FIGURA 28 -	Comparação entre Primeira e Segunda Campanha para porcentagem de organismos vivos do teste com anfípodo	68

LISTA DE TABELAS

TABELA 01	Localização das estações de coleta	10
TABELA 02	Porcentagem de areia, silte, argila e classificação segundo *Shepard* das amostras de sedimento coletadas na Primeira Campanha	22
TABELA 03	Parâmetros físico-químicos: pH, salinidade, amônia total (NH_4^+) amônia não-ionizada (NH_3), analisados no início do teste com águ intersticial da Primeira Campanha.	24
TABELA 04	Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* obtidas em cada réplica, nas concentrações de 25%, 50% e 100% de amostra de água intersticial, com suas respectivas médias e desvios padrão, na Primeira Campanha	25
TABELA 05	Teste de Normalidade – D'Agostino para os resultados do teste de toxicidade com água intersticial na concentração de 100% e parâmetros físico-químicos	30
TABELA 06	Correlação de Pearson ($p < 0,05$) para o teste de toxicidade com água intersticial a 100% e parâmetros físico-químicos	30
TABELA 07	Parâmetros físico-químicos: pH, salinidade, amônia total (NH4+) e amônia não-ionizada (NH3) analisados no início do teste com interface água/sedimento na Primeira Campanha	31
TABELA 08	Porcentagem de larvas normais de Lytechinus variegatus por réplica, média e desvio padrão, do teste de interface água/sedimento	32
TABELA 09	Teste de Normalidade – D'Agostino para os dados do teste de toxicidade de interface água/sedimento e os dados físico-químicos	33
TABELA 10	Correlação de Pearson ($p < 0,05$) entre os testes de toxicidade de interface água/sedimento com os dados de físico-químico	33
TABELA 11	Porcentagem de larvas normais de ouriço-do-mar por réplica, obtidas no teste com substância de referência DSS em mg/L, média e desvio padrão	34
TABELA 12	Parâmetros físico-químicos iniciais e finais, pH, salinidade, amônia total (NH4+) e amônia não-ionizada (NH3) do teste com sedimento integral e o anfípodo Tiburonella viscana da Primeira Campanha	35
TABELA 13	Porcentagem de sobrevivência para Tiburonella viscana, médias, desvios padrão e número total de mortos por amostra de sedimento	36
TABELA 14	Teste de Normalidade – D'Agostino para os dados de toxicidade e análise granulométrica	37
TABELA 15	Correlação de Pearson ($p < 0,05$) entre os resultados dos testes de toxicidade com anfípodo e as análises granulométricas	38
TABELA 16	Teste de Normalidade – D'Agostino para os dados do teste de toxicidade com anfípodo e os dados de parâmetros físico-químicos	38
TABELA 17	Correlação de Pearson ($p < 0,05$) entre os testes de toxicidade com anfípodos e os dados de físico-químico inicial e final	38
TABELA 18	Porcentagem de sobrevivência do anfípodo Tiburonella viscana por réplica e por concentração da substância de referência dicromato de potássio (K2Cr2O7), bem como suas médias e desvios padrão	39
TABELA 19	Porcentagem de areia, silte, argila e classificação segundo Shepard, das amostras de sedimento coletadas na Segunda Campanha	40
TABELA 20	Resultados da análise de esteróis fecais para cada estação	

	(concentração de esteróides em µg/g)	42
TABELA 21	Parâmetros físico-químicos: pH, salinidade, amônia total (NH4+) e amônia não-ionizada (NH3) analisados no início do teste com água intersticial da Segunda Campanha	43
TABELA 22	Porcentagem de larvas normais de Lytechinus variegatus obtidas em cada réplica nas concentrações de 25%, 50% e 100% de amostra de água intersticial, com suas respectivas médias e desvios padrão	44
TABELA 23	Teste de Normalidade – D'Agostino para os dados do teste de toxicidade com água intersticial (100%) e os dados dos parâmetros físico-químicos.	49
TABELA 24	Correlação de Pearson (p < 0,05) para o teste de toxicidade com água intersticial a 100% com os parâmetros físico-químicos	49
TABELA 25	Parâmetros físico-químicos: pH, salinidade, amônia total (NH4+) e amônia não-ionizada (NH3) analisados no início do teste de interface água/sedimento da Segunda Campanha	50
TABELA 26	Porcentagem de larvas normais de Lytechinus variegatus por réplica, média e desvio padrão, do teste de interface água/ sedimento da Segunda Campanha	51
TABELA 27	Teste de Normalidade – D'Agostino para os resultados do teste de toxicidade de interface água/sedimento e parâmetros físico-químicos	52
TABELA 28	Correlação de Pearson (p < 0,05) entre o teste de toxicidade de interface água/sedimento e parâmetros físico-químicos	53
TABELA 29	Porcentagem de larvas normais de ouriço-do-mar por réplica com média e desvio padrão, obtidas no teste com a substância de referência DSS	53
TABELA 30	Parâmetros físico-químicos iniciais e finais: pH, salinidade, amônia total (NH4+) e amônia não-ionizada (NH3) do teste com sedimento integral e o anfípodo Tiburonella viscana	54
TABELA 31	Porcentagem de sobrevivência para Tiburonella viscana, médias, desvios padrão e número total de mortos por estação de coleta de sedimento	55
TABELA 32	Teste de Normalidade – D'Agostino para os resultados dos testes de toxicidade, dados de granulometria e análise de esteróides fecais	57
TABELA 33	Correlação de Pearson (p < 0,05) entre os testes de toxicidade e dados de granulometria e análise de esteróides fecais	57
TABELA 34	Teste de Normalidade – D'Agostino para os resultados do teste de toxicidade com anfípodo e parâmetros físico-químicos, no inicio e no final do teste	58
TABELA 35	Correlação de Pearson (p < 0,05) entre o teste de toxicidade com anfípodo e os parâmetros físico-químicos, no inicio e final do teste	58
TABELA 36	Porcentagem de sobrevivência do anfípodo Tiburonella viscana por réplica e por concentração no teste de sensibilidade com a substância de referência dicromato de potássio (K2Cr2O7), bem como suas médias e desvios padrão	59
TABELA 37	Resultado das análises estatísticas do teste de toxicidade da água intersticial a 25%, separados por teste estatístico	61
TABELA 38	Resultado das análises estatísticas do teste de toxicidade da água intersticial a 50%, separados por teste estatístico	63
TABELA 39	Resultado das análises estatísticas do teste de toxicidade da água intersticial a 100%, separados por teste estatístico	65

TABELA 40 Resultado das análises estatísticas do teste de toxicidade de interface água/sedimento, separados por teste estatístico 67
TABELA 41 Resultado das análises estatísticas do teste de toxicidade com sedimento total e o anfípodo Tiburonella viscana 68
TABELA 42 Integração dos resultados dos três testes de toxicidade, na Primeira e Segunda Campanha 69

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade do sedimento da Enseada de Ubatuba através de testes de toxicidade, utilizando-se fase aquosa e sedimento total antes e depois do aumento da população de veraneio e a contaminação por esgoto urbano. Realizaram-se testes de toxicidade com a água intersticial e interface água/sedimento e larvas de *L. variegatus*. No testes com sedimento total utilizou-se anfípodo *T. viscana*. Utilizaram-se as análises de esteróis fecais para verificar a contaminação por esgoto. Foram coletadas em 17 estações. Uma estação do canto direito da Praia do Itaguá foi a única que obteve toxicidade nos três testes na campanha após o aumento da população de veraneio. Para os testes com a fase aquosa, uma estação próxima ao Instituto de Pesca e duas na Praia do Perequê-Açú foram tóxicas nas duas campanhas. Apresentaram contaminação por esgoto e toxicidade para os testes de fase aquosa três estações do canto direito da Praia do Itaguá, uma próxima ao Rio Acaraú, outra em frente ao Rio Grande e também uma na Praia do Perequê-Açú. Uma estação próxima a saída do Rio Grande apresentou indício de contaminação por esgoto, mas não obteve toxicidade na fase aquosa. O aumento da população de veraneio mostrou uma maior toxicidade para os testes com a fase aquosa e uma diminuição do número de sobreviventes de anfípodos. A Enseada de Ubatuba apresentou toxicidade nos testes com fase aquosa em quase todas as estações após o aumento da população, assim deve ser monitorada com freqüência e melhorar a infra-estrutura de saneamento.

Palavras Chave: Enseada de Ubatuba; Teste de Toxicidade; Sedimento; Esteróis Fecais.

ABSTRACT

The goal of this study was to evaluate the toxicity of the sediment in Ubatuba small Bay through toxicity tests using liquid phase and the total sediment before and after the increase of the floating population and the sewage contamination. The liquid phase was evaluated through toxicity test with interstitial water and water/sediment interface, both with embryos of *L. variegates*. The tests with total sediment were utilized amphipod *T. viscana*. The analyses with chemical faecal steroids marks was utilized for the sewage contamination in the sediment. It was realized samples in 17 stations. One station localized in the right corner of Itaguá beach, was the only one that showed toxicity in the three of the tests in the campaign after the increase of the floating population, two tests with de liquid phase in one station, localized near to Pesca Institute, two stations, localized in the Perequê-Açu beach, was toxic in both campaigns. Contamination by urban sewage and toxicity tests of liquid phase was observed in three stations localized in the right corner of Itaguá beach, other near the mouth of the Acaraú river, and another in front of Grande river and as well one station in the Perequê-Açu beach. One station near the mouth of Grande river had showed indication of contamination by urban sewage, but the liquid phase showed no sign of toxicity. The increase of the floating population showed a high toxicity for the test with liquid phase and a decrease in the number of survives in the amphipods tests. The small bay of Ubatuba showed toxicity in the liquid phase tests in almost of all stations after the increase in the floating population, then the region must be monitored with frequency and it is necessary to improve the structure of the sanitation in the area.

Keywords: Ubatuba small Bay; toxicity tests; sediment, faecal steroids.

1. INTRODUÇÃO

As áreas costeiras são caracterizadas pela interconexão entre os ecossistemas terrestres e marinhos e recebe fortes influências dos continentes e das atividades neles desenvolvidas, como o despejo das substâncias originadas por atividades humanas (Zaroni, 2006).

A crescente urbanização e o desenvolvimento econômico nos últimos anos têm implicado em uma maior produção de esgotos, tanto domésticos quanto efluentes industriais. Em diversas áreas costeiras isso são fatores preocupantes, pois inúmeros núcleos urbanos não possuem estações de tratamento de esgoto adequadas ou suas bases de lançamentos ao mar vêm sendo inoperantes ou ineficientes (Montone, 2006).

A contaminação marinha significa introdução direta ou indireta, pela atividade humana, de esgotos ou dejetos no mar que resultem ou possam resultar em efeitos deletérios, tais como danos aos recursos vivos e ao ecossistema marinho, perigo à saúde humana, obstáculo às atividades marinhas, incluindo a pesca e outros usos legítimos do mar ou ainda dano à qualidade para uso de água de mar (IMO, 2001).

O crescente acúmulo de substâncias no ambiente marinho tem causado efeitos tóxicos para a biota e para o equilíbrio do ecossistema. Os compostos tóxicos podem ser acumulados e transferidos através da cadeia alimentar fazendo com que a contaminação represente risco para o homem (Sousa, 2002). Uma vez no ecossistema, as substâncias podem sofrer uma série de fenômenos hidrodinâmicos como diluição, difusão, adsorção e precipitação, e também sofrem com processos biológicos de adsorção e eliminação (Blasco, 1990).

Os esgotos constituem o maior problema de poluição marinha global, tanto em volume de material poluente despejado, quanto aos problemas que causam à saúde pública (Weber, 1992). O esgoto consiste em uma mistura complexa de dejetos humanos, água e compostos químicos derivados de produtos de uso doméstico e/ou industrial. Muitos poluentes, como por exemplo, metais pesados, hidrocarbonetos do petróleo, compostos organoclorados, tornam-se constituintes comuns no esgoto devido a sua facilidade para adsorção na matéria orgânica particulada (Kennish, 1997).

Outros fatores condicionantes para a presença de esgotos nas zonas costeiras são: afluência turística, que aumenta o aporte dos esgotos e sobrecarrega as fossas sépticas; a fisiografia das praias, que pode dificultar a dispersão dos esgotos; a

ocorrência de chuvas, que carreiam esgotos e vários tipos de detritos antes estagnados nos arredores de canais de drenagem; as condições de maré, quando as enchentes barram cursos hídricos contaminados e quando as vazantes causam drenagem das águas desses cursos para o mar (Montone, 2006). O destino final dos dejetos das atividades humanas é o fundo dos corpos d'água, pois os contaminantes, uma vez no ambiente aquático, acabam alcançando o fundo, depositando-se no sedimento e passando a fazer parte deste compartimento (Power & Chapman, 1995).

Nos ecossistemas aquáticos, o sedimento constitui importante compartimento sendo reconhecido como o principal destino para as substâncias introduzidas nos oceanos (Adams *et al.*, 1992; Swartz *et al.*, 1985) e por acumular estes compostos em níveis muito mais elevados que aqueles observados na coluna de água adjacente (Nipper *et al.*, 1989).

Além disso, inúmeros processos químicos, físicos e biológicos podem ocasionar a liberação dos contaminantes presentes nos sedimentos para a coluna d'água, produzindo riscos à biota. Por sua capacidade de acumular contaminantes ao longo do tempo e pela sua importância ecológica, os sedimentos tem sido utilizados como importantes indicadores da qualidade dos ecossistemas aquáticos, sendo hoje considerados tão importantes quanto a coluna d'água em avaliações ambientais (Abessa, 2002; Chapman & Mann, 1999; Linkov *et al.*, 2001).

As primeiras abordagens utilizadas na avaliação da contaminação de sedimentos marinhos foram as análises químicas. No entanto, estas análises, quando utilizadas isoladamente como método para interpretar os efeitos dos poluentes, mostram-se inadequadas, uma vez que a biodisponibilidade dos contaminantes depende das condições físico-químicas do ecossistema e podem ou não causar efeitos adversos aos organismos (Ingersoll, 1995; Long *et al.*, 1995).

A avaliação da poluição por esgotos em áreas costeiras é portanto, de grande importância para a saúde pública, para o ecossistema marinho, a estética e razões ecológicas. No Brasil, o monitoramento da poluição por esgotos em ambientes marinhos tem sido feito por indicadores como a distribuição de bactérias coliformes, amônia e matéria orgânica biodegradável (DBO/DQO) em água e sedimento (Montone, 2006).

Os indicadores químicos de poluição por esgoto aparecem como alternativa em relação aos métodos microbiológicos, pois são menos susceptíveis às mudanças ambientais do que as bactérias (Venkatesan & Mirsadeghi, 1992).

Os indicadores mais utilizados em trabalhos envolvendo poluição fecal e efluentes domésticos são os esteróis e os alquilbenzenos lineares (LABs) (Venkatesan & Kaplan, 1990; Hartmann *et al*., 2000).

O termo esterol fecal é a denominação de esteróis encontrados em material fecal especificamente para o coprostanol e epicoprostanol.

Outra abordagem de avaliação da contaminação do sedimento é o uso de testes de toxicidade, que no Brasil temos a resolução CONAMA 357/2005, que exige a verificação do efeito tóxico crônico através de ensaios ecotoxicológicos em algumas classes de águas. Os testes de toxicidade de sedimentos têm sido recomendados por agências internacionais de controle ambiental, como ASTM (1992), EPA (1994) e Environment Canada (1992), como fundamentais no monitoramento das condições de sedimentos marinhos (Abessa, 1996).

A Ecotoxicologia, entre as várias ciências, é uma das que mais se desenvolveu no final do século XX. Sendo uma ciência multidisciplinar, foi definida como aquela que estuda os efeitos de substâncias sobre os seres vivos e os ecossistemas, utilizando conhecimentos provenientes da química, farmacologia, bioquímica, fisiologia, biologia, genética, epidemiologia, direito, estatística e economia (Zakrewski, 1991).

Nos últimos anos, os testes de toxicidade têm despertado grande atenção da comunidade cientifica, pois são procedimentos práticos e conclusivos em se tratando de avaliação e monitoramento ambiental (Rachid, 1996). Os testes ecotoxicológicos podem ser usados, por exemplo, no licenciamento de produtos químicos, na fiscalização de efluentes, no monitoramento da qualidade da água e sedimento, etc. (Knie & Lopes, 2004). De acordo com Abessa (2002) os testes de toxicidade consistem na exposição de organismos-testes frente a substâncias químicas ou amostras ambientais e têm sido empregados com diversas finalidades, das quais se destacam:

1) o conhecimento da qualidade de águas, sedimentos, solos e do ar;

2) os fins de regulação e a definição de limites máximos permissíveis para o lançamento de efluentes e substâncias químicas, para as estimativas do efeito de descargas de contaminantes sobre as populações naturais;

3) a definição de áreas críticas;

4) as análises de risco ecológico;

5) a integração em programas de monitoramento ambiental;

6) a detecção dos primeiros sinais de impacto devido a compostos químicos (*early warning*) e;

7) o significado biológico para dados de contaminação.

Desta maneira, para a detecção da toxicidade, é importante que os testes estejam bem estabelecidos e padronizados (Cesar, 2003). Outro fator importante que determina a qualidade dos resultados dos testes de toxicidade é a seleção do organismo-teste apropriado. Vários critérios são empregados na seleção, tais como sensibilidade, relevância ecológica, disponibilidade, possibilidade de cultivo, baixa variabilidade biológica, cosmopolismo, curto ciclo de vida, tamanho, custos, entre outros (Cesar, 2003; Chapman & Long, 1983; Lamberson *et al.*, 1992; Long *et al.*, 1995).

A decisão sobre quando aplicar os testes ecotoxicológicos e a escolha de qual método é o mais apropriado nunca é fácil. Decisões erradas podem ser danosas devido ao tempo e recursos despendidos (Brannon, 1978; Fredette *et al*., 1990). De acordo com Chapman & Long (1983) o uso de métodos ecotoxicológicos possui uma série de vantagens, como o baixo custo, a rapidez, a simplicidade da maior parte dos testes e a fácil interpretação dos resultados.

A toxicologia aquática estuda os efeitos de substâncias químicas manufaturadas e de outros materiais, antropogênicos ou naturais em organismos aquáticos. Os efeitos adversos dessas substâncias em nível de organismos incluem letalidade a curto e longo prazo e efeitos subletais, tais como mudança de comportamento, alterações do crescimento, da reprodução, da tomada de alimento e outros (Sousa, 2002).

Os estudos ecotoxicológicos constituem importantes ferramentas para o monitoramento ambiental, pois as informações que aportam sobre os ecossistemas degradados proporcionam subsídios para um diagnóstico mais eficaz dos impactos ambientais, bem como no entendimento das relações entre a poluição e seus efeitos à biota. Assim pode-se aplicar o conhecimento dos processos ecológicos no controle da contaminação, somados à compreensão das conseqüências das alterações ambientais. Constituem um instrumento essencial para a tomada de decisões (Cairns & Mount, 1990).

Considerando a complexidade da caracterização total do sedimento, não apenas do ponto de vista analítico, como também do ecológico e do econômico, os estudos ecotoxicológicos, por serem rápidos e de baixo custo, devem ser utilizados com esse fim.

Nessas circunstâncias, o objetivo deste trabalho é verificar a possível toxicidade do sedimento da Enseada de Ubatuba, antes e após o aumento da população flutuante (temporada de veraneio), realizando ensaios ecotoxicológicos com sedimento total e *Tiburonella viscana*, crônicos com água intersticial e embriões de *Lytechinus variegatus*; interface água/sedimento e embriões de *Lytechinus variegatus* e relacionar esses resultados com a possível contaminação por esgoto utilizando as análises de esteróis fecais.

2. ÁREA DE ESTUDO

A região estudada é a parte interna da Enseada de Ubatuba, situada entre as latitudes 23º25'S e 23º27'S e as longitudes 45º01'W e 45º03'W, na cidade de Ubatuba, litoral norte do Estado de São Paulo, que se caracteriza por apresentar uma linha de costa muito recortada, com várias enseadas e baías semi-confinadas. Essa característica faz com que os processos de troca de água e material sedimentar entre a zona costeira e a plataforma adjacente seja restrito, quando comparados às do litoral sul (Mahiques, 1995). Segundo Mahiques *et al.* (1998) a Enseada de Ubatuba possui uma abertura de 4,4 km delimitada pela Ponta do Respingador e pela Ponta Grossa, sendo assim protegida das ondas de sul e sudoeste. No seu interior observam-se dois estrangulamentos, o primeiro delimitado pela Ponta Alegre e Ponta Surutuva, limite da porção externa para a interna, e o segundo marcado pela Ponta Alegre e Ponta do Curuçá, formando o Saco do Perequê-Açu (Muniz, 2003).

Segundo Mahiques (1995) a Enseada de Ubatuba apresenta grande heterogeneidade granulométrica, sendo que os sedimentos mais grossos se concentram em uma faixa margeando o costão em direção norte e leste da Ponta Surutuva, enquanto os sedimentos mais finos depositam-se em um núcleo localizado entre as isóbatas de 5 e 10 metros, a noroeste da Ponta Surutuva.

A estrutura e dinâmica das massas de águas na região de Ubatuba foram estudadas por Emilson (1959), Matsuura (1986) e Castro Filho *et al.* (1987). A plataforma continental sudeste/sul brasileira sofre a influência de três massas de água: a Água Costeira (AC), de temperaturas altas e salinidade baixa; a Água Tropical (AT), de temperatura e salinidade altas; e a Água Central do Atlântico Sul (ACAS), de temperaturas em torno de 16ºC e salinidade em torno de 35 (Castro Filho *et al.*, 1987).

A ACAS, originária da convergência subtropical (Emilson, 1959), cobre todo o fundo da plataforma externa até aproximadamente 60 metros de profundidade. Anualmente, durante o verão, a ACAS penetra junto ao fundo atingindo regiões mais rasas da plataforma e ocasiona a formação de uma termoclina sazonal marcante. No inverno a ACAS recua em direção ao talude e a AC ocupa seu lugar, tornando a área costeira hidrologicamente homogênea devido ao desaparecimento da termoclina. A AT, originária da Corrente do Brasil, flui ao longo da plataforma sobre a ACAS (Burone,

2002). Castro Filho *et al.* (1987) sugere ser essa dinâmica de massas de águas controladas pelos ventos e pela ação da Corrente do Brasil.

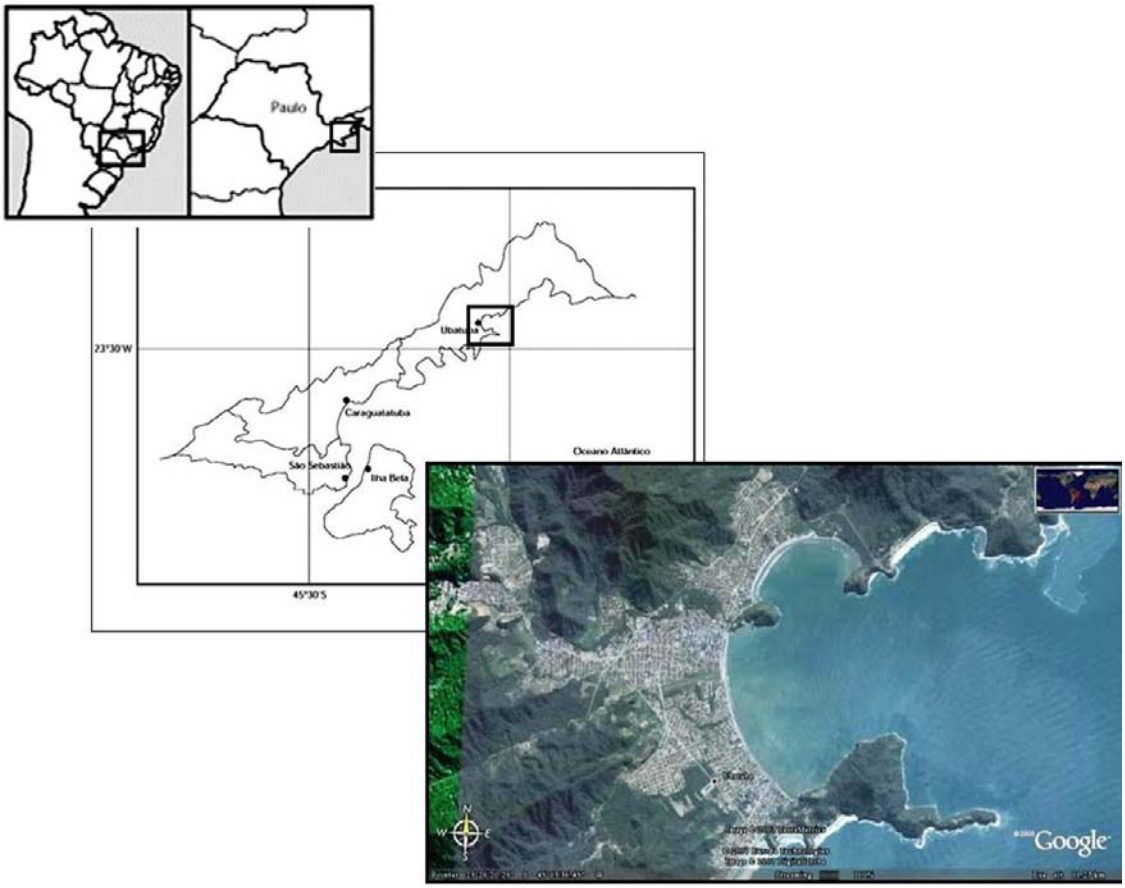

Figura 01. Localização da área de estudo.

A circulação ocorre em sentido horário com entrada de água pelo sul. A entrada de sedimentos pelos rios é fortemente dependente do regime de chuvas (Mahiques, 1995). Os quatro rios que desembocam na Enseada de Ubatuba influenciam de maneira importante na qualidade das águas, especialmente durante os períodos de chuvas, quando grandes quantidades de esgotos não tratados, provenientes da cidade de Ubatuba, são introduzidas no local (Burone, 2002), colaborando com os baixos índices de qualidade da água, com quantidades de coliformes termotolerantes acima da legislação, sendo que apenas 14% da média de amostragem atendem a legislação, segundo o relatório CETESB (2007).

Segundo CETESB (2007) a estimativa populacional fixa é de 82.292 habitantes. Durante a alta temporada a média/dia da população flutuante no local é de 300.000 turistas, com permanência media de 7 a 10 dias, chegando a picos de 800.000 pessoas no réveillon e carnaval (*site* da Prefeitura de Ubatuba*).

Este aumento populacional altera a qualidade ambiental da região. Com característica de demanda turística anual com períodos de alta temporada de 26 de Dezembro a 31 de Janeiro; carnaval; Semana Santa; Proclamação da República; 12 de Outubro Dia de Nossa Senhora Aparecida; Finados e com períodos de baixa temporada com movimento médio de 20 a 40 % do movimento da alta temporada nos meses de março a dezembro.

Em Ubatuba, de acordo com CETESB (2008), 33 % do esgoto é coletado e tratado em 5 estações de tratamento de esgoto (ETEs). Os tratamentos consistem de: lodos ativados e fossa séptica + tanque de contato e disposição em dois corpos receptores que são o Rio Acaraú e o Rio Grande. Dessa maneira são removidos 1.060 kg DBO/dia de carga orgânica, sendo que 3.053 kg Dbo/dia de carga orgânica remanescente são lançados nos corpos d’água, sendo um fator de influência na qualidade ambiental dos cursos de água (CETESB, 2007).

* www.ubatuba.sp.gov.br

3. OBJETIVO

O objetivo deste estudo é saber se existe toxicidade no sedimento da Enseada de Ubatuba e se a toxicidade possui correlação com a contaminação por esgoto doméstico, devido ao aporte da população flutuante. Para atingir esse objetivo foi analisada a toxicidade do sedimento da Enseada de Ubatuba, antes e após o aumento da população flutuante (temporada de veraneio) do período de dezembro de 2007 a fevereiro de 2008 mediante:

- Os testes de toxicidade do sedimento total (integral) com o anfípodo escavador *Tiburonella viscana*;
- Os testes de toxicidade da água intersticial com larvas de *Lytechinus variegatus*;
- Os testes de toxicidade do sedimento através do teste de interface água/sedimento com larvas de ouriço *Lytechinus variegatus*;
- Análises de esteróis fecais para verificar uma possível contaminação por esgoto doméstico, somente na campanha após o término do veraneio.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1. Coleta das amostras

As coordenadas das estações de coleta estão na Tabela 01 e visualizadas nas Figuras 02 e 03.

Tabela 01 – Localização das estações de coleta

Estação		Latitude	Longitude
Enseada de Ubatuba	A1	23º 27379	45º 03295
	A2	23º 27164	45º 03427
	A3	23º 27228	45º 03234
	A4	23º 27331	45º 03084
	B1	23º 26651	45º 03710
	B2	23º 26457	45º 03652
	B3	23º 26658	45º 03597
	B4	23º 26914	45º 03577
	C1	23º 26040	45º 03870
	C2	23º 26051	45º 03664
	C3	23º 26292	45º 03628
	C4	23º 26353	45º 03816
	D1	23º 25334	45º 03364
	D2	23º 25234	45º 03147
	D3	23º 25448	45º 03056
	D4	23º 25563	45º 03513
Ilha Anchieta		23° 32161	45º 04591

Figura 02. Localização das estações de coleta na Enseada de Ubatuba.

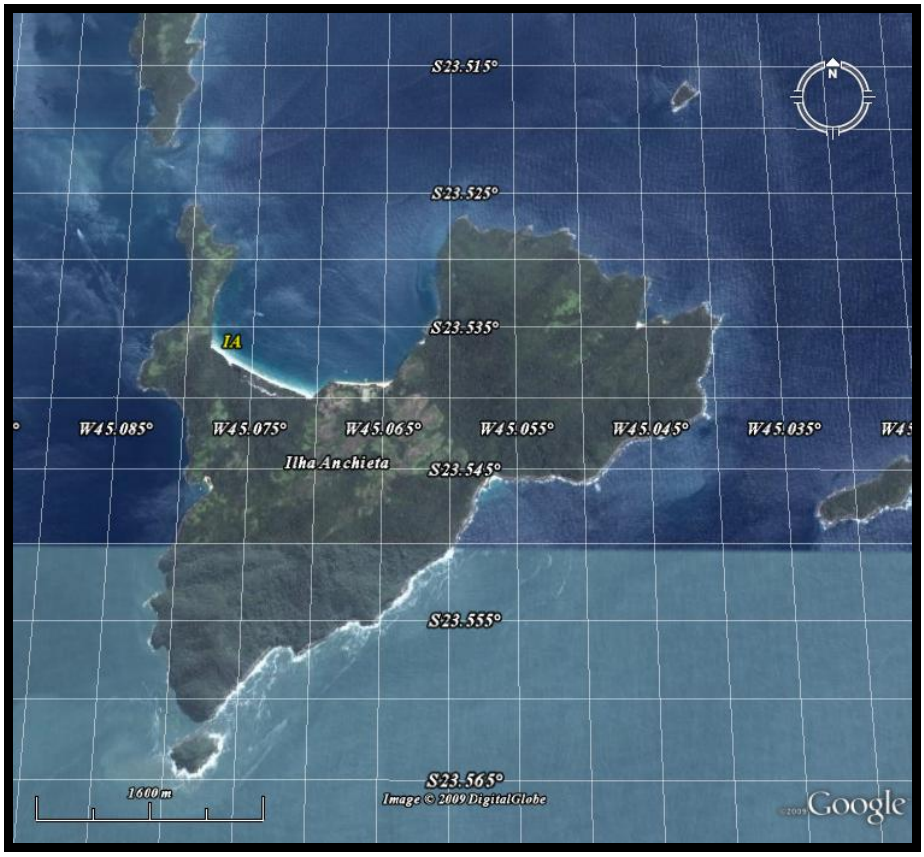

Figura 03. Localização da estação de coleta na Ilha Anchieta.

Para realizar as coletas de sedimentos na Enseada de Ubatuba foi utilizada a embarcação do Instituto Oceanográfico – USP Veliger II (Figura 04) nas duas campanhas.

Figura 04. Embarcação Veliger II, utilizada para as coletas.

Na primeira campanha, as coletas foram realizadas no período de 12 a 14 de novembro de 2007, antes do aumento da população flutuante. Na segunda campanha, as coletas foram realizadas dia 3 de março de 2008, após o grande aumento da população flutuante.

Com auxílio do pegador Van-Veen (0,026 m^2 de área amostral) (Figura 05), foram coletadas amostras para os testes de sedimento total, testes de interface água/sedimento, testes com a água intersticial do sedimento e amostras para a análise granulométrica em 17 estações, 16 na Enseada de Ubatuba e 1 na Ilha Anchieta, para ser usada como Estação Referência. Para a análise de esteróis fecais foram coletados sedimentos nas mesmas estações somente da campanha de março, após o término do veraneio.

Figura 05. Coleta das amostras realizadas com pegador Van-Veen.

As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente etiquetados e permaneceram em caixas de isopor com gelo até chegarem ao laboratório da Base Norte (Clarimundo de Jesus) do Instituto Oceanográfico – USP. No laboratório, as amostras foram mantidas em geladeira até sua utilização.

As amostras para extração da água intersticial foram também acondicionadas na geladeira logo após a montagem do sistema de extração da água intersticial, o que ocorreu assim que o material chegou ao laboratório. As amostras extraídas de água intersticial também foram mantidas em geladeiras até o momento da realização dos testes.

4.2. Extração e preparo das amostras

4.2.1. Extração e preparo das amostras para o teste com Água Intersticial

A extração da água intersticial foi feita pelo método de sucção descrito por Winger & Lasier (1991). De acordo com este método, foram usadas seringas hipodérmicas de 60 mL, ligadas a pedras porosas por meio de uma cânula de silicone de aproximadamente 20 cm. As cânulas com as pedras porosas na ponta foram inseridas no sedimento e os êmbolos foram puxados e travados, o que possibilitou exercer uma pressão negativa fazendo a água passar lentamente pelo sistema, sendo então armazenada na seringa (Figura 06). Após a obtenção do volume necessário para os testes, as amostras de água intersticial foram mantidas em temperatura de 4ºC até a sua utilização, o que ocorreu por volta de 24 horas após a extração.

Figura 06. Extração da água intersticial.

Para a avaliação da toxicidade da água intersticial foram feitas diluições e as concentrações testadas foram: 100%, 50% e 25%. O teste foi montado em tubos de ensaio, com quatro réplicas para cada concentração para cada amostra. Em cada tubo foi colocado 10 mL da solução a ser testada. Os parâmetros físico-químicos medidos no início, na concentração de 100% foram: pH, medido com pHmetro METTLER TOLEDO, salinidade, medida com auxílio do refratômetro ATAGO S/Mill e a amônia, medida com kit de amônia para aquário Tetra® ou Tropic Marin®.

4.2.2. Preparo das amostras para o teste de Interface Água/Sedimento

Na avaliação da toxicidade da interface água/sedimento foram montados conjuntos de tubos de ensaio com 5 réplicas para cada ponto amostrado, sendo 1 réplica utilizada para as análises físico-químicas. Em cada tubo de ensaio foram colocados 2 mL de sedimento com auxílio de um core feito com uma seringa descartável de 5 mL. Uma malha de plâncton de 20 µm foi colocada sobre o sedimento com auxílio de um anel de polipropileno de 5 mm de espessura, deixando a malha esticada. Em seguida foram adicionados 8 mL de água-do-mar filtrada em Millipore® 45 µm, o que foi feito cuidadosamente evitando-se, assim, a ressuspensão do sedimento e permitindo que ocorresse a troca de íons presentes na água intersticial com os da coluna d'água (Figura 07). Os conteúdos dos tubos permaneceram estabilizando por 24 horas antes do início do experimento (Figura 08).

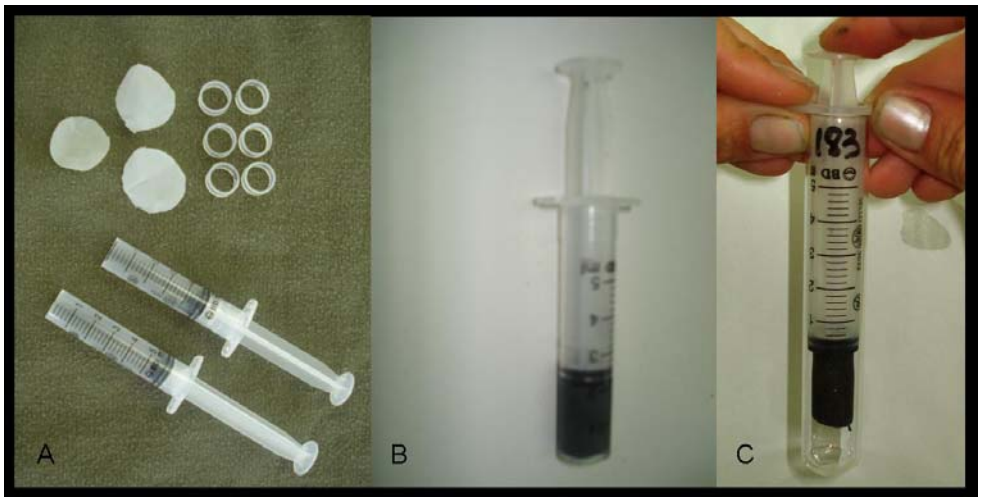

Figura 07. Material usado para montar o teste de interface água/sedimento: core, anéis e malha (A); 2 mL de sedimento (B) e a introdução do sedimento no tubo de ensaio (C).

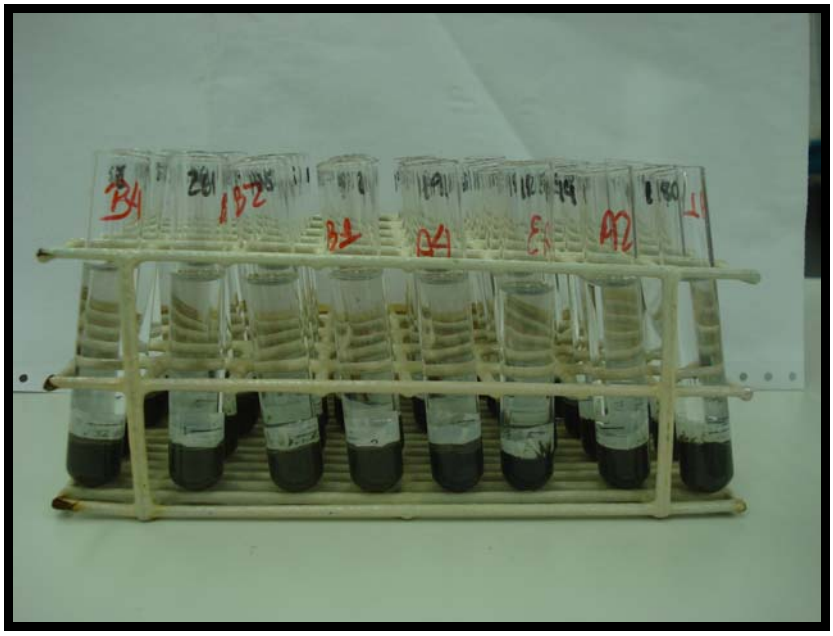

Figura 08. Conjunto de tubos de ensaio do teste de interface água/sedimento.

Após as 24 horas de estabilização, foram medidos os parâmetros físico-químicos: pH, medido com pHmetro METTLER TOLEDO, salinidade, medida com auxílio do refratômetro ATAGO S/Mill e a amônia foi medida com kit de amônia para aquário Tetra® ou Tropic Marin®.

4.2.3. Preparo das amostras para o teste de Sedimento Total

Para cada amostra, foram preparadas 4 réplicas na primeira campanha e 3 réplicas na segunda campanha. Foram utilizados recipientes de polietileno, contendo cerca de 2 cm de sedimento e 750 mL de água do mar de boa procedência (Figura 09), permanecendo por 24 horas para a estabilização até o início do experimento. Após a adição dos organismos, todas as amostras receberam aeração constante e o sistema total foi mantido sob iluminação constante e temperatura controlada (25 ± 2ºC), em sala climatizada. Também foram medidos no início e final dos testes os seguintes parâmetros físico-químicos: o pH, medido com pHmetro METTLER TOLEDO, salinidade, com auxílio do refratômetro ATAGO S/Mill e a amônia foi medida com kit de amônia para aquário Tetra® ou Tropic Marin®.

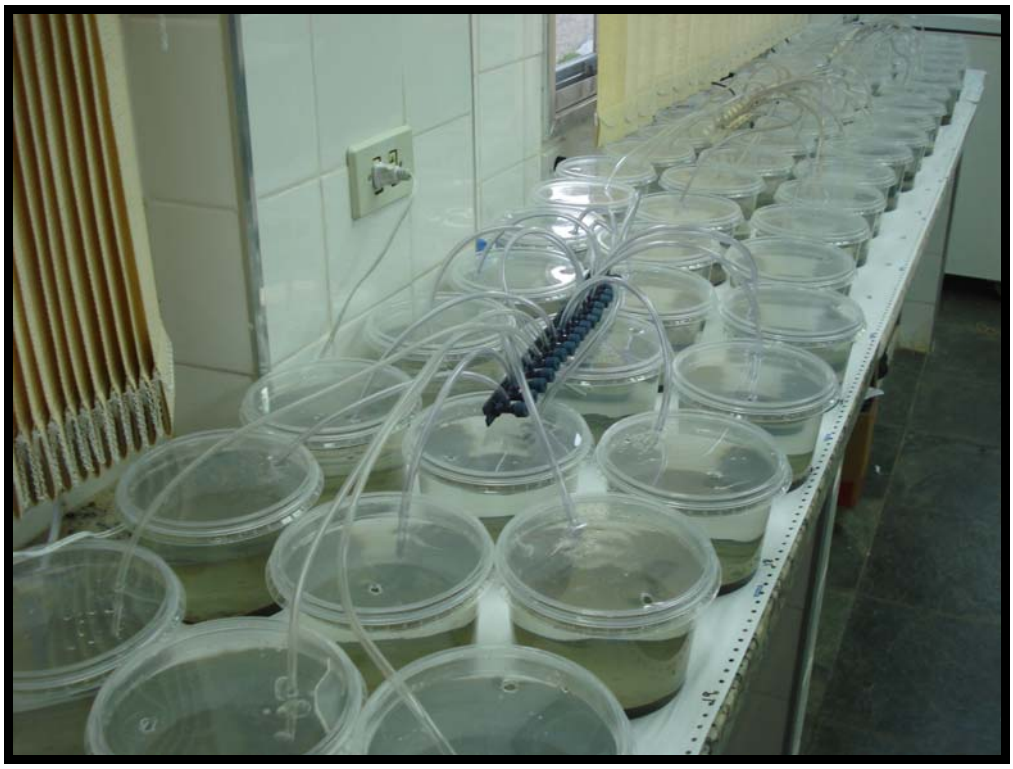

Figura 09. Conjunto de recipientes preparado para o teste com sedimento total.

4.3. Teste com embriões de *Lytechinus variegatus*

Para a avaliação da toxicidade da água intersticial e interface água/sedimento, o método usado foi o teste de toxicidade crônico de curta duração com embriões do ouriço-do-mar da espécie *Lytechinus variegatus*, normatizado pela Norma Técnica L5.250 da CETESB (1992) e padronizado pela ABNT (2006), também usado por

Argentino-Santos (2006), César (2003), César *et. al.* (2004), Mastroti (1997), Rachid (1996 e 2002) e Zaroni (2006).

Aproximadamente 20 ouriços adultos foram coletados, por meio de mergulho livre, no costão da Praia do Flamenguinho, em Ubatuba e mantidos em tanque com água do mar e aeração constante. Estes animais foram induzidos a liberar seus gametas através da injeção de 4,0 mL de KCl (cloreto de potássio a 0,5 M) na região peri-oral de cada organismo. Foram utilizados espermas e óvulos de três machos e três fêmeas, respectivamente, sendo os óvulos previamente selecionados pela observação de seu estado de maturação sob microscópio com aumento de 100X.

A coleta dos óvulos foi realizada em um béquer de 400 mL contendo água do mar filtrada em Millipore HA 0,45µm, colocando-se as fêmeas com a superfície aboral voltada para baixo. Posteriormente, os óvulos foram lavados com auxílio de uma peneira, e então colocados em outro béquer com água do mar filtrada em Millipore HA 0,45µm.

O líquido espermático de três machos foi coletado a seco com o auxílio de uma pipeta Pasteur e colocado em um béquer com capacidade para 25 mL. Este foi mantido em um isopor com gelo até o momento de sua utilização.

Para promover a fecundação, 0,5 mL do esperma coletado foi diluído em 24,5 mL de água do mar filtrada, e 1,0 mL dessa solução espermática foi adicionada na solução de óvulos. A fecundação foi constatada pela formação da membrana de fecundação, visível em microscópio com aumento de 100X (Figura 10A). Em seguida foi determinada a concentração de ovos na solução por meio da contagem de 3 subamostras desta solução diluída em água do mar filtrada na razão de 1/100. Após este procedimento 100 µL da solução de ovos foram adicionados em cada tubo de ensaio contendo as amostras a serem testadas, de água intersticial ou interface água/sedimento.

O teste foi mantido em temperatura constante de 25 ± 2ºC por meio de sala climatizada. Cerca de 24 a 26 horas após o início do teste, quando 80% ou mais dos embriões no controle atingiram o estágio de pluteus (Figura 10B), o experimento foi encerrado e o volume de cada réplica foi fixado em recipientes de acrílico com 4 gotas de formol a 40%, tamponado com bórax, para posterior contagem das 100 primeiras larvas encontradas. A contagem foi realizada com microscópio óptico em aumento de 100X, com auxílio de uma câmara de contagem do tipo Sedgwick-Rafter.

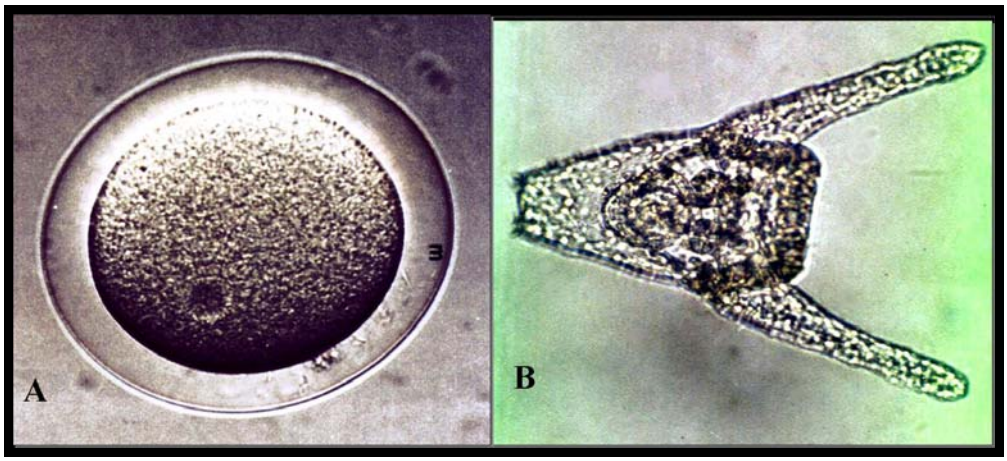

Figura 10. Ovo de *Lytechinus variegatus* (A) e Larva pluteus normal com 24 h de desenvolvimento (B).

A sensibilidade do lote de embriões utilizado no teste de toxicidade foi avaliada paralelamente por um teste com substância de referência, o tensoativo aniônico Dodecil Sulfato de Sódio - DSS. O procedimento foi o mesmo descrito anteriormente, porém neste teste os organismos foram expostos a 5 diferentes concentrações de DSS (5,0; 2,5; 1,25; 0,63; 0,32 mg/L de DSS), com 4 réplicas para cada concentração, diluídos em água do mar de boa procedência filtrada.

4.4. Teste com *Tiburonella viscana*

O método usado no teste com sedimento total e o anfípodo escavador *Tiburonella viscana* foi o adequado por Melo (1993) e usado por Abessa (1996 e 2002), Argentino-Santos (2006) e Zaroni (2006), normatizado pela ABNT (2007).

Os exemplares de anfípodos da espécie *Tiburonella viscana* foram coletados na Praia do Engenho D'água, Ilhabela - S.P., com o auxílio de uma draga, de três a cinco dias antes do início do experimento (Figura 11A e B). Estes foram aclimatados às condições de laboratório, mantidos em um tanque contendo água limpa e uma camada de 1 cm de sedimento do local de coleta, sob aeração e iluminação constantes e temperatura de 25 ± 2ºC. Após o período de aclimatação, os animais foram então selecionados para o teste.

Figura 11. Material utilizado para coleta de anfípodo (A), técnica de coleta (B), e anfípodos adultos (C).

O teste consistiu na exposição de anfípodos adultos (Figura 11C), excluindo-se fêmeas ovadas e animais apresentando aparência ou movimentação alterada, às amostras de sedimento durante 10 dias.

Ao final do período de exposição, o teste foi encerrado e o conteúdo de cada réplica peneirado, sendo contado e anotado o número de indivíduos vivos e mortos em cada uma das réplicas.

Paralelamente, foi realizado um teste agudo com substância de referência (dicromato de potássio - $K_2Cr_2O_7$), para avaliação da sensibilidade do lote de organismos utilizados, porém, o método de exposição dos organismos diferiu do descrito anteriormente. Dez organismos foram expostos, por 48 horas, a 4 concentrações de dicromato de potássio (3,10; 6,20; 12,50; 25,0 e 50,0 mg/L), com 3 réplicas com 300 mL de solução cada. As concentrações foram preparadas por diluição a partir de uma solução estoque de 100 mg/L de $K_2Cr_2O_7$, em água do mar filtrada.

4.5. Análise granulométrica

As análises granulométricas foram realizadas pelo técnico do Instituto Oceanográfico Tomas Edison da Silva, no Laboratório de Granulometria do Departamento de Oceanografia Biológica do IOUSP. A análise foi realizada através de peneiramento e pipetagem seguindo o método descrito por Suguio (1973). As amostras de sedimento foram liofilizadas durante dois dias para a retirada da água do sedimento no intuito de evitar a perda de carbonato e a partir de alíquotas, foi realizada análise granulométrica.

Após a secagem das amostras, foi utilizada uma alíquota de 30 g de sedimento de cada amostra. Esta foi umidificada com água destilada para facilitar o peneiramento

em malha de 0,063 μm com o objetivo de remover a fração silte argilosa da amostra, evitando assim, perda da amostra na hora de colocar na estufa.

O material que passou pela peneira foi retido em um recipiente e posteriormente colocado em uma proveta de 500 mL. O restante, retido na peneira, foi colocado dentro de um funil contendo um papel filtro para a remoção do excesso de água. Ao final desta etapa, o papel filtro com o sedimento foi dobrado e colocado na estufa a 60ºC por 24 horas, para que a amostra de sedimento secasse totalmente.

Em seguida, foi realizado o peneiramento a seco das amostras, utilizando jogo de peneiras "granutest", seguindo intervalos de meio ø na escala de Went-Worth, em agitador RO-TAP por 15 minutos. A fração retida em cada peneira foi pesada e o peso anotado.

A fração fina de cada amostra, foi colocada em cada proveta e foi adicionado 1 g de pirofosfato de sódio. Após a adição do pirofosfato de sódio foi realizado o método indireto de separação por pipetagem, utilizando a tabela de tempos, profundidades e granulações, baseada na Lei de Stokes.

Através dos resultados obtidos, foram calculadas as classificações granulométricas de Shepard e obtidas as frações de argila, silte, areia e grânulos de cada amostra.

4.6. Esteróis Fecais

As análises de esteróis fecais foram realizadas no Laboratório de Química Orgânica pela Profª. Drª. Rosalinda C. Montone e pela Drª. Satie Taniguchi.

As análises de esteróis foram realizadas de acordo com os protocolos descritos em Kawakami e Montone (2002) e Martins *et. al.* (2007). As amostras de sedimento foram liofilizadas durante 72 horas em liofilizador Thermo Savant. Em seguida, as amostras foram maceradas e homogeneizadas em almofariz com pistilo e armazenadas em frascos de vidro previamente limpos com solvente.

Os esteróis foram extraídos de 25 g de sedimento, por período de 8 horas, em Soxhlet contendo etanol e α-colestano como padrão surrogate. A purificação da amostra foi feita com coluna contendo alumina e a eluição foi feita com 15 mL de etanol. A derivatização dos esteróis, com o objetivo de transformá-los em compostos com menor ponto de ebulição, foi feita com BSTFA (bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida) + 1% TMCS (trimetilclorosilano), em banho maria por 90 minutos, a 65°C. A identificação e

quantificação foram feitas em cromatógrafo a gás com espectrômetro de massas (GC-MS), sendo que a aquisição foi feita no modo SCAN.

As temperaturas do GC-MS foram de 280°C, 280°C e 300°C no injetor e na interface e na fonte de íons, respectivamente. A coluna cromatográfica utilizada foi da J&W Scientific com 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme de 5% fenilmetilsiloxana. A rampa de temperatura para PCBs foi programada de 40°C a 240°C a 10°C min^{-1}, subindo até 245°C a 0,25°C min^{-1} (isotérmico por 5 min), e até 300°C a 10°C min^{-1} (constante por 5 min).

A identificação dos esteróis foi feita por comparação dos tempos de retenção com padrões de referência da Sigma-Aldrich da Alemanha. Os compostos analisados no GC-MS também foram identificados através do espectro de massas. A quantificação foi feita por razões entre os surrogates e os compostos de interesse, baseada na curva analítica montada com pelo menos cinco concentrações diferentes da mistura de esteróis.

4.7. Análise Estatística

Os tratamentos estatísticos dos resultados obtidos nos testes de toxicidade, análise de esteróis fecais, granulométricas e físico-químicas foram feitos com o pacote estatístico Bioestat 5.0. Foi verificada a normalidade de sua distribuição pelo teste de D'Agostino (k amostras) e foi analisado o coeficiente de correlação de Pearson ($p > 0,05$) com alguns parâmetros físico-químicos e com os indicadores de contaminação por esgoto domésticos, a fim de verificar alguma correlação entre a toxicidade e os parâmetros citados acima.

Para analisar a diferença significativa entre as duas campanhas foram realizados o Teste t para amostras com homocedasticidade e Teste Mann-Whitney para amostras com heterocedasticidade.

A análise da toxicidade foi comparada estatisticamente com a análise de variância, com o Programa Toxstat 3.5 seguida de Student T Test por bioequivalência para o anfípodo *Tiburonella viscana* de 0,694 (Abessa *et. al*., 2007), para a detecção de diferenças significativas e determinação de amostras tóxicas. Para amostras testadas com *Lytechinus variegatus* foi comparado estatisticamente com a análise de variância e seguida de Student T Test por bioequivalência de 0,91 (Bertoletti *et. al*., 2007).

5. RESULTADOS

5.1. Primeira Campanha

5.1.1. Granulometria

Os resultados da análise granulométrica das amostras de sedimento coletadas na Primeira Campanha estão apresentados na Tabela 02.

Tabela 02 – Porcentagem de areia, silte, argila e classificação segundo *Shepard* das amostras de sedimento coletadas na Primeira Campanha.

ANÁLISE GRANULOMÉTRICA

Estação	% de areia	% de silte	% de argila	Classificação *Shepard*
A1	86.52	8.42	5.05	AREIA
A2	78.30	13.36	8.35	AREIA
A3	50.10	25.58	23.87	AREIA SILTICA
A4	37.67	32.01	30.32	AREIA SILTICO ARGILOSO
B1	46.91	44.79	8.29	AREIA SILTICA
B2	15.66	74.36	9.91	SILTE ARENOSO
B3	12.42	74.60	12.97	SILTE ARGILOSO
B4	67.46	20.51	11.96	AREIA SILTICA
C1	38.94	50.88	10.18	SILTE ARENOSO
C2	38.04	46.84	15.06	SILTE ARENOSO
C3	20.24	66.47	13.29	SILTE ARENOSO
C4	22.66	67.25	10.09	SILTE ARENOSO
D1	91.62	1.67	6.68	AREIA
D2	93.23	4.93	1.64	AREIA
D3	71.94	11.54	16.46	AREIA ARGILOSA
D4	60.42	21.44	18.14	AREIA SILTICA
IA	92.94	3.35	3.35	AREIA

De acordo com a classificação de *Shepard*, as estações classificadas como areia foram A1, A2, D1, D2 e IA; as estações A3, B1, B4 e D4 foram classificadas como areia síltica; as estações B2, C1, C2, C3 e C4 como silte arenoso, a estação A4 foi classificada como areia síltico argiloso, já a estação B3 como silte argiloso e a estação D3 de areia argilosa. A porcentagem de areia, silte e argila das amostras desta campanha estão representadas na Figura 12.

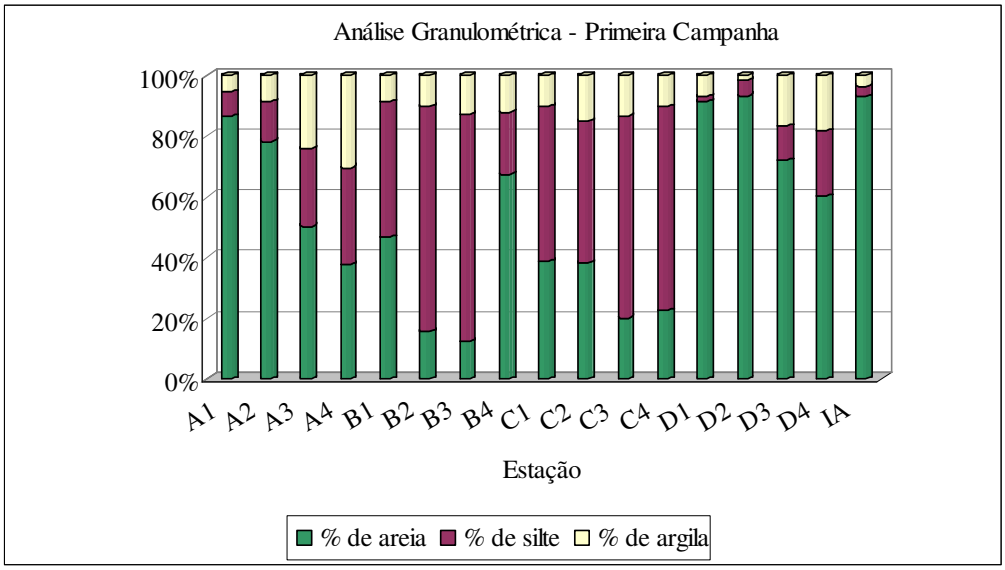

Figura 12 – Porcentagem de areia, silte e argila presentes nas amostras de sedimento coletadas na Primeira Campanha.

5.1.2. Testes de Toxicidade Embriolarval com *Lytechinus variegatus*

5.1.2.1. Água Intersticial

Nos testes de toxicidade com água intersticial foram medidos no início dos testes alguns parâmetros físico-químicos como pH, salinidade, amônia total (NH_4^+) e foi calculada a amônia não-ionizada (NH_3). Os resultados estão apresentados na Tabela 03.

Tabela 03 - Parâmetros físico-químicos: pH, salinidade, amônia total (NH_4^+) e amônia não-ionizada (NH_3), analisados no início do teste com água intersticial da Primeira Campanha.

Estação	Salinidade	NH_4^+	NH_3	pH
A1	31	3,00-5,00	0,047-0,079	7,53
A2	31	3,00-5,00	0,053-0,088	7,58
A3	32	1,50-3,00	0,032-0,064	7,66
A4	32	5,00	0,095	7,61
B1	32	3,00-5,00	0,062-0,103	7,65
B2	31	1,50	0,031	7,65
B3	33	3,00-5,00	0,065-0,108	7,67
B4	32	3,00-5,00	0,061-0,101	7,64
C1	32	5,00	0,106	7,66
C2	31	1,50-3,00	0,025-0,051	7,56
C3	30	1,50	0,032	7,66
C4	31	1,50-3,00	0,036-0,071	7,71
D1	32	5,00	0,028-0,055	7,77
D2	31	1,50-3,00	0,036-0,071	7,60
D3	32	1,50-3,00	0,136	7,71
D4	31	5,00	0,124	7,73
I.A.	33	0,25-1,50	0,002-0,011	7,18
CONTROLE	34	0,00	0,000	7,98

= valores acima do limite para a espécie

Houve variação nos parâmetros físico-químicos analisados, sendo que a maior salinidade foi de 33 nas estações B3 e IA e a menor salinidade foi de 30 na estação C3. O pH variou de 7,18 na estação I.A. a 7,77 na estação D1. A temperatura do teste manteve-se constante em 25ºC.

A amônia não ionizada com valores acima de 0,05 está acima do limite de sensibilidade para as larvas de *Lytechinus variegatus*, o que ocorre nas estações A1, A2, A3, A4, B1, B3, B4, C1, C2, C4, D1, D2, D3 e D4.

A porcentagem de larvas normais obtidas para cada réplica, bem como média e desvio padrão, para cada concentração testada, estão apresentados na Tabela 04. Nas Figuras 13, 14 e 15 estes resultados estão representados graficamente.

Tabela 04 – Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* obtidas em cada réplica, nas concentrações de 25%, 50% e 100% de amostras de água intersticial, com suas respectivas médias e desvios padrão, na Primeira Campanha.

#A1	25%	50%	100%
R1	97	99	98
R2	96	99	99
R3	98	97	99
R4	96	99	99
Média	96.75	98.50	98.75
D. Padrão	0.96	1.00	0.50

#A2	25%	50%	100%
R1	98	99	100
R2	100	97	96
R3	100	98	96
R4	99	100	98
Média	99.25	98.50	97.50
D. Padrão	0.96	1.29	1.91

#A3	25%	50%	100%
R1	96	98	0
R2	100	100	0
R3	99	99	0
R4	99	97	0
Média	98.50	98.50	0.00
D. Padrão	1.73	1.29	0.00

#A4	25%	50%	100%
R1	91	76	0
R2	97	78	15
R3	98	93	0
R4	99	70	0
Média	96.25	79.25	3.75
D. Padrão	3.59	9.78	7.50

#B1	25%	50%	100%
R1	93	90	98
R2	89	95	92
R3	97	91	90
R4	91	93	92
Média	92.50	92.25	93.00
D. Padrão	3.42	2.22	3.46

#B2	25%	50%	100%
R1	100	98	5
R2	91	96	0
R3	99	87	4
R4	97	89	7
Média	96.75	92.50	4.00
D. Padrão	4.03	5.32	2.94

#B3	25%	50%	100%
R1	99	94	94
R2	98	97	92
R3	92	94	91
R4	83	91	96
Média	93.00	94.00	93.25
D. Padrão	7.35	2.45	2.22

#B4	25%	50%	100%
R1	94	93	39
R2	100	93	19
R3	94	89	24
R4	92	91	44
Média	95.00	91.50	31.50
D. Padrão	3.46	1.91	11.90

Continuação Tabela 04 – Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* obtidas em cada réplica, nas concentrações de 25%, 50% e 100% de amostras de água intersticial, com suas respectivas médias e desvios padrão, na Primeira Campanha.

#C1	25%	50%	100%
R1	98	94	0
R2	95	98	0
R3	96	93	0
R4	96	90	1
Média	96.25	93.75	0.25
D. Padrão	1.26	3.30	0.50

#C2	25%	50%	100%
R1	98	93	98
R2	98	96	97
R3	98	97	99
R4	96	96	95
Média	97.50	95.50	97.25
D. Padrão	1.00	1.73	1.71

#C3	25%	50%	100%
R1	97	100	95
R2	94	99	98
R3	96	98	100
R4	96	97	98
Média	95.75	98.50	97.75
D. Padrão	1.26	1.29	2.06

#C4	25%	50%	100%
R1	95	99	0
R2	100	95	13
R3	93	99	0
R4	94	97	0
Média	95.50	97.50	3.25
D. Padrão	3.11	1.91	6.50

#D1	25%	50%	100%
R1	98	92	91
R2	98	97	94
R3	90	94	95
R4	96	92	95
Média	95.50	93.75	93.75
D. Padrão	3.79	2.36	1.89

#D2	25%	50%	100%
R1	97	97	67
R2	97	99	91
R3	96	98	61
R4	96	95	91
Média	96.50	97.25	77.50
D. Padrão	0.58	1.71	15.78

#D3	25%	50%	100%
R1	9	0	0
R2	0	0	0
R3	10	0	0
R4	18	0	0
Média	9.25	0.00	0.00
D. Padrão	7.37	0.00	0.00

#D4	25%	50%	100%
R1	94	68	0
R2	98	80	0
R3	87	78	0
R4	96	55	0
Média	93.75	70.25	0.00
D. Padrão	4.79	11.44	0.00

#I.A.	25%	50%	100%
R1	98	79	0
R2	98	91	0
R3	95	98	0
R4	100	80	0
Média	97.75	87.00	0.00
D. Padrão	2.06	9.13	0.00

CONTROLE	H_2O Mar
R1	98
R2	99
R3	98
R4	98
Média	98.25
D. Padrão	0.50

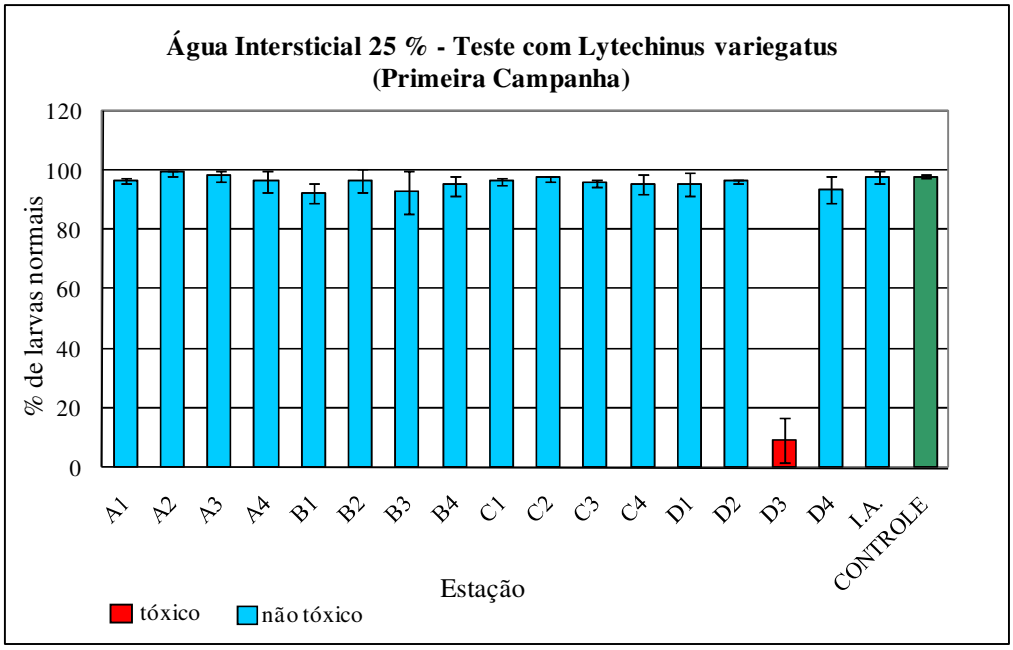

Figura 13 – Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus*, por estação e seus desvios padrão do teste com água intersticial na concentração de 25%, realizada na Primeira Campanha.

A análise estatística para a verificação de amostras tóxicas, Student T test por bioequivalência (0,91), mostrou que nesta campanha somente a estação D3 apresentou toxicidade na concentração de 25% da água intersticial, ou seja, apresentou uma taxa de desenvolvimento embriolarval significativamente diferente do controle.

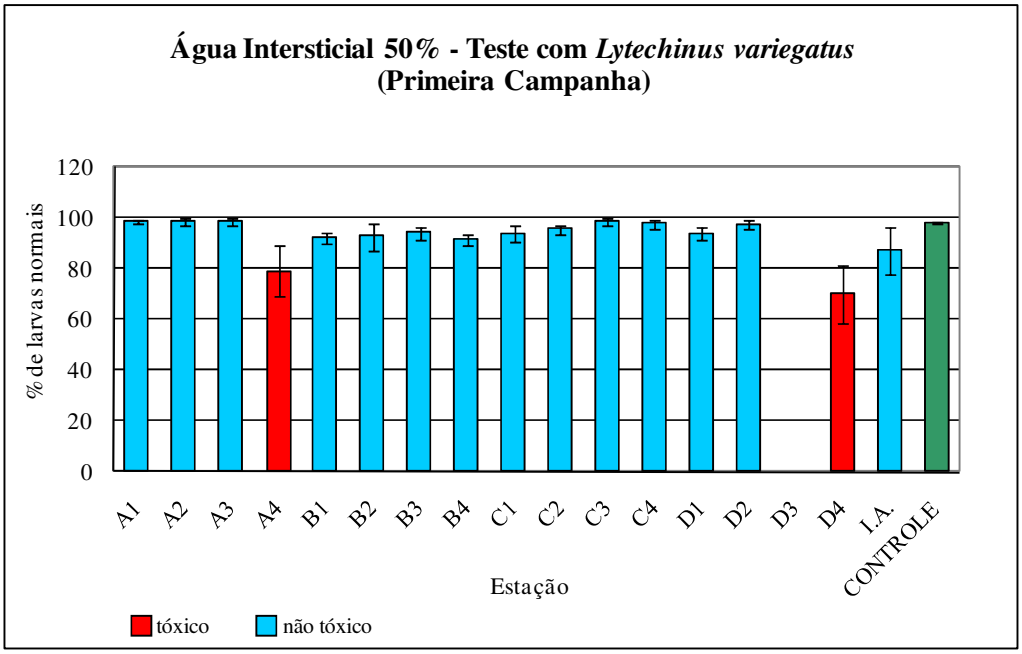

Figura 14 – Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* e seus desvios padrão do teste com água intersticial na concentração de 50%, realizada na Primeira Campanha.

A análise estatística, para a verificação de amostras tóxicas, Student T test por bioequivalência (0,91), mostrou que nesta campanha as estações A4, D3 e D4 apresentaram toxicidade na concentração de 50% da água intersticial, ou seja, apresentaram uma taxa de desenvolvimento embriolarval significativamente diferente do controle.

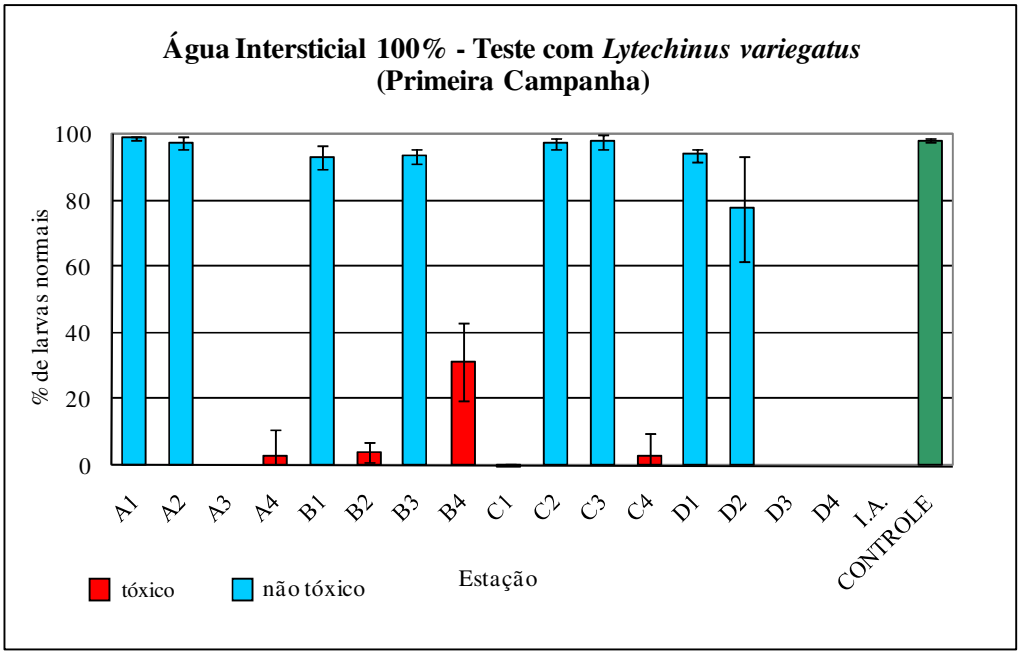

Figura 15 – Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* por estação e seus desvios padrão do teste com água intersticial na concentração de 100%, realizada na Primeira Campanha.

A análise estatística, para a verificação de amostras tóxicas, Student T test por bioequivalência (0,91), mostrou que nesta campanha as estações A3, A4, B2, B4, C1, C4, D3, D4 e I.A. apresentaram toxicidade na concentração de 100% da água intersticial, ou seja, apresentaram uma taxa de desenvolvimento embriolarval significativamente diferente do controle.

O teste pode ser validado devido a porcentagem de larvas normais no controle estar acima de 80%, que é o limite mínimo para validar o teste segundo a norma ABNT/NBR 15350.

5.1.2.1.1. Análises Estatísticas

Correlações

Matriz de correlação (coeficiente de correlação de Pearson) calculado no programa BioEstat 5.0.

Teste de Água Intersticial e Parâmetros Físico-Químicos

Na Tabela 05 estão apresentados os resultados do teste de normalidade – D'Agostino para a verificação dos resultados do teste de toxicidade com água intersticial (100%) e os resultados dos parâmetros físico-químicos.

Tabela 05 - Teste de Normalidade – D'Agostino para os dados do teste de toxicidade com água intersticial (100%) e os dados dos parâmetros físico-químicos.

Normalidade - D'Agostino (k amostras)

	100%	Salinidade	NH_4^+	NH_3	pH
p =	ns	ns	ns	ns	p < 0,01

normal = ns
não normal = p< 0,01

Verificou-se que apenas os dados de pH não foram normais.

Tabela 06 - Correlação de Pearson (p < 0,05) para o teste de toxicidade com água intersticial a 100% com os parâmetros físico-químicos.

	salinidade	NH_4^+	NH_3	pH
100%	- 0,2613	0,2302	- 0,1184	0,0506

Após verificar a normalidade, constatou-se que não houve correlação dos dados de toxicidade com a água intersticial a 100% e os dados dos parâmetros físico-químicos.

5.1.2.2. Interface Água/Sedimento

Para os testes de interface água/sedimento os parâmetros físico-químicos medidos foram os mesmos do teste com água intersticial, tais como pH, salinidade, amônia total (NH_4^+) e também foi calculada a amônia não-ionizada (NH_3) no início do teste. Os resultados estão apresentados na Tabela 07.

Tabela 07 - Parâmetros físico-químicos: pH, salinidade, amônia total (NH_4^+) e amônia não-ionizada (NH_3) analisados no início do teste com interface água/sedimento, na Primeira Campanha.

Estação	Salinidade	NH_4^+	NH_3	pH
A1	34	1,50	0,027	7,60
A2	34	1,50	0,034	7,70
A3	34	1,50	0,037	7,74
A4	34	1,50	0,033	7,69
B1	34	0,25-1,50	0,006-0,037	7,74
B2	34	1,50	0,036	7.73
B3	34	1,50	0,036	7,73
B4	34	1,50	0,040	7,77
C1	34	1,50-3,00	0,037-0,074	7,74
C2	34	0,25	0,006	7,72
C3	34	0,25	0,006	7,75
C4	34	1,50	0,029	7,63
D1	33	3,00	0,062	7,65
D2	34	1,50	0,031	7,66
D3	34	1,50	0,030	7,65
D4	34	3,00-5,00	0,080-0,133	7,77
I.A.	34	5,00	0,081	7,55
CONTROLE	34	0,00	0,000	7,98

= valores acima do limite para a espécie

Os parâmetros físico-químicos analisados apresentaram variação, exceto na salinidade que foi de 34 para todas as estações. O pH variou de 7,55 nas estações IA a 7,77 nas estações B4 e D4. A temperatura do teste manteve-se constante a 25ºC.

A amônia não ionizada com valores acima de 0,05 está acima do limite de sensibilidade para as larvas de *Lytechinus variegatus*, o que ocorreu nas estações C1, D1, D4 e I.A.

O número de larvas normais obtidas em cada réplica, bem como as médias e o desvio padrão para cada amostra testada estão na Tabela 08 e representadas graficamente na Figura 16.

Tabela 08 – Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* por réplica, média e desvio padrão, do teste de interface água/sedimento.

Réplicas	#A1	#A2	#A3	#A4	#B1	#B2	#B3	#B4
R1	28	25	22	30	39	9	0	12
R2	28	31	22	40	38	0	3	0
R3	53	18	30	31	38	3	0	0
R4	0	24	0	20	38	4	1	0
Média	27.25	24.50	18.50	30.25	38.25	4.00	1.00	3.00
D. padrão	21.65	5.32	12.90	8.18	0.50	3.74	1.41	6.00

Réplicas	#C1	#C2	#C3	#C4	#D1	#D2	#D3	#D4
R1	0	73	69	20	31	58	0	0
R2	0	80	54	28	0	90	10	12
R3	7	0	44	0	14	23	0	0
R4	2	0	53	22	0	86	12	0
Média	2.25	38.25	55.00	17.50	11.25	64.25	5.50	3.00
D. padrão	3.30	44.26	10.36	12.15	14.73	30.97	6.40	6.00

Réplicas	#I.A.	CONTROLE
R1	0	98
R2	18	99
R3	0	98
R4	37	98
Média	13.75	98.25
D. padrão	17.67	0.50

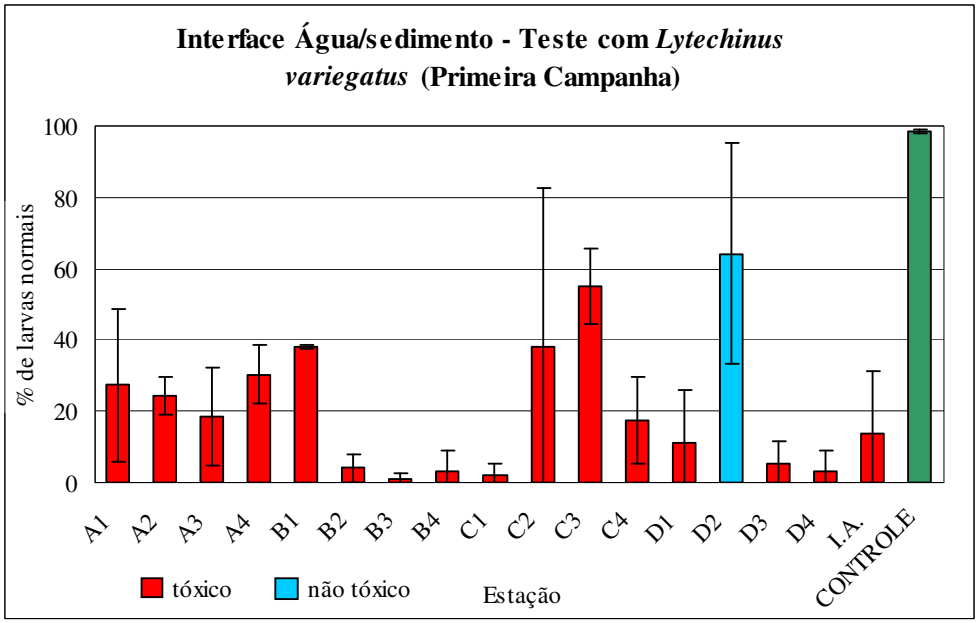

Figura 16 – Porcentagem de larvas normais e desvios padrão, por estação, do teste interface água/sedimento com embriões de *Lytechinus variegatus*.

A análise estatística para a verificação de amostras tóxicas, Student T test por bioequivalência (0,91), mostrou que nesta campanha, a única estação que não apresentou toxicidade para o teste de interface água/sedimento foi a estação D2, ou seja, todas as demais estações apresentaram uma taxa de desenvolvimento embriolarval significativamente diferente do controle.

O teste pode ser validado devido a porcentagem de larvas normais no controle maior que de 80% que é o limite mínimo para validar o teste, segundo a norma ABNT/NBR 15350.

5.1.2.2.1. Análises Estatísticas

Correla1ções

Matriz de correlação (coeficiente de correlação de Pearson) calculado no programa BioEstat 5.0.

Teste de Interface Água/Sedimento e Parâmetros Físico-Químicos

Na Tabela 09 estão apresentadas normalidades e não normalidades dos dados do teste de toxicidade de interface água/sedimento e seus dados físico-químicos.

Tabela 09 - Teste de Normalidade – D'Agostino para os dados do teste de toxicidade de interface água/sedimento e seus dados físico-químicos.

Normalidade - D'Agostino (k amostras)

Resultados	interface a/s	salinidade	NH_4^+	NH_3	pH
p =	ns	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	ns

normal = ns
não normal = p< 0,01

Verificou-se que os dados de salinidade, amônia total (NH_4^+) e amônia não ionizada (NH_3) não foram normais.

Tabela 10 - Correlação de Pearson ($p < 0,05$) entre os testes de toxicidade de interface água/sedimento com os dados físico-químicos.

	salinidade	$NH4^+$	NH_3	pH
interface a/s	0,1318	-0,4758	-0,5198	-0,0730

Após verificar a normalidade, os dados de toxicidade do teste de interface água/sedimento com dados de amônia não ionizada apresentaram uma correlação negativa fraca (-0,5198).

5.1.2.3. Teste de Sensibilidade ao Lote de Larvas de *Lytechinus variegatus*

Em paralelo aos testes com *Lytechinus variegatus*, foi realizado um teste com a substância de referência Dodecil Sulfato de Sódio - DSS para avaliar a sensibilidade das larvas utilizadas. O resultado deste teste encontra-se na Tabela 11.

Tabela 11 - Porcentagem de larvas normais de ouriço-do-mar por réplica, obtidas no teste com substância de referência DSS em mg/L, média e desvio padrão.

	Concentração de DSS (mg/L)					
Réplica	**5,00**	**2,50**	**1,25**	**0,64**	**0,32**	**CONTROLE**
R1	0	0	98	99	99	98
R2	0	2	89	100	100	99
R3	0	12	94	98	98	98
R4	0	0	95	97	99	98
Média	0,00	3,50	94,00	98,50	99,00	98,25
D.Padrão	0,00	5,74	3,74	1,29	0,82	0,50

O número médio de larvas afetadas por concentração foi analisado pelo método Trimmed Spearman Karber e o resultado para a $CE_{50\text{-}24\ horas}$ foi 1,77 (1,74 – 1,80) mg/L de DSS. Com esse resultado o lote de larvas estava dentro da faixa de aceitabilidade, $CE_{50\text{-}24h}$= 2,42 (0,40 – 4,44) mg/L de DSS, de acordo com a carta controle do Laboratório de Ecotoxicologia Marinha do IOUSP.

5.1.3. Teste de Toxicidade com *Tiburonella viscana*

Com as amostras de sedimento integral foi realizado o teste agudo utilizando-se o anfípoda escavador *Tiburonella viscana*. Os parâmetros físico-químicos como pH, salinidade e amônia total (NH_4^+) foram analisados no início e no final do teste e foi calculada a amônia não ionizada (NH_3). Este resultado está apresentado na Tabela 12.

Tabela 12 – Parâmetros físico-químicos iniciais e finais, pH, salinidade, amônia total (NH_4^+) e amônia não-ionizada (NH_3) do teste com sedimento integral e o anfípoda *Tiburonella viscana* da Primeira Campanha.

Estação	Salinidade		NH_4^+		NH_3		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
IA	35	35	1,50	1,00	0,038	0,096	7,93	8,36
A1	35	35	3,00	0,10	0,071	0,006	7,73	8,11
A2	35	35	1,50	0,50	0,036	0,029	7,72	8,13
A3	35	35	0,25	0,10	0,007	0,009	7,80	8,31
A4	35	35	3,00	3,00	0,099	0,238	7,80	8,27
B1	35	35	0,25	0,20	0,009	0,013	7,87	8,19
B2	35	35	0,25	0,20	0,01	0,012	7,93	8,14
B3	35	35	1,50	0,20	0,056	0,013	7,97	8,19
B4	35	35	3,00	0,50	0,106	0,031	7,92	8,15
C1	35	35	0,25	0,10	0,009	0,010	7,90	8,37
C2	35	35	1,50	0,10	0,062	0,008	7,90	8,27
C3	35	35	1,50	0,20	0,062	0,013	7,97	8,18
C4	35	35	1,50	0,20	0,052	0,010	7,89	8,07
D1	35	35	3,00	0,10	0,111	0,010	7,92	8,37
D2	35	35	1,50	0,10	0,063	0,006	7,98	8,14
D3	35	35	0,25	0,10	0,011	0,008	7,99	8,25
D4	35	35	3,00	3,00	0,106	0,415	7,90	8,54
Controle	35	35	0,25	0,20	0,006	0,002	7,70	7,43

A salinidade se manteve constante do início ao final do teste a 35. O pH teve um aumento entre o início e o final do teste em todas as estações. No início sua variação foi de 7,72 a 7,99 e no final variou de 8,07 a 8,54. A temperatura se manteve a 25ºC ± 1 do início ao final do teste.

A concentração de amônia total (NH_4^+) variou entre 0,25 e 3,0 mg/L no inicio do teste, enquanto a leitura final teve a variação de 0,10 a 3,0, havendo assim uma

diminuição entre o início do teste e o final na maior parte das estações, sendo que nas estações A4 e D4 os valores iniciais e finais permaneceram iguais. Já no parâmetro amônia não ionizada, houve um aumento da concentração nas amostras das estações A3, A4, B1, B2, C1, D4 e IA, havendo uma diminuição nas outras estações.

A porcentagem de sobrevivência do anfípoda *Tiburonella viscana*, bem como suas médias, desvios padrão e número total de mortos por amostra de sedimento estão apresentados na Tabela 13 e representados graficamente na Figura 17.

Tabela 13 – Porcentagem de sobrevivência para *Tiburonella viscana*, médias, desvios padrão e número total de mortos por amostra de sedimento.

Amostra	R1	R2	R3	R4	Média	D. Padrão	Nº total de mortos
A1	20	80	90	100	**72,50**	**35,94**	**11**
A2	100	90	100	100	**97,50**	**5,00**	**1**
A3	100	100	90	90	**95,00**	**5,77**	**2**
A4	90	80	100	100	**92,50**	**9,57**	**3**
B1	80	60	90	90	**80,00**	**14,14**	**8**
B2	80	80	100	90	**87,50**	**9,57**	**5**
B3	90	100	90	80	**90,00**	**8,16**	**4**
B4	90	70	80	80	**80,00**	**8,16**	**8**
C1	60	100	100	80	**85,00**	**19,15**	**6**
C2	100	70	90	90	**87,50**	**12,58**	**5**
C3	90	100	70	90	**87,50**	**12,58**	**5**
C4	100	70	50	80	**75,00**	**20,82**	**10**
D1	40	90	80	70	**70,00**	**21,60**	**12**
D2	90	90	70	90	**85,00**	**10,00**	**6**
D3	100	80	80	100	**90,00**	**11,55**	**4**
D4	90	50	90	100	**82,50**	**22,17**	**7**
IA	80	10	90	80	**65,00**	**36,97**	**14**
Controle	90	100	80	90	**90,00**	**8,16**	**4**

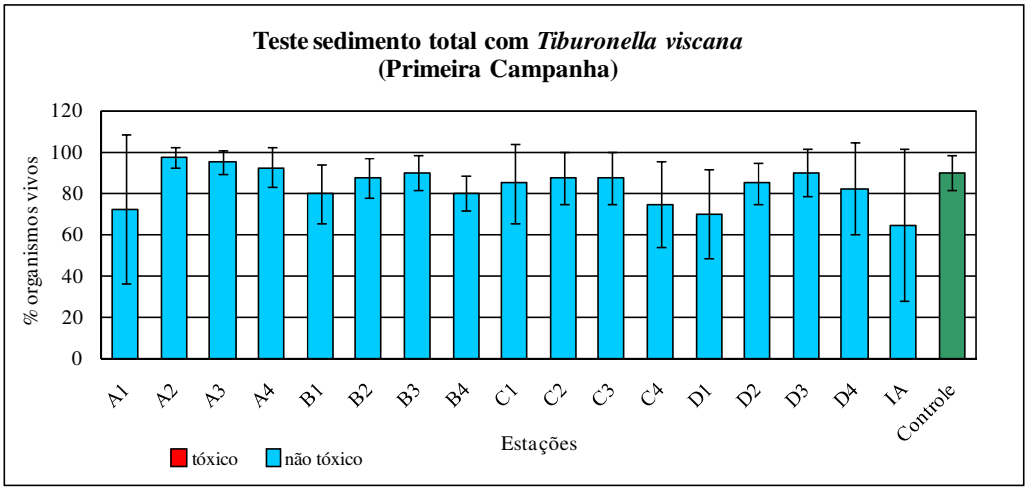

Figura 17 - Porcentagem de sobrevivência e desvio padrão no teste com *Tiburonella viscana* nas amostras de sedimento coletadas por estação na Primeira campanha.

A análise estatística, para a verificação de amostras tóxicas, Student T test por bioequivalência (0,694), mostrou que não houve amostras tóxicas, porém as amostras das estações A1, C4, D1, e I.A. apresentaram sobrevivência abaixo de 80%.

5.1.3.1. Análises Estatísticas

Correlações

Matriz de correlação (coeficiente de correlação de Pearson) calculado no programa BioEstat 5.0.

Teste com Anfípodo e análises granulométricas

Na Tabela 14 estão apresentados os resultados do teste de normalidades D'Agostino para a verificação dos dados de toxicidade e análise granulométrica.

Tabela 14 - Teste de Normalidade – D'Agostino para os dados de toxicidade e análise granulométrica.

Normalidade - D'Agostino (k amostras)

	anfípodo	% areia	% silte	% argila
p =	ns	ns	ns	ns

normal = ns

não normal = p< 0,01

Verificou-se que apenas os dados de toxicidade da água intersticial a 25% e à 50% e porcentagem de grânulos não foram normais.

Tabela 15 - Correlação de Pearson ($p < 0,05$) entre os resultados dos testes de toxicidade com anfípodo e as análises granulométricas.

	% areia	% silte	% argila
Anfípodo	-0,4114	0,2850	0.5828

Após verificar a normalidade dos dados através do teste D'Agostino (k amostras), verificou-se que houve uma fraca correlação entre os resultados dos testes com anfípodo e a porcentagem de argila.

Teste com Anfípodo e Parâmetros Físico-Químicos

Na Tabela 16 estão apresentados os resultados do teste de normalidade – D'Agostino para a verificação dos dados do teste de toxicidade com anfípodo e os dados de parâmetros físico-químicos.

Tabela 16 - Teste de Normalidade – D'Agostino para os dados do teste de toxicidade com anfípodo e os dados de parâmetros físico-químicos.

Normalidade - D'Agostino (k amostras)

	anfípodo	NH_4^+		NH_3		pH	
		Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
p =	ns	ns	$p < 0,01$	ns	$p < 0,01$	ns	ns

normal = ns

não normal = $p < 0,01$

Verificou-se que apenas os dados de amônia total (NH_4^+) final e amônia não ionizada (NH_3) final não foram normais.

Tabela 17 - Correlação de Pearson ($p < 0,05$) entre os testes de toxicidade com anfípodos e os dados físico-químico inicial e final.

	NH_4^+ inicial	NH_4^+ final	NH_3 inicial	NH_3 Final	pH inicial	pH Final
Anfipodo	- 0,3531	0,0708	- 0,2901	0,0095	- 0,2120	- 0,1197

Após verificar a normalidade dos dados através do teste D'Agostino (k amostras), verificou-se que não houve correlação dos dados de toxicidade com o anfípodo com dados dos parâmetros físico-químicos.

5.1.3.2. Teste de Sensibilidade ao Lote de *Tiburonella viscana*

O resultado do teste de sensibilidade do lote de anfípodos à substância de referência dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), realizado em paralelo ao teste com sedimento integral, está apresentado na Tabela 18.

Tabela 18 – Porcentagem de sobrevivência do anfípodo *Tiburonella viscana* por réplica e por concentração da substância de referência dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), bem como suas médias e desvios padrão, respectivamente.

Teste de Referência $K_2Cr_2O_7$

Concentração	R1	R2	R3	Média	D. Padrão	Nº total de mortos
Controle	70	90	70	76,70	11,50	7
3,10 mg/L	60	70	80	70,00	10,00	9
6,20 mg/L	90	60	80	76,70	15,30	7
12,50 mg/L	80	60	70	70,00	10,00	9
25,00 mg/L	20	20	20	20,00	0,00	24
50,00 mg/L	0	0	10	3,30	5,80	29

O número de animais sobreviventes por concentração foi analisado pelo método Trimmed Spearman Karber e a $CL_{50\text{-}48\ horas}$ foi calculada, assim como seus intervalos de confiança, dando como resultado $CL_{50\text{-}48\ horas}$ 20,15 mg/L de $K_2Cr_2O_7$ com intervalos de confiança de 19,15 a 21,06 mg/L de $K_2Cr_2O_7$. Com esse resultado o lote está dentro da faixa de aceitabilidade, $CL_{50\text{-}48\ horas}$ = 13,79 (6,84 – 20,75) mg/L de $K_2Cr_2O_7$, de acordo com a carta controle do Laboratório de Ecotoxicologia Marinha do IOUSP.

5.2. Segunda Campanha

5.2.1. Granulometria

Os resultados da análise granulométrica das amostras de sedimento coletadas na Segunda Campanha estão apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 – Porcentagem de areia, silte, argila e classificação segundo *Shepard*, das amostras de sedimento coletadas na Segunda Campanha.

ANÁLISE GRANULOMÉTRICA				
Estação	**% de areia**	**% de silte**	**% de argila**	**Classificação Shepard**
A1	81,20	12,05	5,17	AREIA
A2	79,93	13,36	6,68	AREIA
A3	47,78	29,05	22,21	AREIA SILTICA
A4	30,93	35,38	33,69	SILTE ARGILO ARENOSO
B1	38,12	51,56	10,31	SILTE ARENOSO
B2	11,04	78,89	10,07	SILTE
B3	8,97	77,52	13,48	SILTE
B4	73,15	18,44	8,38	AREIA SILTICA
C1	33,90	55,93	10,17	SILTE ARENOSO
C2	32,11	54,31	13,58	SILTE ARENOSO
C3	30,98	55,56	13,47	SILTE ARENOSO
C4	30,27	59,52	10,20	SILTE ARENOSO
D1	73,99	11,93	13,64	AREIA ARGILOSA
D2	93,28	5,04	1,68	AREIA
D3	89,69	3,43	6,85	AREIA
D4	54,70	25,17	20,13	AREIA SILTICA
IA	93,00	3,35	3,35	AREIA

As estações classificadas segundo *Shepard* como areia foram as estações A1, A2, D2, D3 e IA; as estações A3, B4 e D4 foram classificadas como areia síltica; as estações B1, C1, C2, C3 e C4 foram classificados como silte arenoso; já a estação A4 foi classificado como silte argilo arenoso; a estação D1 como areia argilosa e as estações B2 e B3 foram classificados como silte. A porcentagem de areia, silte e argila das amostras desta campanha estão representadas na Figura 18.

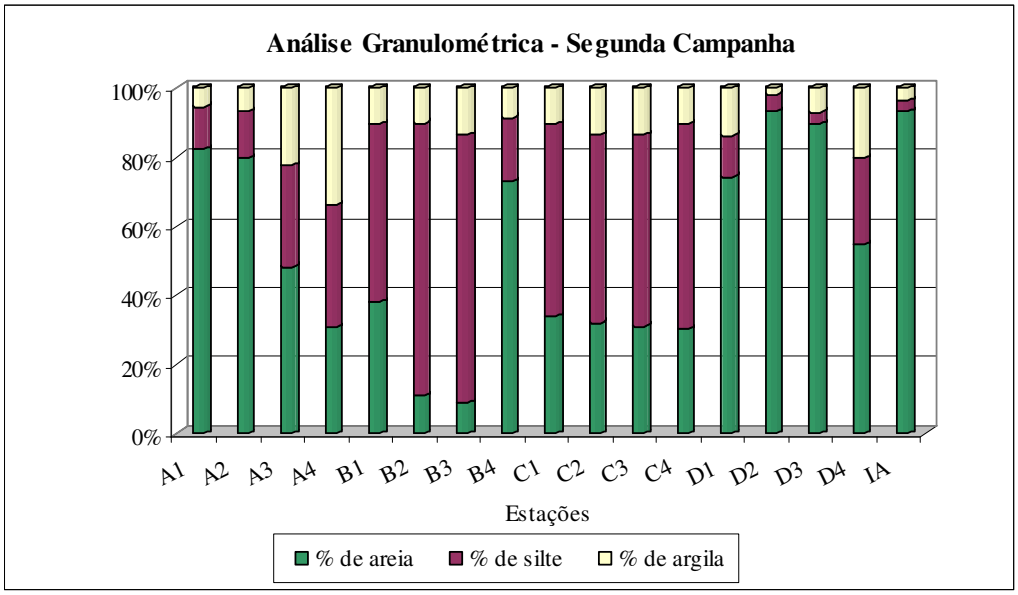

Figura 18 – Porcentagem de areia, silte e argila presentes nas amostras de sedimento coletadas na Segunda Campanha.

5.2.2. Esteróis Fecais

Na Tabela 20 estão apresentados os resultados das análises de esteróis fecais e os indicadores de contaminação por esgoto doméstico, por estação.

Tabela 20 - Resultados da análise de esteróis fecais para cada estação, Segunda Campanha (concentração de esteróides em µg/g).

Composto	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4	C1	C2	C3	C4	D1	D2	D3	D4	I.A.
coprostanol	0,964	<0,010	0,122	0,662	<0,010	<0,010	0,044	0,030	0,320	<0,010	0,020	0,015	<0,010	0,035	<0,010	0,060	0,017
epicoprostanol	0,067	<0,010	<0,010	0,065	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	0,020	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
coprostanona	0,142	<0,018	0,034	0,184	<0,018	<0,018	<0,018	0,019	0,090	<0,018	<0,018	<0,018	<0,018	<0,018	<0,018	0,040	<0,018
colestanona	0,557	<0,028	0,389	2,468	<0,028	0,102	<0,028	<0,028	0,050	0,195	<0,028	<0,028	<0,028	0,044	<0,028	0,070	<0,028
colesterol	1,042	<0,040	<0,040	1,695	<0,040	1,224	<0,040	0,218	0,680	<0,040	0,356	<0,040	<0,040	0,074	0,424	0,580	0,764
colestanol	0,319	<0,016	<0,016	0,646	<0,016	0,025	0,021	<0,016	0,200	<0,016	0,104	<0,016	<0,016	0,036	<0,016	0,270	0,126
campesterol	0,327	<0,016	<0,016	0,787	<0,016	0,181	<0,016	0,044	0,490	<0,016	0,218	0,156	0,020	<0,016	0,145	0,740	0,326
estigmasterol	0,191	<0,023	<0,023	0,456	<0,023	<0,023	<0,023	<0,023	0,310	<0,023	0,094	<0,023	<0,023	<0,023	<0,023	0,410	0,301
β-sitosterol	0,405	<0,026	<0,026	1,115	<0,026	0,056	0,045	<0,026	0,670	<0,026	0,129	0,049	<0,026	0,110	<0,026	0,740	0,466
Esteróides totais	**4,014**	**<0,010**	**0,545**	**8,077**	**<0.010**	**1,588**	**0,110**	**0,311**	**2,830**	**0,195**	**0,923**	**0,221**	**0,020**	**0,299**	**0,569**	**2,910**	**2,001**
% (cop+e-cop)/Ols	26%		-	9%	-	-	-	-	12%	-	-	-	-	-	-	-	-
coprostanol/colesterol	0,930		-	0,390	-	-	-	0,140	0,470	-	0,060	-	-	0,480	-	0,100	0,020
epicoprostanol/coprostanol	0,070		-	0,100	-	-	-	-	0,060	-	-	-	-	-	-	-	-
coprostanol/coprostanol + colestanol	0,750		1,000	0,510	-	-	0,670	1,000	0,620	-	0,160	1,000	-	0,500	-	0,180	0,120
coprostanona/coprostanona+colestanona	0,200		0,080	0,070	-	-	-	-	0,640	-	-	-	-	-	-	0,360	-

obs: valores em negrito referem-se aos esteroides totais.

Os valores de coprostanol acima de 0,10 µg/g indicam que o ambiente está contaminado por esgoto e as estações A1, A3, A4 e C1 apresentaram valores de coprostanol acima desse limite. As estações B3, B4, C3, C4, D2, D4 e I.A. apresentaram valores abaixo desse limite, mas são considerados como áreas com influência de esgoto por apresentarem pequenas concentrações de coprostanol.

A razão entre coprostanona sobre a soma de coprostanona mais colestanona maior que 0,5 indica local moderadamente contaminado, o que acontece nas estações B4 e C1. As estações A1, A3, A4 e D4 apresentam valores menores que 0,5, o que indica a presença de esgoto degradado.

5.2.3. Teste de Toxicidade Embriolarval com *Lytechinus variegatus*

5.2.3.1. Água Intersticial

Nos testes de toxicidade com água intersticial da Segunda Campanha foram medidos no início do teste os seguintes parâmetros físico-químicos: pH, salinidade e amônia total (NH_4^+) e foi calculada a amônia não-ionizada (NH_3). Os resultados estão apresentados na Tabela 21.

Tabela 21 - Parâmetros físico-químicos: pH, salinidade, amônia total (NH_4^+) e amônia não-ionizada (NH_3) analisados no início do teste com água intersticial da Segunda Campanha.

Estação	Salinidade	NH_4^+	NH_3	pH
A1	35	3,0	0,071	7,72
A2	35	1,0	0,024	7,73
A3	35	3,0	0,015	7,03
A4	35	3,0	0,091	7,83
B1	34	1,0	0,026	7,76
B2	35	3,0	0,078	7,76
B3	35	3,0	0,064	7,67
B4	35	1,0-3,0	0,027-0,081	7,78
C1	35	>3,0	>0,095	7,85
C2	35	3,0	0,066	7,69
C3	35	0,5-1,0	0,022-0,043	7,99
C4	35	0,5	0,018	7,90
D1	34	>3,0	0,169	8,11
D2	35	0,5-1,0	0,020-0,040	7,95
D3	35	0,5-1,0	0,013-0,025	7,75
D4	35	>3,0	>0,136	8,01
I.A.	35	0,2	0,007	7,90
CONTROLE	34	0,0	0,000	8,13

= valores acima do limite para a espécie

Houve variações nos parâmetros físico-químicos analisados, sendo que a salinidade variou entre 34 e 35. O pH variou de 7,03 na amostra da estação A3, a 8,11 na amostra da estação D1. A temperatura do teste manteve-se constante, 25 ± 2 ºC, durante todo o teste.

A amônia não ionizada com valores acima de 0,05 está acima do limite de sensibilidade para as larvas de *Lytechinus variegatus*, o que ocorre nas estações A1, A4, B2, B3, B4, C1, C2, D1 e D4.

Os resultados obtidos neste teste estão apresentados na Tabela 22, onde estão presentes os números de larvas normais obtidos em cada réplica, bem como as médias e o desvio padrão para cada amostra testada. Nas Figuras 19, 20 e 21 estes dados estão representados graficamente.

Tabela 22 – Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* obtidas em cada réplica nas concentrações de 25%, 50% e 100% de amostra de água intersticial, com suas respectivas médias e desvios padrão.

#A1	25%	50%	100%
R1	10	8	65
R2	10	15	32
R3	22	6	24
R4	24	34	55
Média	16.50	15.75	44.00
D. Padrão	7.55	12.76	19.20

#A2	25%	50%	100%
R1	50	0	0
R2	37	0	0
R3	64	13	0
R4	79	35	0
Média	57.50	12.00	0.00
D. Padrão	18.08	16.51	0.00

#A3	25%	50%	100%
R1	92	3	0
R2	90	0	0
R3	77	25	0
R4	83	33	0
Média	85.50	15.25	0.00
D. Padrão	6.86	16.26	0.00

#A4	25%	50%	100%
R1	0	0	0
R2	0	0	0
R3	0	0	0
R4	0	0	0
Média	0.00	0.00	0.00
D. Padrão	0.00	0.00	0.00

#B1	25%	50%	100%
R1	53	0	0
R2	69	0	0
R3	54	0	0
R4	63	0	0
Média	59.75	0.00	0.00
D. Padrão	7.63	0.00	0.00

#B2	25%	50%	100%
R1	87	83	77
R2	92	78	80
R3	85	88	52
R4	82	86	55
Média	86.50	83.75	66.00
D. Padrão	4.20	4.35	14.54

#B3	25%	50%	100%
R1	11	0	0
R2	9	0	0
R3	0	0	0
R4	15	0	0
Média	8.75	0.00	0.00
D. Padrão	6.34	0.00	0.00

#B4	25%	50%	100%
R1	0	0	0
R2	25	1	0
R3	38	0	0
R4	3	3	0
Média	16.50	1.00	0.00
D. Padrão	18.16	1.41	0.00

#C1	25%	50%	100%
R1	67	0	0
R2	67	7	0
R3	82	0	0
R4	64	0	0
Média	70.00	1.75	0.00
D. Padrão	8.12	3.50	0.00

#C2	25%	50%	100%
R1	90	25	31
R2	91	10	9
R3	86	1	11
R4	85	4	23
Média	88.00	10.00	18.50
D. Padrão	2.94	10.68	10.38

Continuação Tabela 22 – Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* obtidas em cada réplica nas concentrações de 25%, 50% e 100% de amostra de água intersticial, com suas respectivas médias e desvios padrão.

#C3	25%	50%	100%
R1	17	4	73
R2	18	7	79
R3	10	3	78
R4	0	5	68
Média	11.25	4.75	74.50
D. Padrão	8.30	1.71	5.07

#C4	25%	50%	100%
R1	78	79	31
R2	79	88	40
R3	82	75	34
R4	89	87	40
Média	82.00	82.25	36.25
D. Padrão	4.97	6.29	4.50

#D1	25%	50%	100%
R1	0	0	0
R2	0	0	0
R3	0	0	0
R4	0	0	0
Média	0.00	0.00	0.00
D. Padrão	0.00	0.00	0.00

#D2	25%	50%	100%
R1	81	7	1
R2	80	44	0
R3	81	53	2
R4	81	4	8
Média	80.75	27.00	2.75
D. Padrão	0.50	25.13	3.59

#D3	25%	50%	100%
R1	77	27	0
R2	79	24	0
R3	76	7	0
R4	84	16	0
Média	79.00	18.50	0.00
D. Padrão	3.56	8.96	0.00

#D4	25%	50%	100%
R1	0	0	0
R2	0	0	0
R3	0	0	0
R4	0	0	0
Média	0.00	0.00	0.00
D. Padrão	0.00	0.00	0.00

#I.A.	25%	50%	100%
R1	56	39	0
R2	56	66	0
R3	54	54	0
R4	65	36	0
Média	57.75	48.75	0.00
D. Padrão	4.92	13.94	0.00

CONTROLE	H_2O Mar
R1	97
R2	98
R3	97
R4	89
Média	95.25
D. Padrão	4.19

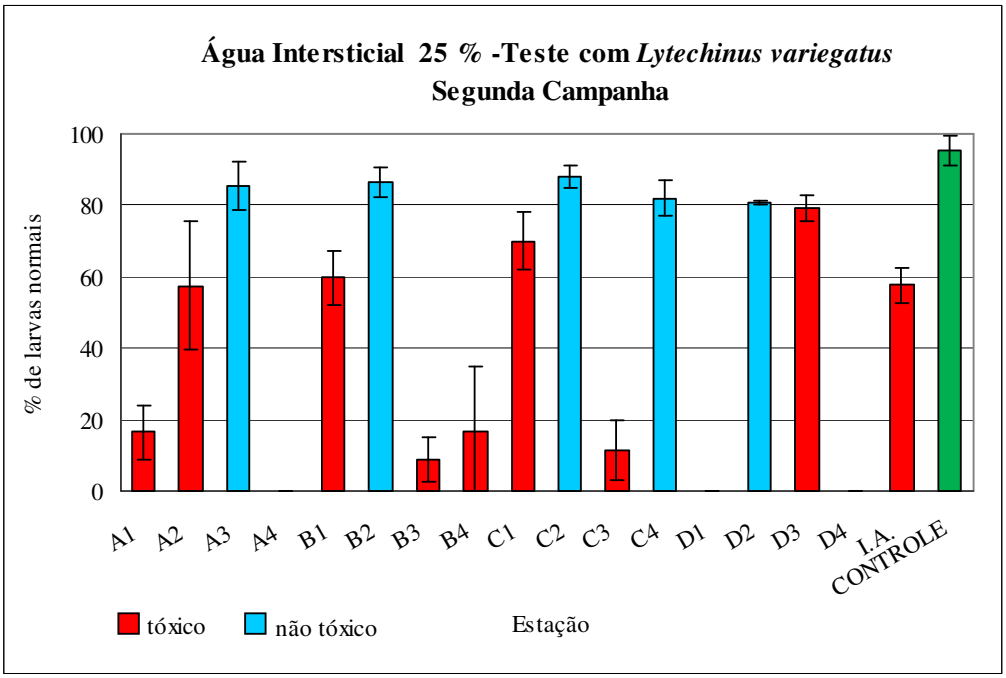

Figura 19 – Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* e seus desvios padrão do teste com água intersticial nas concentrações de 25%, realizada na Segunda Campanha.

A análise estatística para a verificação de amostras tóxicas foi realizada com o Student T test, com bioequivalência (0,91) e mostrou que nesta campanha as estações A1, A2, A4, B1, B3, B4, C1, C3, D1, D3, D4, e I.A. apresentaram toxicidade para as larvas de *Lytechinus variegatus* na concentração de 25% da água intersticial, ou seja, apresentaram uma taxa se desenvolvimento embrionário significativamente diferente do controle.

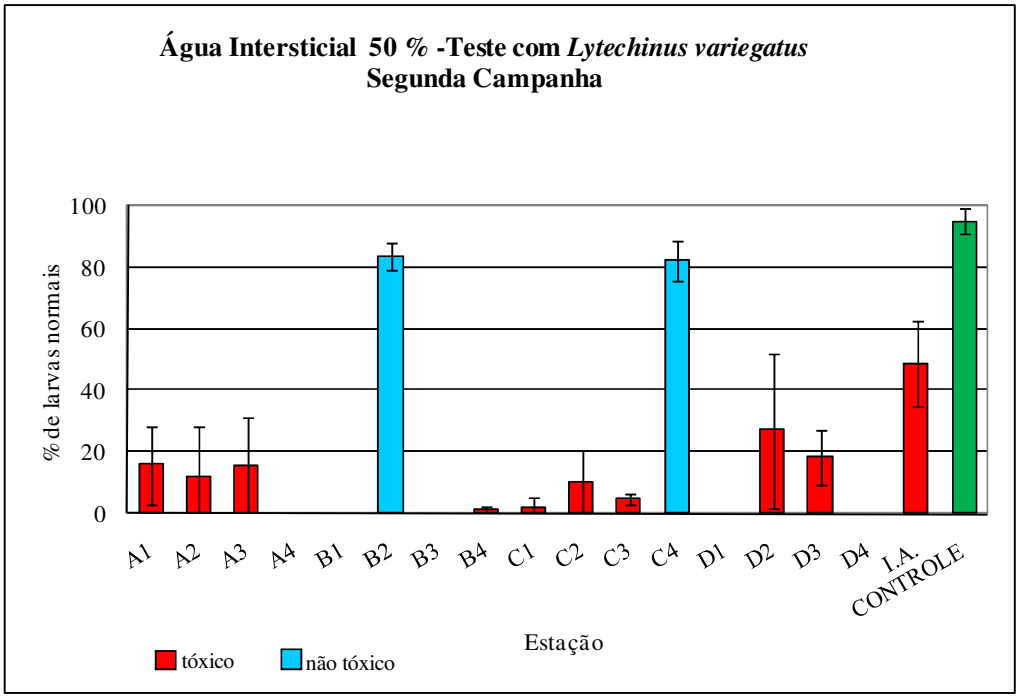

Figura 20 – Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* e seus desvios padrão do teste com água intersticial nas concentrações de 50%, obtidas na Segunda Campanha.

A análise estatística para a verificação de amostras tóxicas foi realizada com o Student T test, com bioequivalência (0,91) e mostrou que nesta campanha as estações A1, A2, A3, A4, B1, B3, B4, C1, C2, C3, D1, D2, D3, D4 e I.A. apresentaram toxicidade para as larvas de *Lytechinus variegatus* na concentração de 50% da água intersticial, ou seja, apresentaram uma taxa se desenvolvimento embrionário significativamente diferente do controle.

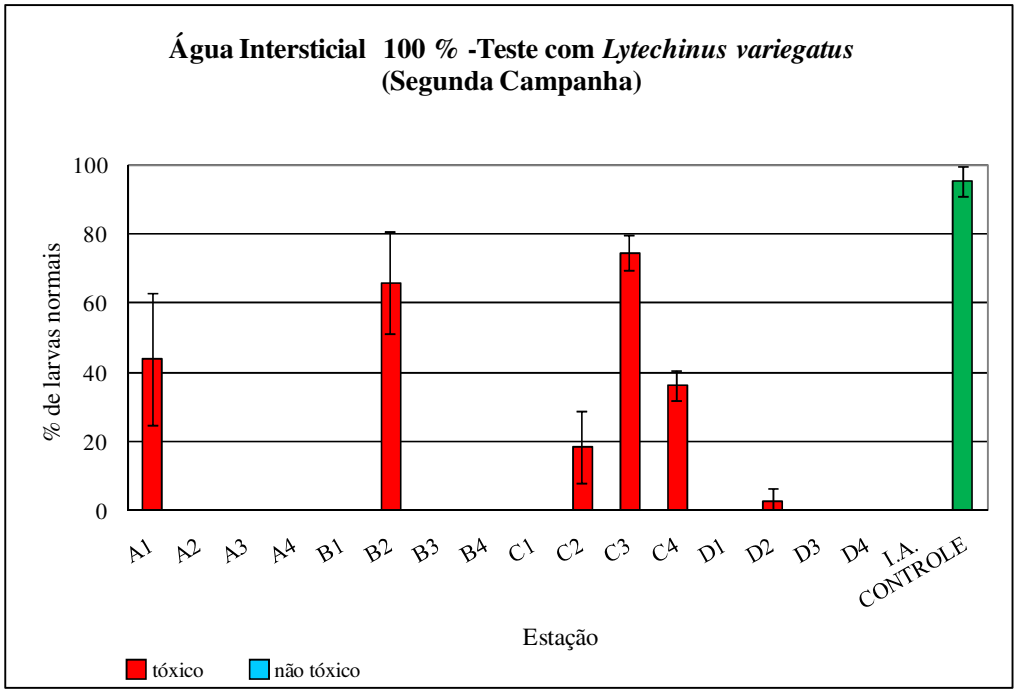

Figura 21 – Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* e seus desvios padrão do teste com água intersticial nas concentrações de 100%, obtidas na Segunda Campanha.

A análise estatística para a verificação de amostras tóxicas foi realizada com o Student T test, com bioequivalência (0,91) e mostrou que nesta campanha todas as estações apresentaram toxicidade à concentração de 100% da água intersticial, ou seja, apresentaram uma taxa se desenvolvimento embrionário significativamente diferente do controle.

O teste pode ser validado devido a porcentagem de larvas normais no controle estar acima de 80%, que é o limite mínimo para validar o teste segundo a norma ABNT NBR 15350.

5.2.3.1.1. Análises Estatísticas

Correlações

Matriz de correlação (coeficiente de correlação de Pearson) calculado no programa BioEstat 5.0.

Teste de Água Intersticial e Parâmetros Físico-Químicos

Na Tabela 23 estão apresentados os resultados do teste de normalidade D'Agostino dos dados do teste de toxicidade com água intersticial (100%) e os dados dos parâmetros físico-químicos, obtidos no início do teste.

Tabela 23 - Teste de Normalidade – D'Agostino para os resultados do teste de toxicidade com água intersticial na concentração de 100% e parâmetros físico-químicos.

Normalidade - D'Agostino (k amostras)

	100%	Salinidade	NH_4^+	NH_3	pH
p =	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	ns	p < 0,01

normal = ns
não normal = p< 0,01

Verificou-se que apenas os dados de toxicidade da água intersticial a 100% e a amônia não ionizada foram normais.

Tabela 24 - Correlação de Pearson (p < 0,05) para o teste de toxicidade com água intersticial a 100% e parâmetros físico-químicos.

	100%	**Salinidade**	**NH_4^+**	**NH_3**	**pH**
Salinidade	0,0000	---	---	---	---
NH_4^+	-0,0513	0,0000	---	---	---
NH_3	-0,0792	-0,1809	0,7298	---	---
pH	0,1305	-0,1593	-0,1825	0,4738	---

Após verificar a normalidade dos dados, constatou-se que não houve correlação entre os resultados do teste de toxicidade com a água intersticial a 100% e os dados dos parâmetros físico-químicos, principalmente com a salinidade (zero).

5.2.3.2. Interface Água/Sedimento

Os parâmetros físico-químicos pH, salinidade e amônia total (NH_4^+) foram medidos no início do teste e foi calculada a amônia não-ionizada (NH_3). Os resultados estão apresentados na Tabela 25.

Tabela 25 - Parâmetros físico-químicos: pH, salinidade, amônia total (NH_4^+) e amônia não-ionizada (NH_3) analisados no início do teste de interface água/sedimento da Segunda Campanha.

Amostra	Salinidade	NH_4^+	NH_3	pH
A1	35	1,0-3,0	0,032-0,097	7,86
A2	35	>3,0	>0,055	7,61
A3	35	1,0-3,0	0,017-0,050	7,56
A4	35	0,1	0,002	7,61
B1	35	0,5-1,0	0,007-0,0013	7,46
B2	35	>3,0	>0,034	7,40
B3	35	0,5	0,010	7,66
B4	35	1,0-3,0	0,020-0,059	7,64
C1	35	>3,0	>0,064	7,67
C2	35	>3,0	>0,050	7,56
C3	35	0,2	0,003	7,50
C4	36	0,2	0,003	7,54
D1	35	>3,0	>0,059	7,64
D2	36	0,1	0,002	7,67
D3	36	1,0-3,0	0,017-0,052	7,58
D4	35	>3,0	>0,078	7,76
I.A.	35	0,1	0,002	7,66
CONTROLE	34	0,0	0,000	8,13

= valores acima do limite para a espécie

A porcentagem de larvas normais obtidas em cada réplica, bem como as médias e os desvios padrão para cada estação testada estão na Tabela 26 e representadas graficamente na Figura 22.

Houve variações nos parâmetros físico-químicos analisados, sendo que a salinidade variou entre 35 e 36. O pH variou de 7,40 na amostra da estação B2 a 7,86 na amostra da estação A1. A temperatura do teste manteve-se constante, 25ºC ± 2, durante todo o teste.

Tabela 26 – Porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* por réplica, média e desvio padrão, do teste de interface água/sedimento da Segunda Campanha.

Réplicas	#A1	#A2	#A3	#A4	#B1	#B2	#B3	#B4
R1	0	0	7	0	51	6	0	0
R2	0	0	0	0	0	0	0	0
R3	0	0	0	0	55	33	42	0
R4	0	0	4	0	28	44	0	0
Média	0,00	0,00	2,75	0,00	33,50	20,75	10,50	0,00
D. padrão	0,00	0,00	3,40	0,00	25,30	21,12	21,00	0,00

Réplicas	#C1	#C2	#C3	#C4	#D1	#D2	#D3	#D4
R1	0	19	10	0	0	0	0	0
R2	0	0	26	0	3	0	0	41
R3	0	0	10	0	0	2	0	0
R4	0	0	9	0	11	0	0	0
Média	0,00	4,75	13,75	0,00	3,50	0,50	0,00	10,25
D. padrão	0,00	9,50	8,18	0,00	5,20	1,00	0,00	20,50

Réplicas	#I.A.	CONTROLE
R1	0	97
R2	0	98
R3	0	97
R4	0	89
Média	0,00	95,25
D. padrão	0,00	4,19

A maior média de larvas normais foi encontrada na amostra B1 (33,50). E as amostras com menores médias foram A1, A2, A4, B4, C1, C4, D3 e IA (0,00).

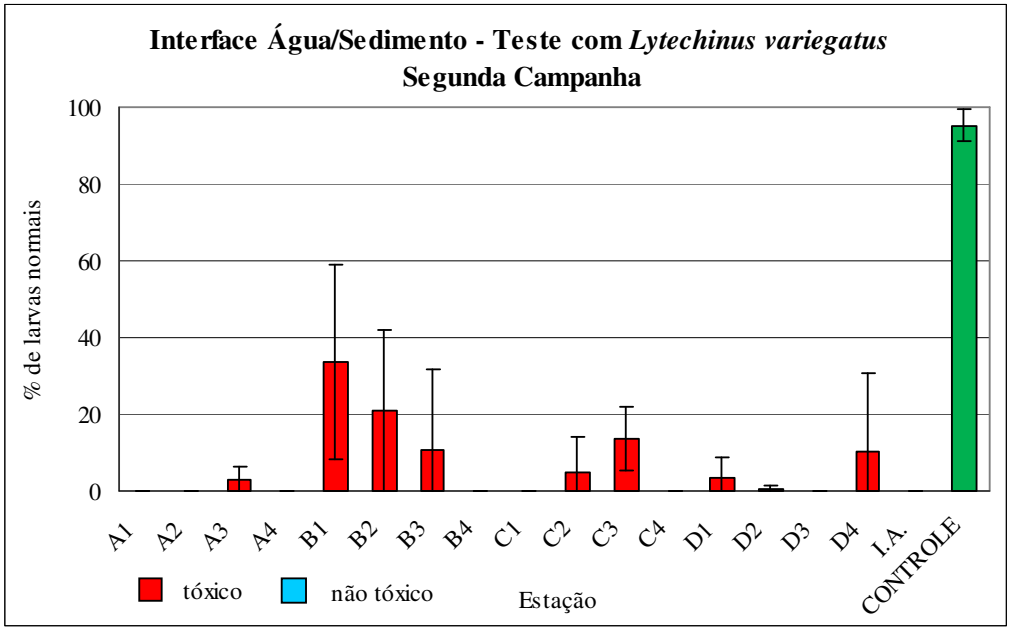

Figura 22 – Porcentagem de larvas normais e desvios padrão do teste interface água/sedimento com embriões de *Lytechinus variegatus*.

A análise estatística para a verificação de amostras tóxicas foi realizada com o Student T test, com bioequivalência (0,91) e mostrou que nesta campanha todas as estações apresentaram toxicidade para o teste de interface água/sedimento, ou seja, todas as estações apresentaram uma taxa de desenvolvimento significativamente diferente do controle.

A porcentagem de larvas normais acima de 80% no controle é o limite mínimo para validar o teste segundo a norma ABNT/NBR 15350 e este teste apresentou a porcentagem média no controle de 95,25 de larvas normais, sendo assim válido.

5.2.3.2.1. Análises Estatísticas

Correlações

Matriz de correlação (coeficiente de correlação de Pearson) calculado no programa BioEstat 5.0.

Teste de Interface Água/Sedimento e Parâmetros Físico-Químicos

Na Tabela 27 estão apresentadas normalidades e não normalidades dos dados do teste de toxicidade de interface água/sedimento e seus dados físico-químicos.

Tabela 27 - Teste de Normalidade – D'Agostino para os resultados do teste de toxicidade de interface água/sedimento e seus parâmetros físico-químicos.

Normalidade - D'Agostino (k amostras)

	interface a/s	Salinidade	NH_4^+	NH_3	pH
p =	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	ns	ns

normal = ns
não normal = p< 0,01

Verificou-se que os dados de amônia não ionizada (NH_3) e pH foram os únicos normais.

Tabela 28 - Correlação de Pearson ($p < 0,05$) entre o teste de toxicidade de interface água/sedimento e parâmetros físico-químicos.

	interface a/s
salinidade	-0,2742
NH_4^+	-0,1411
NH_3	-0,3087
pH	-0,5457

Após verificar a normalidade dos dados (Tabela 33), concluiu-se que houve correlação negativa dos dados de toxicidade do teste de interface água/sedimento com dados de pH.

5.2.3.3. Teste de Sensibilidade do Lote de Larvas de *Lytechinus variegatus*

Em paralelo aos testes de interface água/sedimento e água intersticial, um teste com a substância de referência Dodecil Sulfato de Sódio - DSS foi realizado para avaliar a sensibilidade dos embriões utilizados. O resultado deste teste encontra-se na Tabela 29.

Tabela 29 - Porcentagem de larvas normais de ouriço-do-mar por réplica com média e desvio padrão, obtidas no teste com a substância de referência DSS.

	Concentração de DSS (mg/L)					
Réplica	5,00	2,50	1,25	0,64	0,32	CONTROLE
R1	0	95	99	96	0	97
R2	0	98	99	99	98	98
R3	0	85	100	98	98	97
R4	0	94	98	99	10	89
Média	0,00	93,00	99,00	98,00	51,50	95,25
D.Padrão	0,00	5,60	0,82	1,41	53,85	4,19

O número médio de larvas afetados por concentração foi analisado pelo método Trimmed Spearman-Karber e o resultado para a $CE_{50\text{-}24\ horas}$ foi 3,51 mg/L de DSS. Nesse teste o intervalo de confiança não pode ser calculado, com esse resultado o lote de larvas está dentro da faixa de aceitabilidade $CE_{50\text{-}24\ horas}$ = 2,42 (0,40 - 4,44) de acordo com a carta controle do Laboratório de Ecotoxicologia Marinha do IOUSP.

5.2.4. Teste de Toxicidade com *Tiburonella viscana*

Com as amostras de sedimento integral foi realizado o teste agudo, utilizando o anfípodo escavador *Tiburonella viscana*. Os parâmetros físico-químicos pH, salinidade e amônia total (NH_4^+) iniciais e finais foram analisados no início e no final do teste e foi calculada a amônia não ionizada (NH_3). Os resultados estão presentes na Tabela 30.

Tabela 30 - Parâmetros físico-químicos iniciais e finais: pH, salinidade, amônia total (NH_4^+) e amônia não-ionizada (NH_3) do teste com sedimento integral e o anfípoda *Tiburonella viscana*.

Amostra	Salinidade		NH_4^+		NH_3		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
A1	35	35	3,00	> 3,00	0,070	>0,151	7,71	8,06
A2	36	35	> 3,00	> 3,00	>0,050	>0,228	7,56	8,25
A3	35	35	3,00	0,05	0,070	0,050	7,74	8,23
A4	36	35	3,00	0,20	0,062	0,019	7,66	8,35
B1	36	36	3,00	0,10	0,106	0,007	7,90	8,20
B2	36	36	> 3,00	0,05-0,10	>0,109	0,004-0,007	7,91	8,22
B3	36	36	0,50	0,10	0,019	0,008	7,93	8,25
B4	37	36	3,00	0,20	0,104	0,014	7,89	8,22
C1	37	36	1,00	0,05-0,10	0,038	0,004-0,007	7,93	8,23
C2	36	36	> 3,00	0,05-0,10	>0,106	0,004-0,008	7,90	8,25
C3	36	36	1,00	0,05	0,039	0,003	7,94	8,19
C4	36	36	0,10	0,10	0,041	0,007	7,91	8,22
D1	36	36	> 3,00	0,05	>0,095	0,052	7,85	8,40
D2	35	36	3,00	1,00-3,00	0,109	0,102-0,306	7,91	8,39
D3	36	36	> 3,00	> 3,00	>0,106	>0,270	7,90	8,33
D4	36	37	> 3,00	0,05-0,10	>0,087	0,005-0,009	7,81	8,35
IA	36	36	> 3,00	1,00-3,00	>0,087	0,078-0,233	7,28	8,26
Controle	36	35	0,50	1,00-3,00	0,011	0,021-0,064	7,68	7,67

A salinidade das amostras A2, A4, B4, C1, D2 e D4 apresentaram variações de 35 a 37 entre o início e no final do teste. O pH teve um aumento entre o início e o final do teste em todas as amostras, com a variação inicial de 7,28 a 7,94 e final de 8,06 a 8,40. A temperatura se manteve constante do início ao final do teste em 25ºC ± 2.

A concentração de amônia total (NH_4^+) variou entre 0,10 e >3,0 mg/L no início do teste enquanto que a leitura final teve a variação de 0,05 a >3,0, tendo assim uma diminuição entre o início do teste e o final. Já no parâmetro amônia não ionizada houve

uma diminuição na concentração inicial para a final nas amostras A3, A4, B1, B2, B3, B4, C1, C2, C3, C4, D1 e D4.

A porcentagem de sobrevivência do anfípodo *Tiburonella viscana*, bem como suas médias, desvios padrão e número total de mortos por amostra de sedimento estão apresentados na Tabela 31 e representados graficamente na Figura 23.

Tabela 31 – Porcentagem de sobrevivência para *Tiburonella viscana*, médias, desvios padrão e número total de mortos por estação de coleta de sedimento.

Estação	R1	R2	R3	Média	D. Padrão	Nº total de mortos
A1	0	70	70	**46,67**	**40,41**	**16**
A2	10	10	0	**6,67**	**5,77**	**28**
A3	60	70	60	**63,33**	**5,77**	**11**
A4	20	70	50	**46,67**	**25,17**	**16**
B1	30	80	40	**50,00**	**26,46**	**15**
B2	70	100	90	**86,67**	**15,28**	**4**
B3	90	80	70	**80,00**	**10,00**	**6**
B4	80	70	40	**63,33**	**20,82**	**11**
C1	100	50	50	**66,67**	**28,87**	**10**
C2	70	90	60	**73,33**	**15,28**	**8**
C3	50	20	50	**40,00**	**17,32**	**18**
C4	80	60	50	**63,33**	**15,28**	**11**
D1	0	50	40	**30,00**	**26,46**	**21**
D2	0	80	70	**50,00**	**43,59**	**15**
D3	50	20	20	**30,00**	**17,32**	**21**
D4	40	40	70	**50,00**	**17,32**	**15**
IA	20	30	40	**30,00**	**10,00**	**21**
Controle	90	100	70	**86,67**	**15,28**	**4**

A maior média de anfípodos sobreviventes foi encontrada na amostra da estação B2 (86,67). A amostra que apresentou menor média foi a da estação A2 (6,67).

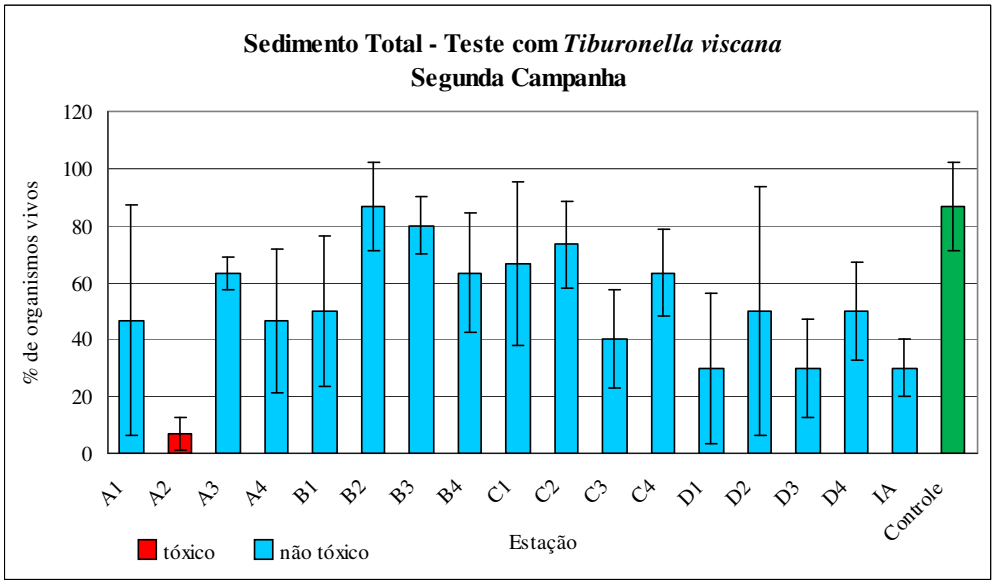

Figura 23 - Porcentagem de sobrevivência e desvio padrão no teste com *Tiburonella viscana* para as amostras de sedimento, coletadas por estação, na Segunda Campanha.

A análise estatística para a verificação de amostras tóxicas foi realizada com o Student T test, com bioequivalência (0,694) e mostrou que apenas a estação A2 apresentou toxicidade, ou seja, apresentou uma taxa de mortalidade significativamente diferente do controle. Porém somente as amostras das estações B2 e B3 apresentaram média acima ou igual a 80% de sobrevivência.

5.2.4.1. Análises Estatísticas

Correlações

Matriz de correlação (coeficiente de correlação de Pearson) calculado no programa BioEstat 5.0.

Testes de toxicidade com anfípodo, granulometria e indicadores de contaminação por esgoto urbano.

Na Tabela 32 estão apresentados os resultados do teste de normalidade D'Agostino para a verificação dos dados de toxicidade, análise granulométrica e os indicadores de contaminação por esgoto urbano.

Tabela 32 - Teste de Normalidade – D'Agostino para os resultados dos testes de toxicidade, dados de granulometria e análise de esteróis fecais.

Normalidade - D'Agostino (k amostras)

	Anfípodo	% areia	% silte	% argila	coprostanol	Esteróides totais	coprostano/ coprostanol+ colestanol	coprostanona/ coprostanona+ colestanona
p=	ns	ns	ns	ns	p<0,01	p<0,01	ns	p<0,01

normal = ns
não normal = p<0,01

Verificou-se que apenas os dados de toxicidade com anfípodo, da água intersticial a 25%, porcentagem de areia, porcentagem de silte, porcentagem de argila e a razão coprostanol/coprostanol + colestanol foram normais.

Tabela 33 - Correlação de Pearson ($p < 0,05$) entre os testes de toxicidade e dados de granulometria e análise de esteróides fecais.

	Anfípodo	% areia	% silte	% argila
% areia	- 0,6139	-	-	-
% silte	0,6776	-	-	-
% argila	0,1259	-	-	-
coprostanol	0,0014	0,1044	- 0,1761	0,1874
Esteroides totais	- 0,0397	- 0,0814	- 0,0767	0,5399
coprostano/ coprostanol+ colestanol	0,3992	0,0363	- 0,0376	0,0257
coprostanona/coprostanona+ colestanona	0,0173	- 0,3624	0,2708	0,3200

Após verificar a normalidade dos dados, verificou-se que houve correlação negativa somente entre o anfípodo e porcentagem de areia e correlação positiva com anfípodo e porcentagem silte e com porcentagem de argila e esteróis totais.

Teste com Anfípodo e parâmetros físico-químicos

Na Tabela 34 estão apresentadas normalidades e não normalidades dos dados do teste de toxicidade com anfípodo e seus dados físico-químicos.

Tabela 34 - Teste de Normalidade – D'Agostino para os resultados do teste de toxicidade com anfípodo e parâmetros físico-químicos, no início e no final do teste.

Normalidade - D'Agostino (k amostras)

	anfípodo	Salinidade		NH_4^+		NH_3		pH	
		Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
p =	ns	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	ns	p < 0,01	p < 0,01	ns

normal = ns
não normal = p< 0,01

Nos dados do teste de toxicidade com anfípodo, os parâmetros físico-químicos amônia não ionizada (NH_3) inicial e pH final foram estatisticamente normais.

Tabela 35 - Correlação de Pearson (p < 0,05) entre o teste de toxicidade com anfípodo e os parâmetros físico-químicos, no inicio e final do teste.

	Salinidade		**NH_4^+**		**NH_3**		**pH**	
	Inicial	**Final**	**Inicial**	**Final**	**Inicial**	**Final**	**Inicial**	**Final**
Anfípodo	0,1131	0,1800	-0,2070	-0,5721	0,0037	-0,5682	0,4881	-0,1625

Após verificar a normalidade dos dados, verificou-se que houve correlação negativa entre os dados de toxicidade com o anfípodo e valores dos parâmetros físico-químicos amônia total final.

5.2.4.2. Teste de Sensibilidade do lote de *Tiburonella viscana*

O resultado do teste de sensibilidade do anfípodo à substância de referência dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), realizado em paralelo ao teste com sedimento integral, está apresentado na Tabela 36.

Tabela 36 - Porcentagem de sobrevivência do anfípodo *Tiburonella viscana* por réplica e por concentração no teste de sensibilidade com a substância de referência dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), bem como suas médias e desvios padrão respectivamente.

Teste de Referência $K_2Cr_2O_7$

Concentração mg/L	R1	R2	R3	Média	D. Padrão	Nº total de mortos
Controle	60	80	90	76,67	15,28	7
3,13	60	80	80	73,33	11,55	8
6,25	90	80	90	86,67	5,77	4
12,50	70	30	80	60,00	26,46	12
25,00	20	50	30	33,33	15,28	20
50,00	0	0	0	0,00	0,00	30

O número médio de animais mortos por concentração foi analisado pelo método Trimmed Spearman Karber e a $CL_{50\text{-}48\ horas}$ foi calculada, assim como seus intervalos de confiança dando como resultado $CL_{50\text{-}48\ horas}$ 20,49 (17,19-24,43) mg/L de $K_2Cr_2O_7$. De acordo com a carta controle do Laboratório de Ecotoxicologia Marinha do IOUSP, a $CL_{50\text{-}48\ horas}$ = 13,79 (6,84-20,75) mg/L de $K_2Cr_2O_7$, portanto o lote de organismos utilizados no teste de sedimento integral está dentro da faixa de aceitabilidade para a espécie.

5.3. Comparação dos Resultados dos Testes de Toxicidade entre as Duas Campanhas

A seguir a comparação dos resultados dos testes de toxicidade da campanha antes do aumento da população flutuante (Primeira Campanha) com a campanha após o aumento da população flutuante (Segunda Campanha).

5.3.1. Teste de Toxicidade Embriolarval com *Lytechinus variegatus*

5.3.1.1. Água intersticial - Concentração de 25%

A Figura 24 mostra a comparação dos resultados obtidos nas duas campanhas (Primeira e Segunda Campanhas) nas concentrações de 25% da água intersticial.

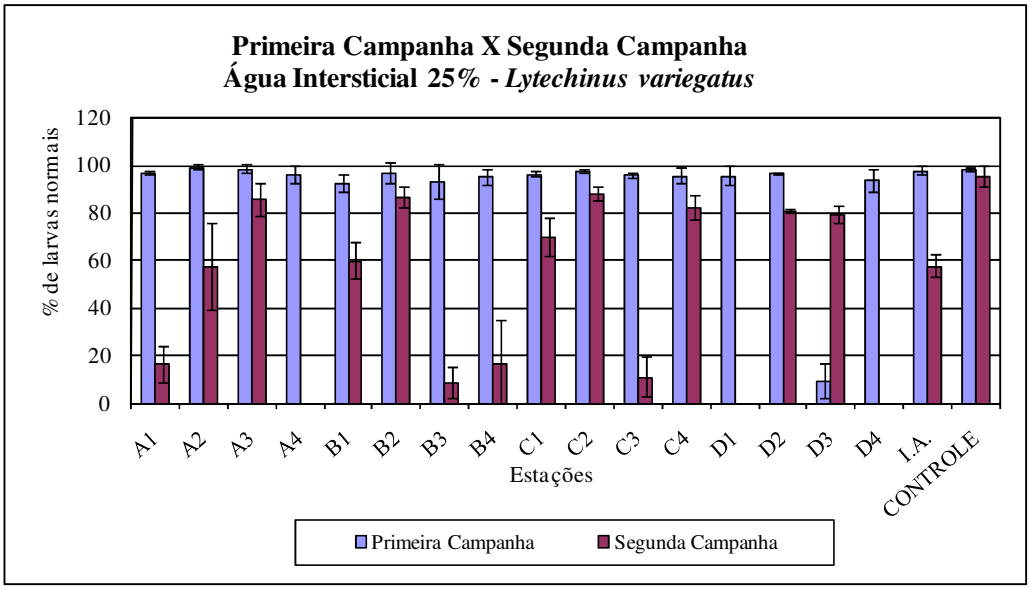

Figura 24 - Comparação entre a porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* do teste com água intersticial, na concentração de 25%, da Primeira e Segunda Campanha.

Na concentração de 25% obteve-se uma diminuição da porcentagem de larvas normais da Primeira Campanha para a Segunda Campanha em todas as estações, exceto na estação D3. Na Primeira Campanha somente essa estação apresentou toxicidade, enquanto na Segunda Campanha as estações A1, A2, A4, B1, B3, B4, C1, C3, D1, D4 e

I.A. apresentaram toxicidade. As estações A3, B2, C4 e D2 não apresentaram toxicidade em nenhuma das duas campanhas.

Os dados de toxicidade foram analisados no programa Bioestat 5.0 através de duas amostras independentes e as amostras que apresentaram homocedasticidade foram analisadas através do Teste T com aceitabilidade de p(t) < 0,05, enquanto as amostras que apresentaram heterocedasticidade foram analisadas através do Teste Mann-Whitney com aceitabilidade de p-valor <0,05.

A Tabela 37 mostra os resultados da avaliação de diferenças entre as amostras independentes, amostras da Primeira e Segunda Campanha.

Tabela 37 - Resultado das análises estatísticas do teste de toxicidade da água intersticial a 25%, separados por teste estatístico.

Teste Mann-Whitney	**Estação A1**		**Estação A2**		**Estação A3**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	0,0209		0,0209		0,0209	
Teste Mann-Whitney	**Estação A4**		**Estação B4**		**Estação C1**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	0,0209		0,0209		0,0209	
Teste Mann-Whitney	**Estação C3**		**Estação D1**		**Estação D4**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	0,0209		0,0209		0,0209	

Teste T	**Estação B1**		**Estação B2**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	0,0002		0,0125	
Teste T	**Estação B3**		**Estação C2**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	< 0,0001		0,0009	
Teste T	**Estação C4**		**Estação D2**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	0,0037		< 0,0001	
Teste T	**Estação D3**		**Estação I.A.**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	< 0,0001		< 0,001	

p-valor (bilateral) < 0,05 = diferença significativa; p (bilateral) < 0,05 = diferença significativa

A Tabela 37 mostra que todas as amostras apresentaram diferença significativa entre as duas campanhas. A amostra D3 foi a única da Primeira Campanha que apresentou menor porcentagem de larvas normais em comparação com a Segunda Campanha, sendo a única considerada tóxica para a concentração de 25% na Primeira Campanha.

5.3.1.2. Água intersticial - Concentração de 50%

A Figura 25 mostra a comparação dos resultados obtidos nas duas campanhas (Primeira e Segunda Campanha) nas concentrações de 50% da água intersticial.

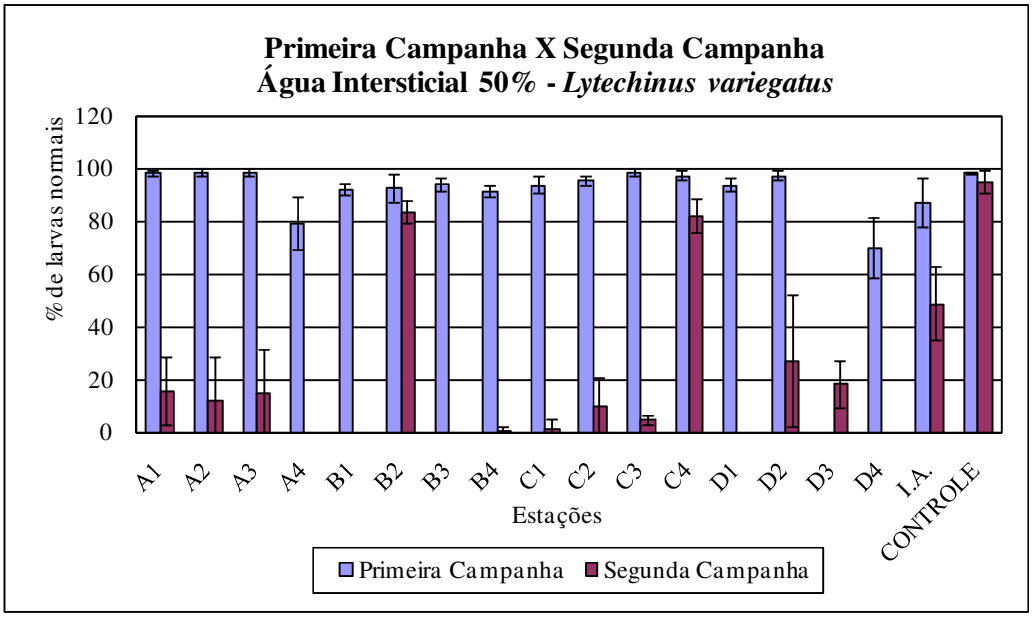

Figura 25. Comparação entre a porcentagem de larvas normais do teste com água intersticial, na concentração de 50%, da Primeira e Segunda Campanha.

Na concentração de 50% obteve-se uma diminuição da porcentagem de larvas normais da Primeira Campanha para a Segunda Campanha em todas as estações, exceto na estação D3. As estações A1, A2, A3, B1, B3, B4, C1, C2, C3, D1, D2 e I.A. apresentaram toxicidade somente na Segunda Campanha. As estações A4, D3 e D4 apresentaram toxicidade nas duas campanhas, enquanto as estações B2 e C4 não apresentaram toxicidade em nenhuma das campanhas.

Os dados foram analisados no programa Bioestat 5.0 através de duas amostras independentes, e as amostras que apresentaram homocedasticidade foram analisadas através do Teste T, com aceitabilidade de $p(t) < 0,05$, enquanto as amostras que apresentaram heterocedasticidade foram analisadas através do Teste Mann-Whitney, com aceitabilidade de $p < 0,05$.

A Tabela 38 mostra os resultados da avaliação de diferenças entre as amostras independentes, amostras da Primeira e Segunda Campanha.

Tabela 38 - Resultado das análises estatísticas do teste de toxicidade da água intersticial a 50%, separados por teste estatístico.

Teste Mann-Whitney	**Estação A1**		**Estação A2**		**Estação A3**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	0,0209		0,0209		0,0209	
Teste Mann-Whitney	**Estação A4**		**Estação B1**		**Estação B3**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	0,0209		0,0209		0,0209	
Teste Mann-Whitney	**Estação C2**		**Estação D1**		**Estação D2**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	0,0209		0,0209		0,0209	
Teste Mann-Whitney	**Estação D3**		**Estação D4**			
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**		
p-valor (bilateral) =	0,0209		0,0209			
Teste T	**Estação B2**		**Estação B4**		**Estação C1**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	0,0437		< 0,0001		< 0,0001	
Teste T	**Estação C3**		**Estação C4**		**Estação I.A.**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	< 0,0001		0,0035		0.0037	

p-valor (bilateral) < 0,05 = diferença significativa; p (bilateral) < 0,05 = diferença significativa

A Tabela 38 mostra que todas as amostras apresentaram diferença significativa entre as duas campanhas. A amostra D3 foi a única que apresentou a Primeira Campanha com menor porcentagem de larvas normais.

5.3.1.3. Água intersticial - Concentração de 100%

A Figura 26 mostra a comparação dos resultados obtidos nas duas campanhas (Primeira e Segunda Campanha) nas concentrações de 100%.

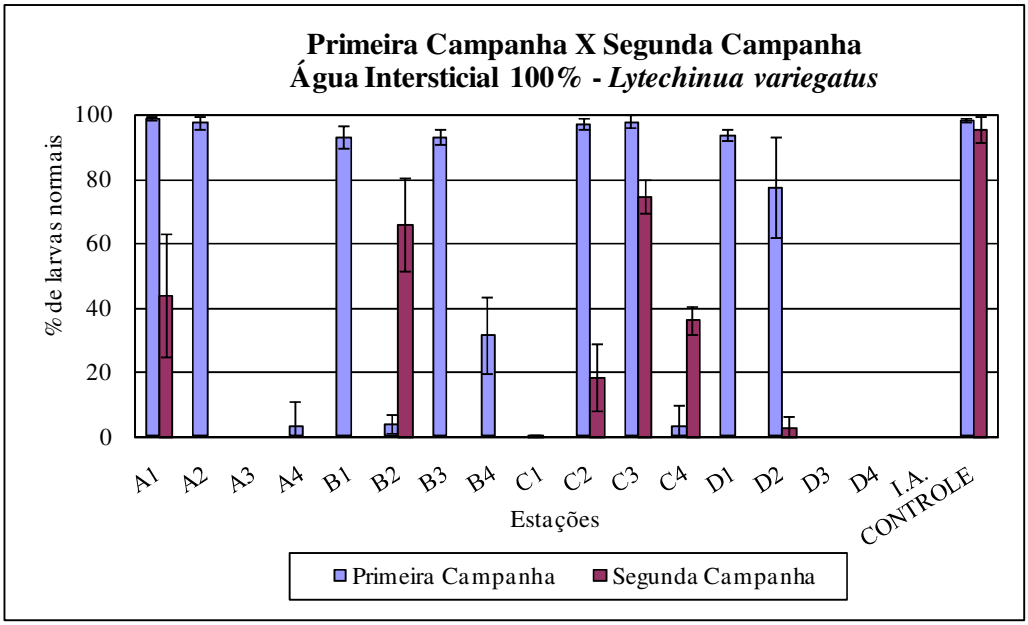

Figura 26 - Comparação entre a porcentagem de larvas normais do teste com água intersticial, na concentração de 100%, da Primeira e Segunda Campanha.

Na concentração de 100% obteve-se uma diminuição da porcentagem de larvas normais da Primeira Campanha para a Segunda Campanha em todas as estações exceto nas estações B2 e C4. As estações A1, A2, B1, B3, C2, C3, D1, D2 apresentaram toxicidade somente na Segunda Campanha. As estações A3, A4, B2, B4, C1, D3, D4 e I.A. apresentaram toxicidade nas duas campanhas.

Os dados foram analisados no programa Bioestat 5.0 através de duas amostras independentes e as amostras que apresentaram homocedasticidade foram analisadas através do Teste T com aceitabilidade de $p(t) < 0,05$, enquanto as amostras que apresentaram heterocedasticidade foram analisadas através do Teste Mann-Whitney com aceitabilidade de $p < 0,05$.

A Tabela 39 mostra os resultados da avaliação de diferenças entre as amostras independentes, amostras da Primeira e Segunda Campanhas.

Tabela 39 - Resultado das análises estatísticas do teste de toxicidade da água intersticial a 100%, separados por teste estatístico.

Teste Mann-Whitney	**Estação A1**		**Estação A2**		**Estação A3**	
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	0,0209		0,0209		-	
Teste Mann-Whitney	**Estação A4**		**Estação B1**		**Estação B2**	
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	0,5637		0,0209		0,0209	
Teste Mann-Whitney	**Estação B3**		**Estação B4**		**Estação C1**	
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	0,0209		0,0209		0,5637	
Teste Mann-Whitney	**Estação C2**		**Estação D1**		**Estação D2**	
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	0,0209		0,0209		0,0209	
Teste Mann-Whitney	**Estação D3**		**Estação D4**		**Estação I.A.**	
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	-		-		-	
Teste T	**Estação C3**		**Estação C4**			
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**		
p (bilateral) =	0,0001		0,0002			

p-valor (bilateral) < 0,05 = diferença significativa; p (bilateral) < 0,05 = diferença significativa

A Tabela 39 mostra que as amostras A1, A2, B1, B2, B3, B4, C2, C3, C4, D1 e D2 apresentaram diferença significativa entre as duas campanhas, exceto A3, D3, D4 e I.A que apresentaram 0% de larvas normais nas duas campanhas não apresentando diferença. A amostra A4 e C1 apresentaram o p>0,05, portanto não apresentaram diferença significativa.

5.3.1.4. Interface Água/Sedimento

A Figura 27 apresenta a comparação dos resultados dos testes de toxicidade com *Lytechinus variegatus* para interface água/sedimento na Primeira e Segunda Campanha.

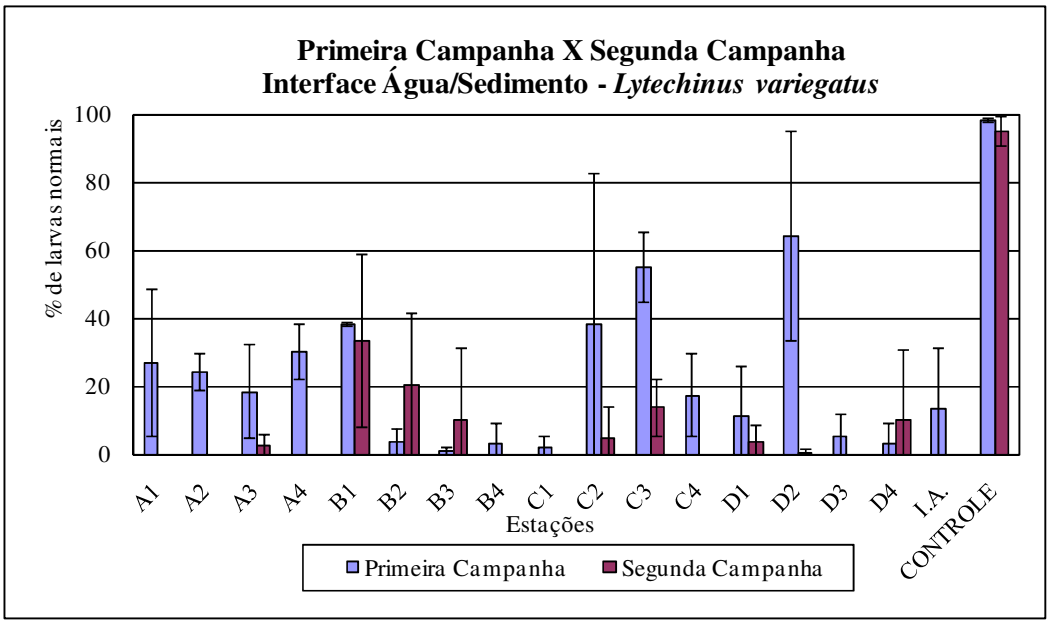

Figura 27 - Comparação entre a porcentagem de larvas normais de *Lytechinus variegatus* do teste de Interface água/sedimento, da Primeira e Segunda Campanha

Neste teste também foi obtida uma diminuição da porcentagem de larvas normais da Primeira Campanha para a Segunda Campanha em todas as estações, exceto nas estações B2, B3 e D4. Todas as estações apresentaram toxicidade nas duas campanhas, exceto a estação D2 que apresentou toxicidade somente na Segunda Campanha.

Os dados foram analisados no programa Bioestat 5.0 através de duas amostras independentes, sendo que as amostras que apresentavam homocedasticidade foram analisadas através do Teste T com aceitabilidade de $p(t) < 0,05$, enquanto as amostras que apresentavam heterocedasticidade foram analisadas através do Teste Mann-Whitney com aceitabilidade de $p < 0,05$. Os resultados dessas análises encontram-se na Tabela 40.

Tabela 40 - Resultado das análises estatísticas do teste de toxicidade de interface água/sedimento, separados por teste estatístico.

Teste Mann-Whitney	**Estação A1**		**Estação A2**		**Estação A4**	
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	0,0833		0,0209		0,0209	
Teste Mann-Whitney	**Estação B1**		**Estação B2**		**Estação B3**	
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (bilateral) =	10,000		0,1562		0,7728	
Teste Mann-Whitney	**Estação B4**		**Estação C1**		**Estação C2**	
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**
p-valor (unilateral) =	0,5637		0,2482		0,3865	
Teste Mann-Whitney	**Estação C4**		**Estação D2**			
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**		
p-valor (unilateral) =	0,0833		0,0209			
Teste Mann-Whitney	**Estação D3**		**Estação I.A.**			
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**		
p-valor (bilateral) =	0,2482		0,2482			

Teste T	**Estação A3**		**Estação C3**	
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	0,0561		0,0008	
Teste T	**Estação D1**		**Estação D4**	
	1ª campanha	**2ª Campanha**	**1ª campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	0,3593		0,5225	

p-valor (bilateral) < 0,05 = diferença significativa; p (bilateral) < 0,05 = diferença significativa

A Tabela 40 mostra que apenas as amostras A2, A4, C3 e D2 apresentaram diferença significativa entre as duas campanhas.

5.3.2. Teste de Toxicidade com *Tiburonella viscana*

A Figura 28 apresenta os dados comparativos dos resultados das duas campanhas para o teste com sedimento total com o anfípodo *Tiburonella viscana*.

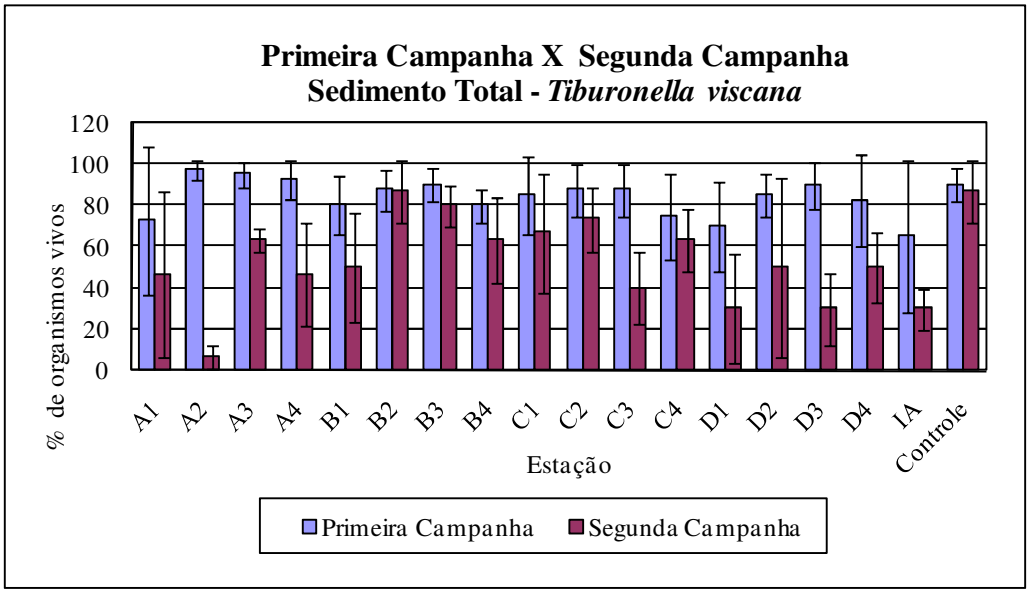

Figura 28 - Comparação entre a porcentagem de organismos vivos do teste com anfípodo, da Primeira e Segunda Campanha.

No teste com sedimento total e o anfípodo também obteve-se uma diminuição da porcentagem de organismos vivos da Primeira Campanha para a Segunda Campanha em todas as estações, mas apenas a estação A2 foi considerada tóxica somente na Segunda Campanha, as demais não foram consideradas tóxicas em nenhuma das Campanhas.

Os dados foram analisados no programa Bioestat 5.0 através de duas amostras independentes e como todas as amostras que apresentaram homocedasticidade, os dados foram analisadas através do Teste T com aceitabilidade de p(t) < 0,05. Os resultados estão apresentados na Tabela 41.

Tabela 41 - Resultado das análises estatísticas do teste de toxicidade com sedimento total e com o anfípodo *Tiburonella viscana*.

Teste T	**Estação A1**		**Estação A2**		**Estação A3**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	0,4118		< 0,0001		0,0008	
Teste T	**Estação A4**		**Estação B1**		**Estação B2**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	0,0189		0,1067		0,9321	
Teste T	**Estação B3**		**Estação B4**		**Estação C1**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	0,2030		0,1953		0,3543	
Teste T	**Estação C2**		**Estação C3**		**Estação C4**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	0,2344		0,0081		0,4533	
Teste T	**Estação D1**		**Estação D2**		**Estação D3**	
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**
p (bilateral) =	0,0777		0,1704		0,0026	
Teste T	**Estação D4**		**Estação I.A.**			
	1ª Campanha	**2ª Campanha**	**1ª Campanha**	**2ª Campanha**		
p (bilateral) =	0,091		0,1788			

p-valor (bilateral) < 0,05 = diferença significativa; p (bilateral) < 0,05 = diferença significativa

A Tabela 41 mostra que apenas as amostras A2, A3, A4, C3 e D3 apresentaram diferença significativa entre as duas campanhas.

5.4. Integração dos Resultados dos Testes de Toxicidade

Na Tabela 42 vemos os resultados de toxicidades nos três testes de toxicidade realizados: testes de sedimento total com anfípodo, testes de toxicidade de interface água/sedimento com larvas de ouriço-do-mar e testes com a água intersticial com larvas de ouriço-do-mar.

Nos testes de água intersticial com os embriões de *Lytechinus variegatus* foram consideradas tóxicas as amostras que apresentaram pelo menos duas concentrações tóxicas em relação ao controle.

Tabela 42 – Integração dos resultados dos três testes de toxicidade, na Primeira e Segunda Campanha.

Primeira Campanha teste de toxicidade			
Amostra	**anfípodo**	**interface A/S ouriço-do-mar**	**água intersticial ouriço-do-mar**
A1	NT	T	NT
A2	NT	T	NT
A3	NT	T	NT
A4	NT	T	T
B1	NT	T	NT
B2	NT	T	NT
B3	NT	T	NT
B4	NT	T	NT
C1	NT	T	NT
C2	NT	T	NT
C3	NT	T	NT
C4	NT	T	NT
D1	NT	T	NT
D2	NT	NT	NT
D3	NT	T	T
D4	NT	T	T
IA	NT	T	NT

Segunda Campanha teste de toxicidade			
Amostra	**anfípodo**	**interface A/S ouriço-do-mar**	**água intersticial ouriço-do-mar**
A1	**NT**	**T**	**T**
A2	**T**	**T**	**T**
A3	**NT**	**T**	**T**
A4	**NT**	**T**	**T**
B1	**NT**	**T**	**T**
B2	**NT**	**T**	**NT**
B3	**NT**	**T**	**T**
B4	**NT**	**T**	**T**
C1	**NT**	**T**	**T**
C2	**NT**	**T**	**T**
C3	**NT**	**T**	**T**
C4	**NT**	**T**	**NT**
D1	**NT**	**T**	**T**
D2	**NT**	**T**	**T**
D3	**NT**	**T**	**T**
D4	**NT**	**T**	**T**
IA	**NT**	**T**	**T**

De acordo com Tabela 42 pode-se ver que no teste com o anfípodo apenas houve toxicidade na estação A2 na campanha após o aumento da população flutuante (Segunda Campanha). No teste de toxicidade de interface água/sedimento obteve-se toxicidade em todas as estações, tanto na campanha antes do aumento da população flutuante (Primeira Campanha), como na campanha após o aumento da população flutuante (Segunda Campanha), exceto a estação D2 que na Primeira Campanha não apresentou toxicidade. Já nos testes com a água intersticial, na campanha antes do aumento da população flutuante, as estações A4, D3 e D4 apresentaram toxicidade, enquanto na campanha após o aumento da população flutuante apenas as estações B2 e C4 não apresentaram toxicidade.

De maneira geral, na Segunda Campanha houve um número maior de amostras tócicas após o aumento da população flutuante. Houve também uma diminuição, tanto de larvas normais e *Lytechinus variegatus*, quanto de porcentagem de anfípodos vivos após o aumento da população flutuante em comparação com a Primeira Campanha.

6. DISCUSSÃO

6.1. Considerações sobre o Local de Trabalho

A partir da construção da Rodovia Rio-Santos na década de 70, a ocupação turística na região de Ubatuba é de grande importância, aumentando as atividades relacionadas ao turismo. Desde então ocorre um aumento considerável da população flutuante. Nos meses de janeiro, fevereiro e julho estima-se que a população se triplique, enquanto em feriados prolongados como Carnaval, Semana Santa, Finados e "Reveillon" o número de habitantes aumenta em torno de cinco vezes (Burone, 2002). A estimativa de aumento populacional no período de 2000 a 2007 para a cidade de Ubatuba é cerca de 23%, com uma população fixa em torno de 82.000 habitantes. Sendo um município litorâneo, este aumento populacional é significativo e pode influenciar na qualidade das águas da região (CETESB, 2008).

A qualidade das águas costeiras brasileiras é conseqüência direta e indireta das medidas de infra-estrutura sanitária adotadas pelo país e com o rápido crescimento das cidades geram uma demanda crescente por obras de saneamento básico, que não acompanham o crescimento e a necessidade das cidades, principalmente as cidades litorâneas. Com isso a ocupação urbana tem implicações direta na saúde pública, sendo esta prejudicada pelo inadequado ou insuficiente sistema sanitário local e, à medida que a qualidade das águas das praias e rios dessas cidades fica inadequada, pode acarretar doenças e prejudicar o turismo (CETESB *op. cit.*).

O saneamento básico no Município de Ubatuba é formada por uma rede de coleta com capacidade de coletar cerca de 33% do esgoto produzido e conta com cinco estações de tratamento (ETEs), com sistemas de lodos ativados (CETESB *op. cit.*).

Em Ubatuba, bem como no litoral paulista como um todo, a coleta de esgoto doméstico é insuficiente para atender à demanda da população. A população fixa e a flutuante, em constante aumento, confirmam a necessidade da implantação de novos empreendimentos de saneamento básico para manter a qualidade ambiental e a saúde das pessoas que utilizam água para consumo e lazer.

A Enseada de Ubatuba apresenta uma baixa energia hidrodinâmica, sendo a área central da enseada a parte que apresenta menor energia, ocorrendo assim uma maior deposição de sedimentos finos (Burone *et al.*, 2003). Como a distribuição dos

sedimentos está associada às condições de energia hidrodinâmica prevalescente junto ao fundo, sedimentos mais grossos tendem a se depositar em áreas com maior energia e sedimentos mais finos, como silte e argila, são depositados em áreas com menor energia (Suguio, 1973).

Na Enseada de Ubatuba existe uma constrição na linha de costa, na região interna, que faz uma espécie de barreira para as ondas que vem do mar aberto (Muniz, 2003). A ação das ondas é um dos principais fenômenos hidrodinâmicos, responsável pelos processos sedimentares do fundo nas áreas costeiras (Furtado & Mahiques, 1989; Mahiques *et al*., 1999), o que pode explicar, em partes, o padrão dos sedimentos da área de estudo.

De acordo com Power & Chapman (1995), os sedimentos são constituídos basicamente por três componentes: a água intersticial que circula entre as partículas, podendo chegar a 50% do volume do sedimento, a fase sólida inorgânica que é formada por fragmentos minerais provenientes da drenagem terrestre e matéria orgânica, que possui uma grande importância por regular a absorção e biodisponibilidade dos contaminantes não iônicos e orgânicos.

As análises granulométricas deste trabalho nos mostram um predomínio de sedimentos finos. O mesmo padrão granulométrico foi observado por outros autores (Mahiques, 1995; Burone, 2002; Muniz, 2003).

As partículas de sedimentos mais finos, como as argilas, possuem cargas negativas residuais em sua superfície e atraem os compostos orgânicos, formando complexos sedimentares que incorporam esses compostos orgânicos no fundo (Sharp, 1973).

Os contaminantes, após atingirem o ambiente, possuem uma tendência de acumular-se nos sedimentos que passam a funcionar não só como depósito, mas também como fontes de contaminação para os organismos bentônicos, por exposição direta, e para os organismos pelágicos, através da ressuspensão dos sedimentos contaminados provocados por tempestades, dragagens, atividades biológicas, filtração e ingestão dos sedimentos pelos organismos ou ainda pela troca entre a água intersticial e a água de fundo, adjacentes aos sedimentos (Zamboni, 1993).

6.2. Marcadores Orgânicos

O lançamento de esgotos sanitários no ambiente marinho é uma das principais fontes de poluição de regiões costeiras, causando severos impactos para a biota, afetando a biodiversidade e o equilíbrio do ecossistema em questão, devido à população microbiana exógena, a concentração alterada de nitrogênio e fósforo e a deposição de resíduos sólidos nos sedimentos marinhos (Mudge & Duce, 2005), levando também a uma diminuição do oxigênio dissolvido.

A detecção da poluição por esgotos no ambiente marinho é de considerável importância por questões de saúde pública. Indicadores microbiológicos como coliformes fecais são rotineiramente empregados na avaliação da qualidade da água, devido à alta especificidade com o material fecal e o curto tempo entre a análise e o resultado final (Bartlett, 1987).

Entretanto, estas bactérias apresentam baixo tempo de vida em águas salinas, pouca resistência às variações de temperatura e aos processos de desinfecção adotados pelas estações de tratamentos de esgotos (McCalley *et al*., 1981), além de exigirem uma determinação logo após a coleta, o que, por razões técnicas, nem sempre é viável. Estas razões associadas ao fato de que outras bactérias entéricas, patogênicas e vírus podem permanecer no ambiente marinho por longos períodos, sugerem que a ausência de coliformes fecais não garante a ausência de organismos prejudiciais ao ambiente (Martins & Sanches, 1975).

Uma das formas de avaliar a poluição fecal nos sedimentos marinhos é através dos marcadores orgânicos geoquímicos que se caracterizam pela natureza específica, resistência aos processos de degradação e estabilidade química, mantendo o registro de sua origem. Estas substâncias são utilizadas como indicadores de eventos e processos ocorrentes na natureza, pelo fato de apresentarem uma estrutura molecular estável, sofrendo pouca ou nenhuma alteração em uma determinada escala de tempo (Colombo *et al*., 1989).

O uso dos esteróis como indicadores de poluição fecal é particularmente aplicável a regiões próximas a grandes centros populacionais e industriais onde é possível visualizar a presença de fontes de descarga de efluentes domésticos, na maioria das vezes, tratados, quando muito, primariamente (Martins *et al*., 2007).

De forma geral, os esteróis são utilizados com sucesso como marcadores químicos da entrada de descargas de várias fontes marinhas e terrestres (Mudge &

Seguel, 1997) e entre elas os poluentes. Entre os esteróis, o coprostanol, produzido no intestino de humanos e animais superiores por redução microbiológica do colesterol (Writer *et al.*, 1995), oferece varias vantagens na avaliação de poluição por esgoto em comparação às técnicas microbiológicas clássicas que utilizam bactérias, como as do grupo de coliformes (Nicholds *et al*., 1993). Na teoria o coprostanol está ausente em sedimentos não poluídos (Hatcher & McGillivary, 1979) ou quando presente está abaixo do limite de detecção da técnica (Nicholds & Leeming, 1991).

De acordo com Saiz-Salinas & Orejas (1998) atualmente não há um consenso sobre a quantidade necessária de coprostanol para indicar poluição por esgoto. No entanto, vários pesquisadores concluiram que a quantificação do coprostanol é uma clara medida da influência do esgoto sobre o ambiente marinho (Nicholds & Leeming, *op. cit*). Porém, outros pesquisadores enfatizam que o coprostanol presente numa área nem sempre pode ser atribuído ao esgoto urbano (Chalaux *et al*., 1995; Grimalt *et al.*, 1990; Pocklington *et al.*, 1987).

Apesar da ampla utilização do coprostanol nas avaliações de contribuição de esgoto, não existem níveis legislados definidos como valores de uma excessiva contaminação. Para Verkatesan & Kaplan (1990) concentrações acima de 1 mg/g seriam típicas de lodo de depuração, enquanto, segundo Nicholds *et al.* (1993), concentrações acima de 0,05 µg/g seriam consideradas de regiões poluídas próximas às descargas de esgotos. Por outro lado, Grimalt *et al.* (1990) afirma que sedimentos contaminados de áreas urbanas apresentam concentrações entre 0,41 e 3,5 µg/g. É importante destacar que os autores acima mencionados determinam limites, mas não garantem que abaixo destes a área possa ser considerada não afetada pela descarga de esgotos (Muniz, 2003).

No Brasil, Santos (1997), estudando sedimentos da Baia de Todos os Santos na Bahia, observou concentrações de coprostanol entre 0,05 e 2,15 µg/g. Segundo estudos feitos no litoral paulista por Kawakami (1999), os valores obtidos estiveram entre 0,02 e 5,91 µg/g, sendo que os números mais elevados corresponderam aos locais próximos ao emissário submarino do Araçá, em São Sebastião. De acordo com Muniz (2003), na Enseada de Ubatuba foram encontrados valores menores que os dos autores acima variando entre 0,03 e 0,27 µg/g.

No presente trabalho, realizado na mesma área estudada por Muniz (*op. cit.*), os valores de coprostanol variaram entre < 0,010 e 0,964 µg/g, havendo um aumento na concentração de coprostanol na região em frente à desembocadura do Rio Acaraú de 0,27µg/g, encontrado por Muniz (*op. cit.*), para 0,964 µg/g. Na região em frente à

desembocadura do Rio Grande a variação de coprostanol foi de 0,11µg/g, no trabalho de Muniz (2003), para 0,32 µg/g neste trabalho. Segundo Gonzalez-Oreja & Saiz-Salinas (1998), concentrações de coprostanol maiores que 0,10 µg/g indicam que o ambiente está contaminado por esgotos. E, de acordo com Muniz (*op. cit.*), os resultados encontrados por ele, os valores mesmo sendo baixos em comparação com outros estudos anteriores, estariam na mesma escala daquelas áreas consideradas contaminadas por esgoto, o mesmo ocorre com o presente trabalho, principalmente nas estações A1, A3, A4, localizadas no canto direito da Praia do Itaguá, e C1, localizada na saída do Rio Grande de Ubatuba, as mais afetadas, de acordo com as concentrações de coprostanol, sendo estas estações próximas as áreas igualmente consideradas como as mais afetadas por Muniz (2003). As estações B3, B4, próximas a saida do Rio Acaraú; C3, C4, localizadas próxima a desembocadura do Rio Grande de Ubatuba; D2, D4 na Praia do Perequê Açu e I.A. na Ilha Anchieta, não ultrapassaram a concentração sugerida, mas apresentaram concentrações acima do limite de detecção do método, o que pode ser considerado como uma influência de esgoto nesses pontos.

O epicoprostanol é um esterol fecal, epímero do coprostanol, praticamente ausente nas fezes humanas (Sherwin *et al*., 1993). Porém, pode ser associado ao material fecal devido à sua formação a partir de processos de digestão aeróbica de lodos de estações de tratamento de esgotos (Le Blanc *et al*., 1992; Mudge & Lintern, 1999). Neste trabalho os valores de epicoprostanol encontrados em todas as estações foram baixos, indicando portanto, a falta de tratamento do esgoto por digestão aeróbica por lodos.

A porcentagem da razão de coprostanol + e-coprostanol sobre o total de esteróis quando maiores que 50 indica locais fortemente contaminados (Venkatesan & Kaplan, 1990), o que não foi constatado para nenhuma das amostras coletadas.

Para eliminar o efeito granulométrico, Vekatesan & Kaplan (1990) sugerem a utilização do índice coprostanol/coprostanol+colestanol, esta razão maior que 0,70 indica também um local levemente contaminado por esgoto. As estações do canto direito da Praia do Itaguá, A1, A3, B4, próximo ao Rio Acaraú, e C4 nas proximidades do Rio Grande de Ubatuba apresentaram valores maiores que 0,70, sendo considerados como levemente contaminados.

Assim como coprostanol e epicoprostanol, a estanona coprostanona também tem sido empregada na avaliação da poluição por esgotos sanitários por estar presente em quantidades significativas nas fezes humanas. A razão entre a coprostanona sobre a

soma de coprostanona mais colestanona maior que 0,5 indica um ambiente moderadamente contaminado (Grimalti *et al*., 1990). As estações B4 próximo ao Rio Acaraú e C1, na saída do Rio Grande de Ubatuba, apresentaram resultados acima desse limite. As estações A1, A3, A4 situadas no canto direito da Praia do Itaguá, e D4, na Praia do Perequê Açu, apesar de não ultrapassarem o valor de 0,5, com a presença da coprostanona que também é um indicativo da presença de esgoto degradado, mesmo que em baixas concentrações, mostram estas estações como locais de presença de esgoto.

Baseado nas concentrações de alguns esteróis individuais e as relações entre eles, de maneira geral, todas as estações apresentaram algum indicativo da introdução de esgoto, mas nenhuma estação fortemente contaminada. As exceções foram as estações A2, no canto direito da Praia do Itaguá, e B1, em frente ao Rio Acaraú, que não apresentaram nenhum composto acima do limite de detecção e os pontos B2, próximo ao Rio Acaraú, C2, próximo do Rio Grande de Ubatuba, D1 e D3, na Praia do Perequê Açu, que apresentaram somente esteróis relacionados à presença de plantas superiores.

6.3. Testes de Toxicidade

A adoção de critérios de qualidade de sedimento baseada nas concentrações de substâncias químicas individualmente, não oferece proteção adequada em locais onde a poluição é causada por mais de uma substância, como a grande maioria das áreas contaminadas (Swartz *et al.*, 1988).

Os testes de toxicidade são considerados os melhores métodos disponíveis para identificar, de forma integrada, os efeitos dos múltiplos contaminantes. O teste de toxicidade com amostras de sedimento total deve utilizar organismos-testes sensíveis e *endpoints* como mortalidade (EPA, 1991).

Neste estudo, visou-se conhecer os efeitos adversos das amostras do sedimento na fase líquida, via água intersticial e interface água/sedimento aos embriões de ouriço-do-mar e na fase sólida com o sedimento total e adultos de anfípodos.

Entre os testes realizados, o de interface água/sedimento foi o que apresentou toxicidade na maioria das estações, enquanto o teste com água intersticial apresentou a maioria das estações tóxicas na campanha após o aumento da população. No teste com sedimento total apenas uma estação apresentou toxicidade, a A2 somente na campanha após o aumento da população de veraneio.

As estações A4, D3 e D4 apresentaram toxicidade nas duas campanhas para os testes com a fase aquosa, sendo que a estação A4, localizada na Praia do Itaguá, próxima ao Instituto de pesca, é uma região de concentração de barcos pesqueiros, enquanto as estações D3 e D4, situadas na Praia do Pereque-Açú, encontra-se o único terminal turístico para ônibus de excursões. Na Segunda Campanha as estações B2 e C4 foram as únicas que não apresentaram toxicidade para o teste de água intersticial.

A interface água/sedimento representa uma camada com características químicas distintas. Mudanças no pH e Eh associadas com a transição podem afetar na biodisponibilidade dos contaminantes presentes no sedimento (NRC, 2003).

Esta metodologia vem sendo utilizada em avaliações, monitoramento e caracterizações do sedimento e material dragado (Prósperi, 2002; César, 2003; César *et al.*, 2004; Argentino-Santos, 2006; CETESB, 2007 e 2008).

Nos testes de interface água/sedimento apresentaram-se tóxicas, em relação ao controle, todas as estações nas duas campanhas, exceto a estação D2 que apresentou toxicidade apenas na campanha após a temporada de veraneio.

César (2003); César *et al.* (2004); Argentino-Santos (2006) realizaram estudos sobre toxicidade de sedimentos utilizando testes de interface água/sedimento com embriões de ouriço-do-mar e testes de sedimento total com anfípodos adultos e obtiveram efeitos similares entre os resultados dos testes de interface água/sedimento e o resultado dos testes com sedimento integral, mas com uma maior sensibilidade nos testes utilizando os embriões de ouriço-do-mar. No presente estudo os testes com embriões de ouriço-do-mar também apresentaram uma maior sensibilidade e a maioria das estações foram tóxicas enquanto nos testes de sedimento total com anfípodo, como já citado, apenas uma estação apresentou toxicidade na campanha após o aumento da população flutuante, demonstrando assim que os testes de interface água/sedimento apresentam melhor resposta, mostrando que o sedimento é realmente uma fonte de poluentes para a água sobrejacente.

Segundo Argentino-Santos (2006) o teste de interface água/sedimento, por demonstrar características citadas acima e ser de fácil manuseio, deve ser melhor desenvolvido e implementado nas avaliações e monitoramentos de sedimentos.

As vias de exposição para organismos bentônicos ocorrem através do contato com a água intersticial, com a água de fundo através do contato direto com o corpo, respiração ou filtração e ingestão de partículas do sedimento contaminado (Adams *et al.*, 1985).

Em relação ao anfípodo *Tiburonella viscana*, Melo (1993) observou-se que os sedimentos preparados em laboratório contendo somente partículas finas (argilas) ou somente areias mais grossas causaram efeitos negativos na sobrevivência dos organismos testados, sugerindo que, sob condições extremas de granulometria, podem ser observados efeitos adversos. Porem Melo (1993) e Abessa (1996) observaram que sedimentos coletados em campo, com as mais variadas composições granulométricas, não afetaram a sobrevivência dos indivíduos de *Tiburonella viscana* com significância, o mesmo ocorreu neste trabalho onde a granulometria das amostras testadas não interferiram na toxicidade das amostras.

Muniz (2003), nos testes de toxicidade com sedimento total e o anfípodo, obteve amostras tóxicas em seus estudos, em todas as estações estudadas na Enseada de Ubatuba, o que já não ocorreu no presente estudo, onde se obteve toxicidade apenas em um ponto estudado, ponto A2 e somente na Segunda Campanha. Entretanto, embora não tenha ocorrido toxicidade para os testes com sedimento total, houve uma clara diminuição da sobrevivência dos anfípodos (61%) na Segunda Campanha, mostrando assim uma diminuição na qualidade ambiental do sedimento da enseada, indicando que o aumento da população flutuante traz não só aumento da carga orgânica poluidora não tratada com eficiência, mas também alguma contribuição de substâncias tóxicas que chegam ao ambiente marinho através de outras fontes poluidoras.

Em Ubatuba, a taxa de crescimento populacional de 2000 a 2007 foi de 23%, aproximadamente, com uma rede coletora de esgoto com capacidade de coletar 33% do esgoto da cidade, com 4 estações de tratamento, sendo insuficiente para garantir a qualidade ambiental tanto para a população permanente, como para a população flutuante, que chega a aumentar em mais de 100% nos períodos de férias de verão (CETESB, 2007), levando a um quadro futuro com muitos problemas ambientais para o município.

Deve-se ressaltar outro problema com o qual o litoral norte paulista vem se deparando, que é o aumento da especulação imobiliária através da construção de pequenos prédios e casas para veraneio. Na região da Enseada de Ubatuba, na Praia do Itaguá, onde a CETESB faz monitoramento da balneabilidade, um dos pontos vem apresentando a classificação da balneabilidade como péssima desde o começo da década de 90.

O outro ponto na mesma praia passou a ter a classificação da balneabilidade como péssima a partir de 2001, quando até então sua classificação era regular (site da CETESB*). Já nas duas outras praias da Enseada de Ubatuba a balneabilidade não tem passado do regular desde a década de 90, o que traz boas expectativas de melhoria na qualidade ambiental local, desde que sejam tomadas medidas mais rápidas para que não ocorra uma degradação total da região. O que pode ser usado como principal ferramenta de planejamento ambiental é o Zoneamento Ecológico - Econômico (ZEE), para ordenar a ocupação do solo e uso dos recursos naturais que compõe o ecossistema costeiro, bem como para planejar e ordenar as atividades econômicas mais adequadas para cada região (CETESB, 2004), possibilitando assim um melhor planejamento de infra-estrutura e saneamento para as regiões com maior fragilidade ambiental.

Os resultados destes estudos alertam para os problemas advindos do aumento da população, da população flutuante e da falta de tratamento de esgoto em regiões turísticas junto à costa, uma vez que em todos os testes constatou-se diminuição da porcentagem de organismos com desenvolvimento normal e diminuição de sobreviventes, quando comparadas às campanhas antes e depois do aumento da população flutuante ou de veraneio, com esta porcentagem variando de 7,39 de diminuição de larvas normais, no testes com água intersticial a 25% até 61,20 de diminuição de sobreviventes no teste de sedimento total com o anfípodo.

http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/municipios/evolucao/ubatuba.asp

7. CONCLUSÃO

- Foi detectada toxicidade no sedimento das estações da Enseada de Ubatuba apenas para os testes com larvas de *Lytechinus variegatus*, o que nos indica que somente houve mais biodisponibilidade dos contaminantes na fração líquida;
- A toxicidade do sedimento da área estudada apresentou um aumento após o aumento da população flutuante nos testes com a fase líquida;
- Nos testes com o anfípodo, apesar de ter tido, após o aumento da população flutuante, toxicidade em apenas uma estação, houve uma diminuição da média de sobreviventes da Primeira Campanha para a Segunda Campanha, sendo um indício de aumento de substâncias tóxicas;
- A água intersticial apresentou toxicidade na maioria das estações somente na Segunda Campanha, ou seja, após o aumento da população flutuante;
- O teste de interface água/sedimento apresentou uma maior sensibilidade em relação aos outros testes realizados;
- O aumento da população flutuante mostrou um aumento da toxicidade para os testes com a fase aquosa e para os testes com o sedimento integral e o anfípodo uma diminuição do número de sobreviventes;
- Em relação à contaminação por esgoto urbano verificou-se que a maioria das amostras de sedimento das estações apresentou contaminação ou influência de esgoto doméstico;
- O coprostanol se mostrou um bom indicador químico de contaminação de esgoto urbano;
- A análise de esteróis fecais mostrou que a maioria das estações estudadas apresentaram uma contaminação ou um indicativo de contaminação por esgoto doméstico;
- Para um maior conhecimento das condições ambientais do sedimento da Enseada de Ubatuba e uma possível tomada de decisões são necessárias análises químicas de hidrocarbonetos, metais pesados e LABs e também da composição da estrutura bentônica;
- E por fim, mostra-se necessária a melhoria da infra-estrutura de saneamento da região.

8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Abessa, D.M.S. 1996. Testes de toxicidade de sedimento da região de Santos, São Paulo – SP – Brasil (24S, 46W), utilizando o anfípoda escavador *Tiburonella viscana* (Crustacea, platyischnopidae) Thomas & Barnard (1983). Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. Instituto Oceanográfico.

Abessa, D.M.S. 2002. Avaliação da qualidade de sedimentos do Sistema Estuarino de Santos, SP, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. Instituto Oceanográfico. 340pp.

Abessa, D.M.S.; Maranho, L.A.; Prósperi, V.A. 2007. A proposal for bioequivalence to 10-day whole sediment toxicity test with *Tiburonella viscana*. In: Setac Latin America – Uruguay - 2007

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas 2006. ABNT/NBR 15350:2006. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata: Echinoidea).17pp.

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas 2008. ABNT/NBR 15638:2008. Qualidade da Água – Determinação da toxicidade aguda de sedimentos marinhos ou estuarinos com anfípodos. 17pp.

Adams, W.J.; Kimerle, R.A.; Mosher, R.G. 1985. Aquatic safety assessment of chemicals sorbed to sediments. In: Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: 7th Symposium, STP 854,R.D. Cardwell, R. Purdy & R.C. Bahner (eds.). Philadelphia, American Society for Testing and Materials, p. 429-453.

Adams, W.J.; Kimerle, R.A.; Barnett Jr., J.W. 1992. (Sem Título). Environmental Science and Technology, 26(10):1865-1875.

Argentino-Santos, R.C. 2006. Avaliação ecotoxicológica do sedimento do local de disposição do material dragado do Porto de Santos e da área de influência direta. Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico. Universidade de São Paulo. 124p.

ASTM. American Society for Testing and Materials. 1992. Standard guide for conducting static acute toxicity testes starting with embryos of four species of saltwater bivalve mollusks. E 724-89. In: Annual Book of ASTM. Standards Philadelphia. Section 11 vol. 11.04.

Bartlett, P.D. 1987. Degradation of coprostanol in an experimental system. Mar. Pollut. Bull., **18**:27-29.

Bertoletti, E.; Buratini, S.V.; Prósperi, V.A.; Araújo, R.P.A.; Werner, L.I. 2007. Selection of relevant effect levels for using bioequivalence hypohesis testing. J. Braz. Soc. Ecotoxicol., 2(2):139-145.

Blasco, J. 1990. Efectos bioquimicos de la contaminacion por metales pesados. Sem. Quim. Mar. 5:13-44.

Brannon, J.M. 1978. Evaluation of Dredged Material Pollution Potential. Technical Report DS-78-6.

Burone, L., 2002. Foraminíferos bentônicos e parâmetros físico-químicos da Enseada de Ubatuba, São Paulo: Estudo ecológico em uma área com poluição orgânica. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 279p.

Burone, L.; Muniz, P.; Pitres-Vanin, A.M.S.; Rodrigues, M. 2003. Spatial distribution of organic matter in the surface sediments of Ubatuba Bay (Southeastern – Brazil). Anais Acad. Bras. Ciênc. 75:77-90.

Cairns Jr., J.; Mount, D.I. 1990. Aquatic toxicology. Environmental Science. Technology 24:154-161.

Castro Filho, B.M.; Miranda, L.B.; Myao, S.Y. 1987. Condições hidrográficas na Plataforma Continental ao largo de Ubatuba: variações sazonais em média escala. Bolm. Inst. Oceanogr., São Paulo. 35:135-151.

Cesar, A. 2003. Análisis ecotoxicológico integrado de la contaminacion marina en los sedimentos de la Costa de Murcia: El caso de Portmán, Sudeste – España. Memoria de Tesis Doctoral. Departamento de Ecologia e Hidrologia Facultad de Biologia, Universidad de Murcia – España. 252pp.

Cesar, A.; Márin, A.; Márin-Guirao, L.; Vita, R. 2004. Amphipod and sea urchin tests to assess the toxicity of Mediterranean Sediments: The case of Pórtman Bay. Scientia Marina 68, (Suppl.1) 205:213. In: Biological Oceanography at the turn of the millennium. J.D. Ros, T.T. Packard, J.M. Gili, J.L.Pretus & D. Blasco (eds.).

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

CETESB, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 2004. Monitoramento dos rios litorâneos. Relatório de qualidade das águas litorâneas no estado de São Paulo – Balneabilidade das praias.

C**ETESB**, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 2007. Relatório de qualidade das águas litorâneas no Estado de São Paulo: balneabilidade das praias 2006. São Paulo, CETESB, 365p.

CETESB, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 2008. Relatório de qualidade das águas litorâneas no Estado de São Paulo: balneabilidade das praias 2007. São Paulo, CETESB, 294p.

Chalaux, N.; Takada, H; Bayona, J.M. 1995. Molecular marker in Tokyo Bay sediments: sourcers and distribution. Mar. Environ. Res., 40:77-92.

Chapman, P.; Long, E. 1983. The use of bioassay as part of comprehensive approach to marine pollution assessment. Mar Poll. Bull., 14:81-84.

Chapman, P.M.; Mann, G.S. 1999. Sediment Quality Values (SQVs) and Ecological Risk Assessment (ERA). Mar. Pollut. Bull., 38(5):339-344.

Colombo, J.C.; Pelletier, E.; Brochu, C.; Khalil, M.; Catoggio, J.A. 1989. Determination of hydrocarbon sources using n-alkane and polyaromatic hydrocarbon distribution indexes. Case study: Rio de la Plata Estuary, Argentina. Environ. Sci. Technol., 23: 888-894.

CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2005. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.

Emilson, I. 1959. Alguns aspectos físicos e químicos de águas marinhas brasileiras. Cien. Cult., São Paulo. 11(2): 44-54.

Environment Canada, 1992. Biological Test Method: Acute Test for Sediment Toxicity Using Marine or Estuarine Amphipods. Report EPS1/RM/26-Canada, 83p.

EPA, United State Environmental Protection Agency 1991. Evaluation of Dredged Material Proposed for Ocean Disposal - Testing Manual. EPA 503/8-91/001. U.S. Army Corps of Engineers

EPA, United State Environmental Protection Agency 1994. Short-Term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Marine and Estuarine Organisms. Report EPA/600/4-87/028. Cincinnati, Ohio, U.S. Environmental Protect Agency, 482p.

Fredette, T.J.; Clausner, J.E.; Nelson, D.A.; Hands, E.B.; Miller-Way, T.; Adair, J.A.; Sotler, V.A.; Anders, F.J. 1990. Selected Tools and Techniques for Physical and Biological Monitoring of Aquatic Dredged Material Disposal Sites. Technical Report D-, 90-11, US Army Engineer Waterways Experiment Station, Vicksburg, MS.

Furtado, V.V.; Mahiques, M.M. 1989. Distrbution of sediments in the northern coast and continental shelf of the State of São Paulo. Procceding of Symposium of Ecosystems of

the southern and southeastern Brazilian Coast. Águas de Lindóia, Brazil. Academy of Science of the State of São Paulo,vol. 1:20-29.

Grimalt, J.O.; Fernandez, P.; Bayona, J. M.; Albaiges, J. 1990. Assessment of fecal sterols and ketones as indicator of urban sewage inputs to coastal waters. Environ. Sci. Technol., **24** :357-363.

Hartmann, P.C.; Quinn, J.G.; King, J.W.; Tsutsumi, S.; Takada, H. 2000. Intercalibration of LABs in marine sediment SRM1941a and their application as a molecular marker in Narragansett Bay sediments. Environ. Sci. Technol., 34(5):900-906.

Hatcher, J.P.; McGillivary, P.A. 1979. Sewage contamination in the New York bight. Coprostanol as an indicator. Environ. Sci. Technol., 13:1225-1229.

IMO – International Maritime Organization. 2001. Waste Assessment Guidance Training Set – Participant's Manual. 121pp.

Ingersoll, C.G. 1995. Sediment tests. In: Rand, G.M. (ed.), Fundamentals of Toxicology, Effects, Environmental Fate and Risk Assessment. 2sd ed. Taylor & Francis. pp. 231-255.

Kawakami, S.K., 1999. Coprostanol como um indicador químico de contaminação por esgoto urbano em algumas regiões do litoral de São Paulo. Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo, 71p.

Kawakami, S.K.;. Montone, R.C., 2002. An efficient ethanol-based analytical protocol to quality fecal steroids in marine sediments. J. Brazil. Chem. Soc., 13:226-232.

Kennish, M.J. 1997. Pratical Handbook of Estuarine and Marine Pollution. Florida: CRC Press. Boca Raton, 524p.

Knie, J.L.W.; Lopes, E.W.B. 2004. Testes Ecotoxicológicos: Métodos, Técnicas e Aplicações. Florianópolis: FATMA/GTZ. 289p.

Lamberson, J.O.; DeWitt, T.H.; Swartz, R.C. 1992. Assessment of sediment toxicity to marine benthos. In: G.A. Burton, Jr, Editor, *Sediment Toxicity Assessment*, Lewis, Boca Raton, U.S.A. (1992), pp. 183–211.

Le Blanc, L.A.; Latimer, J.S.; Ellis, J.T.; Quinn, J.G. 1992. The geochemistry of coprostanol in waters and surface sediments from Narragansett Bay. Estuar. Coast. and Shelf Sci., **34** :439-458.

Linkov, I.; von Stackelberg, K.E.J.; Burmistrov, D.; Bridges, T.S. 2001. Uncertainty and variability in risk from trophic transfer of contaminants in dredged sediments. The Science of the Total Environment. 274(2001):255-269

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. Environ. Management 19(1):81-97.

Mahiques, M.M. 1995. Dinâmica sedimentar atual nas enseadas da Região de Ubatuba, Estado de São Paulo. Bolm. Inst. oceanogr. S Paulo, 43:111-122.

Mahiques, M.M.; Tessler, M.G; Furtado, V.V. 1998. Characterization of energy gradient in enclosed Bays of Ubatuba region, South-eastern Brazil. Estuar. Coast. Shelf Sc., 47:431-446.

Mahiques, M.M.; Mishima, Y.; Rodrigues, M. 1999. Characteristics of the sedimentary organic matter on inner and middle continental a helf between Guanabara Bay and São Franscisco do Sul, Southeastern Brazilian margin. Cont. Shelf Res., 19:775-798.

Martins, M.T.; Sanchez, P.S. 1975. Estudos da correlação entre organismos indicadores de poluição de origem fecal de patogênicos. In: VII Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária. Rio de Janeiro, CETESB. 17p.

Martins, C.C.; Fillmann, G.; Montone, R.C. 2007. Natural and anthropogenic sterols inputs in surface sediments of Patos Lagoon, Brazil. J. of Braz. Chem. Soc., 18:106-115

Mastroti, R.R. 1997. Toxicidade e biodegradabilidade de tensoativos aniônicos em água do mar. Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico. Universidade de São Paulo.112p.

Matsuura, Y. 1986. Contribuição ao estudo da estrutura oceanografica da região sudeste entre Cabo Frio (R.J.) e Cabo de Santa Marta (S.C.). Ciên. Cult., São Paulo. 38(8); 1439-1450.

McCalley, D.V.; Cooke, M.; Nickless, G. 1981. Effect of sewage treatment on faecal sterols. Wat. Res., 15:1019-1025.

Melo, S.L.R. 1993. Teste de toxicidade aguda com sedimentos marinhos: adequação da metodologia para o anfípodo escavador *Tiborunella viscana*. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. Escola de Engenharia de São Carlos. 166p.

Montone, R.C. 2006. Contribuição ao estudo da poluição orgânica no ambiente marinho. Tese de Livre-Docência. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo.115p.

Mudge, S.M.; Duce, C.E. 2005. Identifying the source, transport path and sinks of sewage derived organic matter. Environ. Pollut., 136:209-220.

Mudge, S.M.; Seguel, C.G. 1997. Trace organic contaminants and lipid biomarkers in Concepción and san vacant bays. Bol. Soc. Chil. Quím. 42:5-15.

Mudge, S.M.; Lintern, D.G. 1999. Comparison of sterol biomarkers for sewage with other measures in Victoria Harbour, B.C. Canada. Estuar. Coast. and Shelf Sci., 48:27-38.

Muniz, P.M. 2003. Comunidades macrobênticas como indicador da qualidade ambiental de ecossistemas costeiros rasos: Estudo de caso – Enseada de Ubatuaba (SP, Brasil). Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 205p.

Nicholds, P.D.; Leeming, R. 1991. Tracing sewage in the marine environment. Chem. Austr. July, 274-276.

Nicholds, P.D.; Leeming, R.; Rayner, M.S.; Latham, V.; Ashbolt, N.; Turner, C. 1993. Comparasion of the abundance of the sterol coprostanol and fecal bacterial groups in inner-shelf waters and sediments near Sydney, Australia. J. Chromatog. 643:189-195.

Nipper, M.G.; Greenstein, D.J; Bay, S.M. 1989. Short- and long-term sediment toxicity test methods with the amphipod *Grandidierella japonica*. Environ. Toxicol. and Chem., 8:1191-1200.

NRC – National Research Council. 2003. Contaminated Sediments in Ports and Waterways – Cleanup Strategies and Technologies. Committe on Contaminated Marine Sediments. Marine Board – Commission on Engenieering and Technical Systems.

Pocklington, R.; Leonard, J.D.; Crewe, N.F. 1987. Le coprostanol comme indicateur de la contamination fécale dans l'eau de mer et les sédiments marins. *Oceanol. Acta* 10, pp. 83–89.

Power, E.A.; Chapman, P.M. 1995. Assessing sediment quality. In: Burton, Jr., G.A. (Ed), Sediment Toxicity Assessment, Lewis Publishers. pp1-18.

Prósperi, V.A. 2002. Comparação de métodos ecotoxicológicos na avaliação de sedimentos marinhos e estuarinos. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 119pp.

Rachid, B.R.F. 1996. Ecotoxicologia de efluentes sanitários urbanos lançados ao mar através de emissários submarinos. Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 106p.

Rachid, B.R.F. 2002. Avaliação ecotoxicológica dos efluentes domésticos lançados pelos sistemas de disposição oceânica da Baixada Santista. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico. Universidade de São Paulo. 286p.

Saiz-Salinas, J. I.; Orejas, J.A.G., 1998. Coprostanol levels and organic enrichment in sediments of the Bilbao estuary (north of Spain). Oceanol. Acta, 21:319-324.

Santos, B.F. 1997. Avaliação do nível de contaminação por esgotos domésticos na Baia de Todos os Santos através do uso do coprostanol. Salvador. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia.

Sharp, J.H. 1973. Size class of organic carbon in seawater. Limnol. Oceanogr. 18:441-447.

Sherwin, M.R.; Van Vleet, E.S; Fossato V.U.; Dolch, F. 1993. Coprostanol (5β-cholestan-3 β-ol) in lagoonal sediments and mussels of Venice, Italy. Mar. Pollut. Bull., 26:501-507.

Sousa, E.C.P.M. 2002. Toxicologia marinha: Histórico. In.: Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil. Nascimento, I.A., E.C.P.M Sousa, M. G Nipper (eds.). Ed. Artes Gráficas e Ind. Ltda. 262p.

Suguio, K. 1973. Introdução à sedimentologia. São Paulo, Edgard Blücher/ EDUSP. 317pp.

Swartz, R.C.; DeBen, W.A; Jones, J.K.P; Lamberson, J.O.; Cole, F.A. 1985. Phoxocephalid amphipod bioassay for marine sediment toxicity. In: Symposium on Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, 7, Philadelphia, ASTM, p.284-307.

Swartz, R.C.; Kemp, P.F.; Schults, D.W.; Lamberson, J.O. 1988. Effects of mixtures of sediment contaminants on the marine infaunal amphipod, *Rhepoxynius abronius*. Environ. Toxicol. Chem., 7(12):1013-1020.

Venkatesan, M.I.; Kaplan, I.R. 1990. Sedimentary coprostanol as an index of sewage addition in Santa Monica basin, southern California. Environ. SCI. Technol., 24:208-214.

Venkatesan, M.I.; Mirsadeghi, F.H. 1992. Coprostanol as sewage tracer in Mcmurdo Sound, Antarctica. Mar. Pollut. Bull., 25:328-333.

Weber, R.R. 1992. Sistemas costeiros e oceânicos. Química Nova, 15(2):137-143.

Winger, P.V.; Lasier P.J. 1991. A vacuum-operated pore-water extractor for estuarine and freshwater sediments. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 21:321-324.

Writer, J.H.; Leenheer, J.A.; Barber, L.B.; Amy, G.L.; Chapra, S.C. 1995. Sewage contamination in the upper Mississippi River as measured by the fecal sterol, coprostanol. Wat. Res. 29:1427-1436.

Zakrewski, S.F. 1991. Principles of Environmental Toxicity. American Chemical Society, Washington, DC. 270p.

Zamboni, A.J. 1993. Avaliação da qualidade de água e sedimento do Canal de São Sebastião através de testes de toxicidade com *Lytechinus variegatus* (Echinoderma: Echinoidea). Dissertação de Mestrado. EESC. 102pp+fig.

Zaroni, L.P. 2006. Avaliação da Qualidade dos Sedimentos Marinhos e Estuarinos no Município de Bertioga – SP. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico. Universidade de São Paulo.193pp.