Jéssica Batista dos Santos

QUALIDADE ECOTOXICOLÓGICA DO SEDIMENTO DE CARAGUATATUBA, SP.

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.

Orientadora Prof.ª Dra. Eduinetty Ceci Pereira Moreira de Sousa

São Paulo – SP
2016

Universidade de São Paulo
Instituto Oceanográfico

QUALIDADE ECOTOXICOLÓGICA DO SEDIMENTO DE CARAGUATATUBA, SP.

Jéssica Batista dos Santos

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 ____/____/____

Profa. Dra. Eduinetty Ceci Pereira Moreira de Sousa Conceito

Prof.(a) Conceito

Prof (a) Conceito

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo pelo privilégio de ser aluna em uma instituição com tanto prestígio.

Ao CNPq pela concessão de bolsa.

A Profa. Ceci por toda a orientação e paciência, não apenas durante o mestrado, mas por todos os anos que fiz parte do laboratório.

A Márcia, por todas as ideias e conselhos, e por compartilhar comigo um pouco do seu conhecimento sobre Ecotoxicologia.

A todos do LEcotox, os que ainda estão e os que já não fazem mais parte dele, mas que sempre estão dispostos a ajudar.

Aos funcionários do Instituto Oceanográfico.

Aos amigos e família pelo apoio e compreensão em todos os momentos.

RESUMO

Qualidade ecotoxicológica do sedimento de Caraguatatuba, SP.

A região de Caraguatatuba encontra-se exposta a duas fontes mais significativas de poluição marinha: efluentes domésticos e derramamentos de petróleo, principalmente pela proximidade com Canal de São Sebastião. O presente estudo objetivou avaliar a qualidade do sedimento da região por meio de ensaios ecotoxicológicos com sedimentos coletados em 21 pontos, no inverno e no verão. Foram realizados ensaios de toxicidade aguda com sedimento total usando os anfípodos *Tiburonela viscana* e *Leptocheirus plumulosus*, de toxicidade crônica avaliada pela eclosão de ovos do copépodo *Nitokra* sp, e de interface sedimento/água com embriões do equinodermata *Lytechinus variegatus*. O maior número de amostras com toxicidade foi observado na campanha de verão, e o organismo que se mostrou mais sensível foi *L. variegatus*. Os resultados demostraram maior toxicidade nos sedimentos próximos à planície de maré e saída do Canal de São Sebastião, ao sul, e próximo à Praia de Tabatinga, extremo norte do município. Esta distribuição de pontos com toxicidade segue o padrão de deposição de partículas provenientes do Canal de São Sebastião e se aproxima dos resultados de qualidade sanitária da região.

Palavras chave: Caraguatatuba, ecotoxicologia, toxicidade crônica, toxicidade aguda, *Tiburonella viscana*, *Leptocheirus plumulosus, Nitokra* sp*, Lytechinus variegatus.*

ABSTRACT

Ecotoxicological sediment quality Caraguatatuba, SP.

The Caraguatatuba region is exposed to two significant sources of marine pollution: domestic sewage and oil spills, mainly due to the proximity of the São Sebastião Channel. This study aimed to evaluate the sediment quality of the region through ecotoxicological tests with sediment and sediment / water interface, collected in 21 points, in winter and summer. Acute toxicity tests were conducted with total sediment using the amphipods Tiburonela viscana and Leptocheirus plumulosus, chronic toxicity was evaluate in hatching eggs with the copepod Nitokra sp, and sediment / water interface with Echinodermata Lytechinus variegatus embryos. The largest number of toxic points was obtained in the summer campaign, and the more sensitive organism was L. variegatus. Results showed greater toxicity close to tidal plain and in the São Sebastião Channel mouth, at soul, and next Tabatinga Beach, at northern edge of the municipality. This distribution of toxic points follows the pattern of particle deposition from the São Sebastião Channel, and approaches the results of sanitary quality in the region.

Keywords: Caraguatatuba, ecotoxicology, chronic assay, acute assay, *Tiburonella viscana, Leptocheirus plumulosus, Nitokra* sp*, Lytechinus variegatus*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Localização das praias do município de Caraguatatuba.....07

Figura 2 – Localização da campanha preliminar.....11

Figura 3 – Localização dos pontos das coletas definitivas.....13

Figura 4 – *Nitokra* sp adulto não ovado.....16

Figura 5 – *Leptocheirus plumulosus* adulto não ovado.....17

Figura 6 – *Tiburonella viscana* adulto não ovado.....18

Figura 7 – *Lytechinus variegatus* adulto.....19

Figura 8- A – óvulo fecundado com presença de membrana de fecundação; B – larva plúteo.....24

Figura 9 – Média de organismos sobreviventes e desvio padrão do ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana* – campanha preliminar.....29

Figura 10 – Porcentagens granulométricas – campanha de inverno.....33

Figura 11 – Porcentagens de matéria orgânica (MO) e carbono orgânico (CO) – coleta de inverno.....33

Figura 12 – Porcentagens granulométricas – campanha de verão.....36

Figura 13 - Porcentagens de matéria orgânica (MO) e carbono orgânico (CO) – campanha de verão.....36

Figura 14 – Comparação do parâmetro ambiental pH das campanhas de inverno e verão.....37

Figura 15 – Comparação do parâmetro ambiental oxigênio dissolvido (mg/L) das campanhas de inverno e verão.....38

Figura 16 – Comparação do parâmetro ambiental temperatura (ºC) das campanhas de inverno e verão.....38

Figura 17 – Comparação do parâmetro ambiental profundidade e penetração de luz (m) das campanhas de inverno e verão.....39

Figura 18 – Comparação do parâmetro ambiental salinidade das campanhas de inverno e verão.....39

Figura 19 – Carta controle com *Tiburonella viscana* - $CL_{50\ -\ 48h}$ Dicromato de potássio.....41

Figura 20 – Carta controle com *Leptocheirus plumulosus* - $CL_{50 - 96h}$ DSS.....42

Figura 21 – Carta controle com *Nitokra* sp. - $CL_{50 - 96h}$ DSS.....44

Figura 22 – Carta controle com *Lytechinus variegatus* - $CL_{50 - 24h}$ DSS.....45

Figura 23 – Média de organismos sobreviventes e desvio padrão do ensaio de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus* – campanha de inverno.....48

Figura 24 – Média de organismos sobreviventes e desvio padrão do ensaio com sedimento integral com *Tiburonella viscana* – campanha de inverno.....50

Figura 25 – Média de larvas normais e desvio padrão do ensaio de interface sedimento/água com embriões de *Lytechinus variegatus* – campanha de inverno.....53

Figura 26 – Média de ovos/fêmea e desvio padrão do ensaio de sedimento integral com *Nitokra* sp – campanha de inverno.....55

Figura 27 – Média de organismos sobreviventes e desvio padrão do ensaio com sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus* – campanha de verão.....59

Figura 28 – Média de larvas normais e desvio padrão do ensaio embriolarval de interface sedimento/água com *Lytechinus variegatus* – campanha de verão.....61

Figura 29 – Média de ovos/fêmea e desvio padrão do ensaio de sedimento integral com *Nitokra* sp – campanha de verão.....64

Figura 30 – Comparação da porcentagem de sobrevivência dos ensaios de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus* das campanhas de inverno e verão.....65

Figura 31 – Comparação da porcentagem de larvas normais dos ensaios embriolarvais de interface sedimento/água com *Lytechinus variegatus* das coletas de inverno e verão.....66

Figura 32 – Comparação das médias de eclosão/fêmea dos ensaios de sedimento integral com *Nitokra* sp das campanhas de inverno e verão.....66

Figura 33 – Porcentagem de sobrevivência do ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana* da campanha de inverno.....67

Figura 34 – Frequência de resultados tóxicos para o test t considerando o resultado dos ensaios com todos os organismos e ambas as campanhas, sendo vermelho – muito tóxico (< 70%), amarelo – tóxico (69 a 50%) e verde – pouco tóxico (> 49%).....71

Figura 35 – Frequência de resultados tóxicos para o test t com bioequivalência considerando o resultado dos ensaios com todos os organismos e ambas as campanhas, sendo vermelho – muito tóxico (< 70%), amarelo – tóxico (69 a 50%) e verde – pouco tóxico (> 49%).....73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Coordenadas dos pontos da campanha preliminar.....10

Tabela 2 – Coordenadas dos pontos de campanhas definitivas.....12

Tabela 3 – Data de amostragem e respectivos pontos.....13

Tabela 4 – Resumo das informações dos ensaios com anfípodo.....22

Tabela 5 – Resumo das informações dos ensaios com substância de referência.....25

Tabela 6 – Profundidade e salinidade da água de fundo dos pontos de coleta da campanha preliminar.....27

Tabela 7 – Parâmetros físicos e químicos do ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana* – campanha preliminar.....28

Tabela 8 – Resultados do ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana*, com número de organismos vivos por réplica, média e desvio padrão de sobreviventes, e porcentagem de sobrevivência – campanha preliminar....29

Tabela 9 – Parâmetros físicos e químicos – campanha de inverno.....31

Tabela 10 – Porcentagens de Grânulos (Gran), Areia (Ar), Silte (Silt), Argila (Arg), Matéria Orgânica (MO), Carbono Orgânico (CO) e as classificações dos pontos por Folk e Ward e por Shepard – campanha de inverno.....32

Tabela 11 – Parâmetros físicos e químicos medidos em campo – campanha de verão.....34

Tabela 12 – Porcentagens de Grânulos (Gran), Areia (Ar), Silte (Silt), Argila (Arg), Matéria Orgânica (MO), Carbono Orgânico (CO) e as classificações dos pontos por Folk e Ward, e por Shepard – campanha de verão.....35

Tabela 13 – Resultados do ensaio com a substância de referência dicromato de potássio com *Tiburonella viscana*, com número de organismos sobreviventes por réplica e respectiva média e desvio padrão - 04/04/2014.....40

Tabela 14 – Resultados do ensaio com substância de referência dicromato de potássio com *Tiburonella viscana*, com número de organismos sobreviventes por réplica e respectiva média e desvio padrão - 29/09/2015.....40

Tabela 15 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Leptocheirus plumulosus*, com número de organismos sobreviventes por réplica com respectiva média e desvio padrão - 28/07/2014.....41

Tabela 16 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Leptocheirus plumulosus*, com número de organismos sobreviventes por réplica e respectiva média e desvio padrão - 26/08/2014.....41

Tabela 17 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Leptocheirus plumulosus*, com número de organismos sobreviventes por réplica e respectiva média e desvio padrão - 10/02/2015.....42

Tabela 18 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Nitokra* sp, com número de organismos sobreviventes e respectiva média e desvio padrão - 19/08/2014.....43

Tabela 19 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Nitokra* sp, com número de organismos sobreviventes e respetiva média e desvio padrão - 06/08/2014.....43

Tabela 20 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Nitokra* sp, com respetiva média e desvio padrão - 23/02/2015.....43

Tabela 21 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Lytechinus variegatus*, com número de larvas normais por réplica e respectiva média e desvio padrão - 13/08/2014.....44

Tabela 22 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Lytechinus variegatus*, com número de larvas normais por réplica e respectiva média e desvio padrão - 04/03/2015.....44

Tabela 23 – Parâmetros físicos e químicos medidos no ensaio de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus* – campanha de inverno.....46

Tabela 24 – Resultados do ensaio de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus*, com número de organismos sobreviventes por réplica, média e desvio padrão de sobreviventes, e porcentagem de organismos sobreviventes – campanha de inverno.....47

Tabela 25 – Parâmetros físicos e químicos medidos no ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana* – campanha de inverno.....49

Tabela 26 – Resultados do ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana*, com número de organismos sobreviventes por réplica, média e desvio padrão de sobreviventes, e porcentagem de organismos sobreviventes – campanha de inverno.....50

Tabela 27 – Parâmetros físicos e químicos do ensaio de interface sedimento/água com embriões de *Lytechinus variegatus* – campanha de inverno.....51

Tabela 28 – Resultados do ensaio de interface sedimento/água com embriões de *Lytechinus variegatus*, com número de larvas normais por réplica, média e

desvio padrão de larvas normais e porcentagem de larvas normais – campanha de inverno.....52

Tabela 29 – Parâmetros físicos e químicos medidos no ensaio de sedimento integral com *Nitokra* sp – campanha de inverno.....54

Tabela 30 – Resultados do ensaio de sedimento integral com *Nitokra* sp, com número de ovos por fêmea por réplica e sua respectiva média e desvio padrão – campanha de inverno.....55

Tabela 31 – Parâmetros físicos e químicos do ensaio de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus* – campanha de verão.....57

Tabela 32 – Resultados do ensaio de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus*, com o número de organismos sobreviventes por réplica, respectiva média e desvio padrão de sobrevivência e porcentagem de sobrevivência – campanha de verão.....58

Tabela 33 – Parâmetros físicos e químicos medidos no ensaio de interface sedimento/água com embriões de *Lytechinus variegatus* – campanha de verão 60

Tabela 34 – Resultados do ensaio de interface sedimento/água com embriões de *Lytechinus variegatus*, com número de larvas normais por réplica, média e desvio padrão de larvas normais, e porcentagem de larvas normais – campanha de verão.....61

Tabela 35 – Parâmetros físicos e químicos do ensaio com sedimento integral com *Nitokra* sp – campanha de verão.....62

Tabela 36 – Resultados do ensaio de sedimento integral com *Nitokra* sp, com número de ovos por fêmea por réplica e sua respectiva média e desvio padrão – campanha de verão.....63

Tabela 37 – Correlação de *Spearmann* da campanha de inverno, entre resultados dos ensaios, parâmetros ambientais e dos ensaios e granulometria.....68

Tabela 38 – Correlação de *Spearmann* da campanha de verão, entre resultados dos ensaios, parâmetros ambientais e dos ensaios e granulometria.....69

Tabela 39 – Ocorrência de toxicidade nos pontos pelos resultados do test t considerando os resultados tóxicos dos ensaios com os 4 organismos e de ambas as campanhas.....70

Tabela 40 – Ocorrência de toxicidade nos pontos pelos resultados do test t com bioequivalência considerando os resultados tóxicos dos ensaios com os 4 organismos e de ambas as campanhas.....72

SUMÁRIO

RESUMO..... i
ABSTRACT..... ii
LISTA DE FIGURAS..... iii
LISTA DE TABELAS..... vi
SUMÁRIO..... ix

1. INTRODUÇÃO..... 1
2. OBJETIVO..... 6
3. ÁREA DE ESTUDO..... 7
4. MATERIAIS E MÉTODOS..... 9
4.1 Demarcação dos pontos de coleta..... 9
4.2 Campanha preliminar..... 9
4.3 Campanhas definitivas – Inverno 2014 e Verão 2015..... 11
4.4 Análise sedimentológica..... 13
4.4.1 Matéria Orgânica..... 13
4.4.2 Peneiramento..... 14
4.4.3 Pipetagem..... 14
4.4.4 Carbono Orgânico Total..... 15
4.5 Organismos – teste..... 15
4.5.1 Copépodo - *Nitokra* sp..... 15
4.5.2 Anfípodo - *Tiburonella viscana* e *Leptocheirus plumulosus.* 16
4.5.3 Echinodermata - Lytechinus variegatus..... 18
4.6 Aclimatação dos organismos-teste..... 19
4.7 Ensaios ecotoxicológicos..... 20
4.7.1 Água e sedimento controle..... 20
4.7.2 Lavagem de vidraria..... 21
4.7.3 Ensaio crônico de sedimento total com *Nitokra* sp..... 21
4.7.4 Ensaio agudo de sedimento total com anfípodo..... 22
4.7.5 Ensaio embriolarval de interface sedimento-água com Lytechinus variegatus..... 22
4.7.6 Substância de referência..... 24
4.8 Análise de resultados..... 25

5 RESULTADOS..... 27
5.1 Campanha Preliminar..... 27
5.2 Parâmetros físicos, químicos e geológicos da área amostral..... 31
5.2.1 Campanha de Inverno..... 31
5.2.2 Campanha de Verão..... 34
5.2.3 Análise comparada..... 36
5.3 Ensaios ecotoxicológicos..... 40
5.3.1 Ensaio com substância de referência..... 40
5.3.2 Campanha de inverno..... 46
5.3.2.1 Ensaio de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus*..... 46
5.3.2.2 Ensaio com sedimento integral com *Tiburonella viscana*..... 48
5.3.2.3 Ensaio de interface sedimento-água com *Lytechinus variegatus*..... 51
5.3.2.4 Ensaio com *Nitokra* sp..... 53
5.3.3 Campanha de verão..... 57
5.3.3.1 Ensaio com *Leptocheirus plumulosus*..... 57
5.3.3.2 Ensaio de interface sedimento água com embriões de *Lytechinus variegatus*..... 59
5.3.3.4 Ensaio com *Nitokra* sp..... 62
5.4 Análise comparativa..... 64
6. DISCUSSÃO..... 75
6.1 Considerações sobre a área..... 75
6.2 Qualidade sanitária da região..... 75
6.3 Hidrodinamismo local..... 77
6.4 Granulometria da região..... 78
6.5 O petróleo na região..... 80
6.6 Organismos da região..... 82
6.7 Copépodos..... 83
6.8 Anfípodos..... 85
6.9 Equinodermatas..... 87
6.10 Considerações sobre os resultados..... 88
7. CONCLUSÕES..... 92
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 94

1. INTRODUÇÃO

O mar sempre foi utilizado como destino final de descartes humanos, devido a capacidade assimilativa dos oceanos, mas essa capacidade é finita e varia de acordo com os poluentes (Weber, 1992; Zagatto, 2006).

Após o século XVII a demanda por matéria prima, alimento e energia por combustíveis fósseis cresceram de forma desordenada (Weber, 1992). Segundo o mesmo autor, o homem sempre utilizou o oceano, inicialmente como fonte de alimento, posteriormente para meio de transporte e transporte de matérias primas, e também como deposito de dejetos.

Praticamente toda atividade humana constitui uma fonte de poluentes em potencial (Mozeto e Zagato, 2006). O aumento da população, levou a um aumento da atividade industrial e aumento da poluição (Fay *et al.,* 2004). Esse aumento populacional afeta diretamente a região costeira, por suportar cerca de 60% da população mundial, que vive em cidades costeiras ou próximas á elas (Sousa, 2002; Weber, 1992).

O ambiente marinho é mantido por um balanço delicado, a composição da água do mar é o resultado de um balanço biogeoquímico que vem se mantendo nos últimos 150 milhões de anos (Weber, 1992), já os ecossistemas são um conjunto de características químicas, bioquímicas, fisiológicas, de populações e comunidades e a introdução de elementos químicos pelo homem altera todo esse balanço (Oliveira, 2009; Weber, 1992; Luoma, 1996).

Segundo a Lei 6938 (1981) que dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, poluição é a degradação da qualidade ambiental resultante de atividades que direta ou indiretamente:

a) prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população;

b) criem condições adversas às atividades sociais e econômicas;

c) afetem desfavoravelmente a biota;

d) afetem as condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente;

e) lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões ambientais estabelecidos;

Essa poluição pode se dar por introdução pontual de poluente, efluentes líquidos, ou por introdução difusa, com lixiviação de terrenos agrícolas, sedimento e águas subterrâneas poluídas, acidentes ambientais

(Zagatto, 2006), segundo Luoma (1996) a poluição, não necessariamente, acontece em grande escala, a poluição moderada é mais difundida em ecossistemas costeiros.

Quando lançados no mar os poluentes são dispersos na coluna d'água, porém o destino final da maior parte dos poluentes é o sedimento, onde podem ser acumulados, transportado ou até mesmo disponibilizado novamente ao meio (Zamboni e Abessa, 2002; Melo e Abessa, 2002; Mozeto e Zagatto, 2006; Araújo *et al.*, 2006).

Os sedimentos são um importante compartimento do ecossistema aquático e principal destino de substâncias, isso se dá pela grande afinidade química entre poluentes orgânicos ao carbono orgânico, podendo esses poluentes permanecer associados a partículas de sedimento por grandes períodos, liberados na água intersticial ou mesmo para coluna d'água (Adans *et al,* 1992; Swartz *et al,* 1985; Lotufo e Abessa, 2002; Melo e Abessa, 2002; Mozeto e Zagato, 2006).

De acordo com Zamboni e Costa (2002) o sedimento representa uma fonte de poluentes para organismos a ele associado e para os da coluna d'água, que são habitat para diversas espécies. Nele são encontradas grandes quantidade de organismos, o bentos, de interesse comercial e importância ecológica. Grande parte destes organismos estão ligados a base da cadeia alimentar, podendo reciclar e disponibilizar nutrientes (Araujo *et al.,* 2006; Pires-Vanin, 2008; Corbisier *et al.*, 2008).

A exposição ao poluente depende do destino e biodisponibilidade (Luoma, 1996). Organismos bentônicos estão expostos tanto a fase sólida quanto a fase líquida (água intersticial) do sedimento (Araujo *et al.,* 2006), podendo entrar em contato com os poluentes do sedimento pela ingestão de partículas, contato com as paredes do corpo ou superfícies respiratórias (Power e Chapmam, 1992). Através desses organismos bentônicos, os poluentes do sedimento podem ser passados pela cadeia trófica (Sousa, 2002; Zamboni e Abessa, 2002), disponibilizando novamente esses compostos.

As primeiras abordagens para avaliar a poluição foram análises químicas, segundo Long *et al.* (1995), mas determinar concentrações de poluentes na água do mar e sedimento, ou mesmo em tecidos, não são suficientes para caracterizar as ações em nível de organismo, muito menos de

ecossistema (Luoma, 1996; Goodsir *et al.,* 2013). Entretanto as análises químicas dos poluentes do sedimento, embora não indiquem a ocorrência de efeitos biológicos, são necessárias para determinar o grau e a natureza da poluição (Zamboni e Abessa, 2002).

Com isso, de acordo com Chapman e Long (1983), tornou-se necessário o desenvolvimento de técnicas, com bases científicas, voltadas para o controle de poluentes na água do mar e o estabelecimento de níveis aceitáveis para o descarte de produtos, que integrassem o efeito á biota.

De acordo com Zagato (2006), a Ecotoxicologia justamente integra a ecologia, que estuda as interações entre os organismos e o ambiente, com a toxicologia, que estuda os efeitos adversos de substâncias num organismo, uma união necessária frente á poluição ambiente. Esta nova ciência tem como objetivo compreender e prever potenciais efeitos de substâncias químicas em comunidades biológicas, permitindo avaliar danos ocorridos e prever impactos futuros (Chapmam, 1995; Zagatto, 2006; Lotufo e Abessa, 2002).

Para fornecer o significado biológico dos poluentes na água do mar e constatar um possível desequilíbrio no ecossistema temos a Ecotoxicologia Marinha (Zagatto, 2006; Zamboni e Abessa, 2002).

Os ensaios ecotoxicológicos consistem na exposição de organismos teste frente a substâncias químicas ou amostras ambientais (Abessa, 2002), possibilitando determinar a resposta biológica de um poluente (Carr *et al.,* 1996), constituindo um importante instrumento para tomada de decisão (Cairns e Mount, 1990).

Normalmente concentrações maiores de substâncias produzem respostas agudas, e baixas concentrações respostas crônicas (Herricks, 2002), para isso os ensaios ecotoxicológicos podem ser realizados das duas formas. Os ensaios de forma aguda, avaliam efeitos severos, rápidos e frequentemente letais, sofridos pelo organismo num curto período de tempo, já ensaios crônicos mostram o risco potencial a longo prazo, contemplando parte do ciclo de vida (Mozeto e Zagato, 2006; Fonseca, 1991; Romanelli, 2004).

Além disso, é recomendado por Rand e Petrocelli (1985) que sejam usadas espécies sensíveis e ecologicamente representativas do meio, os testes precisam ser mais realísticos, resultados tem que ser quantificáveis, de

fácil realização, com baixo custo, os resultados úteis para avaliação de risco, e que os ensaios mostrem os efeitos no ambiente.

Segundo Araújo *et al.* (2006) sedimento é um dos compartimentos mais importantes a ser estudados na avaliação de nível de poluição, dada a capacidade de acumular compostos orgânicos e inorgânicos, além de ser o habitat de diversas espécies e fonte de alimentação para outras.

O sedimento serve quimicamente como registro histórico de poluição. Este ambiente representa uma fonte primária de poluentes para organismos bentônico e os que tem relação direta com a interface sedimento / água (Zamboni e Costa, 2002). Em decorrência da importância do sistema bentônico no oceano, tem crescido o número de pesquisas que analisam a qualidade do sedimento utilizando os próprios organismos bentônicos para avaliar a qualidade de um ambiente (Oliveira, 2009; Zaroni, 2006; Abessa, 2002).

De acordo com Bertoletti (2011) os anfípodos são os organismos mais utilizados em ensaios ecotoxicológicos com sedimento, sendo considerados o taxa mais sensível quando exposto a poluentes (Melo e Abessa, 2002). Estes organismos vêm sendo utilizados em ensaios ecotoxicológicos e demonstram sensibilidade a alguns compostos e amostras ambientais (Cariello, 2012; Zaroni, 2006; Abessa, 2002).

Outro grupo de organismos de interesse na área ecotoxicológica são os copépodos. Alguns estudos sobre o efeito de poluentes químicos sobre a comunidade bentônica indicam que estes organismos são mais susceptíveis aos efeitos de várias classes de poluentes, do que outros invertebrados meio-bentônicos (Lotufo e Abessa, 2002). Segundo os mesmos autores, o pequeno tamanho dos copépodos permite a utilização de uma quantidade reduzida de amostras, otimizando o espaço físico. Além disso, o fato de possuir um curto ciclo de vida torna viável a utilização da taxa de reprodução em ensaios ecotoxicológicos de efeito crônico, bem como em ensaios agudos.

Pela sensibilidade, amplo conhecimento de sua embriologia, facilidade de obtenção e manuseio e o sincronismo do seu desenvolvimento, fazem do ouriço do mar um excelente indicador biológico (Pavillom, 1988). São ensaios rápidos e de fácil realização (Mastroti, 2002), e a fase embriolarval é crítica para o crescimento normal dos ouriços e sensível para detectar efeitos da poluição do ambiente marinho (Prósperi e Araújo, 2002).

Segundo Prospori e Nascimento (2006) e Zagatto (2006), as fontes mais significativas de poluição no ambiente marinho são a descarga de efluentes urbanos, efluentes industriais, ação portuária e de marinas e resíduos de extração e transporte de petróleo. Este é exatamente o cenário da região do Canal de São Sebastião (CSS).

O CSS conta com o aporte de efluente de 3 emissários submarinos de resíduos domésticos e 1 de resíduos industriais, além da presença do Porto de São Sebastião e DTCS (Dutos do Terminal Centro Sul), por onde passa cerca de 55% do petróleo do país (Weber, 1992; Prósperi e Nascimento, 2006; Sousa, 2013). Essa região conta com monitoramento de água e sedimento (Pires-Vanin, 2008; CETESB, 2007). Apesar dos impactos, as áreas adjacentes não são contempladas com a mesma intensidade de estudos.

O Município de Caraguatatuba, localizado ao norte do CSS, segundo Castro *et al.* (2008) e Rodrigues (2009) a área recebe aporte de sedimento proveniente do canal, transporte esse que permanece constante durante o ano, sendo necessária uma análise da toxicidade deste sedimento assim como ocorre no CSS. Uma melhor compreensão dos ecossistemas auxilia para reduzir, mitigar os efeitos negativos das atividades humanas (Peters *et al.,* 1997).

Tendo isso em vista, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade ecotoxicológica do sedimento de Caraguatatuba, através de ensaios crônicos com embriões do ouriço *Lytechinus variegatus*, e de eclosão de ovos com o copépodo *Nitokra* sp, e ensaio agudo com avaliação de sobrevivência dos anfípodos *Tiburonella viscana* e *Leptocheirus plumulosus*.

2. OBJETIVOS

Geral

Avaliar a qualidade do sedimento da região de Caraguatatuba a partir de ensaios ecotoxicológicos.

Específico

- Analisar a qualidade do sedimento utilizando:
  - Diferentes organismos: equinodermo, anfípodos e copépodo.
  - Diferentes estágios de vida: sobrevivência de adultos, reprodutivo através de eclosão de ovos e desenvolvimento embriolarval.
  - Diferentes exposições: aguda e crônica; sedimento total e interface sedimento/água.
- Analisar a granulometria, matéria orgânica e carbono orgânico.
  - Verificar a influência desses fatores sobre os organismos através de correlação.
- Avaliar parâmetros abióticos ambientais e em laboratório.
  - Verificar a influências desses fatores sobre os organismos através de correlação.

3. ÁREA DE ESTUDO

O município de Caraguatatuba está localizado no Litoral Norte do Estado de São Paulo, a aproximadamente 175 km da cidade de São Paulo (CETESB, 2003). Caraguatatuba fica entre os municípios de Ubatuba, ao norte, e São Sebastião e Ilhabela ao Sul. O município possui 485 km^2, com 17 praias (Figura 1) sendo na Praia da Enseada, que faz divisa com São Sebastião, a desembocadura do Rio Juqueriquerê, o maior da região.

Figura 1 – Localização aproximada das praias do município de Caraguatatuba. (Imagem manipulada utilizando software Google Earth®).

Caraguatatuba tem o turismo como principal atividade no município, contando também com a pesca e o cultivo de mexilhões, concentrado na parte norte do município, próximo à Praia da Cocanha, além de ser sede da UTGCA (Unidade de Tratamento de Gás Caraguatatuba Monteiro Lobato) da Petrobras.

A linha de costa de Caraguatatuba é parcialmente abrigada pela presença da Ilha de São Sebastião ao sul, que diminui a ação de ondas oceânicas (Pincinato, 2007; Furtado *et al.,* 2008). Esta característica é ainda mais marcante ao sul do município, na Praia da Enseada, cujo baixo hidrodinamismo oceânico, e alto aporte de matéria vinda do Rio Juqueriquerê, formam uma planície de maré (Lopes *et al.,* 2007).

O município conta com a presença de duas ilhas, sendo a Ilha do Tamanduá próxima as praias de Tabatinga e Cocanha, a Ilha da Cocanha, próximas a Praia da Cocanha.

Quanto à qualidade sanitária da região, Caraguatatuba merece destaque, com tratamento de 100% dos 64 % de esgotos coletado na região, sendo o maior valor de ICTEM - Índice de Coleta e Tratabilidade de Esgotos da População Urbana de Municípios – segundo CETESB (2012). Esta condição pode ser afetada pela proximidade com os municípios de Ilhabela, que conta com tratamento de penas 11% dos 16% do esgoto coletado, e São Sebastião que trata 71% do esgoto, mas coleta apenas 46%, sendo que, em ambos os municípios, este esgoto é lançado por meio de emissário submarino diretamente no CSS (CETESB, 2007).

Além da qualidade sanitária, a proximidade com o CSS gera riscos de acidentes com derramamento de petróleo. Foram 232 acidentes registrados entre 1978 e 200 (Poffo *et al.,* 2001). No último derramamento em 2013, foram derramados cerca de 3.500 L de óleo, e a mancha chegou até a região da praia da Cocanha, atingindo os cultivos de mexilhões, que precisaram ser descartados e o cultivo foi suspenso na região (G1, 2013). O óleo foi observado nas praias de Mococa, Massaguaçu e Capricórnio (CETESB, 2013).

O fluxo de materiais vindos do CSS acontece devido a direção de correntes. O transporte de água superficial provinda do CSS para Caraguatatuba depende da direção do vento, dependendo das condições climáticas, com ventos de direção NE (nordeste) ou SW (sudoeste), porém o transporte e deposito de sedimento é predominantemente á NE (Castro *et al.,* 2008; Rodrigues, 2009), de encontro à Caraguatatuba. As correntes de deriva podem depositar material na planície da Praia da Enseada de Caraguatatuba, ou seguir adiante, podendo atingir as praias de Martins de Sá e Prainha, ou ainda seguir em direção à Praia da Cocanha, mais ao norte do município (Furtado, 1978; Rodrigues, 2009).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Demarcação dos pontos e coleta

Os pontos de coleta foram distribuídos na região do litoral de Caraguatatuba. Ao Norte, desde a Praia de Tabatinga, e ao Sul, no Canal de São Sebastião, com uma distância aproximada de 2 km entre os pontos.

Todas as campanhas para coletas de amostras foram realizadas a bordo do B/pq Veliger II. A localização dos pontos foi obtida com o GPS (*Global Position System*), da própria embarcação.

As coletas das amostras de sedimento foram realizadas com auxílio de um pegador de fundo do tipo Van-Veen. O sedimento foi homogeneizado e armazenado em sacos plásticos duplos e etiquetados. As amostras foram armazenadas em caixas térmica com gelo, mantendo a temperatura aproximada de 4 °C até o desembarque, quando os sacos de sedimento foram armazenados em geladeiras, até o momento do ensaio, de acordo com os procedimentos descritos em ABNT NBR 15469 (2015) e CETESB (2012).

4.2 Campanha preliminar

Foi realizada uma campanha preliminar no dia 27 de fevereiro de 2014 para reconhecimento da região e, posteriormente, para a determinação dos pontos definitivos de coleta. Foram coletadas amostras em 15 pontos (Tabela 1 e Figura 2).

Tabela 1 – Coordenadas dos pontos da campanha preliminar.

Ponto	Localização
P1	23° 43.240’ S 45° 23.681’ O
P2	23° 43.224’ S 45° 24.214’ O
P3	23° 42.634’ S 45° 23.870’ O
P4	23° 41.747’ S 45° 24.007’ O
P5	23° 41.709’ S 45° 24.740’ O
P6	23° 39.682’ S 45°24.722’ O
P7	23° 38.509’ S 45° 23.374’ O
P8	23° 38.013’ S 45° 22.952’ O
P9	23° 38.043’ S 45° 22.075’ O
P10	23° 37.571’ S 45° 21.279’ O
P11	23° 38. 009’ S 45° 20.587’ O
P12	23° 36.540’ S 45° 20.239’ O
P13	23° 36.402’ S 45° 20.638’ O
P14	23° 36.215’ S 45° 18.112’ O
P15	23° 34.833’ S 45° 16.819’ O

Figura 2 – Localização dos pontos de coleta da campanha preliminar. (Imagem feita com software Google Earth®)

Para avaliação dos parâmetros em campo foram utilizados: a ecossonda da embarcação para profundidade, o refratômetro ATAGO S/Mill para salinidade.

4.3 Campanhas definitivas – Inverno 2014 e Verão 2015

Os pontos definitivos foram definidos a partir dos resultados dos ensaios da campanha preliminar, totalizando 21 pontos por campanha, distribuídos por toda a costa de Caraguatatuba, dispostos de forma a abranger áreas de deposição, desembocaduras de rios e do Canal de São Sebastião, de acordo com o apresentado na figura 3 e descrito na tabela 2.

Tabela 2 – Coordenadas dos pontos de campanhas definitivas.

Ponto	Localização
P1	23° 43.297’ S 45° 22.366’ O
P2	23° 43.240’ S 45° 23.681’ O
P3	23° 42.865’ S 45° 24.601’ O
P4	23° 42.289’ S 45° 23.883’ O
P5	23° 41.121’ S 45° 24.062’ O
P6	23° 41.443’ S 45° 25.033’ O
P7	23° 40.004’ S 45° 24.979’ O
P8	23° 39.753’ S 45° 23.894’ O
P9	23° 38.688’ S 45° 24.578’ O
P10	23° 38.131’ S 45° 23.578’ O
P11	23° 38.882’ S 45° 22.756’ O
P12	23° 37.873’ S 45° 22.842’ O
P13	23° 37.794’ S 45° 21.863’ O
P14	23° 37.332’ S 45° 21.074’ O
P15	23° 36.410’ S 45° 20.491’ O
P16	23° 37.236’ S 45° 20.153’ O
P17	23° 36.353’ S 45° 19.347’ O
P18	23° 35.110’ S 45° 19.244’ O
P19	23° 35.960’ S 45° 18.125’ O
P20	23° 34.664’ S 45° 18.071’ O
P21	23° 34.672’ S 45° 16.995’ O

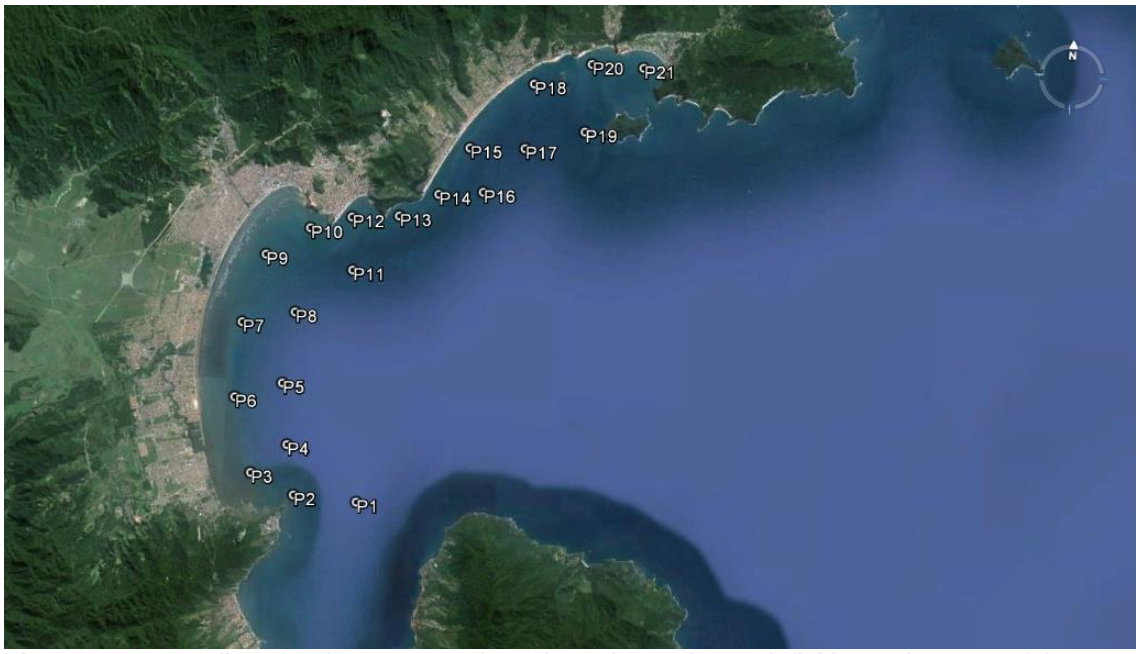

Figura 3 – Localização dos pontos de coleta das coletas definitivas. (Imagem feita com software Google Earth®)

As medidas de parâmetros físicos e químicos em campo foram feitas próximas ao sedimento, utilizando a sonda multiparâmetros HORIBA® para pH, oxigênio dissolvido, temperatura, salinidade, já para a profundidade foi utilizada a ecossonda da embarcação e para medida de penetração de luz o disco de Secchi.

As datas de cada campanha estão descritas na tabela 3.

Tabela 3 – Data de amostragem e respectivos pontos.

	Data
Inverno	04/07/2014 05/07/2014 06/07/2014
Verão	27/01/2015 28/01/2015 29/01/2015

4.4 Análise sedimentológica

4.4.1 Matéria Orgânica

Seguindo o método descrito por Suguio (1973), as amostras de sedimento foram dispostas em placas de Petri e liofilizadas por 48 horas, para retirada total da água e secagem do material.

Foram colocadas 30g da amostra de sedimento seco, colocadas em um Becker de 500 mL e adicionada uma solução de 10% de peróxido de

hidrogênio (H_2O_2) até que o sedimento estivesse totalmente coberto. Durante este processo, a matéria orgânica foi separada do sedimento, ficando na fração aquosa, está fração foi retirada e substituída por solução de H_2O_2 sucessivamente, até que a fração aquosa ficasse transparente.

Após este processo o material foi lavado com água destilada para retirada do H_2O_2, e levado a estufa para secar. A matéria orgânica presente na amostra de sedimento foi dada em porcentagem, calculando a diferença entre o peso inicial e final da amostra:

$$\%\mathbf{MO} = \frac{\mathbf{peso\ inicial - peso\ final}}{\mathbf{100}}$$

Este processo foi realizado, também, por auxiliar na desagregação dos grânulos, conforme recomendado por Suguio (1973) como parte do preparo da amostra, antecedendo os processos de peneiramento e pipetagem.

4.4.2 Peneiramento

A amostra de sedimento, sem matéria orgânica, passou por peneiramento úmido em peneira com malha de 0,062 mm, o material que passou pela peneira foi utilizado no processo de pipetagem. Com o conteúdo retido na peneira foi realizado o processo de peneiramento seco (Mahiques, 1987).

A amostra retida na peneira foi seca em estufa e peneirado em um jogo de peneiras com malhas com intervalo de 0,5 fi (entre 2 mm e 0,062 mm) utilizando um peneirador RO-TAP. O material retido em cada peneira foi pesado para determinar a identificação do tipo de material e sua porcentagem, como proposto por Suguio (1973).

4.4.3 Pipetagem

O material fino (< 0,062 mm) foi pesado em peneira semi analítica e colocado em uma proveta de 1 L com adição de 1 g de pirofosfato de sódio ($Na_4P_2O_7$) e uniformizado por agitação. Foram retiradas alíquotas de água, em um tempo e profundidade determinado, que foram secas e pesada conforme descrito por Suguio (1973).

4.4.4 Carbono Orgânico Total

Em um erlenmeyer com capacidade de 1 L foram adicionados 0,3 g de sedimento liofilizado e pulverizado, 10 ml de dicromato de potássio (K_2CrO_7) 1 N e 20 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4). Após um repouso de 30 minutos, foi acrescida água destilada para completar 200 ml, 10 ml de ácido fosfórico (H_3PO_4) 85%, 0,2 g de fluoreto de sódio (NaF) e 7 gotas de indicador difenilamina. Após estas adições, a solução foi titulada com adição de uma solução de sulfato ferroso amoniacal (Fe $(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$)0,5 N até que a cor mudasse de azul para verde brilhante. O volume da solução de sulfato ferroso amoniacal utilizado na titulação foi utilizado no cálculo para determinação do percentual de carbono orgânico total, segundo o método Walkley-Black (Gaudette *et al.*, 1974), a partir do cálculo:

%C.org= V*(1-T/TBr)*0,003*N*(100/m)

Onde:
V= volume de dicromato de potássio utilizado (ml)
N= normalidade do dicromato
T= volume do sulfato ferroso amoniacal gasto na amostra (ml)
TBr= volume de sulfato ferroso amoniacal gasto no branco (ml)
m= peso da amostra de sedimento (g)
0,03= mili equivalente em peso de carbono

4.5 Organismos – teste

4.5.1 Copepodo - *Nitokra* sp

Nitokra sp Boeck, 1985, pertence ao filo Arthropoda, subfilo Crustacea, classe Maxillopoda, subclasse Copepoda, ordem Harpacticoida, família Ameridae. Os copépodos Harpacticoida de vida livre são organismos bentônicos que vivem geralmente no substrato entre os grãos de areia e a água intersticial. O gênero *Nitokra* possui corpo delgado, formato vermiforme e dimensões pequenas (Figura 4). O hábito alimentar da maioria dos harpacticoidas consiste de microrganismos e detritos (Ruppert e Barnes, 1994).

Figura 4 – *Nitokra* sp adulto não ovado. (Foto de Eduardo Massami Kitahara)

O copépodo *Nitokra* sp possui dimorfismo sexual e sua fertilização é realizada por cópula, possui 12 estágios de desenvolvimento, sendo 6 estágios de náuplio, 5 estágios de copepodito e o último estágio como adulto (Boltovskoy, 1999), totalizando um ciclo de aproximadamente 20 dias (Lotufo e Abessa, 2002).

Esta espécie de copépodo foi coletada no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia – SP, próximo aos bancos de *Spartinna* sp, e mantido em cultivos no Laboratório de Ecotoxicologia Marinha e Microfitobentos (LEcotox) do IO-USP A salinidade do cultivo é de 20 ± 1, mantido sob fotoperíodo natural e temperatura de 23 ± 2 °C, conforme proposto por Lotufo e Abessa (2002).

Os organismos são alimentados 3 vezes por semana com um composto a base de ração para peixes em flocos (TetraMin®) fermentada e um *pool* de microalgas centrifugadas (*Tetracelmis gracilis, Chaetoceros gracilis, Clorophyceae* sp, *Dunaliella tertiolecta, Hullea* sp, *Isochrysis galbana, Nannoclhoropsis* sp, *Odontela* sp, *Pavlova lutheri, Synechococcus subsalsus, Thalassiosira oceânica, Protocentrum minimum*).

4.5.2 Anfípodo - *Tiburonella viscana* e *Leptocheirus plumulosus*

Ambos os organismos pertencem ao filo Arthropoda, subfilo Crustacea, classe Malacostraca, subclasse Eumalacostraca, superordem Peracarida, ordem Amphipoda, sendo o *Tiburonella viscana* (J.L. Barnard, 1964) da família Platyischnopidae e o *Leptocheirus plumulosus* (Shoemaker, 1932) da família Corophiidae.

Anfípodos são um grupo muito comum e diverso nos mares (Rupert *et al.,* 2005), sendo o *Tiburonella viscana* e o *Leptocheirus plumulosus* anfípodos escavadores que se alimentam da matéria orgânica contida no sedimento e pequenos organismos, como copépodos.

O desenvolvimento de ambas as espécies de anfípodos é direto, podendo ser diferenciado em neonato, jovem e adulto por peneiramento, de acordo com a malha da peneira utilizada.

Leptocheirus sp é uma espécie exótica (Figura 5), encontrada em regiões estuarinas que se estendem de Massachusetts ao norte da Flórida (Bousfield, 1973), vivem em sedimento lodoso e toleram uma grande faixa de salinidade (0 a 30). Este organismo é cultivado no LEcotox, em recipientes de vidro com, aproximadamente, 2 cm de sedimento e 2 L de água reconstituída com salinidade 20 ± 1, com fotoperíodo natural, temperatura de 23 ± 2 °C e aeração constante. A alimentação e a troca parcial da água do cultivo são realizadas duas vezes por semana, com adição de um macerado de alimento em flocos para peixes, *Tetra Min®.* O sedimento do cultivo é trocado a cada 40 dias, para repor a matéria orgânica.

Figura 5 – *Leptocheirus plumulosus* adulto não ovado. (ABNT NBR 15638, 2015)

O *Tiburonella viscana* é nativo brasileiro (Figura 6), encontrado em sedimento areno-lodoso na região sudeste brasileira (Melo e Abessa, 2002). Até o momento não foi possível sua criação em laboratório, sendo necessária à coleta do organismo em campo. Sua coleta foi realizada com auxílio de uma

draga com malha de 0,5 mm, arrastada manualmente na região entre marés durante baixa-mar em Ilhabela –SP.

Figura 6 – *Tiburonella viscana* adulto não ovado. (ABNT NBR 15638, 2015)

4.5.3 Echinodermata - Lytechinus variegatus

Lytechinus variegatus (Lamark, 1816) pertence ao filo Echinodermata, subfilo Echinozoa, classe Echinoidea, subclasse Euchinoidea, ordem Camarodonta, família Toxopneustidae.

Possui espinhos finos e curtos e uma carapaça levemente achatada, com cores que variam entre verde e roxo, e não possui dimorfismo sexual aparente (Figura 7).

Figura 7 – *Lytechinus variegatus* adulto liberando líquido espermático (Cariello, 2012).

Este organismo é bentônico, vive em costões rochosos, pode ser encontrado desde a zona entre marés até cerca de 20 m de profundidade, sua alimentação consiste de macroalgas, que também são usadas para recobrir o organismo, assim como restos de conchas e carapaças. Sua ocorrência vai da Carolina do Norte (EUA) a costa sudeste brasileira (ABNT NBR 15350, 2012; Prósperi e Araujo, 2002).

Para o ensaio foram coletados cerca de 20 organismos na Ilhabela - SP, trazidos ao laboratório e mantidos em tanque com água do mar, aeração constante e fotoperíodo natural.

4.6 Aclimatação dos organismos-teste

Tanto o copépodo *Nitokra* sp quanto o anfípodo *Leptocheirus plumulosus* são mantidos em salinidade de 20 ± 1, porém podem sobreviver e se reproduzir em uma ampla faixa de salinidade, sendo entre 5 e 30 para *Nitokra* sp (Melo e Abessa, 2002), e 0 e 30 para *Leptocheirus plumulosus* (Cariello, 2012). Para que os organismos não fossem expostos bruscamente a uma variação grande de salinidade durante os ensaios, a salinidade dos cultivos foi alterada de forma gradual em novembro de 2013, com a troca de água do cultivo a cada 20 dias com aumento de aproximadamente 4 de salinidade, até alcançar 34 ± 2. Em cada troca os organismos foram observados para verificar o sucesso do cultivo.

Mesmo indo além da faixa de tolerância descrita para os organismos, os cultivos mostraram sucesso na aclimatação na salinidade 35. Após o estabelecimento do cultivo na salinidade de 35, a quantidade de organismos nos cultivos de *L. plumulosus*, que era inicialmente 200, ultrapassou 1200, contando apenas o estágio juvenil (retidos entre as malhas de 700 e 500 µm). Os cultivos de *Nitokra* sp aumentaram a densidade de organismos, não foram contados, porém em todas as observações dos cultivos foram observadas fêmeas ovadas, necessárias aos ensaios.

No caso do *Tiburonella viscana*, não houve necessidade de alteração na salinidade. A aclimatação dos organismos, da coleta até o período do ensaio, foi feita em recipientes com água do mar e sedimento coletados no mesmo local que o organismo, sendo mantidos com aeração constante, temperatura de 23 ± 2 ºC e fotoperíodo natural.

Exemplares adultos do ouriço *Lytechinus variegatus* foram coletados e mantidos em tanques com água do mar com aeração constante e temperatura de 23 ± 2 ºC. A qualidade da água foi mantida por um Skimmer *Bubble magus®,* para diminuir a quantidade de proteínas na água sem a necessidade da troca da mesma. Semanalmente foram monitorados os parâmetros salinidade e pH da água, mantendo a salinidade entre 34 ± 2, e o pH de aproximadamente 8,5.

4.7 Ensaios ecotoxicológicos

4.7.1 Água e sedimento controle

A água utilizada nos cultivos dos organismos no Lecotox foi a mesma utilizada nos ensaios com *Leptocheirus plumulosus* e *Nitokra* sp. Esta água foi preparada com adição de Sal Marinho *Red Sea Fish Farm®* em água deionizada/destilada, preparada com 24 horas de antecedência e mantida sob aeração constante até o momento da utilização. Para *Tiburonella viscana* foi utilizada água do mar natural de boa procedência, coletada em Ubatuba ou Ilhabela. Seguindo os procedimentos descritos em ABNT NBR 15638 (2015).

O sedimento utilizado como controle nos ensaios com *L. plumulosus* e com o *Nitokra* sp foi o mesmo utilizado nos cultivos dos organismos no laboratório. Este sedimento foi coletado na região do município de Cananéia, e

peneirado em malha 250 µm, acondicionado em potes plásticos e mantido congelado até o momento do uso.

Para o ensaio com *T. viscana* o sedimento utilizado como controle foi coletado no mesmo local que o organismo, passou por peneiramento em malha de 500 µm, armazenado em potes de plástico e mantidos refrigerados até o momento de sua utilização.

Seguindo o proposto por Mastroti (2002) e descrito ABNT NBR 15350 (2012), para o ensaio com *Lytechinus variegatus* a água utilizada no ensaio, tanto nas amostras, quanto como controle e nas diluições de DSS, foi a mesma utilizada para acondicionar os gametas durante sua extração e diluição dos mesmos. Esta água foi coletada junto com os organismos na região do município de Ubatuba ou Ilhabela, e filtrada em membrana millepore de 45µm.

4.7.2 Lavagem de vidraria

Toda vidraria utilizada nos ensaios foi submetida ao processo de lavagem descrito por Badaró-Pedroso *et al.* (2002), ABNT NBR 15638 (2015) e ABNT NBR 15350 (2012). Todo material foi lavado com Extran 10%, enxaguados 10 vezes em água de torneira. Após essa lavagem, os materiais plásticos ficaram de molho no ácido Nítrico (5%) por 24 horas, os vidros passam por uma lavagem com acetona PA e enxaguados antes de irem ao ácido, os materiais de metal apenas passam pela acetona e foram enxaguados em água destilada/deionizada 3 vezes. Após as 24 horas no ácido, os materiais de vidro e plástico foram enxaguados 3 vezes em água destilada/deionizada.

Todos os materiais foram secos em temperatura ambiente e armazenados em local livre de contaminantes.

4.7.3 Ensaio crônico de sedimento total com *Nitokra* sp

O ensaio com sedimento total com *Nitokra* sp foi realizado segundo o método descrito por Lotufo e Abessa (2002). Foram utilizados recipientes de acrílico com tampa como frasco teste, com 4 réplicas por amostra. Em cada recipiente foi adicionado cerca de 2 g de sedimento da amostra e 10 mL de água reconstituída. Em cada réplica foram adicionadas 10 fêmeas ovadas de *Nitokra* sp, e o ensaio mantido por 10 dias em temperatura de 23 ± 2 °C com fotoperíodo natural.

Para o encerramento do ensaio foi adicionado uma solução de corante de Rosa de Bengala (1g de Rosa de Bengala para 1 L de formol á 10%, CETESB (2011)) para preservar e corar os tecidos vivos. Posteriormente, o número de adultos, copepoditos e náuplios de cada amostra foram triados sob estereomicroscópio. O valor de eclosão por amostra foi obtido a partir da fórmula:

$$\textbf{Eclosão} = \frac{\textbf{Nº de copepoditos} - \textbf{Nº de náuplios}}{\textbf{Nº de adultos}}$$

4.7.4 Ensaio agudo de sedimento total com anfípodo.

Os ensaios de efeito agudo com os anfípodos *Leptocheirus plumulosus* e *Tiburonella viscana* seguiram o método descrito em ABNT NBR 15638 (2015). Foram utilizados potes de polietileno como frasco-teste, sendo feitas 4 réplicas por amostra, adicionando cerca de 175 ml de sedimento e 725 ml de água de diluição em cada réplica. Os frascos-teste foram preparados 24 horas antes do início do ensaio, e mantido com aeração até o momento da adição dos organismos.

O ensaio foi mantido pelo período de 10 dias, com fotoperíodo natural e temperatura de 23 ± 2 °C.

Tabela 4 – Resumo das informações dos ensaios com anfípodo

	Organismo	Nº de organismo	Água de diluição
1º ensaio	*Leptocheirus plumulosus*	15	Água reconstituída
2º ensaio	*Leptocheirus plumulosus*	20	Água reconstituída
1º ensaio	*Tiburonella viscana*	15	Água do mar

Ao encerramento do ensaio, cada amostra foi peneirada em malha de 0,5 mm com a captura dos organismos e observação sob esteromicroscópio, sendo contados organismos vivos e mortos. Os organismos não encontrados no peneiramento foram considerados mortos.

4.7.5 Ensaio embriolarval de interface sedimento-água com Lytechinus variegatus.

No ensaio de interface sedimento/água com embriões de *L variegatus* foi utilizado o método descrito por Cesar *et al.* (2004).

Como frasco teste foram utilizados tubos de ensaio, em cada tubo foram adicionados 2 ml de sedimento, cobertos por uma membrada de malha de plâncton (2 µm de poro), presa por um anel de polipropileno. Foram montadas 4 réplicas por amostra para o ensaio e 1 para medir os parâmetros físicos e químicos. Em seguida, foi adicionado 8 ml de água do mar filtrada, sem que houvesse ressuspensão do sedimento. O controle do ensaio foi feito com adição de 10 ml de água reconstituída e 4 réplicas.

A obtenção dos gametas seguiu o método de ABNT NBR 15350 (2012) e Prósperi e Araujo (2002).

Por *L variegatus* não possuir dimorfismo sexual externo aparente, a diferenciação se dá somente no momento da liberação dos gametas, sendo os espermatozoides um líquido esbranquiçado, que foi coletado com o auxílio de uma pipeta Pasteur e mantido em Becker sobre o gelo. Os óvulos são alaranjados, e foram liberados pelas fêmeas direto em um Becker com água do mar filtrada. Para induzir a liberação dos gametas foram injetados cerca de 3 mL de cloreto de potássio (KCL 0,5 M) pela membrana perioral na região ventral, os gametas foram liberados na região dorsal. Foram utilizados gametas de pelo menos 3 machos e 3 fêmeas.

Os óvulos foram passados por uma peneira, para retirada de partículas maiores, e lavados, cerca de 3 vezes, adicionando água do mar filtrada, agitando os óvulos, aguardando a decantação e removendo o sobrenadante. Com isso, ao final da lavagem, os óvulos foram concentrados em um Becker. Em microscópio, os óvulos foram observados para verificar sua formação e estado de maturação.

Os espermatozoides foram diluídos, sendo 0,5 ml de espermatozoides para 24,5 ml de água do mar filtrada, após agitar, 1 ml dessa solução foi adicionado ao Becker contendo os óvulos.

A fecundação dos óvulos é constatada pela observação de membrana de fecundação (Figura 8A).

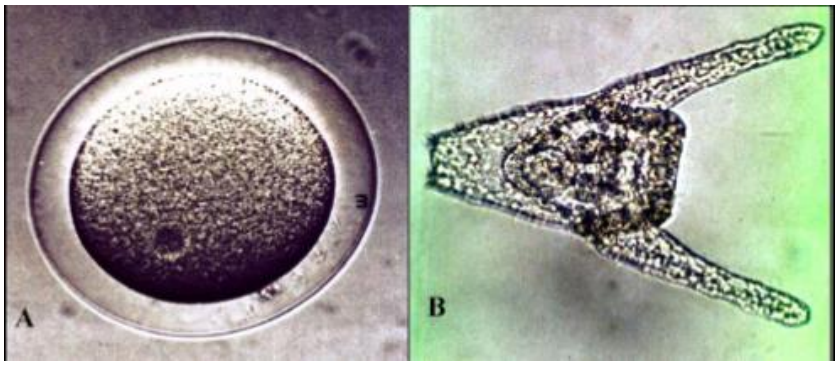

Figura 8- A – óvulo fecundado com presença de membrana de fecundação; B – larva plúteo. (Oliveira, 2004)

Cada tubo de ensaio recebeu cerca de 300 óvulos recém fecundados, com volume máximo de 100 µL. Para determinar o volume da solução de ovos, foram preparadas três soluções com 1 mL de ovos em 99 mL de água de diluição, e contados em lâmina Sedwick Rafter em microscópio ótico.

As amostras, com os ovos, foram mantidas em temperatura de 25 ± 2 °C, por cerca de 24 horas.

Para o encerramento do ensaio, o conteúdo de uma réplica do controle foi observado no microscópio, com a formação normal de 80% de larvas plúteos (Figura 8B), o ensaio pôde ser encerrado. O conteúdo líquido dos tubos foi transferido para potes de acrílico, contendo 0,5 ml de formol 10% tamponado com bórax.

A análise das amostras é feita pela contagem em microscópio das 100 primeiras larvas observadas, diferenciando entre normais e afetadas.

4.7.6 Substância de referência

Substâncias de referências são utilizadas para testar a sensibilidade do lote de organismos a ser utilizado, objetivando diminuir a possibilidade de erros no manuseio do organismo durante o ensaio, e torná-lo reprodutível e comparável a outros ensaios realizados (Zagatto, 2006).

Diversas substâncias são utilizadas como referência, sua seleção segue diversos critérios, como: estabilidade da substância, facilidade de manuseio, solubilidade; entre elas, as substâncias mais utilizadas no LEcotox são o Dodecil Sufato de Sódio (DSS) e Dicromato de Potássio.

Os ensaios com substâncias de referência são utilizados na elaboração de uma carta controle, na qual é estabelecido valor máximo e mínimo de CL_{50}

para uma determinada substância em um determinado período de tempo, e, quando reproduzido este ensaio, deve ter resultado com valor dentro dos limites da carta controle, para que sensibilidade do organismo seja aceitável.

Pela existência de cartas controle para os organismos-teste utilizados neste estudo, foram utilizadas como substâncias de referência o DSS ($C_{12}H_{25}SO_4Na$) e Dicromato de Potássio ($K_2Cr_2O_7$).

Tabela 5 – Resumo das informações dos ensaios com substância de referência

	Substância	Concentrações	Nº de organismos	Tempo de exposição	Referência
Nitokra sp.	DSS	4, 6, 8, 10 e 12	10	96 horas	Cariello, 2012
Leptocheirus plumulosus	DSS	0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0	10	96 horas	Cariello, 2012
Lytechinus variegatus	DSS	0,32; 0,63; 1,25; 2,5 e 5,0	10	24 horas	Cariello, 2012
Tiburonella viscana	Dicromato de sódio	1; 5; 10; 50 e 100	10	48 horas	Abessa, 2002

O ensaio com substância de referência foi realizado em paralelo com os ensaios com as amostras ambientais. Para cada concentração foram feitas 4 réplicas.

4.7.7 Análise de resultados

Para análise dos resultados foi utilizado a análise de variância (ANOVA), para isso, o número de sobrevivente, larvas normais, ou eclosão por amostra foram submetidas à análise de normalidade com teste de Shapiro Wilks e avaliação de homocedasticidade com teste F. Para as amostras que não passaram em um dos testes foi aplicada transformação de log ou arco seno da raiz quadrada.

A toxicidade foi contatada pela diferença significativa indicada pelo test t, para todos os organismos em todas as amostras. Esse teste compara cada amostra individualmente com o controle, e estas são consideradas diferentes quando $p<0,05$.

Também foi aplicado o test t com bioequivalência, esse teste é sugerido pois considera a variação natural de cada espécie, diminuindo a ocorrência de resultados falso positivo e falso negativo. A bioequivalência não foi aplicada aos resultados com *Nitokra* sp. por não existir um valor

determinado para a espécie. Para as demais espécies foi utilizado o valor de bioequivalência: *Leptocheirus plumulosus* – 0,80 (Bertoletti, 2011); *Tiburonella viscana* – 0,69 (Abessa *et al.*, 2007); *Lytechinus variegatus* – 0,91 (Bertoletti, 2007).

No ensaio com substância de referência, foi utilizado o método estatístico *Trimmed Spearman-Karber* (Hamilton *et al.,* 1977) e aplicada correção de *Abbott,* como descrito em (Nipper*,* 2002), para estimar a CE_{50}.

Para correlação entre resultados, parâmetros físicos e químicos e granulometria foi utilizada a correlação de *Spearman.*

5. RESULTADOS

5.1 Campanha Preliminar

A profundidade e a salinidade dos pontos de coleta de sedimento medidos em campo estão na Tabela 6, a seguir.

Tabela 6 – Profundidade e salinidade da água de fundo dos pontos de coleta da campanha preliminar.

	Profundidade (m)	Salinidade
P1	7	34
P2	3,8	34
P3	7	34
P4	7,2	27
P5	4,1	26
P6	4,2	34
P7	5,9	35
P8	4	35
P9	6	36
P10	6,1	36
P11	9	35
P12	8	36
P13	6	36
P14	11	36
P15	3,8	35

Os pontos de coleta mais rasos foram P2 e P15, ambos com 3,8 m, o mais profundo foi em P14, com 11 m.

A menor salinidade foi em P5 com 26, seguido de P4 com 27, os demais pontos obtiveram salinidade entre 34 e 36.

Os parâmetros físicos e químicos medidos ao início e final do ensaio estão descritos na tabela 7, a seguir.

Tabela 7 – Parâmetros físicos e químicos do ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana* – campanha preliminar.

	Salinidade		pH		Oxigênio Dissolvido (mg/L)		NH_4 (mg/L)	NH_3 (mg/L)
	Inicial	**Final**	**Inicial**	**Final**	**Inicial**	**Final**	**Inicial**	**Inicial**
C	35	35	8.36	8.98	8.3	11.4	0	0.00
P1	34	35	8.36	9.06	8.2	10	0.39	0.04
P2	34	35	8.36	9.21	8.6	10.3	0.55	0.05
P3	35	36	8.34	9.01	8.4	10.3	0.47	0.05
P4	35	35	8.3	9.11	8.4	10.8	0.55	0.05
P5	35	36	8.33	9.12	8.6	10.1	0.55	0.05
P6	35	36	8.1	9	5.6	10.2	0.28	0.02
P7	34	35	8.34	8.94	7.7	10.4	0.49	0.05
P8	35	36	8.15	9.14	6.7	9.9	0.43	0.03
P9	35	35	8.3	8.96	6.2	11	0.43	0.04
P10	35	36	8.32	8.84	7.8	10	0.12	0.01
P11	34	36	8.38	8.98	8.1	10.9	0.12	0.01
P12	35	36	8.44	8.9	9.2	9.8	0.5	0.06
P13	34	36	8.4	8.88	8.3	10.4	0.14	0.02
P14	34	36	8.42	8.88	8.6	10.8	0.15	0.02
P15	35	36	8.21	8.9	8.7	10.7	0.55	0.04

Valor acima do esperado / tolerado pelo organismo

Os valores de salinidade variaram entre a medida inicial e final, sempre com aumento, ficando entre 35 e 36, valor ideal para o organismo (Melo e Abessa, 2002). O pH também apresentou um aumento para ao final do ensaio, todos os pontos ficaram acima do esperado para água do mar, de 8,5. Para oxigênio dissolvido, todos os pontos apresentaram um valor bem acima do recomendado para ensaios (4 mg/L (Aragão e Araujo, 2006)) e os valores de NH3 ficaram abaixo do valor de tolerância dos organismos em todos os pontos, que é de 0,3 NH_3 (Bertoletti, 2011).

Os resultados do ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana* estão descritos na tabela 8 e apresentados na figura 9.

Tabela 8 – Resultados do ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana*, com número de organismos vivos por réplica, média e desvio padrão de sobreviventes, e porcentagem de sobrevivência – campanha preliminar.

	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio padrão	% de sobrevivência
C	9	6	6	7.0	1.7	70%
P1	6	8	8	6.7	1.2	67%
P2	6	7	5	6.0	1.0	60%
P3	3	8	4	5.0	2.6	50%
P4	7	2	4	4.3	2.5	43%
P5	2	5	2	3.0	1.7	30%
P6	5	7	6	6.0	1.0	60%
P7	5	9	5	6.3	2.3	63%
P8	6	7	10	7.7	2.1	77%
P9	5	5	7	5.7	1.2	57%
P10	6	6	8	6.7	1.2	67%
P11	3	10	8	7.0	3.6	70%
P12	7	7	8	7.3	0.6	73%
P13	8	8	6	7.3	1.2	73%
P14	5	7	5	5.7	1.2	57%
P15	7	4	6	5.7	1.5	57%

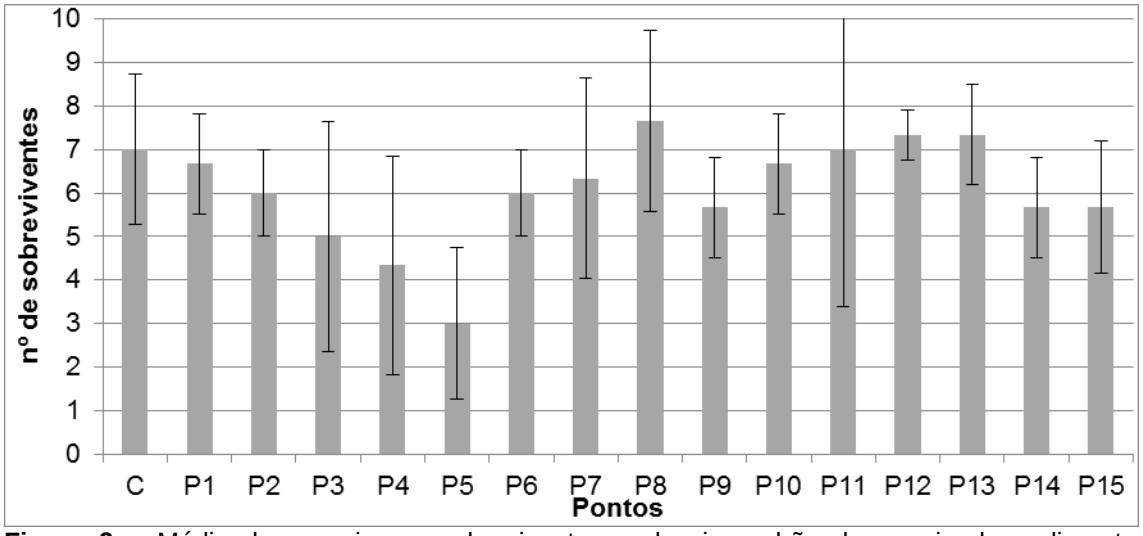

Figura 9 – Média de organismos sobreviventes e desvio padrão do ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana* – campanha preliminar

A maior sobrevivência média foi observada em P8 com 77%, e a menos foi em P5, com 30%, apresentando uma diferença significativa com o controle ($p < 0,05$) no Test t.

Apesar do valor de pH estar acima do esperado ao final do ensaio, os pontos com maior e menor valor de pH não foram, respectivamente, os pontos

com maior e menor número de organismos sobreviventes, mostrando que o pH não interferiu na sobrevivência do organismo.

Pela variação de resultados no ensaio, com pontos de baixa e alta sobrevivência muito próximos, foi observada a necessidade de redistribuir os pontos de coleta, para abranger uma área maior de Caraguatatuba.

5.2 Parâmetros físicos, químicos e geológicos da área amostral

5.2.1 Campanha de Inverno

A primeira coleta, de inverno, foi realizada em julho de 2014. Foram coletadas amostras em 21 pontos, com medidas de pH, Oxigênio dissolvido, temperatura da água, salinidade e penetração de luz, tabela 9.

Tabela 9 – Parâmetros físicos e químicos – campanha de inverno.

	pH	Oxigênio Dissolvido (mg/L)	T°C	Profundidade (m)	Salinidade	Secchi (m)
P1	7,7	10,5	23,1	5,5	27	4
P2	7,7	10,6	23	7,2	27	5
P3	7,7	9,6	23,3	2,1	27	1,7
P4	7,7	10,4	23	7	27	3,5
P5	7,7	10,3	23	7,2	27	2,5
P6	7,7	10,8	24,3	2,2	27	1,2
P7	7,3	10,1	23,8	3	28	2,2
P8	7,7	11	23,1	7	27	5
P9	7,7	10,7	23,5	3,7	27	3,5
P10	7,7	10,4	23,5	2,6	27	1,7
P11	7,7	10,9	23,1	8,4	27	6,5
P12	7,7	10,5	23,1	3,8	27	3
P13	7,7	10,3	23,2	4,7	27	2
P14	7,7	10,4	22,9	7,5	27	2,5
P15	7,7	10,3	22,8	8,1	27	6,5
P16	7,7	11,1	23	9,7	27	6,5
P17	7,7	11,2	23	10,6	27	6
P18	7,7	10,7	23	7,3	27	6,3
P19	7,7	11	22,9	9,3	27	6,5
P20	7,7	10,3	23,3	3,3	27	2,3
P21	7,7	10,3	23,8	2,8	27	2,8

A profundidade variou entre 2,1m e 10,6m em P3 e P17, respectivamente. A penetração de luz medido com disco de Secchi variaram entre 1,2 em P6 á 6,5m em P11, P15, P16 e P19.

Os valores de oxigênio dissolvido bem como os de pH estão de acordo com o estabelecido pela Resolução Conama 357 (2005) para água salinas Classe 1. Os baixos valores de salinidade podem ter ocorrido devido a ocorrência de chuvas, aporte dos rios e regime de maré.

Os resultados da análise granulométrica estão demonstrados na tabela 10 e figura 10, a seguir.

Tabela 10 – Porcentagens de Grânulos (Gran), Areia (Ar), Silte (Silt), Argila (Arg), Matéria Orgânica (MO), Carbono Orgânico (CO) e as classificações dos pontos por Folk e Ward e por Shepard – campanha de inverno.

	Gran	Ar	Silt	Arg	MO	CO	Folk e Ward	Shepard
P1	0	99.16	0.84	0	9.9	0.52	Areia	Areia fina
P2	9.11	86.94	3.95	0	9.7	0.9	Areia	Areia média
P3	0	96.93	2.82	0.25	9.9	0.51	Areia	Areia muito fina
P4	6.86	88.66	4.48	0	7	0.97	Areia	Areia fina
P5	2.77	89.46	7.77	0	14.5	0.78	Areia	Areia muito fina
P6	0.74	92.77	5.88	0.61	5.1	0.42	Areia	Areia muito fina
P7	0.17	96.68	2.88	0.26	6.4	0.82	Areia	Areia muito fina
P8	0.85	95.56	3.25	0.34	17.5	1.11	Areia	Areia muito fina
P9	0	97.76	2.09	0.15	5.9	0.32	Areia	Areia muito fina
P10	0	98.93	1.07	0	2.7	0.02	Areia	Areia fina
P11	0.88	91.62	7.5	0	7.3	1.22	Areia	Areia muito fina
P12	0	95.96	4.04	0	3.5	0.66	Areia	Areia muito fina
P13	0.25	90.37	9.38	0	1.9	0.1	Areia	Areia muito fina
P14	0	95.72	4.28	0	3.8	0.16	Areia	Areia muito fina
P15	0	98.11	1.89	0	3.1	0.26	Areia	Areia muito fina
P16	0	94.77	5.23	0	2.6	0.17	Areia	Areia muito fina
P17	0.04	89.02	10.93	0	2.7	0.75	Areia	Areia muito fina
P18	0	84.92	15.08	0	2.4	0.14	Areia	Areia muito fina
P19	0.27	94.66	5.07	0	6.9	0.19	Areia	Areia muito fina
P20	0.76	97.2	1.78	0.25	5.7	0.24	Areia	Areia muito fina
P21	6.57	90.93	2.5	0	5.9	1.16	Areia	Areia fina

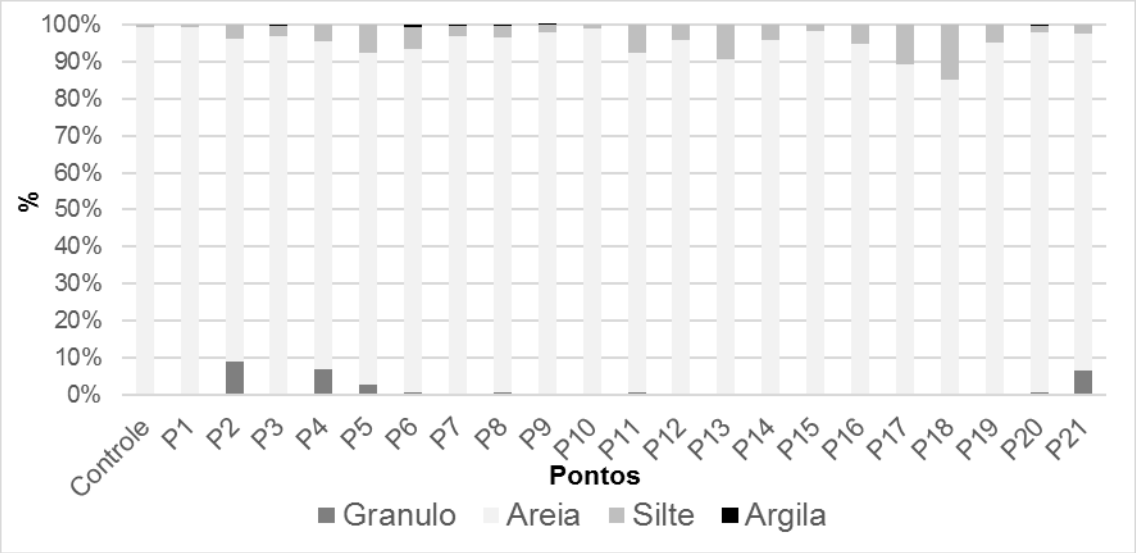

Figura 10 – Porcentagens granulométricas – campanha de inverno.

Todos os pontos, segundo Folk e Ward (1957) foram classificados como areia, e variaram entre areia média (P2), areia fina (P1, P4, P10 e P21) e areia muito fina (demais pontos) segundo Shepard (1954).

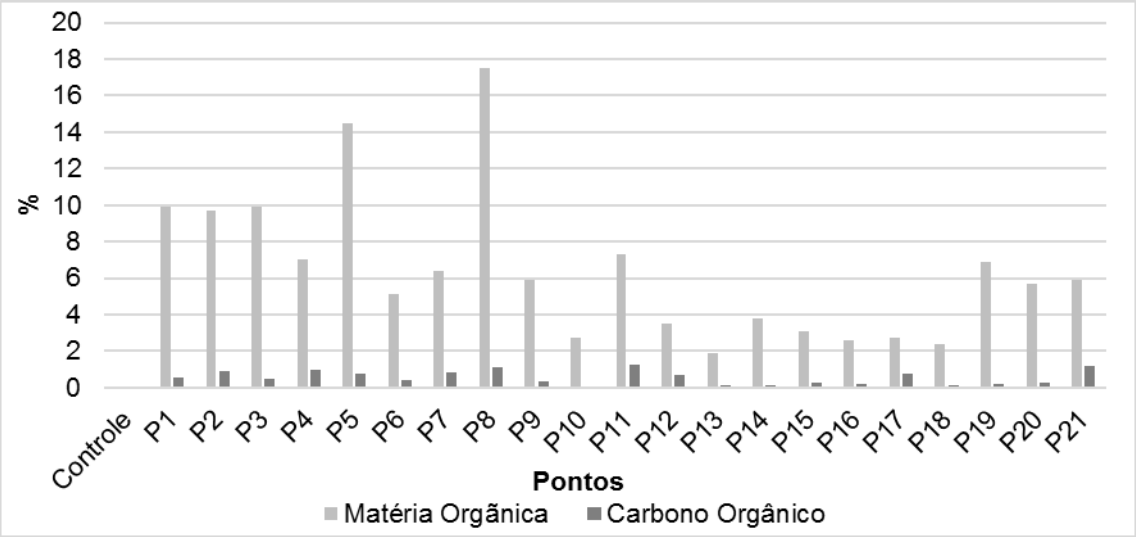

Figura 11 – Porcentagens de matéria orgânica (MO) e Carbono orgânico (CO) – coleta de inverno.

Para matéria orgânica, a maior porcentagem foi de 17,5% em P8, e a menor de 1,9% em P13. Para porcentagem de carbono orgânico, o valor variou entre 1,22% em P11 e 0.1% em P13.

5.2.2 Campanha de Verão

A campanha de verão, realizada em janeiro de 2015, nos mesmos pontos e procedimento seguidos na campanha de inverno.

Os parâmetros físicos e químicos medidos em campo estão descritos na Tabela 11.

Tabela 11 – Parâmetros físicos e químicos medidos em campo – campanha de verão.

	pH	Oxigênio Dissolvido (mg/L)	T°C	Profundidade (m)	Salinidade	Secchi (m)
P1	7,6	7,9	29,6	5,5	27	2,7
P2	7,6	8	29,9	7,1	27	2
P3	6,8	7,9	30,1	2,6	29	2,8
P4	7,6	8,8	29,9	7,2	27	3,5
P5	7,6	9	29,9	7,1	27	4
P6	7,6	8,6	30	3	27	2,1
P7	7,1	8	30,7	3,6	27	2
P8	7,6	9,3	29,9	7,5	27	3,5
P9	7,6	9,1	30,6	4	27	2
P10	7,6	8,6	30,2	3,6	27	2,6
P11	7,6	9,6	29,7	8	27	2,7
P12	7,7	8,1	30	4	27	2,6
P13	7,7	8,2	29,7	5,2	27	3
P14	7,7	8,5	29	6	27	3,8
P15	7,7	8,9	29,6	6,5	27	3
P16	7,7	9,1	29,4	9,5	27	4,9
P17	7,7	9,2	29,4	9,7	25	5
P18	7,6	8,9	29,5	7	25	6,5
P19	7,7	9,5	29,3	9,4	26	4,1
P20	7,4	8,1	30,7	2,6	28	2,6
P21	7,7	8,4	29,8	3,4	26	3,4

A profundidade dos pontos de coleta variou entre 2,6m (P3 e P20) e 9,7m (P7). Para penetração de luz, com disco de Secchi, os valores foram de 2m (P2, P7 e P9) á 6,5m (P18). Assim como na campanha de inverno, os valores de pH e oxigênio dissolvido estiveram de acordo estabelecido pela Resolução Conama 357 (2005), e, novamente, o baixo valor de salinidade pode ser influência de aporte pluvial e/ou fluvial.

Os valores da análise granulométrica estão apresentados na tabela 12 e figura 12.

Tabela 12 – Porcentagens de Grânulos (Gran), Areia (Ar), Silte (Silt), Argila (Arg), Matéria Orgânica (MO), Carbono Orgânico (CO) e as classificações dos pontos por Folk e Ward, e por Shepard – campanha de verão.

	Gran	Ar	Silt	Arg	MO	CO	Folk e Ward	Shepard
P1	0.45	95.38	4.17	0	10.2	0.5	Areia	Areia muito fina
P2	16.08	81.56	2.36	0	9.3	1.36	Areia	Areia média
P3	0	96.02	3.68	0.3	6	0.53	Areia	Areia muito fina
P4	4.32	92.3	3.39	0	15.4	0.99	Areia	Areia fina
P5	2.54	91.63	5.83	0	6.1	0.59	Areia	Areia muito fina
P6	0	96.83	2.86	0.31	11.7	0.4	Areia	Areia muito fina
P7	0	96.04	3.63	0.34	5.9	0.87	Areia	Areia muito fina
P8	0.59	94.55	4.46	0.4	17.2	0.21	Areia	Areia muito fina
P9	0	97.8	1.89	0.31	4.8	0.31	Areia	Areia muito fina
P10	0	91.55	8.45	0	3.8	1	Areia	Areia muito fina
P11	0.7	88.15	11.15	0	6.7	1.07	Areia	Areia muito fina
P12	0.33	95.11	4.56	0	6.5	0.18	Areia	Areia muito fina
P13	0.12	96.61	3.27	0	2.7	0.08	Areia	Areia muito fina
P14	0	97.09	2.91	0	2.5	0.11	Areia	Areia muito fina
P15	0	86.38	13.62	0	2.6	0.69	Areia	Areia muito fina
P16	0	95.44	4.56	0	2.7	0.11	Areia	Areia muito fina
P17	0	86.77	13.23	0	3.7	0.12	Areia	Areia muito fina
P18	0	96.52	3.13	0.35	6.5	1.01	Areia	Areia muito fina
P19	0.04	92.39	7.57	0	3.4	0.71	Areia	Areia muito fina
P20	0.08	96.5	3.42	0	1.8	0.71	Areia	Areia fina
P21	0.48	95.58	3.94	0	4.3	0.41	Areia	Areia muito fina

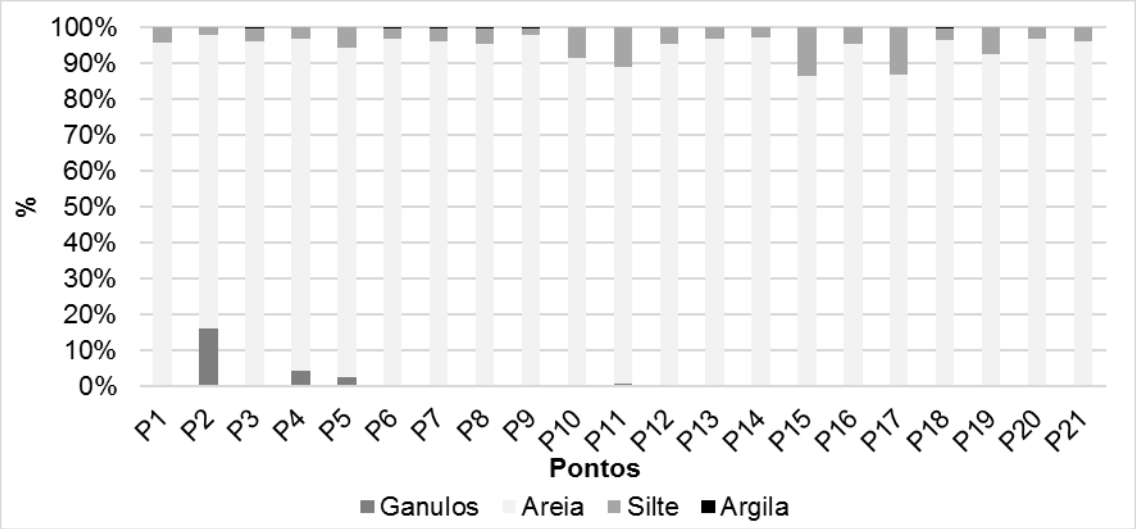

Figura 12 – Porcentagens granulométricas – campanha de verão.

Assim como na campanha de inverno, todos os pontos foram areia, segundo Folk e Ward (1957), já para Shepard (1954) foi de areia média (P21), areia fina (P4 e P20) e areia muito fina (demais pontos).

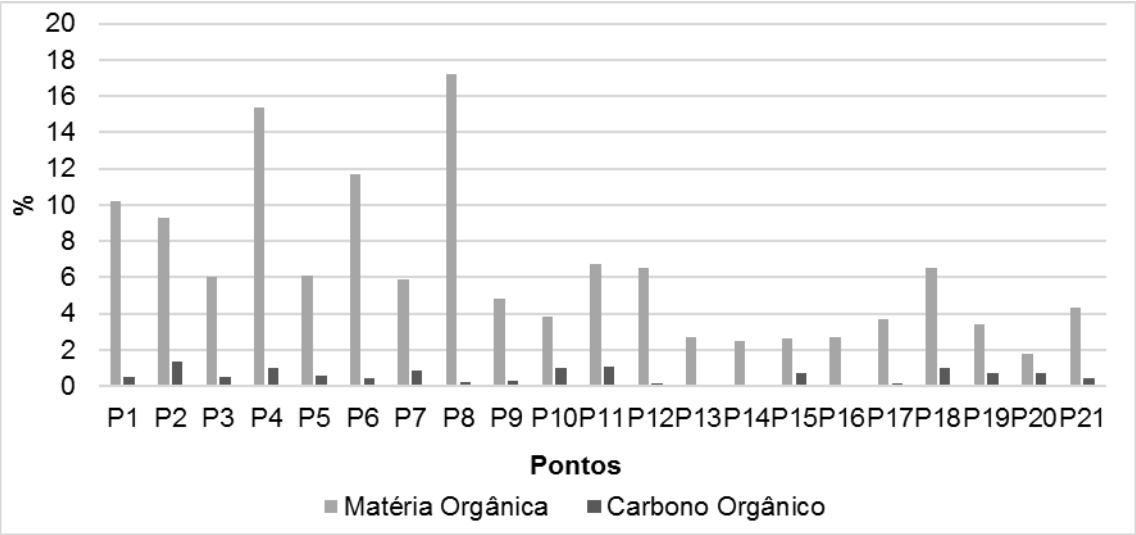

Figura 13 - Porcentagens de Matéria Orgânica (MO) e Carbono Orgânico (CO) – campanha de verão.

Para Matéria orgânica a maior porcentagem foi 15,4% em P4 e a menor em P20 de 1,8%, já o carbono orgânico variou entre 0,08% em P13 e 1,36% em P2.

5.2.3 Análise comparada

Comparando os resultados granulométricos, houve uma variação em P1, P10 e P21 que passaram de areia fina no inverno para muito fina no verão,

provavelmente, devido ao aumento na porcentagem de silte, e P20 que passou de areia muito fina para areia fina, provavelmente pela ausência de argila.

Para matéria orgânica, tanto no inverno quanto no verão, P8 apresentou a maior porcentagem, com mais de 17%. Os pontos com maior variação nos resultados foram P4 e P6, com um aumento de mais de 7% de matéria orgânica do inverno para o verão, e P5 com uma diminuição de mais de 8% de matéria orgânica.

A porcentagem de carbono orgânico teve a maior variação entre inverno e verão em P8 e P10, com diminuição de 1% e aumento de 1%, respectivamente.

Os valores de pH (Figura 14) tiveram uma diminuição no verão, em P3 foram de pH 7,7 para 6,8, e em P20 de pH 7,7 para 7,4.

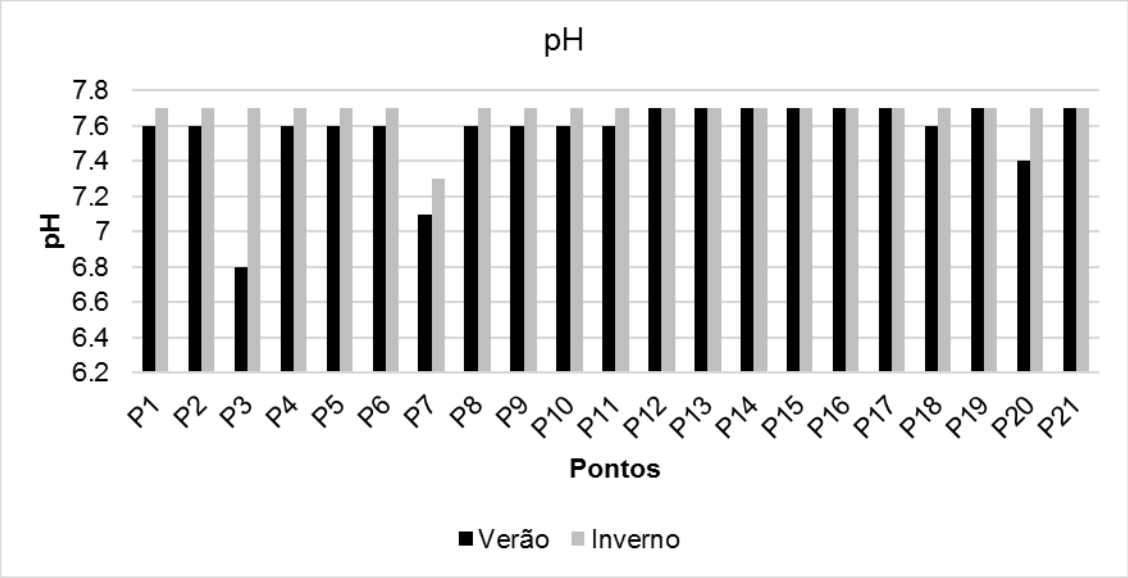

Figura 14 – Comparação do parâmetro ambiental pH das campanhas de inverno e verão.

As variações de oxigênio dissolvido e temperatura (Figura 15 e Figura 16) seguiram um padrão similar tanto no inverno quanto no verão, sendo todas as temperaturas mais altas no verão.

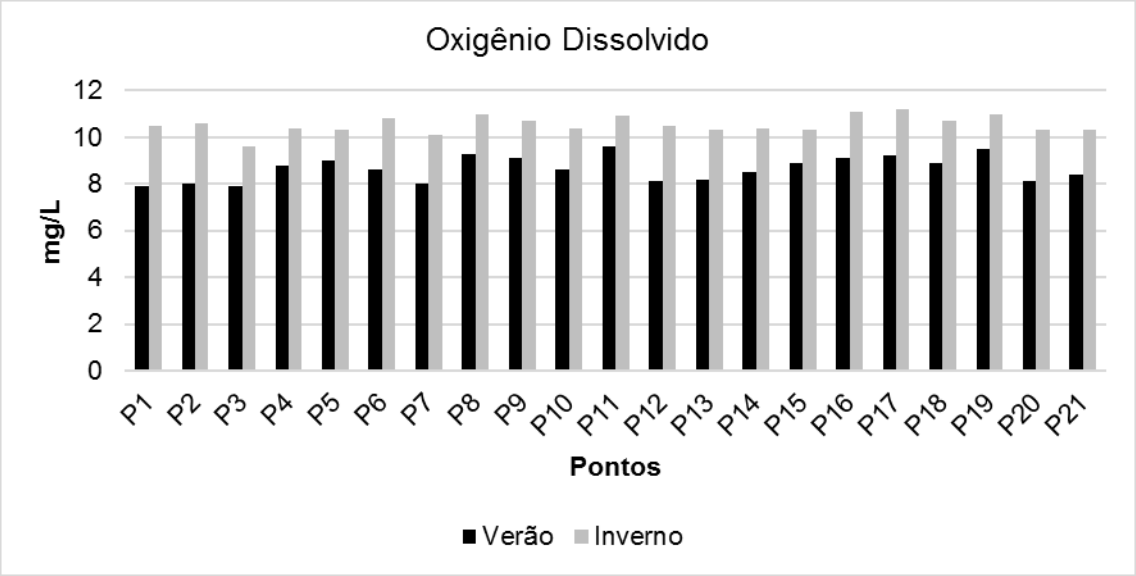

Figura 15 – Comparação do parâmetro ambiental oxigênio dissolvido (mg/L) das campanhas de inverno e verão.

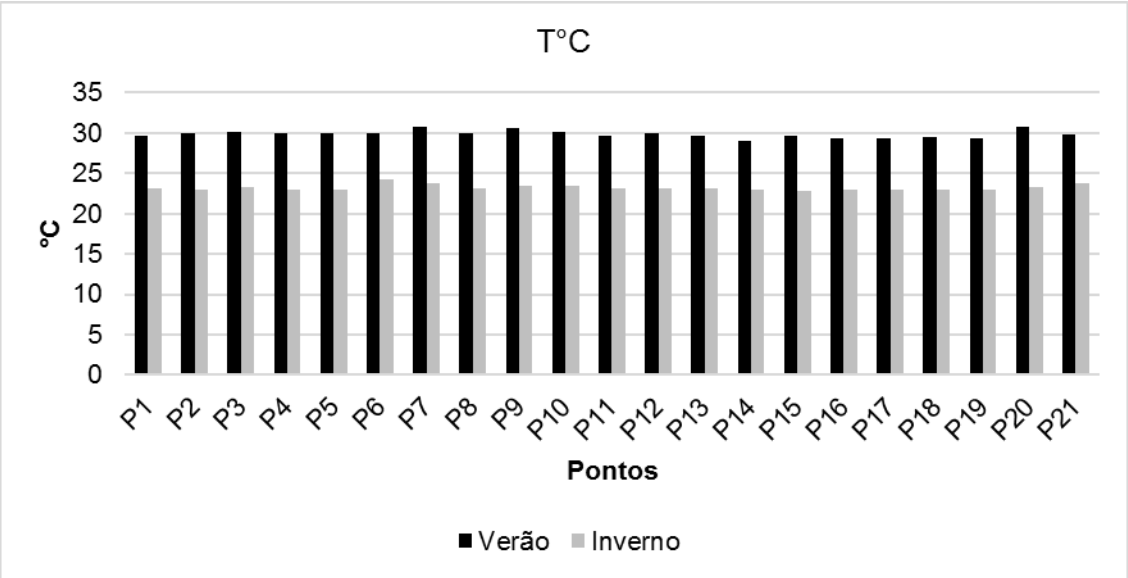

Figura 16 – Comparação do parâmetro ambiental temperatura (ºC) das campanhas de inverno e verão.

Para profundidade e penetração de luz (Figura 17), não houve grande variação, apenas em P11 o valor de penetração de luz no verão, que foi menor (2,7m) em relação á profundidade (8m).

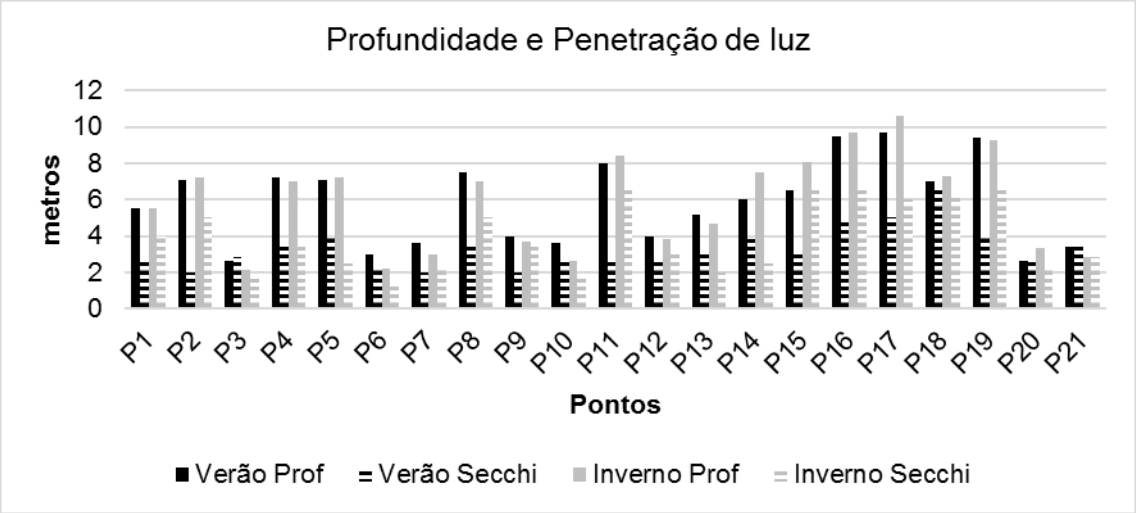

Figura 17 – Comparação do parâmetro ambiental profundidade e penetração de luz (m) das campanhas de inverno e verão.

Os valores de salinidade medidos em campo estão apresentados na figura 18.

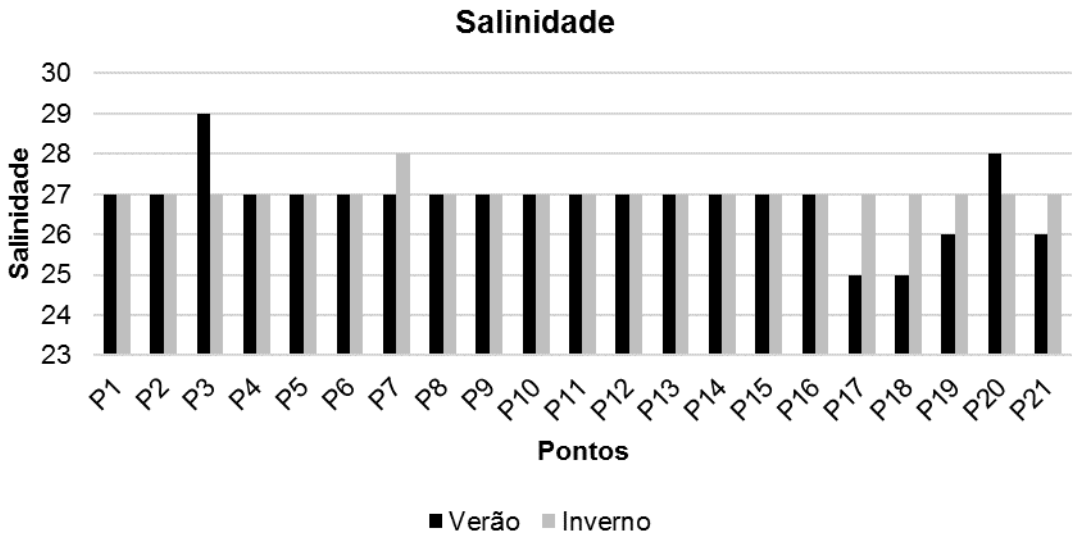

Figura 18 – Comparação do parâmetro ambiental salinidade das campanhas de inverno e verão.

Comparando inverno e verão, a salinidade sofreu um aumento em P3 e P20, e uma diminuição em P7, P17, P18, P19 e P21.

5.3 Ensaios ecotoxicológicos

5.3.1 Ensaio com substância de referência

Em paralelo aos ensaios com as amostras de sedimento, foram realizados ensaios de efeito agudo com substâncias de referência, para avaliar a sensibilidade do lote de organismos.

Alguns ensaios com sedimento precisaram ter a montagem parcelada, para cada parcela foi montado um ensaio com substância de referência.

Os ensaios com substância de referência com *T viscana* foram os únicos realizados com dicromato de potássio, pois a carta controle com DSS ainda está em elaboração, os resultados obtidos estão nas tabelas 13 e 14.

Tabela 13 – Resultados do ensaio com a substância de referência dicromato de potássio com *Tiburonella viscana*, com número de organismos sobreviventes por réplica e respectiva média e desvio padrão - 04/04/2014.

Concentrações	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio Padrão
100mg/l	0	0	0	0	0
50mg/l	0	0	0	0	0
10mg/l	7	8	9	8	1
5mg/l	9	9	9	9	0
1mg/l	10	10	10	10	0
Controle	10	10	10	10	0

Tabela 14 – Resultados do ensaio com substância de referência dicromato de potássio com *Tiburonella viscana*, com número de organismos sobreviventes por réplica e respectiva média e desvio padrão - 29/09/2014.

Concentrações	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio Padrão
100mg/l	0	0	0	0	0
50mg/l	0	0	0	0	0
10mg/l	6	8	7	7	1
5mg/l	9	8	8	8.3	0.6
1mg/l	9	10	10	9.7	0.6
Controle	10	10	10	10	0

Com o número de organismos vivos foi calculada a $CL_{50\text{-}48h}$ e respectivo intervalo de confiança, sendo: 1º ensaio – 15,83 (12,83 – 19,53), e 2º ensaio – 13, 28 (10,12 – 17,43) mg/L de dicromato de potássio.

Os valores foram plotados na carta controle do LEcotox, que possui $CL_{50\text{-}48h}$ de 13,79 (6,84 – 20,75) mg/L de dicromato de potássio (figura 19).

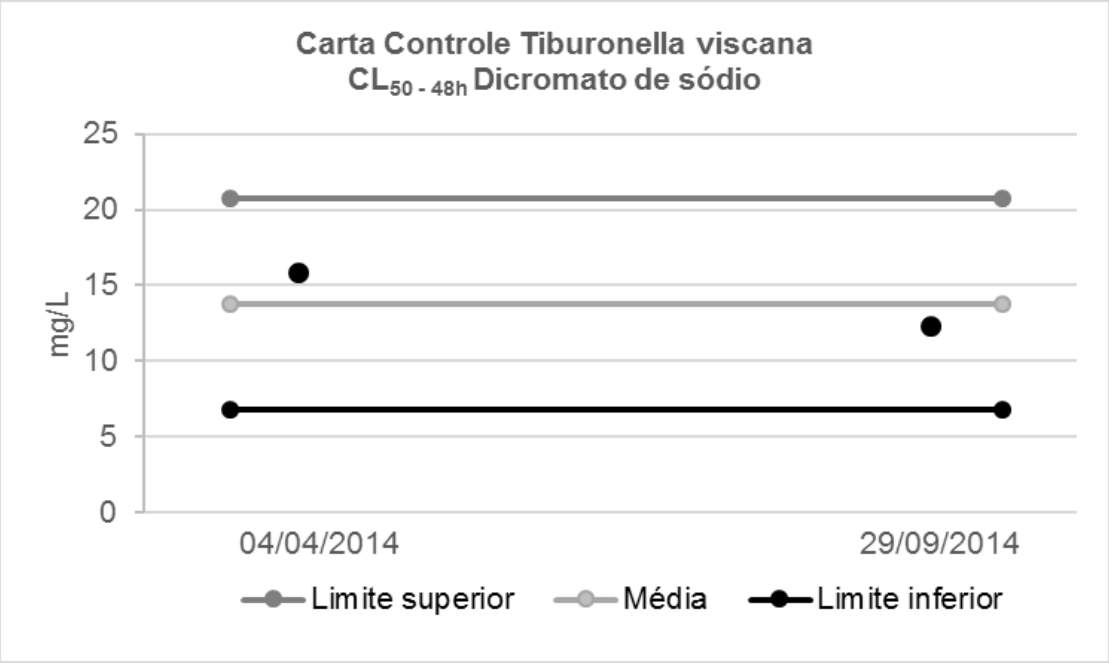

Figura 19 – Carta controle com *Tiburonella viscana* - $CL_{50 - 48h}$ Dicromato de potássio.

Os resultados dos ensaios de sensibilidade com *L plumulosus,* utilizando a substância DSS, podem ser observados nas tabelas 15, 16 e 17.

Tabela 15 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Leptocheirus plumulosus*, com número de organismos sobreviventes por réplica com respectiva média e desvio padrão - 28/07/2014.

Concentrações	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio Padrão
0,63	10	10	10	10	0
1,25	9	5	8	7.3	2.1
2,5	9	1	5	5	4
5	2	0	0	0.7	1.2
10	0	0	0	0	0
Controle	8	10	9	9	1

Tabela 16 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Leptocheirus plumulosus*, com número de organismos sobreviventes por réplica e respectiva média e desvio padrão - 26/08/2014.

Concentrações	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio Padrão
0,63	10	10	10	10	0
1,25	9	6	9	8	1.7
2,5	9	8	7	8	1
5	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
Controle	10	10	9	9.7	0.6

Tabela 17 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Leptocheirus plumulosus*, com número de organismos sobreviventes por réplica e respectiva média e desvio padrão - 10/02/2015.

Concentração	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio Padrão
0,63	9	9	5	7.7	2.3
1,25	7	9	5	7	2
2,5	3	2	3	2.7	0.6
5	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
Controle	10	10	10	10	0

A $Cl_{50\text{-}96h}$ foi de 2,28 (1,90 – 2,74) para o 1º ensaio, 2,62 (2,26 – 3,04) para o 2º ensaio, e 1,62 (1,25 – 2,10) para o 3º ensaio. Os resultados foram plotados na carta controle do Lecotox, com $Cl_{50\text{-}96h}$ 7,98 (-3,46 – 9,43) mg/L de DSS (Figura 20).

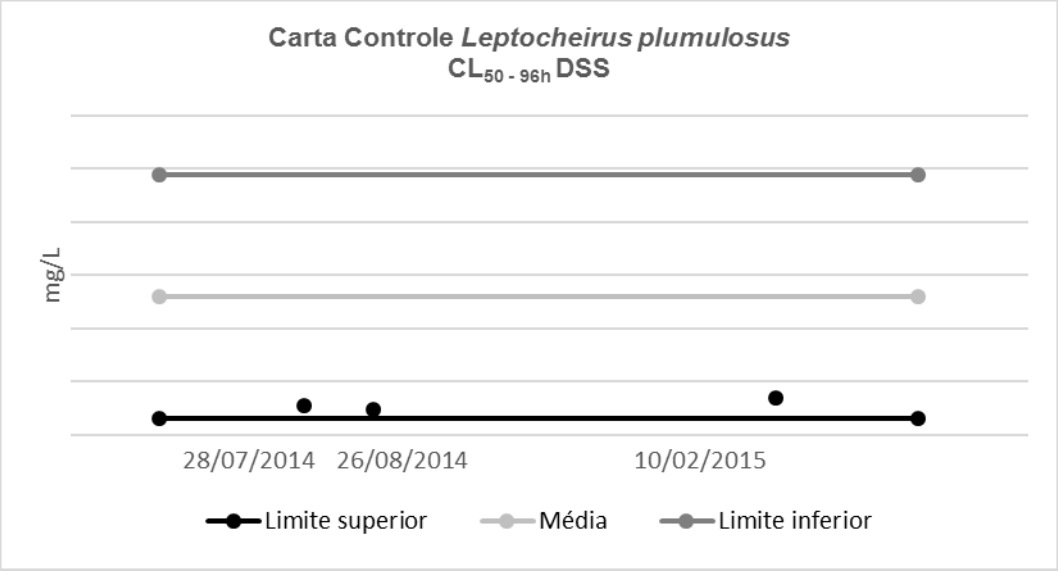

Figura 20 – Carta controle com *Leptocheirus plumulosus* - $CL_{50\text{ - }96h}$ DSS.

Para *Nitokra* sp., os resultados com a substância de referência DSS estão descritos na tabela 18, 19 e 20.

Tabela 18 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Nitokra* sp, com número de organismos sobreviventes e respectiva média e desvio padrão - 19/08/2014.

Concentrações	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio Padrão
20	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
5	7	5	6	6	1
2,5	10	9	7	8.7	1.5
1,25	10	8	10	9.3	1.2
Controle	10	10	10	10	0

Tabela 19 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Nitokra* sp, com número de organismos sobreviventes e respetiva média e desvio padrão - 06/08/2014.

Concentrações	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio Padrão
20	0	0	1	0	0
10	0	0	0	0	0
5	4	7	4	5	1.7
2,5	10	7	9	8.7	1.5
1,25	10	10	10	10	0
Controle	10	10	10	10	0

Tabela 20 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Nitokra* sp, com respetiva média e desvio padrão - 23/02/2015.

Concentrações	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio Padrão
20	0	0	0	0	0
10	1	0	0	1	0
5	8	7	8	7.7	0.6
2,5	10	9	9	9.3	0.6
1,25	10	10	10	10	0
Controle	10	10	10	10	0

Os valores de $Cl_{50\text{-}96h}$ foram: 5,01 (4,20 – 5,99) para o 1º ensaio, 4,63 (3,94 – 5,45) para o 2º ensaio, e 5,88 (5,15 – 6,71) mg/L DSS para o 3º ensaio. Os valores de Cl_{50} foram plotados na carta controle do LEcotox, que possui $Cl_{50\text{-}96h}$ 6,65 (2,58 – 10,73) (figura 21).

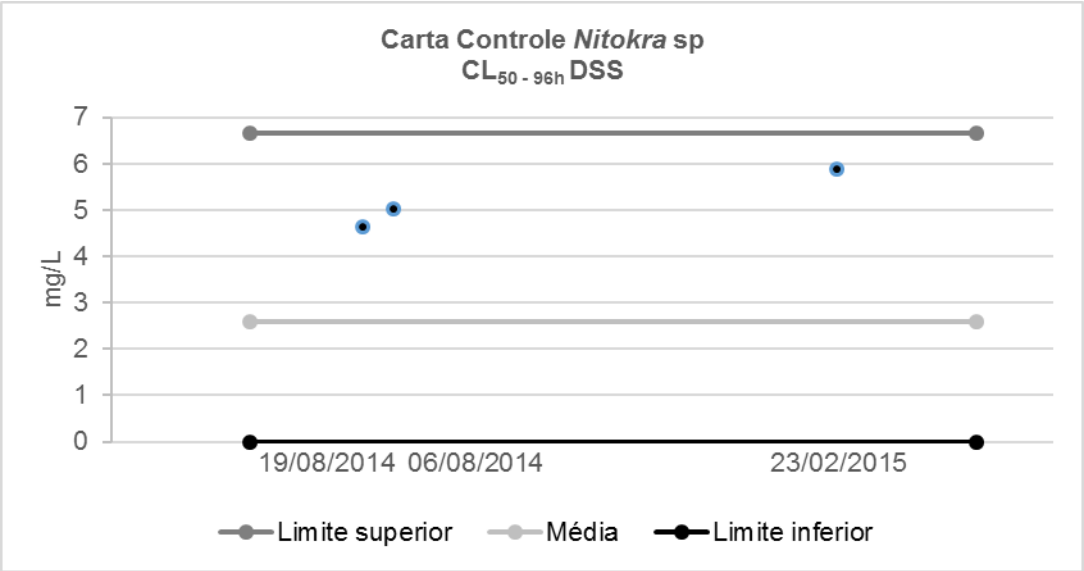

Figura 21 – Carta controle com *Nitokra* sp. - $CL_{50 - 96h}$ DSS.

Os resultados dos ensaios com *L variegatus* com a substância DSS estão descritas na tabela 21 e 22.

Tabela 21 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Lytechinus variegatus*, com número de larvas normais por réplica e respectiva média e desvio padrão - 13/08/2014.

Concentrações	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio Padrão
Controle	91	96	93	93.3	2.5
0,32	77	83	60	73.3	11.9
0,63	82	58	77	72.3	12.7
1,25	51	50	48	49.7	1.5
2,5	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0

Tabela 22 – Resultados do ensaio com substância de referência DSS com *Lytechinus variegatus*, com número de larvas normais por réplica e respectiva média e desvio padrão - 04/03/2015.

Concentrações	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio Padrão
Controle	99	92	91	94	4.4
0,32	93	94	89	92	2.6
0,63	97	94	91	94	3
1,25	79	92	93	88	7.8
2,5	81	77	98	85.3	11.2
5	0	0	0	0	0

Os valores de $Cl_{50\text{-}24h}$ foram: 1,19 (1,09 – 1,30) para o 1º ensaio e 3,24 (3,14 – 3,35) mg/L DSS para o 2º ensaio. Os valores foram plotados na carta controle do LEcotox, com $Cl_{50\text{-}24h}$ 2,29 (0,01 – 4,57) (figura 22).

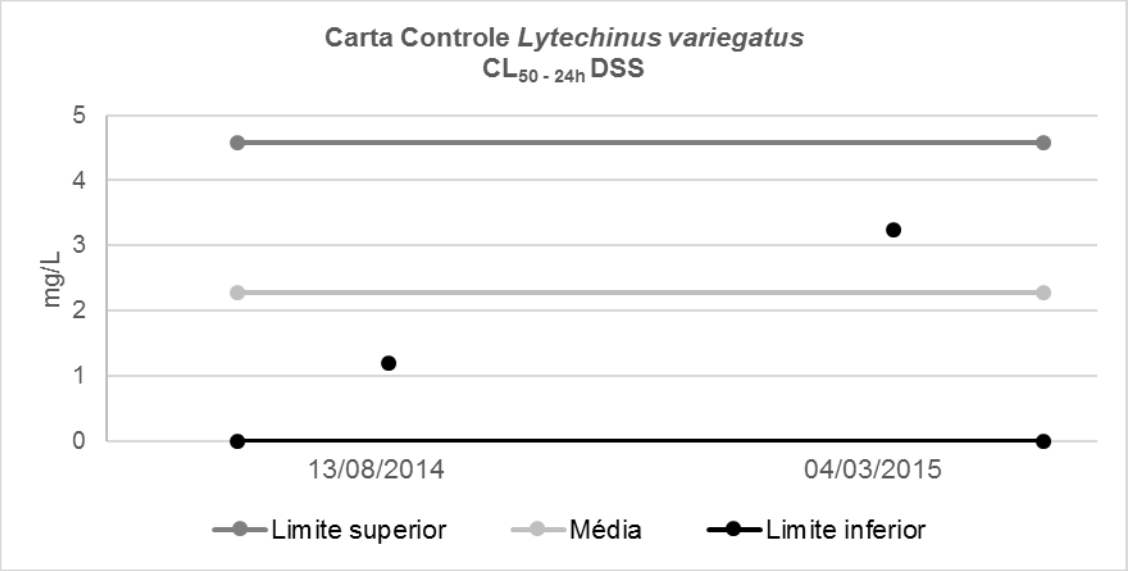

Figura 22 – Carta controle com *Lytechinus variegatus* - $CL_{50\text{ - }24h}$ DSS.

5.3.2 Campanha de inverno

5.3.2.1 Ensaio de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus*

No ensaio com *L. plumulosus*, foram medidos os parâmetros físicos e químicos ao início e final do ensaio, como apresentado na tabela 23.

Tabela 23 – Parâmetros físicos e químicos medidos no ensaio de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus* – campanha de inverno

	Salinidade		pH		Oxigênio Dissolvido (mg/L)		NH_4 (mg/L)	NH_3 (mg/L)
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Inicial
C1	35	34	8.08	8.74	8.9	8.5	0.5	0.027
C2	34	34	8.11	8.82	9.1	8.7	0.5	0.03
C3	36	36	8.23	8.47	10.8	15.7	2	0.15
C4	36	36	8.24	8.36	11.2	15.4	2	0.15
P1	35	35	8.4	9.1	10.4	8.7	0.5	0.05
P2	35	36	8.5	8.98	10.3	8.8	0.5	0.07
P3	35	36	8.35	9.2	10.2	8.7	1	0.10
P4	34	36	8.47	8.98	10.4	8.9	0.5	0.06
P5	35	34	8.56	8.87	10.3	9.2	0.5	0.07
P6	36	34	8.36	9.01	10.5	8.9	1	0.10
P7	37	34	8.47	9.05	10.5	8.9	1	0.12
P8	37	34	8.48	8.78	9.6	8.7	0.5	0.06
P9	34	34	8.48	8.82	10.7	9.1	1	0.16
P10	37	34	8.47	8.79	10.8	9.3	0	0
P11	36	36	8.24	8.55	10.4	15.6	5	0.38
P12	36	36	8.29	8.42	10.4	15.3	0.5	0.04
P13	35	36	8.26	8.52	11.3	15.2	5	0.40
P14	36	36	8.38	8.49	11.5	15.3	2	0.21
P15	36	36	8.27	8.42	11.5	14.8	2	0.16
P16	35	35	8.46	8.46	11.7	15	0	0
P17	35	35	8.43	8.26	11.6	14.4	1	0.11
P18	34	35	8.46	8.43	10.9	14.3	2	0.24
P19	34	35	8.45	8.52	11.1	14.6	5	0.59
P20	34	36	8.44	8.45	11.2	14.5	5	0.58
P21	34	36	8.41	8.59	10.8	14.8	5	0.55

Valor acima do esperado / tolerado pelo organismo

A variação na salinidade foi entre 34 e 37, com 3 pontos amostras com salinidade superior ao tolerável pelo organismo (1,5 á 36 (Cariello, 2012)), o pH se manteve dentro do valor esperado para água salina (pH 7,5 – 8,5), já ao final, a maioria das amostras, inclusive C1 e C2, ultrapassou o valor de pH 8,5; já o oxigênio dissolvido se manteve acima de 8 mg/L, acima do recomendável para ensaio por Aragão e Araújo (2006), de <4 mg/L.

Para NH4 os valores máximos foram de 5 mg/L, e para NH3, com valor acima de 0,5 mg/L, foram medidos nas amostras de P19, P20 e P21, mas todos abaixo do valor de 0,8 mg/L, tolerável por este organismo-teste (Bertoletti,2011).

Os resultados obtidos com o ensaio com *L. plumulosus* podem ser observados tabela 24 e figura 23, com suas respectivas média e desvio padrão.

Tabela 24 – Resultados do ensaio de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus*, com número de organismos sobreviventes por réplica, média e desvio padrão de sobreviventes, e porcentagem de organismos sobreviventes – campanha de inverno.

	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	Média	Desvio Padrão	% de sobrevivência
C1	13	13	13	15	13.5	1.0	90%
C2	13	15	14	14	14.0	0.8	93%
C3	14	15	13	15	14.3	1.0	95%
C4	15	16	13	14	14.5	1.3	97%
P1	12	11	15	13	12.8	1.7	85%
P2	14	5	13	8	10.0	4.2	67%
P3	8	14	14	7	10.8	3.8	72%
P4	9	14	15	7	11.3	3.9	75%
P5	14	9	14	15	13.0	2.7	87%
P6	13	15	14	15	14.3	1.0	95%
P7	13	13	13	13	13.0	0.0	87%
P8	10	13	13	11	11.8	1.5	78%
P9	14	13	13	15	13.8	1.0	92%
P10	15	14	12	14	13.8	1.3	92%
P11	9	12	12	9	10.5	1.7	70%
P12	8	8	13	14	10.8	3.2	72%
P13	9	6	7	11	8.3	2.2	55%
P14	11	9	10	10	10.0	0.8	67%
P15	10	12	10	9	10.3	1.3	68%
P16	13	8	14	10	11.3	2.8	75%
P17	13	8	11	11	10.8	2.1	72%
P18	10	10	13	13	11.5	1.7	77%
P19	9	11	12	13	11.3	1.7	75%
P20	12	15	14	14	13.8	1.3	92%
P21	9	11	14	13	11.8	2.2	78%

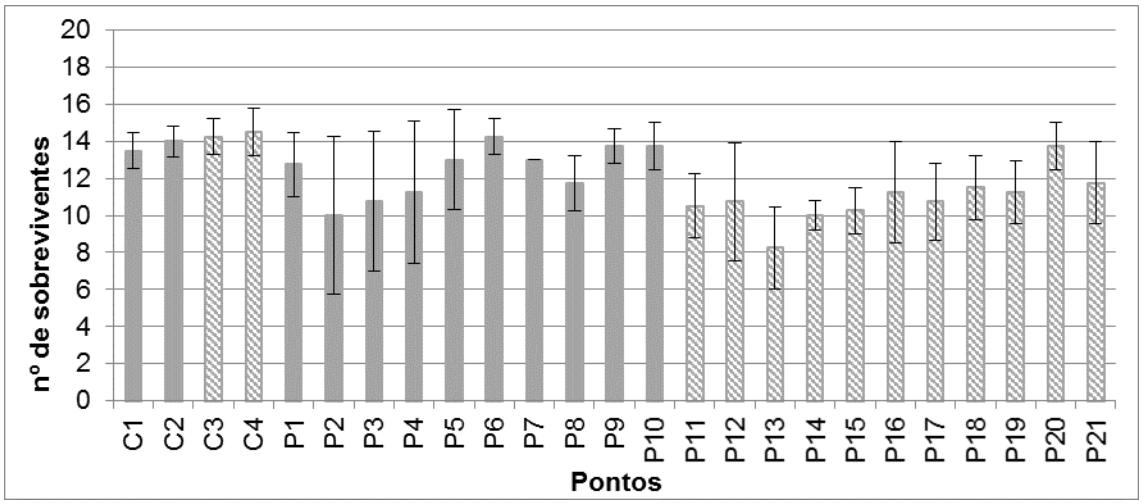

Figura 23 – Média de organismos sobreviventes e desvio padrão do ensaio de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus* – campanha de inverno.

Por questões de infraestrutura do laboratório, o ensaio foi dividido em duas etapas, cada etapa com dois controles correspondentes, sendo: C1 e C2 os controles de P1 a P10, e C3 e C4 os controles de P11 a P21. Para análise estatística foi utilizado o controle correspondente a amostra com maior valor de sobrevivência.

A maior sobrevivência foi observada em P6, com 95%, já a menor foi em P13 com 55% de sobrevivência.

Na análise estatística, para o test t os pontos com diferença significativa ($p<0,05$) foram P7, P8, P13, P14, P15, P17, P18 e P19, para o test t com bioequivalência apenas P13 e P14 apresentaram diferença

5.3.2.2 Ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana*

No ensaio com *T. viscana*, ao início e ao final, foram medidos parâmetros físicos e químicos do ensaio (Tabela 25).

Tabela 25 – Parâmetros físicos e químicos medidos no ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana* – campanha de inverno

	Salinidade		pH		Oxigênio Dissolvido (mg/L)		NH_4 (mg/L)		NH_3 (mg/L)	
	Inicial	**Final**	**Inicial**	**Final**	**Inicial**	**Final**	**Inicial**	**Final**	**Inicial**	**Final**
C1	36	36	8.29	8.35	11	10.2	0	0	0	0
C2	35	36	8.28	8.43	11.4	11.6	0	0	0	0
P1	36	36	8.24	8.44	10.9	11.7	1	0	0.08	0
P2	36	36	8.26	8.41	10.1	11.9	1	0	0.08	0
P3	36	36	8.2	8.6	10.2	11.2	5	1	0.35	0.16
P4	37	37	8.32	8.45	10.7	11.3	5	0	0.46	0
P5	36	36	8.26	8.34	11.3	11.9	2	0.2	0.16	0.02
P6	36	36	8.19	8.64	11.4	10.8	5	0.2	0.35	0.04
P7	36	36	8.15	8.64	11.7	11.3	5	0	0.32	0
P8	36	37	8.25	8.25	11	11.1	2	0.4	0.16	0.03
P9	37	37	8.25	8.33	9.8	10.8	2	0.2	0.16	0.02
P10	36	36	8.38	8.31	10.1	11.9	2	0	0.21	0
P11	36	36	8.27	8.38	10.8	11.2	2	0	0.16	0
P12	36	36	8.23	8.35	10.8	12.2	2	0	0.15	0
P13	36	36	8.28	8.37	11.2	12	2	0	0.17	0
P14	36	36	8.32	8.36	11.1	11.5	1	0	0.09	0
P15	36	36	8.25	8.31	11	11.7	2	0	0.16	0
P16	36	36	8.32	8.34	10.6	11.6	0.5	0	0.05	0
P17	36	36	8.32	8.33	10.7	11.5	1	0	0.09	0
P18	36	36	8.31	8.35	9.9	11.8	1	0	0.09	0
P19	36	36	8.19	8.46	10.9	11.7	2	0	0.14	0
P20	36	36	8.26	8.48	10.3	11.4	2	0.2	0.16	0.03
P21	36	36	8.24	8.51	9.5	11.5	2	0	0.15	0

Valor acima do esperado / tolerado pelo organismo

A salinidade variou pouco, sendo de apenas 1 unidade em alguns pontos.

Para o pH, houve um aumento entre o valor inicial e final, sendo que em P3, P6 e P7, o valor foi de 8,5, considerado máximo para água do mar. O oxigênio dissolvido também apresentou uma variação entre valores iniciais e finais, mas todos acima de 4 mg/L de oxigênio dissolvido, recomendável para um ensaio (Aragão e Araujo, 2006).

Tanto NH4 quanto NH3 apresentaram redução entre valores iniciais e finais do ensaio, ficando dentro do aceitável para o organismo.

Os resultados obtidos com o ensaio de *T viscana* podem ser observados na tabela 26 e figura 24.

Tabela 26 – Resultados do ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana*, com número de organismos sobreviventes por réplica, média e desvio padrão de sobreviventes, e porcentagem de organismos sobreviventes – campanha de inverno.

	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio padrão	% de sobrevivência
C1	8	10	10	9.3	1.2	93%
C2	7	5	2	4.7	2.5	47%
P1	8	4	7	6.3	2.1	63%
P2	3	5	6	4.7	1.5	47%
P3	5	3	2	3.3	1.5	33%
P4	6	1	5	4.0	2.6	40%
P5	4	4	6	4.7	1.2	47%
P6	9	2	5	5.3	3.5	53%
P7	5	6	5	5.3	0.6	53%
P8	4	5	7	5.3	1.5	53%
P9	7	4	6	5.7	1.5	57%
P10	9	4	8	7.0	2.6	70%
P11	8	6	6	6.7	1.2	67%
P12	9	5	8	7.3	2.1	73%
P13	9	7	8	8.0	1.0	80%
P14	9	8	9	8.7	0.6	87%
P15	10	6	5	7.0	2.6	70%
P16	10	10	10	10.0	0.0	100%
P17	8	8	7	7.7	0.6	77%
P18	4	8	7	6.3	2.1	63%
P19	2	3	4	3.0	1.0	30%
P20	5	4	7	5.3	1.5	53%
P21	2	3	1	2.0	1.0	20%

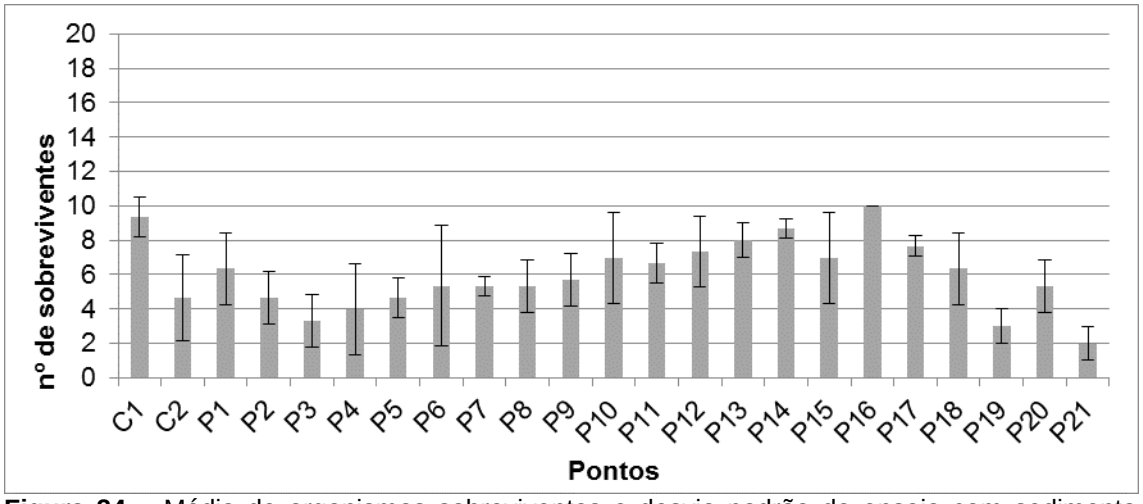

Figura 24 – Média de organismos sobreviventes e desvio padrão do ensaio com sedimento integral com *Tiburonella viscana* – campanha de inverno.

A maior sobrevivência foi de 100% na amostra de P16, e a menor na amostra em P21 com 20%.

Na análise estatística foi utilizado o controle com maior sobrevivência, C1. O test t apresentou diferença significativa ($p<0,05$) em P2, P3, P4, P5, P7, P8, P9, P11, P19, P20 e P21, já para o test t com a bioequivalência apenas P3, P5, P19 e P21 mostraram diferença, e, portanto, consideradas tóxicas.

5.3.2.3 Ensaio de interface sedimento-água com *Lytechinus variegatus*

No ensaio de interface sedimento-água com embriões de *L variegatus* foram avaliados parâmetros físicos e químicos ao início do ensaio, como mostrado na tabela 27.

Tabela 27 – Parâmetros físicos e químicos do ensaio de interface sedimento/água com embriões de *Lytechinus variegatus* – campanha de inverno.

	Salinidade	pH	NH_4 (mg/L)	NH_3 (mg/L)
C H_2O	35	7.63	0	0
C Memb	35	8.04	0	0
P1	35	7.94	1	0.04
P2	36	7.95	2	0.08
P3	36	7.83	5	0.16
P4	36	7.88	5	0.18
P5	36	8	2	0.09
P6	35	7.83	5	0.16
P7	35	7.78	5	0.14
P8	36	7.85	5	0.16
P9	35	7.91	2	0.08
P10	35	7.98	1	0.04
P11	35	7.9	1	0.04
P12	35	7.97	0.5	0.02
P13	36	8.04	1	0.05
P14	36	7.93	0.5	0.02
P15	36	7.92	2	0.08
P16	36	8.04	0	0
P17	35	7.94	0.5	0.02
P18	36	7.95	1	0.04
P19	36	7.94	1	0.04
P20	36	7.95	2	0.08
P21	36	7.95	5	0.20

Valor acima do esperado / tolerado pelo organismo

O CH_2O corresponde ao controle preparado apenas com água do mar filtrada, conforme procedimento ABNT NBR 15350 (2012), já CMemb foi feito utilizando água do mar filtrada com uma membrana e película, iguais as utilizadas no ensaio com sedimento, para descartar a possibilidade de contaminação no material utilizado no ensaio, sendo CMemb utilizado na análise estatística, por ser o controle com maior valor de larvas normais.

A salinidade variou entre 35 e 36, e os valores de pH entre 7,6 e 8.

Os valores de NH_4 obtiveram o valor máximo, 5mg/L, em P3, P4, P6, P7, P8 e P21, para NH3 os valores superaram o limite tolerável para o organismo (0,05 mg/L; Prosperi, 2002) em mais da metade das amostras.

O resultado do ensaio com *L variegatus* está na tabela 28 e figura 25.

Tabela 28 – Resultados do ensaio de interface sedimento/água com embriões de *Lytechinus variegatus*, com número de larvas normais por réplica, média e desvio padrão de larvas normais e porcentagem de larvas normais – campanha de inverno.

	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio Padrão	% de larvas normais
C H_2O	90	91	90	90.3	0.57735	90%
C Memb	90	93	96	93.0	3.0	93%
P1	19	9	7	11.7	6.4	12%
P2	5	28	17	16.7	11.5	17%
P3	0	0	0	0.0	0.0	0%
P4	0	0	0	0.0	0.0	0%
P5	55	59	64	59.3	4.5	59%
P6	0	0	0	0.0	0.0	0%
P7	0	0	0	0.0	0.0	0%
P8	22	31	27	26.7	4.5	27%
P9	52	40	31	41.0	10.5	41%
P10	0	0	0	10.3	17.9	10%
P11	39	41	56	45.3	9.3	45%
P12	0	3	5	2.7	2.5	3%
P13	53	32	33	39.0	11.8	39%
P14	70	74	76	73.3	3.1	73%
P15	70	76	78	74.7	4.2	75%
P16	65	82	75	74.0	8.5	74%
P17	71	86	84	80.3	8.1	80%
P18	72	61	80	71.0	9.5	71%
P19	48	70	60	59.3	11.0	59%
P20	62	64	67	64.3	2.5	64%
P21	0	0	0	0.0	0.0	0%

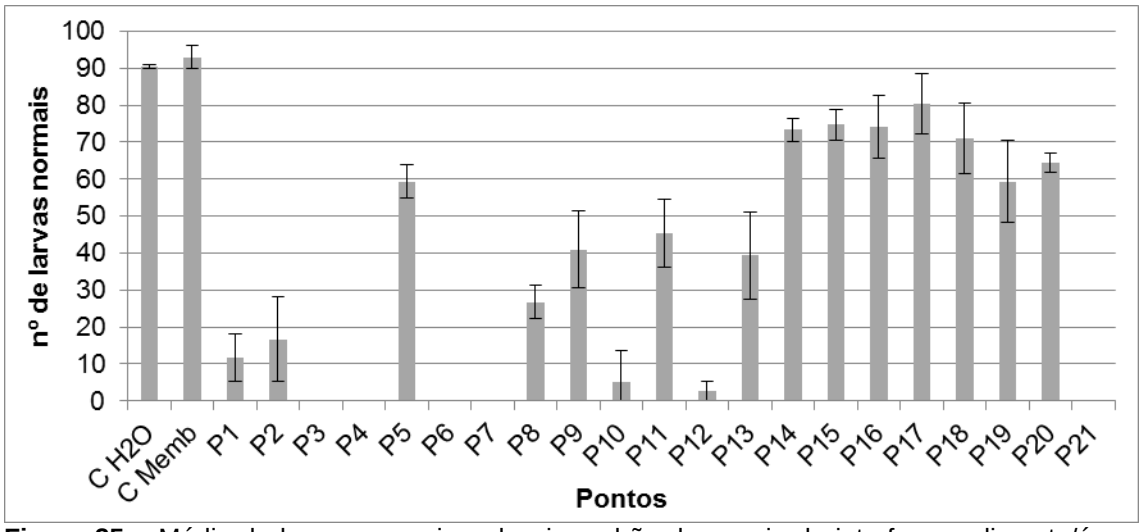

Figura 25 – Média de larvas normais e desvio padrão do ensaio de interface sedimento/água com embriões de *Lytechinus variegatus* – campanha de inverno.

A porcentagem de larvas normais foi nula nas amostras de P3, P4, P6, P7 e P21, sendo a maior porcentagem de 80% na amostra de P17.

Para o test t, apenas P17 não apresentou diferença significativa, no test t com bioequivalência P16, P17 e P18 não apresentaram diferença ($p<0,05$).

5.3.2.4 Ensaio com *Nitokra* sp

No ensaio com sedimento integral utilizando *Nitokra* sp foram medidos parâmetros físicos e químicos ao início do ensaio (Tabela 29).

Tabela 29 – Parâmetros físicos e químicos medidos no ensaio de sedimento integral com *Nitokra* sp – campanha de inverno.

	Salinidade	pH	NH_4 (mg/L)	NH_3 (mg/L)
C1	35	7.74	1	0.03
C2	34	7.84	1	0.03
P1	36	8.18	1	0.07
P2	35	7.87	2	0.07
P3	35	8.02	5	0.24
P4	35	8.13	2	0.12
P5	35	7.95	1	0.04
P6	35	7.89	5	0.18
P7	36	8.02	5	0.24
P8	35	8.16	5	0.32
P9	36	8.01	1	0.05
P10	35	8.23	1	0.08
P11	35	8.1	1	0.06
P12	35	8.02	2	0.10
P13	35	7.9	1	0.04
P14	36	7.98	1	0.04
P15	35	8.3	1	0.09
P16	35	7.89	2	0.07
P17	35	8.1	1	0.06
P18	35	8.1	5	0.28
P19	36	8.2	1	0.07
P20	36	7.9	1	0.04
P21	35	8.2	5	0.35

A salinidade do ensaio variou entre 35 e 37, e o pH entre 7,7 e 8,2. Para NH4, os valores mais altos foram obtidos nas amostras de P3, P6, P7, P8, P18 e P21, já o NH3 variou entre 0,03 e 0,35.

Os resultados do ensaio estão apresentados na tabela 30 e figura 26.

Tabela 30 – Resultados do ensaio de sedimento integral com *Nitokra* sp, com número de ovos por fêmea por réplica e sua respectiva média e desvio padrão – campanha de inverno.

	Fêmeas	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	Média	Desvio Padrão
C1	10	115	105	93	81	9.85	14.7
C2	10	110	79	75	54	7.95	23.1
P1	10	55	53	41	42	4.78	7.3
P2	10	73	71	60	67	6.78	5.7
P3	10	57	41	43	31	4.3	10.7
P4	10	56	47	42	58	5.08	7.5
P5	10	95	82	90	99	9.15	7.3
P6	10	139	117	117	93	11.63	18.8
P7	10	73	93	77	52	7.38	16.9
P8	10	58	60	53	41	5.3	8.5
P9	10	95	133	92	87	10.18	21.1
P10	10	115	109	101	135	11.5	14.5
P11	10	52	60	63	69	6.1	7.1
P12	10	153	152	149	157	15.28	3.3
P13	10	159	143	161	155	15.45	8.1
P14	10	158	147	144	141	14.75	7.4
P15	10	125	130	120	112	12.18	7.7
P16	10	93	89	95	91	9.2	2.6
P17	10	99	95	102	101	9.925	3.1
P18	10	117	127	129	118	12.28	6.1
P19	10	89	112	67	92	9	18.4
P20	10	132	146	192	163	15.83	25.8
P21	10	31	39	57	42	4.23	10.9

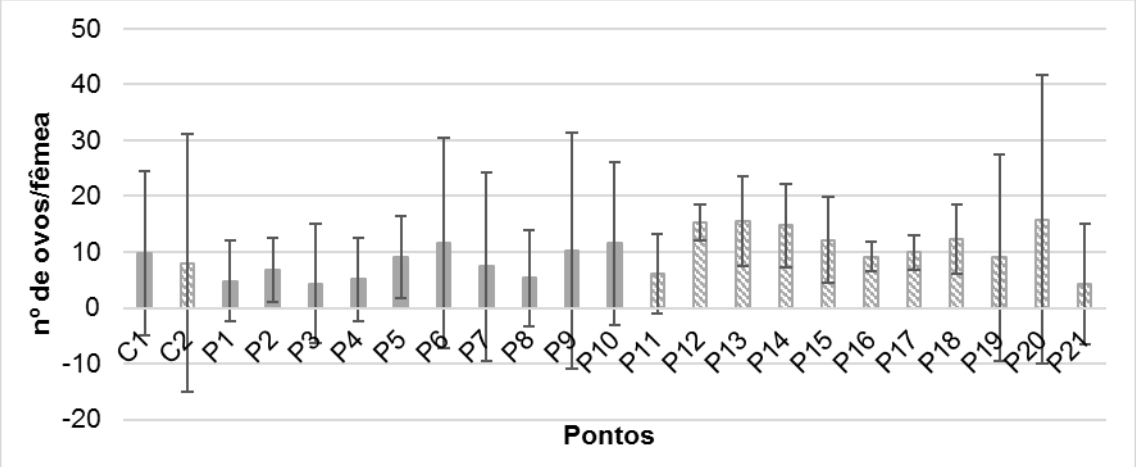

Figura 26 – Média de ovos/fêmea e desvio padrão do ensaio de sedimento integral com *Nitokra* sp – campanha de inverno.

Assim como no ensaio com *L plumulosus*, foi necessária dividir as amostras em duas etapas, cada uma com seu controle, sendo: C1 o controle

de P1 a P10, e C2 controle de P11 a P21. Cada respectivo controle foi utilizado para análise estatística com suas amostras correspondentes.

O maior valor médio de eclosão foi de 15,83 na amostra de P20, e o menor na amostra de P21 de 4,23 ovos/fêmea.

O test t mostrou diferença significativa em P1, P2, P3, P4, P8 e P21.

5.3.3 Campanha de verão

5.3.3.1 Ensaio com *Leptocheirus plumulosus*

Ao início e final do ensaio com *L plumulosus* foram medidos parâmetros físicos e químicos, conforme apresentado na tabela 31.

Tabela 31 – Parâmetros físicos e químicos do ensaio de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus* – campanha de verão.

	Salinidade		pH		Oxigênio Dissolvido (mg/L)		NH_4 (mg/L)		NH_3 (mg/L)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
C	32	32	8.25	8.32	12.3	12.7	3	3	0.24	0.27
P1	34	34	8.5	8.48	11	11.9	0.05	0.2	0.01	0.03
P2	33	33	9.7	8.5	9.3	12.4	0.1	0.2	0.07	0.03
P3	33	33	8.36	8.72	13	13.3	0.5	3	0.05	0.60
P4	33	33	8.3	8.39	8.8	12.1	0.1	0.2	0.01	0.02
P5	33	33	8.4	8.41	10.2	11.8	0.1	0.2	0.01	0.02
P6	34	34	8.42	8.53	8.5	11.7	1	3	0.11	0.42
P7	33	33	8.27	8.43	8.9	12.1	0.05	0.2	0.01	0.023
P8	33	33	8.41	8.35	9.1	12	0.05	0.2	0.01	0.02
P9	34	34	8.35	8.29	9.9	12.7	0.5	0.5	0.05	0.04
P10	33	34	8.24	8.6	8.7	10.9	1	3	0.08	0.48
P11	34	34	8.47	8.5	10.5	11.5	0.05	0.2	0.01	0.03
P12	33	33	8.36	8.36	14	13.5	0.05	0.5	0.01	0.05
P13	35	35	8.44	8.32	8.25	12.1	0.05	0.2	0.01	0.02
P14	35	36	8.57	8.16	11.3	12.8	0.1	0.1	0.02	0.01
P15	35	35	8.54	8.17	8.7	10.9	0.2	0.1	0.03	0.01
P16	35	35	8.42	8.13	8.9	12.9	0.2	0.1	0.02	0.01
P17	35	35	8.25	8.22	9.3	11.8	0.1	0.1	0.01	0.01
P18	35	36	8.37	8.33	10.1	12.1	0.2	0.1	0.02	0.01
P19	35	35	8.41	8.23	9.8	13.2	0.1	0.1	0.01	0.01
P20	35	36	8.48	8.22	9.7	12.9	0.2	0.05	0.03	0.01
P21	34	34	8.33	8.28	8.9	13.2	0.2	0.1	0.02	0.01

Valor acima do esperado / tolerado pelo organismo

A salinidade apresentou variação entre os pontos, indo de 33 á 36, e entre inicial e final, já o pH, as amostras de P3 e P10 aumentaram o valor até o final do ensaio, excedendo pH 8,5 (máximo esperado para água do mar), em P2 o pH iniciou superior a 9, mas diminuiu até o final do ensaio, voltando a pH8,5.

Quanto ao oxigênio dissolvido houve aumento nos valores entre o início e o final do ensaio.

Para amônia, tanto NH3 quanto NH4, diferente do que ocorreu no ensaio de inverno, os valores aumentaram ao final do ensaio, sendo o maior aumento em P3, que para NH4 foi de 0,5 para 3mg/L, e para NH3 de 0,05 para 0,6mg/L. Mesmo com o aumento o valor não superou a tolerância do organismo, de 0,8 mg/L.

Na tabela 32 e figura 27 estão os resultados do ensaio com *L plumulosus*.

Tabela 32 – Resultados do ensaio de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus*, com o número de organismos sobreviventes por réplica, respectiva média e desvio padrão de sobrevivência e porcentagem de sobrevivência – campanha de verão.

	Réplica 1	**Réplica 2**	**Réplica 3**	**Réplica 4**	**Média**	**Desvio Padrão**	**% de sobrevivência**
C	**19**	18	20	19	19.0	0.8	95%
P1	**1**	7	9	5	5.5	3.4	28%
P2	**1**	0	5	1	1.8	2.2	9%
P3	**2**	1	4	4	2.8	1.5	14%
P4	**0**	0	3	4	1.8	2.1	9%
P5	**1**	1	6	5	3.3	2.6	16%
P6	**4**	5	1	0	2.5	2.4	13%
P7	**6**	4	3	2	3.8	1.7	19%
P8	**3**	2	1	0	1.5	1.3	8%
P9	**8**	6	7	1	5.5	3.1	28%
P10	**9**	8	6	11	8.5	2.1	43%
P11	**4**	3	12	3	5.5	4.4	28%
P12	**3**	4	2	1	2.5	1.3	13%
P13	**7**	5	4	3	4.8	1.7	24%
P14	**18**	14	18	18	17.0	2.0	85%
P15	**18**	14	16	18	16.5	1.9	83%
P16	**19**	20	18	20	19.3	1.0	96%
P17	**15**	16	15	16	15.5	0.6	78%
P18	**15**	12	11	9	11.8	2.5	59%
P19	**9**	13	11	13	11.5	1.9	58%
P20	**12**	9	14	14	12.3	2.4	61%
P21	**13**	15	15	15	14.5	1.0	73%

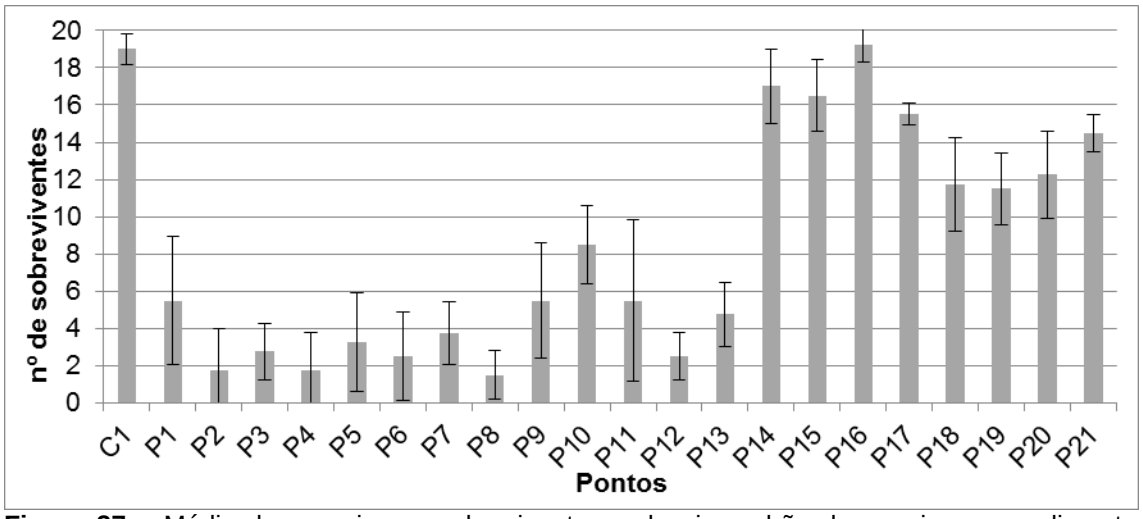

Figura 27 – Média de organismos sobreviventes e desvio padrão do ensaio com sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus* – campanha de verão.

A maior sobrevivência foi observada em P16, com 96%, e a menor em P8 com apenas 8%.

Na análise estatística, não foram consideradas significativamente diferente no test. t apenas as amostras de P14, P15 e P16, e com a bioequivalência apenas as amostras deP14, P15, P16, P17 e P21 não foram diferentes.

5.3.3.2 Ensaio de interface sedimento água com embriões de *Lytechinus variegatus*

Os parâmetros físicos e químicos no ensaio de interface sedimento água com embriões de *L variegatus* foram medidos ao início do ensaio, e os valores estão na tabela 33.

Tabela 33 – Parâmetros físicos e químicos medidos no ensaio de interface sedimento/água com embriões de *Lytechinus variegatus* – campanha de verão.

	Salinidade	pH	NH_4 (mg/L)	NH_3 (mg/L)
C H_2O	34	8.68	3	0.56
C Memb	34	8.54	3	0.43
P1	33	8.57	3	0.45
P2	33	8.65	3	0.53
P3	33	8.43	3	0.34
P4	33	8.7	1	0.19
P5	33	8.69	1	0.19
P6	33	8.58	3	0.46
P7	33	8.58	3	0.46
P8	33	8.67	1	0.18
P9	33	8.62	1	0.17
P10	33	8.57	3	0.45
P11	33	8.67	1	0.18
P12	33	8.62	3	0.50
P13	33	8.63	3	0.51
P14	33	8.64	3	0.52
P15	33	8.71	1	0.20
P16	33	8.76	1	0.22
P17	32	8.64	1	0.17
P18	32	8.74	3	0.63
P19	33	8.76	3	0.65
P20	34	8.65	1	0.18
P21	34	8.63	1	0.17

Valor acima do esperado / tolerado pelo organismo

Assim como no ensaio de inverno, foram preparados dois controles, um apenas com água do mar filtrada (CH2O) e outro com a água e a membrana (CMemb), e utilizado apenas o controle com água para análise estatística, por ser o resultado com maior porcentagem de larvas normais.

A salinidade variou entre 32 e 34, já o pH de todos os pontos ultrapassou o esperado para água do mar, de pH 8,5. A amônia apresentou um alto valor, com NH4 entre 1,0 e 3,0, e NH3 acima de 0,1 em todos os pontos, valor superior a tolerância do organismo-teste, que é de até 0,05 mg/L, o valor mais baixo foi de 0,17 mg/L nas amostras de P9, P17 e P21, e o mais alto, de 0,65 mg/L, na amostra de P19.

O resultado do ensaio pode ser observado na tabela 34 e figura 28.

Tabela 34 – Resultados do ensaio de interface sedimento/água com embriões de *Lytechinus variegatus*, com número de larvas normais por réplica, média e desvio padrão de larvas normais, e porcentagem de larvas normais – campanha de verão.

	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Média	Desvio Padrão	% de larvas normais
CH_2O	**96**	98	98	97.3	1.2	97%
CMemb	**86**	89	80	85.0	4.6	85%
P1	**2**	0	0	0.7	1.2	1%
P2	**60**	70	54	61.3	8.1	61%
P3	**2**	3	0	1.7	1.5	2%
P4	**4**	6	0	3.3	3.1	3%
P5	**83**	59	78	73.3	12.7	73%
P6	**0**	0	0	0.0	0.0	0%
P7	**10**	17	26	17.7	8.0	18%
P8	**4**	0	10	4.7	5.0	5%
P9	**6**	9	3	6.0	3.0	6%
P10	**0**	0	0	16.7	28.9	17%
P11	**5**	0	14	6.3	7.1	6%
P12	**71**	57	65	64.0	7	64%
P13	**2**	10	20	10.7	9.0	11%
P14	**75**	69	64	69.3	5.5	69%
P15	**91**	93	91	91.7	1.2	92%
P16	**80**	79	79	79.3	0.6	79%
P17	**55**	51	51	52.3	2.3	52%
P18	**0**	2	0	0.7	1.2	1%
P19	**68**	64	73	68.3	4.5	68%
P20	**63**	65	70	66.0	3.6	66%
P21	**1**	0	0	0.3	0.6	0%

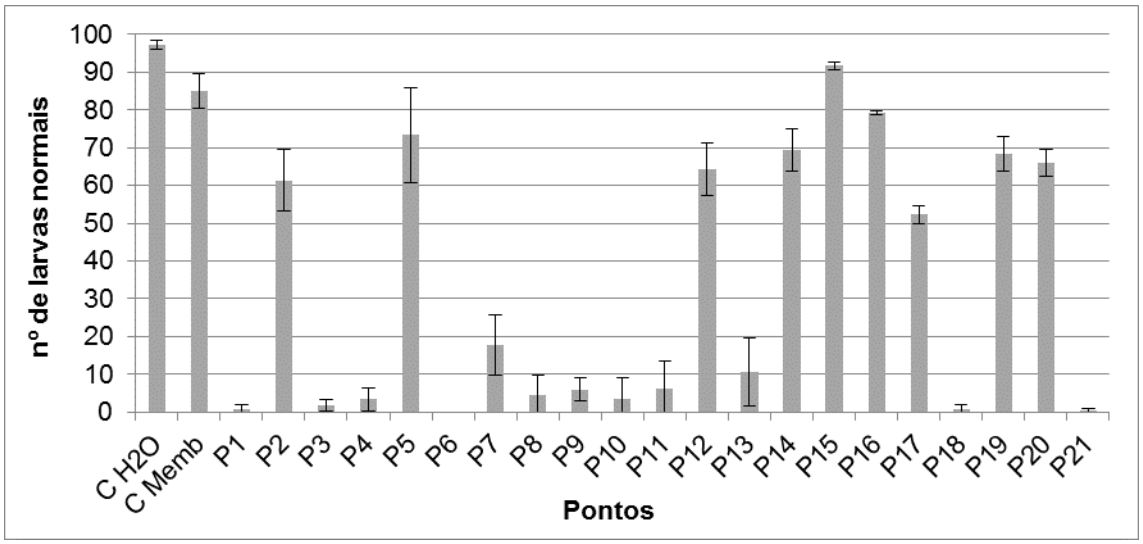

Figura 28 – Média de larvas normais e desvio padrão do ensaio embriolarval de interface sedimento/água com *Lytechinus variegatus* – campanha de verão.

Apenas na amostra de P21 a porcentagem de larvas normais foi nula, e a maior porcentagem foi de 92% na amostra de P15.

Na análise estatística, todos os pontos foram considerados significativamente diferente do controle ($p<0,05$) no test t, já com bioequivalência, apenas P15 não se mostrou diferente, portanto, não tóxico.

5.3.3.4 Ensaio com *Nitokra* sp

A tabela 35 apresenta os valores dos parâmetros físicos e químicos medidos ao início do ensaio de sedimento com *Nitokra* sp.

Tabela 35 – Parâmetros físicos e químicos do ensaio com sedimento integral com *Nitokra* sp – campanha de verão.

	Salinidade Inicial	pH Inicial	NH_4 (mg/L) Inicial	NH_3 (mg/L) Inicial
C1	30	7.75	3	0.08
C2	34	7.69	3	0.07
1	32	7.92	0.2	0.01
2	32	8.03	0.5	0.02
3	32	8.86	3	0.77
4	32	7.98	3	0.13
5	32	8.12	0.5	0.03
6	32	7.85	3	0.10
7	33	8.14	1	0.06
8	32	8.09	0.2	0.01
9	32	8.05	1	0.05
10	33	8.03	1	0.05
11	32	8.27	0.2	0.02
12	32	8.14	0.5	0.03
13	32	8.13	0.5	0.03
14	33	8.03	0.5	0.02
15	34	8	1	0.05
16	34	7.94	1	0.04
17	33	8.02	1	0.05
18	33	7.95	3	0.12
19	33	8.01	1	0.05
20	34	8	1	0.05
21	33	8.07	3	0.16

A salinidade variou entre 32 e 34, o pH se manteve em torno de 8, sendo o valor mais baixo ocorrido na amostra de P6 com pH7,85.

Para NH4 os valores máximos de 3mg/L, foram observados nas amostras de P3, P4, P6, P18 e P21, para o NH3, o maior valor foi de 0,77 mg/L na amostra de P3.

Os resultados do ensaio com *Nitokra* sp estão apresentados na Tabela 36 e na figura 29.

Tabela 36 – Resultados do ensaio de sedimento integral com *Nitokra* sp, com número de ovos por fêmea por réplica e sua respectiva média e desvio padrão – campanha de verão.

	Adultos	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	Média	Desvio Padrão
C1	10	10	10.8	10.4	11	10.55	4.4
C2	10	7.5	7	6.2	6.6	6.83	5.6
P1	10	5.4	7	6.2	5.9	6.13	6.7
P2	10	7.2	7.4	7.4	7	7.25	1.9
P3	10	13.1	17.1	16.1	14.5	15.2	17.6
P4	10	6.8	6.5	6.2	5.9	6.35	3.9
P5	10	8.8	7	4.2	6.5	6.63	18.9
P6	10	12.5	16.1	14.3	15.1	14.5	15.2
P7	10	11.5	12	12.2	11.8	11.88	3.0
P8	10	2.8	3.6	3.2	3	3.15	3.4
P9	10	19.1	23.2	18	18.3	19.65	24.1
P10	10	11.8	14.8	12.9	13.3	13.2	12.4
P11	10	6.2	8.9	9.4	7.8	8.08	14.2
P12	10	16.8	13.2	14	15.3	14.83	15.8
P13	10	17.6	16.6	16.8	17.1	17.03	4.3
P14	10	18.4	15.8	17.4	18.7	17.58	13.1
P15	10	15.5	12	16.2	11.8	13.88	23.0
P16	10	9.3	11.2	6.5	8.8	8.95	19.3
P17	10	9.3	10.2	15	12.1	11.65	25.2
P18	10	10.1	11.2	7.6	9.4	9.58	15.1
P19	10	9.8	8.6	4.2	7	7.4	24.2
P20	10	25.2	19.6	19.2	22	21.55	28.5
P21	10	5.1	5.8	4.1	4.9	4.98	7.0

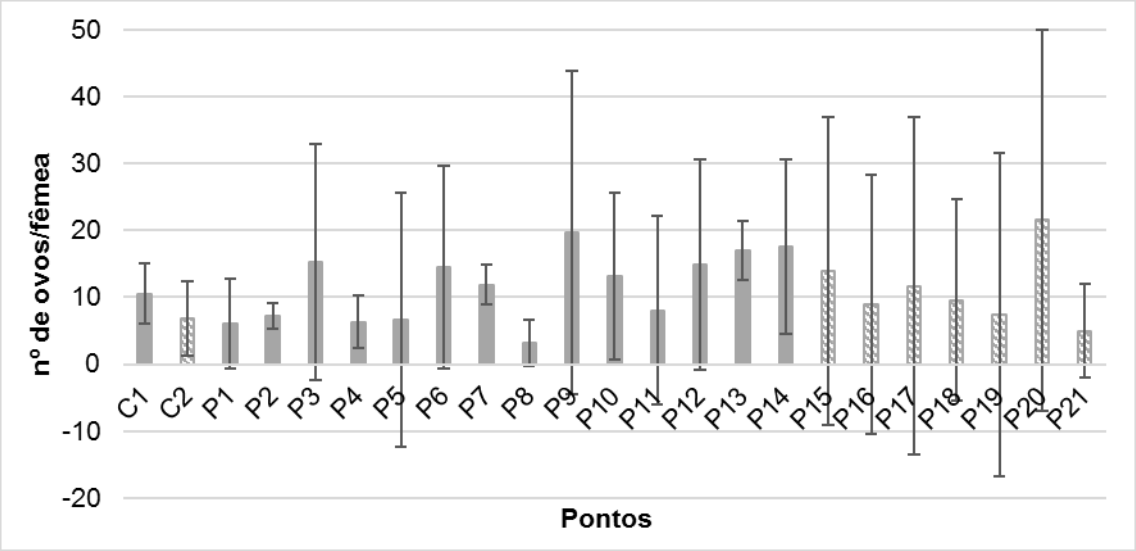

Figura 29 – Média de ovos/fêmea e desvio padrão do ensaio de sedimento integral com *Nitokra* sp – campanha de verão.

A menor eclosão média de ovos foi na amostra de P2, com apenas 1,9 ovos/fêmea, já o maior resultado foi de 28,5 ovos/fêmea na amostra de P20.

Para análise estatística foi utilizado o resultado de C1, por ser o controle de maior sobrevivência; no test t, houve diferença significativa ($p<0,05$) nas amostras de P1, P4, P5, P8, P11 e P21.

5.3.4 ANÁLISE COMPARATIVA

Os resultados dos ensaios com *Leptocheirus plumulosus* nas campanhas de inverno e verão podem ser observados na figura 30.

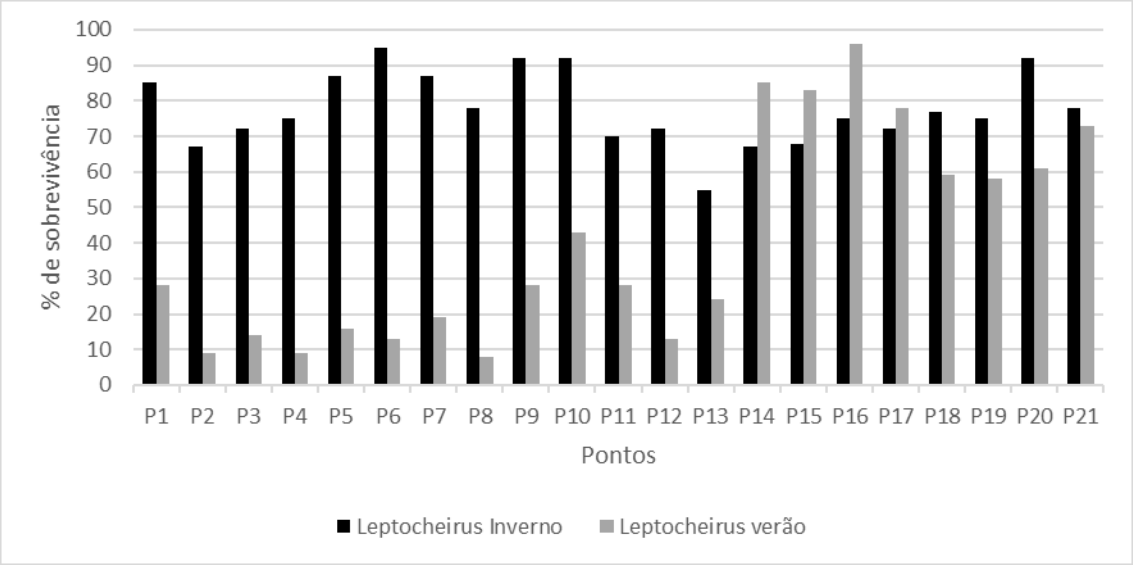

Figura 30 – Comparação da porcentagem de sobrevivência dos ensaios de sedimento integral com *Leptocheirus plumulosus* das campanhas de inverno e verão.

Pela figura 30 é possível verificar resultados bem diferentes. A campanha de inverno tem todos os resultados acima de 50% de sobrevivência, passando dos 90% em P6, P9, P10 e P20; a campanha de verão mostrou uma grande variação entre os pontos, até P8 todos os resultados estão abaixo de 30% de sobrevivência, a partir de P9 há um aumento, chegando a 40% seguido de uma queda em P12 (<20%). A partir de P13 se inicia um aumento na porcentagem de sobrevivência, passando dos 90% em P16, e se mantendo acima dos 50% até P21.

Os resultados dos ensaios com *Lytechinus variegatus*, em ambas as campanhas, estão apresentadas na figura 31.

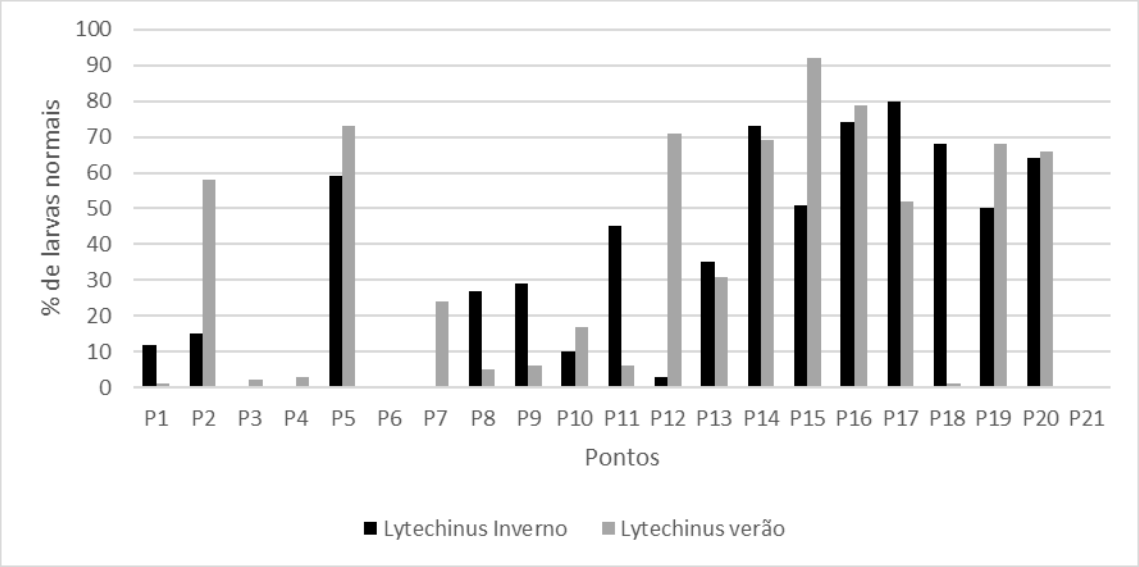

Figura 31 – Comparação da porcentagem de larvas normais dos ensaios embriolarvais de interface sedimento/água com *Lytechinus variegatus* das coletas de inverno e verão.

Para *L variegatus*, até P6 os resultados mantem o mesmo padrão nos resultados, tanto para inverno quanto para verão. A partir de P7 os resultados se tornam, praticamente, opostos, sendo que verão possui os maiores extremos, com os picos mais altos e os mais baixos de larvas normais.

Na figura 32 estão apresentados os valores dos ensaios com *Nitokra* sp em ambas as campanhas.

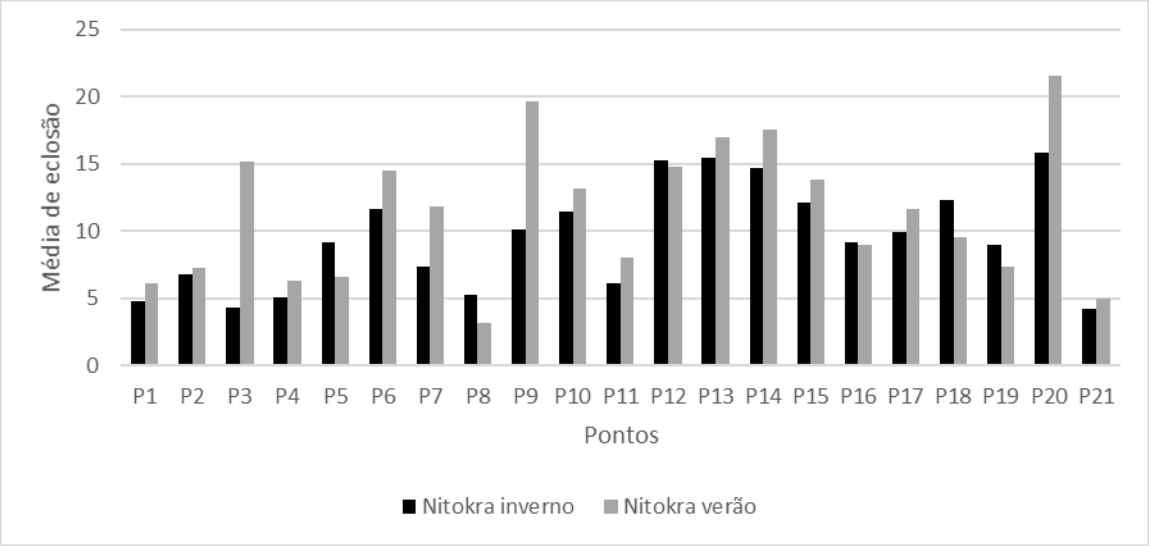

Figura 32 – Comparação das médias de eclosão/fêmea dos ensaios de sedimento integral com *Nitokra* sp das campanhas de inverno e verão.

Os resultados seguem um padrão parecido entre as campanhas, com exceção de P3, com uma eclosão menor de 5 ovos/fêmea no inverno e maior

que 15 ovos/fêmea no verão. Outra diferença é vista em P9, onde, em ambas as campanhas há aumento na eclosão, chegando a 10 ovos/fêmea no inverno e no verão esse valor quase dobra.

O resultado da campanha de inverno com *Tiburonella viscana* pode ser observado na figura 33.

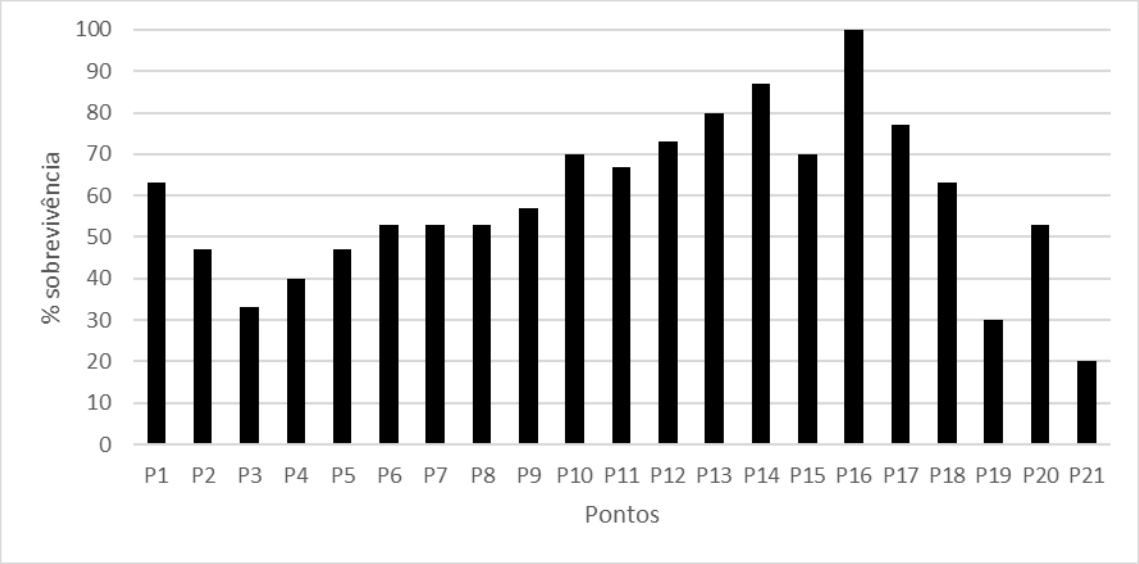

Figura 33 – Porcentagem de sobrevivência do ensaio de sedimento integral com *Tiburonella viscana* da campanha de inverno.

Apesar de resultados apenas na campanha de inverno, é possível compará-los com os ensaios dos outros organismos.

Em *T viscana*, *L plumulosus* verão e *L variegatus* nas duas campanhas, é possível observar um mesmo padrão, com um aumento na sobrevivência a partir de P12 até P17, com uma queda na sobrevivência/larvas normais a partir de P18. Com exceção dos resultados de *L plumulosus*, todos os outros tiveram P21 como o pior, ou um dos piores resultados.

Após a obtenção de todos os resultados, estes foram correlacionados aos parâmetros ambientais e aos avaliados nos ensaios, além da análise granulométrica, para verificar possíveis relações entre eles.

A tabela 37 mostra as correlações na campanha de inverno.

Tabela 37 – Correlação de *Spearmann* da campanha de inverno, entre resultados dos ensaios, parâmetros ambientais e dos ensaios e granulometria.

			Leptocheirus	*Tiburonella*	*Lytechinus*	*Nitokra*
Parâmetros dos ensaios	**Salinidade**	*ρ*	-0.0634	-0.1883	0.2608	0.1044
		p	0.7847	0.4136	0.2535	0.6523
	pH	*ρ*	**0.4547**	**0.5245**	0.4212	-0.3356
		p	0.0383	0.0146	0.0572	0.1368
	OD	*ρ*	-0.1649	0.1669	-	-
		p	0.4751	0.4696	-	-
	NH_4	*ρ*	-0.2255	**-0.5244**	**-0.6698**	-0.3533
		p	0.3256	0.0146	0.0009	0.1161
	NH_3	*ρ*	-0.1384	-0.3273	**-0.6582**	**-0.4374**
		p	0.5497	0.1474	0.0012	0.0473
Granulometria	**Grânulos**	*ρ*	0.0217	**-0.5969**	-0.2246	-0.3760
		p	0.9255	0.0043	0.3276	0.0929
	Areia	*ρ*	0.3184	0.1819	-0.1621	0.0922
		p	0.1594	0.4299	0.4827	0.6910
	Silte	*ρ*	-0.3334	0.1956	0.3948	0.1922
		p	0.1396	0.3954	0.0765	0.4039
	Argila	*ρ*	**0.5279**	-0.3104	-0.3656	-0.0448
		p	0.0139	0.1708	0.1030	0.8471
	Matéria Orgânica	*ρ*	0.1623	**-0.6795**	-0.3801	**-0.7221**
		p	0.4821	0.0007	0.0891	0.0002
	Carbono Orgânico	*ρ*	-0.0085	**-0.4826**	-0.4039	**-0.6883**
		p	0.9709	0.0267	0.0693	0.0006

Correlação

No ensaio de inverno com *L. plumulosus* houve uma variação no valor de pH, com 11 pontos excedendo o pH 8,5, porém a correlação positiva mostra esse aumento como um benefício para o organismo, o mesmo foi observado no ensaio com *T. viscana*, com 3 pontos com aumento no pH. A correlação negativa de *L. variegatus* com NH3 pode ser explicada por todos os pontos que não obtiveram nenhuma larva normal terem excedido o valor tolerável pelo organismo. Para *Nitokra* sp, mesmo não ocorrendo nenhum valor acima do tolerado pela espécie, houve uma correlação negativa com NH3, mostrando uma possível interferência da amônia sobre a eclosão de ovos, mesmo em baixa concentração.

O organismo-teste que mais apresentou correlação com os demais parâmetros foi *Tiburonella viscana*, com correlação positiva com pH do ensaio e profundidade, e negativo para NH4, grânulos, matéria orgânica e carbono orgânico.

Os valores de correlação para campanha de verão estão descritos na tabela 38.

Tabela 38 – Correlação de *Spearmann* da campanha de verão, entre resultados dos ensaios, parâmetros ambientais e dos ensaios e granulometria.

			Leptocheirus	Lytechinus	Nitokra
Parâmetros dos ensaios	Sal	ρ	**0.7899**	0.0090	0.1823
		p	< 0.0001	0.9691	0.4289
	pH	ρ	0.1146	**0.4399**	0.1191
		p	0.6208	0.0459	0.6072
	OD	ρ	-0.0101	-	-
		p	0.9653	-	-
	NH_4	ρ	0.2899	-0.1575	0.1580
		p	0.2024	0.4953	0.4939
	NH_3	ρ	0.1809	0.1245	0.1845
		p	0.4327	0.5907	0.4232
Granulometria	Grânulos	ρ	**-0.5264**	-0.0471	**-0.6116**
		p	0.0142	0.8394	0.0032
	Areia	ρ	0.0982	-0.3261	**0.5273**
		p	0.6718	0.1491	0.0140
	Silt	ρ	0.2978	0.3905	-0.2904
		p	0.1898	0.0800	0.2016
	Arg	ρ	-0.3537	**-0.5108**	0.0660
		p	0.1156	0.0179	0.7763
	MO	ρ	**-0.7933**	**-0.5840**	**-0.5582**
		p	< 0.0001	0.0054	0.0085
	CO	ρ	-0.2070	-0.1709	-0.2729
		p	0.3678	0.4587	0.2313

Correlação

Como visto no ensaio de verão com *L. plumulosus*, a salinidade variou entre os pontos. A correlação positiva mostra a preferência do organismo por salinidades maiores.

Todos os pontos apresentaram um valor de pH acima do esperado no ensaio de verão com *L. variegatus*, contrário ao esperado esse aumento foi benéfico ao organismo pela correlação positiva.

Nesta campanha, *Leptocheirus plumulosus* foi o organismo com maior número de correlações, sendo positiva com salinidade do ensaio, pH de campo e a penetração de luz medida com secchi, e negativa para grânulos e matéria orgânica.

Para montagem de um mapa de toxicidade foram agrupados todos os resultados de toxicidade em cada ensaio, para cada organismos-teste, em cada ponto e para cada teste estatístico, e esses resultados foram transformado em porcentagem, sendo: de 100 á 70% - muito tóxico; de 69 á 50% - tóxico; e abaixo de 49% - pouco tóxico.

Na tabela 39 e figura 34 estão apresentados os resultados com o test t.

Tabela 39 – Ocorrência de toxicidade nos pontos pelos resultados do test t considerando os resultados tóxicos dos ensaios com os 4 organismos e de ambas as campanhas.

	Lepto Inverno	Tiburo Inverno	Nitokra Inverno	Lytech Inverno	Lepto Verão	Nitokra Verão	Lytech Verão	% de toxicidade
P1	○	○	●	●	●	●	●	71,45
P2	○	●	●	●	●	○	●	71,45
P3	○	●	●	●	●	○	●	71,45
P4	○	●	●	●	●	●	●	85,74
P5	○	●	○	●	●	●	●	71,45
P6	○	○	○	●	●	○	●	42,87
P7	●	●	○	●	●	○	●	71,45
P8	●	●	●	●	●	●	●	100
P9	○	●	○	●	●	○	●	57,16
P10	○	○	○	●	●	○	●	42,87
P11	○	●	○	●	●	●	●	71,45
P12	○	○	○	●	●	○	●	42,87
P13	●	○	○	●	●	○	●	57,16
P14	●	○	○	●	○	○	●	42,87
P15	●	○	○	●	○	○	●	42,87
P16	○	○	○	●	○	○	●	28,58
P17	●	○	○	○	●	○	●	42,87
P18	●	○	○	●	●	○	●	57,16
P19	●	●	○	●	●	○	●	71,45
P20	○	●	○	●	●	○	●	57,16
P21	○	●	●	●	●	●	●	71,45

○ Não tóxico
● Tóxico

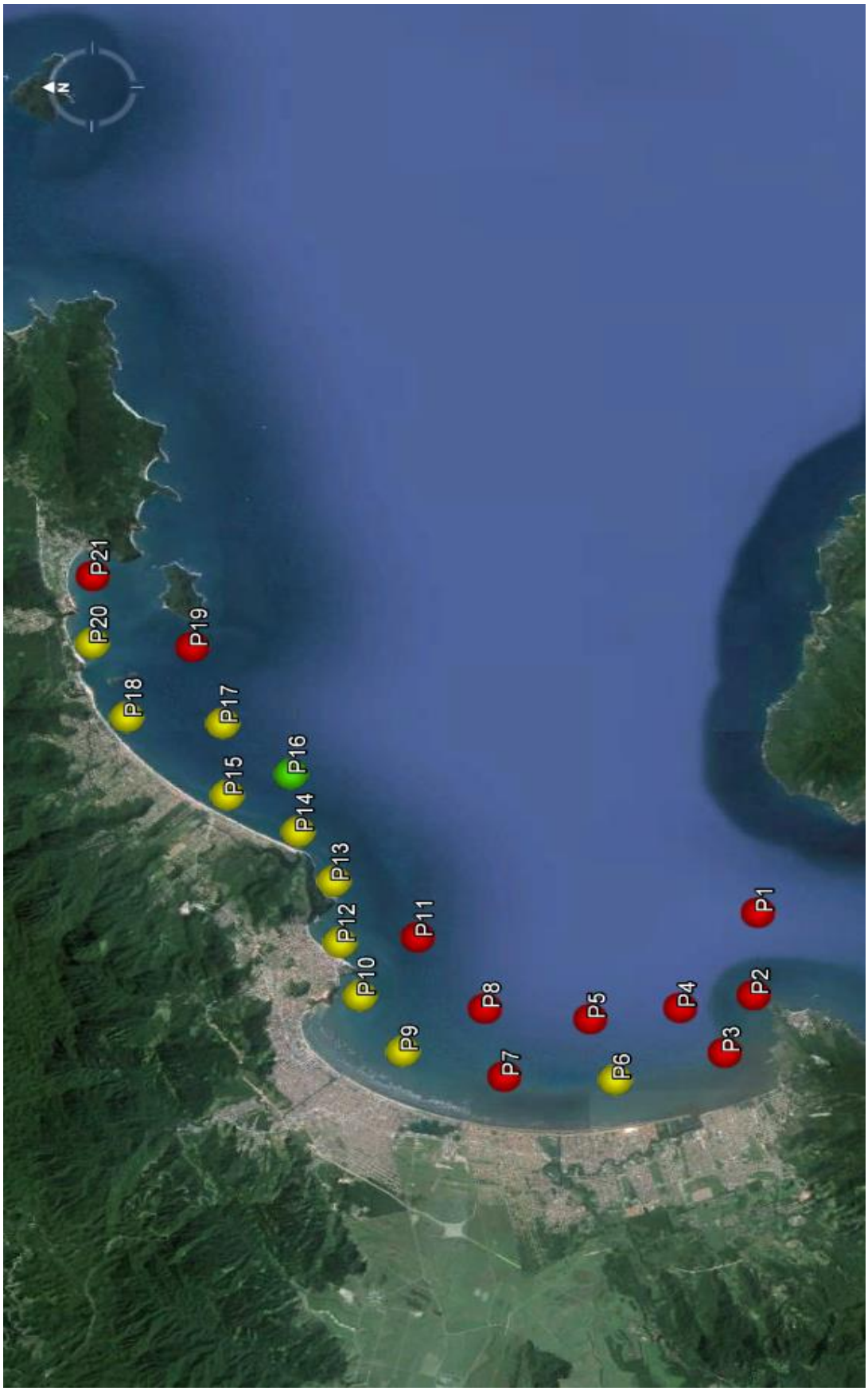

Figura 34 – Frequência de resultados tóxicos para o test t considerando o resultado dos ensaios com todos os organismos e ambas as campanhas, sendo vermelho – muito tóxico (< 70%), amarelo – tóxico (69 a 50%) e verde – pouco tóxico (> 49%). (Imagem feita utilizando software Google Earth®).

Comparando inverno com verão houve um aumento no número de resultados tóxicos, indo de 53,6% no inverno para 71,6% no verão.

Apenas 7 pontos foram considerados pouco tóxicos, sendo eles: P6, P10, P12, P14, P15, P16 e P17. Praticamente metade dos pontos foram considerados muito tóxicos. O ponto de maior toxicidade foi P8, com 100% de resultados tóxicos e *L variegatus* foi o único organismo-teste com toxicidade em todos os pontos no verão.

Os resultados do test t com bioequivalência foram demonstrados na tabela 40 e figura 35. Os resultados com *Nitokra* sp não possuem resultados com bioequivalência, então foram incluídos os resultados apenas do test t.

Tabela 40 – Ocorrência de toxicidade nos pontos pelos resultados do test t com bioequivalência considerando os resultados tóxicos dos ensaios com os 4 organismos e de ambas as campanhas.

	Lepto Inverno	Tiburo Inverno	Nitokra Inverno	Lytech Inverno	Lepto Verão	Nitokra Verão	Lytech Verão	% toxicidade
P1	○	○	●	●	●	●	●	71,45
P2	○	○	●	●	●	○	●	57,16
P3	○	●	●	●	●	○	●	71,45
P4	○	○	●	●	●	●	●	71,45
P5	○	●	○	●	●	●	●	71,45
P6	○	○	○	●	●	○	●	42,87
P7	○	○	○	●	●	○	●	42,87
P8	○	○	●	●	●	●	●	71,45
P9	○	○	○	●	●	○	●	42,87
P10	○	○	○	●	●	○	●	42,87
P11	○	○	○	●	●	●	●	57,16
P12	○	○	○	●	●	○	●	42,87
P13	●	○	○	●	●	○	●	57,16
P14	●	○	○	●	○	○	●	42,87
P15	○	○	○	●	○	○	○	14,29
P16	○	○	○	○	○	○	●	14,29
P17	○	○	○	○	○	○	●	14,29
P18	○	○	○	○	●	○	●	28,58
P19	○	●	○	●	●	○	●	57,16
P20	○	○	○	●	●	○	●	42,87
P21	○	●	●	●	○	●	●	71,45

○ Não tóxico
● Tóxico

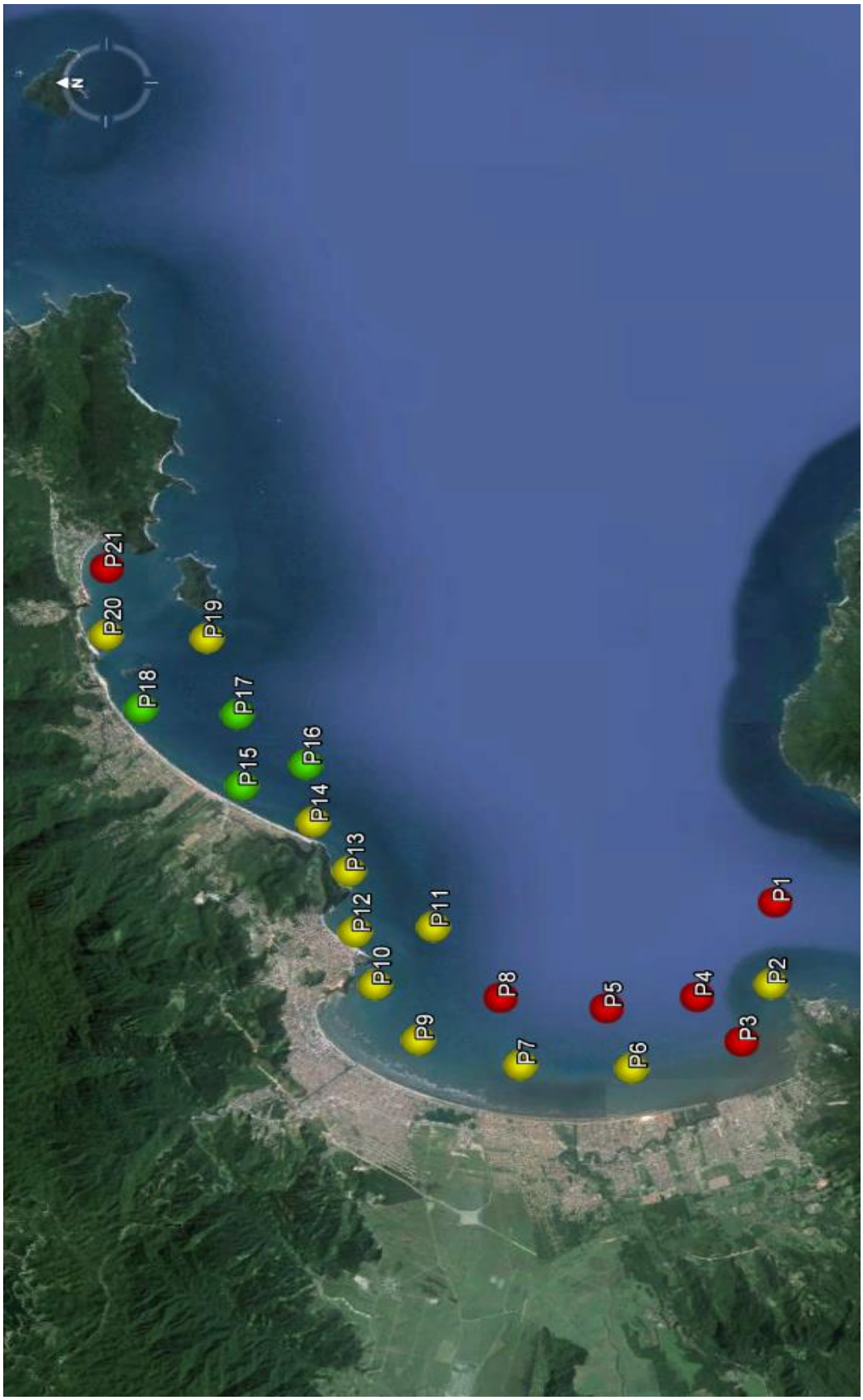

Figura 35 – Frequência de resultados tóxicos para o test t com bioequivalência considerando o resultado dos ensaios com todos os organismos e ambas as campanhas, sendo vermelho – muito tóxico (< 70%), amarelo – tóxico (69 a 50%) e verde – pouco tóxico (> 49%). (Imagem feita utilizando software Google Earth®).

Quando observando os resultados de inverno e verão observamos um aumento nos resultados tóxicos, como a análise do test t, indo de 35,7% no inverno indo para 66,78% no verão.

Com a bioequivalência sobem para 10 os pontos pouco tóxicos, e caem para 6 o número dos muito tóxicos. Nenhum ponto teve 100% de toxicidade e, assim como no test t, *L variegatus* na campanha de verão foi o organismo com maior número de resultados tóxicos.

6. DISCUSSÃO

6.1 Considerações sobre a área

O litoral do estado de São Paulo possui 880 km de extensão de linha de costa, com uma população de quase 2 milhões de habitantes (IBGE, 2015; Cetesb, 2014), é dividido em 3 áreas: Baixada Santista, com os municípios de Peruíbe, Itanhaém, Mongaguá, Praia Grande, São Vicente, Santos, Bertioga e Guarujá; Litoral Sul, com os municípios de Iguape, Ilha Comprida e Cananéia; e Litoral Norte, com os municípios de Ubatuba, Caraguatatuba, Ilhabela e São Sebastião; que compreendem uma área total de 7.759 km^2 (Cetesb, *op cit*).

O litoral norte possui cerca de 1.943 km^2, é caracterizado pela proximidade da serra do mar com a linha de costa, que estreita a planície litorânea, formando uma costa recortada com praias intercaladas por costões rochosos (Cetesb, 2004). Possui inúmeras ilhas, sendo as principais a Ilha Anchieta, em Ubatuba e Ilha de São Sebastião, onde está localizado o município de Ilhabela.

O litoral norte possui uma população aproximada de 305 mil habitantes (IBGE, 2015), mas, por se tratar de uma estância turística, é preciso considerar a população flutuante, que tem no litoral sua segunda residência ou frequentam o local em épocas de veraneio. Na alta temporada, a população chega a dobrar. Esse aumento leva a uma maior demanda por água potável que, consequentemente, aumenta geração de resíduos, afetando diretamente a qualidade ambiental (Cetesb, 2014).

Caraguatatuba, objeto deste trabalho, possui a maior população no Litoral Norte com mais de 113 mil habitantes (IBGE, 2015), e registrou o segundo maior crescimento populacional, com um aumento de 17% da sua população entre 2005 e 2014, e uma população flutuante em épocas de veraneio, que chega a dobrar o número de habitantes (Cetesb, 2014)

6.2 Qualidade sanitária da região

O município de Caraguatatuba merece destaque para qualidade de praias. Nos últimos anos a qualidade das praias tem melhorado, em 2013 a porcentagem de praias boas era de 19% e em 2014 chegou a 53%. O município de Caraguatatuba possui o melhor ICTEM (Índice de Coleta e Tratabilidade de Esgotos da População Urbana de Municípios) do Litoral Norte.

Esse índice leva em consideração a coleta, tratamento e disposição de esgoto. Caraguatatuba coleta cerca de 67% do esgoto, e trata 100% dele, conta com 4 ETE (Estação de Tratamento de Esgoto) e não possui emissário submarino (Cetesb, 2014).

Os rios que desembocam diretamente nas praias podem ser fonte de contaminação, devido a existência de lançamentos clandestinos de efluentes domésticos *in natura*. Um estudo feito por Cetesb (2004) em dois rios de Caraguatatuba para verificar aporte de efluentes domésticos, mostrou que no Rio Massaguaçú, próximo à Praia de Massaguaçú, não foi observada contribuição significativa de coliformes fecais. Apenas no período do verão, época de fortes chuvas e aumento da população, o valor de coliformes foi elevado, porém não afetaram diretamente a qualidade da praia. Já o Rio Juqueriquerê, o maior da região, apresentou uma forte influência por esgoto, principalmente no período do verão, e em ambos os rios foi observada presença de óleo e graxas.

Analisando a qualidade sanitária dos rios de Caraguatatuba, houve uma melhora nos últimos anos, em 2012 apenas cerca de 20% dos rios analisados estavam dentro dos padrões exigidos, já em 2014 mais de 50% deles atenderam a legislação (Cetesb, 2014). Nesse contexto, a quantidade de chuva é um elemento particularmente importante, pois pode carregar águas paradas com esgotos e água de pequenos córregos, sendo possível notar um aumento no número de praias imprópria em meses chuvosos (Cetesb 2004), mas é importante notar que no Litoral Norte foi observada em 2013 e 2014 uma média de chuvas menor que a média histórica (de 1993 á 2013) (Cetesb, 2014).

Apesar dessa evolução na qualidade sanitária em Caraguatatuba, em seus arredores a situação não é a mesma.

O município de Ilhabela está localizado na Ilha de São Sebastião, possui cerca de 32 mil habitantes (IBGE, 2015) e uma população flutuante de menos de 50% (Cetesb, 2014). O município possui o pior ICTM do litoral norte, com captação de apenas 25% do esgoto e tratamento de 4% deste. Ilhabela possui 2 ETE e1 EPC (Estação de Pré Condicionamento) e o esgoto coletado é despejado no mar através do emissário submarino do Saco da Capela, diretamente no CSS (Canal de São Sebastião) (Cetesb, 2007).

O município de São Sebastião está localizado ao sul de Caraguatatuba, possui cerca de 83 mil habitantes e uma área de 399.679 km (IBGE, 2015). O município coleta 46% do esgoto e trata apenas 34%. São Sebastião possui 6 ETE e 2 EPC, que lançam seu efluente no CSS por meio dos 2 emissários submarinos, Araçá e Cigarras. Além desses emissários de efluentes domésticos, no município está localizado o emissário de efluente industrial do TEBAR (Terminal Almirante Barroso), que também lança seus efluentes no CSS (Cetesb, *op cit*; Cetesb, 2013, Cetesb, 2007).

É justamente o CSS que que interliga Caraguatatuba, Ilhabela e São Sebastião, e essa ligação se deve pela hidrodinâmica.

6.3 Hidrodinamismo local

O CSS possui cerca de 22 km de extensão e uma profundidade que pode atingir 45 m. Pode-se dividir a corrente local em superficial e de fundo. A corrente superficial é fortemente influenciada pela ação de ventos, sendo preferencialmente sentido nordeste no outono, primavera e inverno, e sentido sudoeste no verão (Rodrigues, 2009; Castro *et al.*, 2008). A corrente de fundo permanece sentido nordeste durante todo o ano, sofrendo influência pelos vórtices na porção norte do canal, próximo à Caraguatatuba, podendo ser direcionada para a porção norte da Ilha de São Sebastião, ou direcionada para planície de maré, divisa de São Sebastião com Caraguatatuba, ou ainda seguir adiante, podendo chegar à praia de Massaguaçu ou Cocanha ao norte de Caraguatatuba, ou chegar ao município de Ubatuba, no extremo norte do litoral de São Paulo (Furtado, 1978; Rodrigues, *op cit*).

A costa de Caraguatatuba encontra-se semi abrigada pela presença das Ilhas de São Sebastião, Búzios e Vitória, que formam uma barreira, causando a difração de ondas oceânicas, evitando que estas cheguem diretamente à enseada de Caraguatatuba, principalmente se tratando dos trens de ondas gerados por ventos do quadrante sul e sudeste, causados por entradas de frentes frias (Pincinato, 2007; Farinaccio e Tessler, 2006; Sousa, 1990; Furtado *et al.,*2008). A ação das ondas de Nordeste é diminuída pela presença das ilhas Anchieta e do Mar Virado (Sousa, *op cit*), tornando um local com baixo hidrodinamismo e propício a deposição de sedimento fino (Furtado, 1978; Rodrigues *op cit*; Lopes *et al.*, 2007; Furtado *et al op cit*).

A desembocadura do Rio Juqueriquerê fica ao sul de Caraguatatuba, divisa com São Sebastião. Neste local é formada uma extensa planície de maré. Essa planície possui um declive muito suave, podendo ser exposta apenas na baixa mar (Lopes *et al.*, 2007).

6.4 Granulometria da região

Todas essas características hidrodinâmicas influenciam diretamente na grunolumetria do local. Tanto a desembocadura do rio Juqueriquerê quanto a porção norte do CSS possuem sedimento fino e lamoso (Furtado, 1978; Rodrigues, 2009; Furtado *et al.,* 2008, Pires-Vanin *et al.,* 2008).

Para os demais locais de Caraguatatuba a granulometria varia, em um estudo granulométrico com areia das praias de Caraguatatuba, Pincinato (2007) observou uma variação entre areia grossa e areia muito fina dependendo da localização, sendo os pontos de areia fina e muito fina os mais próximos á desembocadura do Rio Juqueriquerê, ficando mais grossa seguindo sentido norte pela costa do município. O resultado do presente estudo, feito com sedimento coletado no sublitoral, foi classificado como areia pelo método de Folk e Ward em todo o percurso de costa, considerando a classificação pelo método de Shepard, os pontos variaram entre areia média e areia muito fina. A área da planície de maré e saída do CSS apresentaram sedimentos fino e muito fino, assim como observado por Furtado (1978), Medeiros e Bícego (2004) e Amaral e Cord (2011).

Esta composição granulométrica demonstra o hidrodinamismo da região, pois locais com granulometria fina possuem baixo hidrodinamismo, o que propicia a deposição de partículas finas. O estudo feito por Pincinato (2007) classificou as praias de Caraguatatuba como dissipativas. De acordo com Suguio (1992) e McArdle e MacLachan (1992) praias dissipativas são aquelas que possuem baixo declive, que dissipa a ação de ondas, caracterizada por um sedimento, em sua maioria, mais fino.

Todos estes parâmetros granulométricos e hidrodinâmicos influenciam diretamente os organismos bentônicos, quanto maior o diâmetro do grão e maior o declive, menor será a abundância e diversidade de espécies (Amaral *et al.,*1999; McArdle e MacLachan, 1992).

Um estudo feito por Bers *et al.* (2013) em Caraguatatuba, mostra que em locais com sedimento mais finos, principalmente próximo á planície de maré e a Praia do Camaroeiro, foi observada uma grande quantidade de poliquetas, gastrópodes e principalmente o bivalve *Tivela mactroides*, já em locais mais arenosos, foram encontrados briozoários, em sua maioria.

T. viscana apresentou correlação negativa com grânulos (> 2mm), e tanto *T. viscana* quanto *Nitokra* sp obtiveram correlação negativa para MO e COT, essa correlação negativa para ambos os organismos também foi observada em Zaroni (2006) e Argentino-Santos (2006), que observaram a mesma correlação analisando sedimentos expostos a poluentes. Nos ensaios de inverno *L. plumulosus* apresentou correlação positiva com argila.

Para o ensaio de verão, tanto *Leptocheirus plumulosus* quanto *Nitokra* sp mostraram correlação negativa com grânulos e *Nitokra* sp correlação positiva com areia, o mesmo foi observado em Zaroni (2006) para *Nitokra* sp, quando exposto á sedimento exposto á poluentes. Para argila, apenas *L variegatus* apresentou correlação positiva. Ainda na campanha de verão, para MO os 3 organismos apresentaram correlação negativa.

Este resultado pode estar ligado a presença de poluentes, pois não houve correlação nem para *L plumulosus* nem para *L. variegatus* na campanha de inverno, e a campanha de verão foi justamente a com o maior número de resultados tóxicos. De acordo com Medeiros e Bícego (2004), a presença de silte e argila, MO e COT podem influenciar diretamente a qualidade ambiental, pois compostos orgânicos possuem maior afinidade por sedimentos finos. E, como já dito anteriormente, o caráter dissipativo das praias de Caraguatatuba possibilitam deposição e acumulo de poluentes.

Estes compostos orgânicos também afetam diversos parâmetros, como pH, OD e amônia. Apesar disso, no presente estudo os parâmetros medidos em campo não foram distantes do estabelecido em legislação (Resolução Conama 357, 2005), que determina para água salinas de classe 2 (onde é permitido contato primário), os valores de: 6,5 á 8,5 para pH e maior que 6 mg/L de oxigênio para OD. Nas medições em campo o pH ficou entre 7,3 e 7,7 no inverno e 6,8 e 7,7 no verão, já o OD ficou entre 9,6 e 11 mg/L no inverno e 7,9 e 9,6 mg/L de oxigênio no verão.

Todas estas características são responsáveis pelo comprometimento de sua qualidade sob influência de poluentes (Cetesb, 2004). API (1985) descrevem que em praias de alta energia o óleo pode permanecer por semanas, já em praias abrigadas e em planícies de maré, o óleo pode permanecer por décadas. O mesmo pode ser dito para outros compostos orgânico, pois possuem afinidade com as porções mais finas do sedimento (Adans *et al,* 1992; Swartz *et al,* 1985; Lotufo e Abessa, 2002; Melo e Abessa, 2002; Mozeto e Zagato, 2006).

Tendo em vista estas características, Caraguatatuba é formada, em sua totalidade, pelas morfologias praiais mais susceptível á poluição orgânica, praias dissipativas e planície de maré, que são zonas de deposição e acumulo de materiais.

6.5 O petróleo na região

Falando sobre compostos orgânicos, o petróleo tem destaque como um poluente muito representativo para região, já que o litoral norte é considerado o que mais sofre influência por este poluente em toda região sul e sudeste do Brasil (Poffo, 2002; Cetesb, 2013; Cetesb 2014).

No município de São Sebastião está localizado o antigo TEBAR, agora chamado DTCS (Duto e Terminais Centro Sul), o mais importante terminal de óleo do pais (Medeiros e Bícego, 2004; Bícego *et al.*, 2008; Sousa, 2013), local por onde passam cerca de 55% do petróleo nacional (Rodrigues, 2009; Bícego *et al op cit*), sendo cerca de 94% desse petróleo transportado pelo mar e 6% transportados por dutos (Silva e Bícego, 2010). Este terminal entrou em funcionamento em 1967, e desde então é cenário de diversos acidentes ambientais.

O primeiro acidente foi em 1974 com o navio Takimyia Maru, que derramou cerca de 6 mil toneladas de óleo no mar (Poffo *et al.*, 2001; Poffo, 2002). Entre 1978 e 2000 foram registrados 232 acidentes, em sua maioria de pequeno porte, derramando até 1m^3 de óleo no mar (Poffo *et al.*, 2001). Até o ano de 1996 houve um aumento progressivo no número de acidentes com derramamento de óleo na região, após este ano houve uma diminuição constante (Poffo *et al.*, 2001; Poffo, 2002), mas os acidentes ainda acontecem. Em 2003 ouve vazamento de óleo pelo acidente com o navio Nordic Marita, em

2004 um oleoduto se rompeu (Lopes *et al.*, 2007), e mais recentemente, em 2013 um vazamento em um duto no TEBAR causou um novo derramamento de óleo. Foram cerca de 3500 litros de óleo no mar (G1, 2013), afetando praias em São Sebastião, Ilhabela e Caraguatatuba (Cetesb, 2013).

Em Caraguatatuba, as praias afetadas no derramamento de 2013 foram Capricórnio, Massaguaçú e Mocóca, todas ao norte do município. No presente estudo as proximidades das Praias de Massaguaçú e Mocóca foram consideradas pouco tóxicas, já a Praia de Mocóca foi considerada tóxica. Indo mais ao norte da região, a proximidade da Ilha do Tamanduá foi considerada tóxica no presente estudo, e a Praia de Tabatinga foi muito tóxica. Estes resultados podem demonstrar um deslocamento dos poluentes, que podem não ter chegado á região de praias, mas afetaram o sedimento marinho. Este deslocamento do óleo pôde ser observado pelo ocorrido após este acidente, onde os cultivos de mexilhões, localizados longe das praias, próximos a Ilha da Cocanha, foram afetados pelo óleo, e precisaram ser descartados, tanto os mexilhões quanto todos os materiais que eram utilizados em seu cultivo (G1, 2013).

A grande maioria dos derramamentos referentes ao TEBAR ficam restritos a área do CSS, cerca de 91% dos casos (Poffo *et al.*, 2001), e uma elevada presença de derivados de petróleo já foi constatada próximo ao terminal (Medeiros e Bícego, 2004), sendo o município de Ilhabela o mais afetado, mas alguns vazamentos podem chegar a sair do canal, atingindo Caraguatatuba, como ocorrido em 2013, e, até mesmo em Ubatuba (Poffo *et al.*, 2001; Poffo *et al.*, 2000; Poffo, 2002).

Observando as rotas do óleo no CSS, em uma análise após o derramamento de óleo no CSS, Zanardi *et al.* (1999), observaram que mesmo o derramamento sendo no início do CSS, bem ao sul, pontos amostrados ao norte apresentaram sinais de poluição, que pode ser explicado por uma possível mancha carregada pela corrente superficial.

Já Fortunato (1978) mostrou a possível rota das 6 mil toneladas de óleo do primeiro acidente registrado no CSS, demonstrando seu percurso pelo norte do canal, atingindo praias em Ilhabela, Caraguatatuba e Ubatuba.

O petróleo pode ser transportado pelas correntes e é no sedimento que ele é depositado, podendo permanecer por até 10 anos (Zanardini, 1999; Poffo,

2002; Bícego *et al.*, 2008), afetando os organismos bentônicos, e em caso de remobilização do sedimento, os compostos podem ser liberados para a coluna d'água, afetando os organismos planctônicos. A persistência do óleo no sedimento é maior que na coluna d'água, devido a menor exposição ao hidrodinamismo e a atmosfera (Bícego, 1988; Zanardini, 1996; Abessa, 1996). Com isso, uma poluição que num primeiro momento é aguda, pode se tornar crônica.

O efeito do petróleo sobre o ambiente está ligado à sua composição. O petróleo pode ser classificado em 5 grupos, sendo o grupo 1 os não persistentes, e os demais grupos persistentes (Lopes *et al.*, 2007). Os grupos dos persistentes são formados por óleos crus e refinados, misturas de compostos leves-médios-pesados, que não podem ser completamente retirados (Lopes *et al.*, 2007), podem permanecer em costões rochosos, sedimento de praia e mangue, e esse é o tipo mais comum em derramamentos em São Sebastião, derramado em de cerca de 55% dos casos (Poffo *et al.*, 2001; Poffo, 2002), e essa permanência pode ser de dias á anos (Lopes *et al.*, 2007).

6.6 Organismos da região

Tendo em vista a situação de qualidade sanitária da região, e os frequentes derramamentos de petróleo, o município de Caraguatatuba está exposto ás duas maiores fontes de poluição para o ambiente marinho. Estes poluentes podem causar um desequilíbrio trófico, como o desaparecimento de uma espécie-chave e/ou reduzir a biodiversidade (Lopes *et al.*, 2007), o que é um grave problema, tendo em vista a diversidade da região.

Segundo Amaral *et al.* (2011), num levantamento de comunidades da zona entre marés no Litoral Norte, a Praia do Camaroeiro em Caraguatatuba, mostrou a maior diversidade de macrofauna, com 4350 indivíduos, sendo mais de 50% representado pelo bivalve *Mytella charruana*.

A Praia do Camaroeiro fica no extremo norte da enseada principal de Caraguatatuba, pelos resultados obtidos no presente estudo é possível ver uma melhora nos resultados nesta região, em comparação ao sul desta mesma enseada. No local não há presença de pontos tóxicos próximo à praia.

No levantamento sobre macrofauna, a maior riqueza e frequência de organismos foi observada na enseada de Caraguatatuba, com o maior número de bivalves (Amara *et al,* 2011), que pode ser explicado pelo caráter dissipativo das praias da região, e a presença de um terraço de maré.

Os bivalves em Caraguatatuba são utilizados como fonte de alimentos, e os poluentes e contaminantes podem afetar seus consumidores. Em um estudo feito por Denadai *et al.* (2015) uma análise feita em tecido de bivalves consumidos na região, mostrou a presença de *Escherichia coli*, e, apesar baixa a concentração, HPA's também foram encontrados no tecido dos bivalves.

Justamente nesta região de coleta dos bivalves para consumo da população local, que se concentra na porção mais ao sul da enseada principal de Caraguatatuba, é onde observamos os pontos mais tóxicos do presente estudo, sendo considerados muito tóxicos para os organismos-teste em sua maioria.

6.7 Copépodos

Copépodos são crustáceos extremamente abundantes e frequentes (Leite, 2011), fazem parte da meio fauna, base da cadeia alimentar marinha, servindo de alimento para diversos taxas. Estes organismos estão presentes em diversos ambientes, ocupando diversos nichos, sendo importantes no fluxo de energia no sistema bentônico (Corbisier *et al.*, 2008).

Copépodos são utilizados em ensaios ecotoxicológicos, principalmente pelo seu tamanho reduzido, possibilidade de manutenção em laboratório e estágios de vida curtos (Rocha *et al. op cit*, Lotufo e Abessa, 2002; Domingues e Bertoletti, 2006), demostrando sua sensibilidade á compostos químicos e amostras ambientais.

Em ensaios utilizando o copépodo harpacticóida *Tigropus japonicus*, foi observada uma alta sensibilidade do organismo ao Cobre (Kwok *et al.,* 2008; Kwok e Leung, 2005). A mesma espécie também se mostrou sensível á PCB's, principalmente na fase naupliar, que representa a fase mais sensível do organismo (Kyun-Woo *et al.*, 2008). Esta sensibilidade da fase naupliar dos copépodos também foi demonstrada em ensaios feito por Krull *et al.* (2014), que observaram que na presença de altas concentrações de metais, em amostras de sedimento da Baia de Todos os Santos, houve uma diminuição

significativa de náuplios/fêmeas. Já Barata *et al.* (2002) observou que, não apenas os náuplios, mas as próprias fêmeas ovadas são afetadas por poluentes.

Apesar de haver uma variedade de copépodos para ensaios ecotoxicológicos, *Nitokra* sp vem se mostrando o copépodo mais sensível. Quando comparado ao *Tisbe biminiensis* em ensaios com sedimento das proximidades do Porto de Santos (Oliveira, 2011), e comparado ao *Tisbe terminama* e *Robertgurneya hopkinsi* (Ward *at al.,* 2011).

Neste estudo, para a campanha de inverno a menor eclosão de ovos obtidas com ensaio com *Nitokra* sp, foi observada para a Praia de Tabatinga (P21) com média de 4,23 ovos/fêmea, e a maior para a Praia da Mocóca (P20) com média de 15,83 ovos/fêmea, ambas localizadas no extremo norte do município de Caraguatatuba. Já na campanha de verão a menor eclosão foi obtida em P8 com média de 3,15 e a maior em P9 com média de 19,65 ovos/fêmea, ambas próximas as Praias de Palmeiras e Pan Brasil, região central da enseada principal de Caraguatatuba. Em Zaroni (2006) a eclosão obtida para o sedimento controle foi de 12,62 ovos/fêmea, e em Lotufo e Abessa (2002) o valor médio de eclosão descrita foi de 39,6 ovos/fêmea. No presente estudo, o controle apresentou valor médio de 10,85 no verão. Os resultados apresentaram correlação apenas na campanha de inverno, sendo negativa para NH_3.

Comparando os resultados dos ensaios com *Nitokra* sp nas duas campanhas, para o teste t, no inverno P1, 2, 3, 4, 8 e 21 foram considerados tóxicos, já no verão, P1, 4, 5, 8, 11 e 21 foram considerados tóxicos, ou seja, a maior toxicidade ficou próxima à saída do CSS e planície de maré, passando externamente á enseada principal de Caraguatatuba, até a Praia de Tabatinga, cenário parecido com o de deposição de partículas vindas do CSS mostrado por. Rodrigues (2009) e Furtado (1978).

O *Nitokra* sp já mostrou sua sensibilidade em ensaios, principalmente em ensaios crônicos. Em Zaroni (2006) *Nitokra* sp mostrou sensibilidade quando exposto á amostras ambientais, e a correlação negativa com coprostanol mostra a sensibilidade dos organismos á marcadores de efluentes domésticos. Sua sensibilidade á esses efluentes também foi observada em Abessa (2002). Cariello (2012) avaliou a sensibilidade de *Nitokra* sp ao

nafitaleno, um hidrocarboneto derivado do petróleo, e enquanto para causar a morte do organismo adulto foi necessária uma média de 13,4 mg/L^{-1} de nafitaleno, para causar efeito na eclosão de ovos foi necessário apenas 0,4 mg/L^{-1} da mesma substância, mostrando a sensibilidade do organismo a substâncias que podem ser encontradas na região devido ao tipo de poluição na região estudada.

Além disso, os copépodos são altamente representativos para região, em um estudo da meio fauna do Litoral Norte, os copépodos foram o segundo grupo mais abundante em Caraguatatuba, sendo a região com o segundo maior número de táxons de copépodos (Rocha *et al.,* 2011). Estes organismos são considerados sensíveis, e, caso expostos a poluentes, podem morrer ou magnificar substâncias através da cadeia trófica.

Para a região do Litoral Norte, segundo Rocha *et al.* (2011) e Corbisier *et al.* (2008), os copépodos foram o segundo grupo mais abundante na meiofauna. Dentre eles os harpacticoida, sendo a ordem dominante, com descrição de espécies do gênero Nitokra. Desta forma os resultados obtidos dos ensaios com este organismo-teste são de grande importância para a região.

6.8 Anfípodos

Anfípodos são o grupo mais diverso entre os crustáceos e estão amplamente distribuídos (Leite, 2011).

São os organismos mais utilizados em ensaios ecotoxicológicos, por serem abundantes e representativos ao ambiente, além de sensíveis a diversas substâncias.

No ensaio com *Leptocheirus* plumulosus, na campanha de inverno o ponto com menor sobrevivência foi 55% na Praia Brava (P13), e a maior foi entre as Praias do Porto Velho e Flexeiras (P6) com 95% de sobrevivência. Já na campanha de verão a menor sobrevivência foi entre as Praias de Palmeiras e Pan Brasil (P8) com 8% e a maior na Praia de Capricórnio (P16) com 96%. Para correlação, no inverno foi positiva com pH e no verão para salinidade. Comparando as duas coletas, para o test t, as praias de Palmeiras e Pan Brasil (P7 e P8), Praia Brava (P13), Praia de Capricórnio (P14), Praia de Massaguaçú (P15 e P17), Praia da Cocanha (P18) e Ilha do Tamanduá (P19), foram

considerados tóxicos, já no verão, apenas as Praias de Capricórnio e Massaguaçú (P14, 15 e 16) não foram tóxicas.

Para *Leptocheirus plumulosus* ensaios com amônia mostraram alta sensibilidade do organismo (Moore *et al.,* 1997). E em ensaio crônico de 28 dias feito por Zulkosky *et al.* (2002), amostras de sedimento com efeito de efluentes domésticos mostraram uma redução de 50% no número de juvenis.

Leptocheirus plumulosus mostrou-se sensível á substâncias químicas, e também a amostras ambientais. Em Cariello (2012) foi observada a sensibilidade do organismo ao nafitaleno, composto do petróleo, sendo observado efeito letal á 50% dos organismos com 0,38 mg/L^{-1} da substância.

No ensaio de inverno com *Tiburonella* viscana, a menor sobrevivências do organismo foi 30%, observada próximo à ilha do Tamanduá (P19), e a maior próxima a Praia de Capricórnio (P16) com 100% de sobrevivência. Os resultados mostraram correlação positiva com pH e negativa com NH_4. Com relação ao test t, foram consideradas tóxicas a planície de maré (P2, P3 e P4) ao sul do município, as praias de Flexeiras, Palmeiras e Pan Brasil (P5, P7, P8 e P9) na enseada principal, Martins de Sá (P11), e próximo à Ilha do Tamanduá (P19), Praia da Mocóca e Praia de Tabatinga (P20 e P21) no extremo norte do município, já no test t com bioequivalência a planície de maré (P3, P4), Ilha do Tamanduá (P19) e Praia de Tabatinga (P21) foram consideradas tóxicos.

Para *Tiburonella viscana*, foi observada sensibilidade á substâncias químicas e amostras ambientais. *T. viscana* foi exposto á amostras ambientais de uma região estuarina, e se mostrou sensível á metais (cádmio e chumbo) e a efluentes domésticos (coprostanol) pela correlação negativa que apresentou a esses compostos (Zaroni, 2006), esse efeito de efluentes domésticos sobre os organismos também foi observado em Abessa (2002; 2006). Em Argentino-Santos (2006) *T. viscana* mostrou sensibilidade quando exposto á sedimentos de dragagem.

Em ensaios realizados por Melo e Nipper (2007) também foi observada a sensibilidade de *T. viscana* á metais, como zinco e dodecil sulfato de sódio, mas o organismo mostrou-se pouco sensível a presença de hidrocarbonetos. Sensibilidade essa também observada por Cesar *et al.* (2006) em sedimento

proveniente de Santos e São Vicente, com altas concentrações de metais, e Sousa *et al.* (2007).

Este organismo é representativo para a região. Em Leite (2011), num levantamento de espécies da macrofauna do Litoral Norte, *Tiburonella viscana* foi encontrado em pequenas profundidades.

Para ambos os anfípodos, mesmo com alto número de pontos tóxicos, é possível notar que a toxicidade é maior nos pontos extremos do município, e em praias intercaladas entre eles.

6.9 Equinodermata

Para equinodermata foi utilizado *Lytechinus variegatus*, no ensaio foi avaliado o efeito das amostras sobre o desenvolvimento embriolarval. Este ensaio é amplamente utilizado em Ecotoxicologia.

O ensaio embriolarval com *L. variegatus* mostrou alta sensibilidade á substâncias químicas e amostras ambientais. Em Zaroni (2006), no ensaio embriolarval com *L. variegatus* em amostra de coluna d'água, ele se mostrou sensível a compostos de petróleo, os n-alcanos, com uma correlação negativa com o composto, e ao naftaleno, como mostrado em Cariello (2012). O ensaio embriolarval também mostrou sensibilidade á amostras de coluna d'água de locais próximos á emissários submarinos (Rachid, 1996; Rachid, 2002; Abessa, 2002).

Em ensaio com interface sedimento/água foi observada sensibilidade do ensaio embriolarval quando exposto á sedimento oriundo da dragagem do Porto de Santos (Argentino-Santos, 2006), e á amostras ambientais da região de Ubatuba (Oliveira, 2009).

Na campanha de inverno, as menores porcentagens de larvas normais foram observadas na planície de maré e a saída do CSS (P3 e P4), na parte mais central da enseada principal de Caraguatatuba, Praias de Flexeiras e Romance (P6, P7), e na Praia de Tabatinga (P21) no extremo norte do município, sendo em todas 100% das larvas mostraram-se afetadas. Já na campanha de verão a Praia de Flexeiras (P6) e a de Praia de Tabatinga (P21), obtiveram 100% das larvas afetadas. Comparando os resultados das duas campanhas com *L. variegatus*, o verão apresentou toxicidade em todos os pontos, já no inverno, apenas próximo à Praia de Massaguaçú (P17) não foi

considerado tóxico para o test t. Considerando o test t com bioequivalência, no verão novamente o ponto próximo à Praia de Massaguaçú (P15) não foi considerado tóxico, e no inverno os pontos entre as Praias de Capricórnio, Massaguaçú e Cocanha (P16, 17 e 18) não foram considerados tóxicos.

A toxicidade de amostras em Caraguatatuba já foi observada por Oliveira (2014), que realizou ensaios embriolarvais com *L. variegatus* com amostras de coluna d'água durante as quatro estações de ano, todos os resultados foram considerados tóxicos na região da enseada principal de Caraguatatuba.

Para correlação, foi negativa no inverno para NH3 e NH4, e positiva para pH no verão. Correlação negativa entre *L. variegatus* e amônia já foi observadas em diversos trabalhos, mostrando a sensibilidade do organismo á esse composto (Zaroni, 2006; Argentino-Santos, 2006). Tanto que em ensaios realizados por Argentino-Santos (*op. cit.*), Rachid (2002), quando diminuído o valor de amônia nas amostras pela adição de *Ulva* sp, o número de ponto tóxicos diminuiu em comparação com o valor integral de amônia. Em Vieira e Resgalla Jr (2012), o ensaio embriolarval com *Lytechinus variegatus* mostrou maior sensibilidade quando comparado á outros ouriços, *Arbacia lixula* e *Echinometra lucunter*, quando expostos á amônia.

A espécie *Lytechinus variegatus* já foi descrita para a região do Litoral Norte (Brites *et al.*, 2011). Pires-Vanin (2008) observou uma grande abundancia de ouriços no entorno do CSS, mostrando que echinodermatas são um dos grupos mais abundantes da macro/megafauna local. Demonstrando a importância dos resultados com este organismo para a região.

Um outro fator importante nos resultados com esta espécie é que, recentemente, ela foi incluída na lista de espécies ameaçadas de extinção do IBAMA, sendo considerado vulnerável (Portaria MMA 445, 2014), mesmo a poluição não sendo citado como causa para a diminuição dessa população de organismos, o efeito dos poluentes sobre o desenvolvimento da espécie pode agravar sua atual situação.

6.10 Considerações sobre os resultados

Estudos têm demonstrado uma maior sensibilidade de ensaios embriolarvais em comparação com os realizados com outros organismos,

fossem com amostras de coluna dágua (Zaroni, 2006; Argentino-Santos, 2006; Abessa, 2002) ou com interface sedimento/água (Nilin *et al.,* 2013; Cesar *et al.,* 2004). O mesmo foi observado neste trabalho, onde o ensaio com *L. variegatus* foram os que mostraram o maior número de pontos tóxicos, tanto no inverno quanto no verão. Essa sensibilidade se dá por ser exposta uma fase muito sensível do organismo, a embriolarval.

L. plumulosus foi o segundo organismo mais sensível, mais que o anfípodo nativo, *T. viscana*. A alta sensibilidade de *L. plumulosus* já foi observada em Cariello (2012), onde o organismo foi mais sensível que o copépodo *Nitokra* sp, com uma CL_{50} 2,38 mg/L^{-1} de nafitaleno para uma CL_{50} 13,4 mg/L^{-1} para o *Nitokra* sp. Mesmo o ensaio com anfípodo *T. viscana* possui maior sensibilidade que o de eclosão com *Nitokra* sp, assim como foi observado no presente estudo, e já observado por Nilin *et al.* (2013).

Considerando os resultados de todos os ensaios, comparando as duas campanhas realizadas, a de maior toxicidade foi verão, com 71,6% de resultados tóxicos para 53,6% no inverno.

Este já era esperado. Trabalhos feitos no litoral já mostraram uma maior poluição ambiental em regiões costeiras no verão, devido ao aumento da população flutuante e, consequentemente, maior emissão de efluentes (Abessa, 1996; Rachid, 1996; Oliveira, 2009). Porém, como já explicado anteriormente, tanto a qualidade dos rios que desembocam diretamente nas praias de Caraguatatuba, quanto o tratamento e coleta de efluentes vêm melhorando no município, o que pode demonstrar uma influência externa sobre o sedimento local.

Para os resultados analisados pelo test t, o ponto mais tóxico foi localizado entre as Praias Palmeiras e Pan Brasil (P8), sendo este, tóxico para todos os organismos em ambas as campanhas, seguido por P4 na planície de maré, que só não foi tóxico para o ensaio com *Leptocheirus plumulosus* na campanha de inverno. Capricórnio obteve o melhor resultado, sendo tóxica apenas para os ensaios com *Lytechinus variegatus,* nas duas campanhas.

Na enseada principal de Caraguatatuba a qualidade entre os pontos variou, sendo pior próximo na planície de maré e melhorando no sentido norte da enseada. No total, oito pontos foram muito tóxicos na enseada principal para o test t, e o único ponto pouco tóxico foi o da Praia de Capricórnio.

Nos resultados avaliados utilizando test t com bioequivalência, não houve nenhum ponto com toxicidade em 100% dos ensaios. Na enseada principal, cinco pontos obtiveram as piores toxicidades, sendo eles, na saída do CSS (P1), planície de maré (P3 e P4), entre as Praias do Porto Velho e Flexeiras (P5) e entre Palmeiras e Pan Brasil (P8). Indo mais ao norte do município, apenas a Praia de Tabatinga foi considerada muito tóxica (P21).

Ainda com a bioequivalência, os melhores locais foram entre as Praias de Capricórnio e Massaguaçú (P15, P16 e P17), que foram tóxicos apenas nos ensaios com *L. variegatus*.

De forma geral, há uma tendência á uma maior toxicidade nos pontos próximos a saída do CSS, com uma melhora entre as Praias de Garcez e Massaguaçú, e piorando sentido à Praia de Tabatinga.

É importante notar que os pontos mais distantes da costa, na enseada principal, mostraram alta toxicidade, podendo demonstrar que a poluição não vem necessariamente dos rios locais, que, como já mostrado anteriormente, vem apresentando melhora em sua qualidade.

Outro fato interessante é que em Cetesb (2014) o padrão de qualidade sanitárias das praias em Caraguatatuba é parecido com o obtido no presente estudo, com uma pior qualidade próxima á planície de maré e próximo á Praia de Tabatinga. Também é preciso observar que a qualidade sanitária das praias dos municípios vizinhos, São Sebastião e Ilhabela, piora em direção ao norte do canal (Cetesb, *op cit*).

Essa distribuição de pontos tóxicos também pode ser comparada a rota de deposição de materiais vindos do CSS e dos derramamentos de petróleo que ocorreram na região, com maior toxicidade na saída do canal e planície de maré, seguindo até a Praia de Tabatinga, no extremo norte do município.

Pela falta de análises químicas no presente estudo, não é possível afirmar a fonte dos poluentes ou mesmo quais são eles, mas é possível ver indícios de que há uma certa influência vinda do CSS.

De acordo com Poffo *et al.* (2001) e Poffo (2002), o município de Ubatuba, extremo norte do Litoral de São Paulo, é mais afetado por derramamentos de óleo que o município de Caraguatatuba, porém o número de pesquisas realizadas em Caraguatatuba é menor em comparação com Ubatuba e São Sebastião. Lopes *et. Al* (2007) ressalta a importância de

conhecer o local para poder proteger. Com o aumento de estudos na região que circunda o canal de São Sebastião, principalmente o município de Caraguatatuba, talvez se altere a visão que temos da capacidade poluidora que a região tem sobre as demais.

7. CONCLUSÕES

- Os parâmetros ambientais avaliados em campo ficaram dentro do permitido pela Conama 357 (2005)
- Para as análises com test t:
  - Houve um maior número de resultados tóxicos.
  - O organismo mais sensível foi *Lytechinus variegatus*, com o ensaio embriolarval de interface sedimento/água com 100% de resultados tóxicos na campanha de verão, e na campanha de inverno com apenas um ponto não tóxico na campanha.
  - O segundo organismo mais sensível foi *Leptocheirus plumulosus* com ensaio com sedimento integral, com apenas P14, P15 e P16 como não tóxicos no verão.
  - O ensaio que se mostrou menos sensível foi de eclosão de ovos com *Nitokra* sp.
  - O ponto mais tóxico foi entre as praias de Palmeiras e Pan Brasil (P8) com 100% de resultados tóxicos nos ensaios, seguido da região de planície de maré (P1, P2, P3 e P4), região central da enseada principal (P5, P7 e P8), próximo à Praia Martins de Sá (P11), e extremo norte do município de Caraguatatuba (P19 e P21).
  - O ponto menos tóxico foi próximo a Praia de Capricórnio (P16), com resultados tóxicos apenas para ensaio embriolarval de interface sedimento/água com *Lytechinus variegatus.*
- Para análises com test t com bioequivalência:
  - Houve um maior número de resultados pouco tóxicos, entre as praias de Capricórnio, Massaguaçú e Cocanha (P15, P16, P17 e P18).
  - Os pontos com maior toxicidade foram próximos á planície de maré (P1, P3 e P4), parte central da enseada principal (P5 e P8) e no extremo norte do município, na Praia de Tabatinga (P21).
  - O ensaio embriolarval de interface sedimento/água com *Lytechinus variegatus* foi também o mais sensível, na campanha de verão apenas um ponto não foi tóxico, e na campanha de inverno apenas três pontos não foram tóxicos.

- A campanha de verão apresentou mais resultados tóxicos que a campanha de inverno.
- Em ambas as análises estatísticas os pontos mais tóxicos foram observados na enseada principal, próximos a planície de maré e saída do CSS e no extremo norte do município, próximo à Praia de Tabatinga.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABESSA, D. M. S. **Avaliação da qualidade de sedimentos do sistema estuarino de Santos, SP, Brasil.** Monografia de doutorado apresentada ao Instituto Oceanográfico USP. 2002

ABESSA, D. M. S**. testes de toxicidade de sedimentos da região de Santos – SP – Brasil (24°S, 46°W), utilizando o anfípodo escavador *Tiburonella viscana* (Crustacea – Platyischnopidae) Thomas & Barnard (1993).** Monografia de mestrado apresentada ao Instituto Oceanográfico USP. 1996

ABESSA, D. M. S.; MARANHO, L. A.; PRÓSPERI, V. A. A proposal for bioequivalence to 10-day whole sediment toxicity test with *Tiburonella viscana* **Setac Latin America**, Uruguay. 2007.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **ABNT NBR 15350 Ecotoxicologia - Toxicidade crônica de curta duração – Método de ensaio com ouriço-do-mar (Echinodermata:Echonoidea).** 2012

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **ABNT NBR 15469 Ecotoxicologia - Coleta, preservação e preparo de amostras.** 2015

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. **ABNT NBR 15638 Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com anfípodos marinhos e estuarinos em sedimentos**. 2015

ADANS, W. J. KIMERLE, R. A. BARNETT JR, J. W. Sediment quality and aquatic life assessment. **Environ. Sci. and Techn**. 26(10): pag 1865 – 1875. 1992.

AMARAL, A. C. Z.; CORD, F. S. M. Caracterização do sublitoral não consolidado. *In* AMARAL, A. C. Z.; NALLIN, S. A. H. **Biodiversidade e ecossistemas bentônicos marinhos do Litoral Norte de São Paulo, Sudeste do Brasil**. Campinas, SP: UNICAMP/IB, pag 436 – 434. 2011

AMARAL, A. C.; RIZZO, A. E.; ARRUDA, E. P. Comunidades bentônicas de ambientes entremarés de praias arenosas *In* AMARAL, A. C. Z.; NALLIN, S. A. H. **Biodiversidade e ecossistemas bentônicos marinhos do Litoral Norte de São Paulo, Sudeste do Brasil**. Campinas, SP: UNICAMP/IB, pag 370 – 385. 2011

AMARAL, A. C.Z. et al. Diagnóstico sobre praias arenosas: avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da zona costeira e marinha. In: fundação tropical de pesquisas e tecnologia André TOSELLO. Base de Dados Tropical. Disponível em: <http://www.bdt.fat.org.br/sci>. Acesso em: 2015. 1999

API. **Oil spill cleanup: options for minimizing adverse ecological impacts**. Washington, Tetra Tech., 1985. 580 p.

ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. P. A. Métodos em ensaios de toxicidade com organismos aquáticos. *In:* ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. Ed. Rima. São Carlos, 2006. 117-152 p.

ARAÚJO, R. P. A.; SHIMIZU, G. Y.; BOHRER, M. B. C.; JARDIM, W. Avaliação da qualidade de sedimentos. *In:* ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. Ed. Rima. São Carlos. 293-326 p.

ARGENTINO-SANTOS, R. C. **Avaliação ecotoxicológica do sedimento do local de disposição do material dragado do Porto de Santos e da área de influência direta**. Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto Oceanográfico da USP. 2006

BADARÓ-PEDROSO, C.; REYNIER, M. V.; MELO, S. L. R. Garantia de qualidade e precauções com segurança e saúde em laboratórios de Ecotoxicologia aquática. *In*: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. (Eds). **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**. Artes Gráficas e Indústria Ltda. São Paulo, 2002. 25-50 p.

BARATA, C.; BAIRD, D. J.; MEDINA, M.; ALBALAT, A.; SOARES, A. M. V. M. Determining the ecotoxicological mode of action of toxicity chemicals on meiobenthic marine organism: stage-specific short test with *Tisbe batagliai.* **Mar. Ecol. Prog. Ser**. Vol 230, pag 183 – 194. 2002

BERS, A. V.; DUQUE ESTRADA, T. E. M.; WOLFL, A. C.; MAHIQUES, M. M.; TURRA, A. A combined approach of benthic mapping of Caraguatatuba Bay, Brazil, with recommendations for management practices**. Ocean & Coastal Management**. Ed 71, 269 – 274. 2013

BERTOLETTI, E. A Escolha do Anfípodo Bentônico para Ensaios Ecotoxicológicos com Sedimentos Marinhos. ***J. Braz. Soc. Ecotoxicol***, 2011. V. 6(1).

BERTOLETTI, E.; BURATINI, S. V.; PRÓSPERI, V. A.; ARAÚJO, R. P. A.; WERNER, L. I. Selection of Relevant Effect Levels for Using Bioequivalence Hypothesis Testing. J. Braz. Soc. Ecotoxicol. Vol 2, n. 2, pag 139-145. 2007.

BICEGO, M. C.; ZANARDI-LAMARDO, E.; WEBER, R. R. Distribuição de hidrocarbonetos. *In:* PIRES-VANIN, A. M. S. **Oceanografia de um ecossistema subtropical: plataforma de São Sebastião**. Edusp. São Paulo, 2008. Pag 123-140.

BÍCEGO, M.C. **Contribuição ao estudo de hidrocarbonetos iogênicos e o petróleo no ambiente marinho**. Dissertação de Mestrado em Oceanografia Química e Geológica apresentada ao Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1988.

BOLTOVSKOY. D. **South Atlantic Zooplankton.** Backhuys Publishers. 1999, v.2, p.869-1706.

BOUSFIELD, E. L.Shallow water gammeridean amphipoda of New England. Ithaca. NY: Cornell University Press, p 312. 1973.

BRITES, A. D.; HADEL, V. F.; TIAGO, C. G. Crinoidea, Asteroidea, Echinoidea, Holoturoidea, Ophiuroidea. *In* AMARAL, A. C. Z.; NALLIN, S. A. H. **Biodiversidade e ecossistemas bentônicos marinhos do Litoral Norte de São Paulo, Sudeste do Brasil**. Campinas, SP: UNICAMP/IB, pag 273 – 279. 2011

CAIRNS, J.; MOUNT, D. I. **Aquatic toxicology**. Environ. Scien. Techin. Vol 24, pag 154 – 161. 1990.

CARIELLO, M. S. **Efeito do naftaleno na microalga marinha Dunaliella tertiolecta, ouriço-do-mar Lytechinus variegatus e nos microcrustáceos estuarinos Nitokra sp e Leptocheirus plumulosus.** Monografia de mestrado apresentada ao Instituto Oceanográfico USP. 2012

CARR, R. S.; LONG, E. R.; WINDON, H. L.; CHAPMAN, D. C.; THURSBY, T.; SLOANE, G. M.; WOLF, D. A. Sediment quality triad studies of Tampa Bay, Florida. **Environ. Toxicol. Chem. Vol** 15 (7): pag 1218 – 1231. 1996.

CASTRO, B. M.; MIRANDA, L. B.; SILVA, L. S.; FONTES, R. F. C.; PEREIRA, A. F.; COELHO, A. L. Processos físicos: hidrografia, circulação e transporte. *In:* PIRES-VANIN, A. M. S. **Oceanografia de um ecossistema subtropical: plataforma de São Sebastião**. Edusp. São Paulo, 2008. 59-122 p.

CESAR, A.; MARÍN, A.; MARÍN-GUIRAO, L.; VITA, R. Amphipod and sea urchin tests to assess the toxicity of Mediterranean sediments: the case of Portmán Bay. **Sci. Mar**. 68: 205 – 213. 2004

CESAR, A.; PEREIRA, C. D. S.; SANTOS, A. R.; ABESSA, D. M. S.; FERNÀNDEZ, N.; CHOUERI, R. B.; DELVALLS, T. A. Ecotoxicological assessment of sediments from The Santos and São Vicente estuarine system – Brazil. **Brazilian Journal Of Oceanography**, 54(1):55-63. 2006

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras – água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos.** 2011

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório de Qualidade das praias litorâneas no estado de São Paulo.** 2012

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório de monitoramento de emissários submarinos.** 2007

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório de monitoramento de emissários submarinos.** 2003

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório de monitoramento de emissários submarinos.** 2004

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório de monitoramento de emissários submarinos.** 2013

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Relatório de monitoramento de emissários submarinos.** 2014

CHAPMAN, P. M. Ecology and pollution. **Mar. Pollut. Bull.** Vol 31, pag 167 – 177. 1995.

CHAPMAN, P. M.; LONG, E. R. The use of bioassay as part of a comprehensive approach to marine pollution assessment. **Mar. Pollut. Bull**. Vol 14, 81 – 84.1983

CORBISIER, T. N.; MOELLMANN, A. M.; CURVELO, R. R. Meiofauna. *In:* PIRES-VANIN, A. M. S. **Oceanografia de um ecossistema subtropical: plataforma de São Sebastião**. Edusp. São Paulo, 2008. 251-268 p.

DENADAI, M. R.; JACOBUCCI, D. F. C.; FONTANA, I.; TANIGUCHI, S. TURRA, A. Assessment of contamination of the beach clam Tivela mactroides: implications for food safety of a recreational and subsistence marine resource in Caraguatatuba Bay, Brazil. **International Journal of Food Contamination**, 2:6. 2015

DOMINGUES, D. F.; BERTOLETTI, E. Seleção, manutenção e cultivo de organismos aquáticos. *In:* ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. Ed. Rima. São Carlos, 2006. 153-184 p.

FARINACCIO, A.; TESSLE, M. G. Dinâmica de sedimentação atual na ponta do camaroeiro, porção norte da enseada de Caraguatatuba, SP. UNESP, **Geociências**, v. 25, n. 3, pag 331-344, 2006

FAY, E. F.; SILVA, C. M. M.; Comportamento e destino de agrotóxicos no ambiente solo-água. *In:* SILVA, C. M. M.; FAY, E. F. **Agrotóxicos e ambiente**. Embrapa. Pag 108 – 143. 2004

FOLK, L. R.; WARD, W. C. Brazos river bar: a study in the significance of grain size parameters. **Journal of Sedimentology Petrology**. Vol 27, pag 3 – 26. 1957.

FONSECA, A. L. A biologia da espécie *Daphinia laevis*, *Ceriodaphinia dubia silvestre* (Cladocera, Crustacea) e *Poecilia reticulata* (Pisces, Poecilidae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais. USP, São Carlos. 1991

FURTADO, V. V. **Contribuição ao estudo da sedimentação atual no Canal de São Sebastião, Estado de São Paulo**. Tese de doutorado apresentada ao Instituto Oceanográfico da USP. 1978

FURTADO, V. V.; BARCELLOS, R. L.; CONTI, L. A.; RODRIGUES, M.; MAHIQUES, M. M. Sedimentação. *In:* PIRES-VANIN, A. M. S. **Oceanografia de um ecossistema subtropical: plataforma de São Sebastião**. Edusp. São Paulo, 2008. pag 141-182. 2008.

G1 **Vazamento de óleo contamina 150 toneladas de mexilhão em Caraguá.** Disponível em <http://g1.globo.com/sp/vale-do-paraiba-regiao/noticia/2013/11/vazamento-de-oleo-contamina-150-toneladas-de-mexilhao-em-caragua.html> visualizado em janeiro de 2016.

GAUDETTE, H. E.; FLIGHT, W. R.; TONER, L.; FOLGER, D. W. An inexpensive titration method for the determination of organic carbon in recent sediments. **Journal of Sedimentary Petrology**. 1974. V 44, 249-253 p.

GOODSIR, F.; FISHER, T. T.; BARRY, J.; BOLAM, T.; NELSON, L. D.; RUMNEY, H. S.; BRANT, J. L. Extraction of bioavailable contaminants from marine sediments: An approach to reducing toxicity using adsorbent parcels. **Marine Pollution Bulletin**. 72(1), pag 250 – 256. 2013

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C. e THURSON, R. V. Trimmed Spearman-Karber: Method for Estimating Median Lethal Concentrations in Toxicity Bioassays. **Environ Sci Technol.** 1977, 12:417p.

HERRICKS, E. Principios gerais de toxicologia. *In:* MATSUI, S. BARRETT, B. F. D.; BANERJEE, J. Gerenciamento de substâncias tóxicas em reservatórios. São Carlos. ILEC – IIE. Vol 4, pag 9 – 30. 2002.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Caraguatatuba.** Disponível em <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=351050> Visualizado em 14/10/2015.

KRULL, A. N.; ABESSA, D. M. S.; HATJEC, V.; BARROSA, F. Integrated assessment of metal contamination in sediments from two tropical estuaries. Ecotoxicology and Environmental Safety, 106, 195–203. 2014

KWOK, K. W. H.; LEUNG, K. M. Y. Toxicity of antifouling biocides to the intertidal harpacticoid copepod *Tigropus japonicus* (Crustacea, Copepod): effects of temperature e salinity. Marine Pollutions Bulletin, 51, 830 – 837. 2005

KWOK, K. W. H.; LEUNG, K. M. Y.; BAO, V. W. W.; LEE, J. S. Cooper toxicity in the marine copepod *Tigropus japonicus*: Low variability and hight reproducibility of repeated acute and life-cycle test. **Marine Pollution Bulletin**, 57, 632 – 636. 2008

KYUN-WOO, L.; RAISUDDINA, S.; HWANGD, D. S.; PARKC, H. G.; DAHMSD, H. U.; AHNE, I. Y.; LEEA, J. S. Two-generation toxicity study on the copepod model species Tigriopus japonicus. **Chemosphere**, 72, 1359–1365. 2008

Lei 6938 **Política Nacional do Meio Ambiente**. De 31 de Agosto de1981

LEITE, F. P. P. Amphipoda. *In* AMARAL, A. C. Z.; NALLIN, S. A. H. **Biodiversidade e ecossistemas bentônicos marinhos do Litoral Norte de São Paulo, Sudeste do Brasil**. Campinas, SP: UNICAMP/IB, pag 171 – 181. 2011

LONG, E. R.; MACDONALD, D. D.; SMITH, S. L.; CALDER, E. D.Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. **Environ. Manage**. Vol 19, pag 81-97. 1995

LOPES, C. F. **Ambientes Costeiros Contaminados por Óleo – Procedimentos de limpeza**. São Paulo: Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2007. 120 p

LOTUFO, G.R.; ABESSA, D. M. S. Testes de Toxicidade com Sedimento Total e Água Intersticial Estuarinos Utilizando Copépodes Bentônicos. *In*: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. (Eds). **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**. Artes Gráficas e Indústria Ltda. São Paulo, 2002. 151-160 p.

LUOMA, S. N. The developing framework of marine ecotoxicology: Pollutants as a variable in marine ecosystems?. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. Vol 200, 29-55. 1996.

MAHIQUES, M. M. **Considerações sobre os sedimentos de superfície de fundo da baía da Ilha Grande, estado do Rio de Janeiro**. Monografia de mestrado apresentada ao Instituto Oceanográfico USP. 1987.

MASTROTI, R. R. teste de toxicidade com gametas de ouriço-do-mar (Fertilização). *In*: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. (Eds). **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**. Artes Gráficas e Indústria Ltda. São Paulo, 2002. 91-98 p.

MCARDLE, S.; MACLACHAN, A. Sand beach ecology: swash features relevant to the macrofauna**. J Coast Res** Vol 8: pag 398–407. 1992.

MEDEIROS, P. M.; BÍCEGO, M. C. Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers. II. São Sebastião, SP—Brazil. **Marine Pollution Bulletin** 49, 892–89. 2004

MELO, S. L. R.; ABESSA, D. M. S. Teste de toxicidade com sedimentos marinhos utilizando anfípodos *In*: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. (Eds). **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**. Artes Gráficas e Indústria Ltda. São Paulo, 2002. 263-278 p.

MELO, S. L. R.; NIPPER, M. Sediment toxicity tests using the burrowing amphipod Tiburonella viscana (Amphipoda: Platyischnopidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 66, 412–420. 2007

MOORE, D. W.; BRIDGES, T. S.; GRAY, B. R.; DUKE, M. Risk of ammonia toxicity during sediment bioassays with the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus.* **Environmental Toxicology and Chemistry**, Vol. 16, No. 5, pp. 1020–1027. 1997

MOZETO, A. A.; ZAGATTO, P. A. Introdução de agentes químicos no ambiente. *In:* ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. Ed. Rima. São Carlos, 2006. 15-38 p.

NILIN, J.; MOREIRA, L. B.; AGUIAR, J. E.; MARINS, R.; ABESSA, D. M. S.; LOTUFO, T. M. C.; COSTA-LOTUFO, L. V. Sediment quality assessment in a tropical estuary: The case of Ceará River, Northeastern Brazil. **Marine Environmental Research**, 91, 89 – 96. 2013

NIPPER, M. Testes estatísticos para análise de resultados de testes de toxicidade com amostras líquidas e sedimentos. *In*: NASCIMENTO, I.A.;

OLIVEIRA, D. D. **Avaliação da sensibilidade do copépodo *Tisbe biminiensis* para testes toxicológicos em água e sedimentos estuarinos**. Monografia de mestrado apresentada a Universidade Federal de Pernambuco. 2011

OLIVEIRA, L. F. J. **Avaliação e identificação da toxicidade (AIT) do sedimento das regiões de Ubatuba e Caraguatatuba, SP, Brasil.** Tese de doutorado apresentada ao Instituto Oceanográfico da USP. 2014

OLIVEIRA, L. F. J. **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.** Monografia de mestrado apresentada ao Instituto Oceanográfico USP. 2009

PAVILLON, J. F. Sea urchin eggs and larvae: excellent biological indicators. *In*: BURKE, R. D.; MLADENOV, P. V.; PARSLEY, R. L. **Echinoderm biology**. Balkema. Roterdam. Pag 621 – 626. 1988.

PETERS, E. C.; GASSMAN, N. J.; FIRMAN, J. C.; RICHMONDS, R. H.; POWER, E. A. Ecotoxicology of tropical marine ecosystems. **Environmental Toxicology and Chemistry**. Vol. 16, No. 1, pag 12–40, 1997.

PINCINATO, F. L. **Mapeamento da sensibilidade ambiental a derramamentos de óleo para a região costeira de São Sebastião e Caraguatatuba, litoral norte de São Paulo (SP), com uso de modelagem em sig de sistema especialista baseado em conhecimento e árvore de decisão**. Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas da UNESP. 2007.

PIRES-VANIN, A. M. S. Megafauna e macrofauna. *In:* PIRES-VANIN, A. M. S. **Oceanografia de um ecossistema subtropical: plataforma de São Sebastião**. Edusp. São Paulo, 2008. 211-250 p.

PIRES-VANIN, A. M. S.; GIANESELLA, S. M. F.; SOARES, L. S. H. O ecossitema da plataforma de São Sebastião e os principais fatores que regem seu funcionamento. *In:* PIRES-VANIN, A. M. S. **Oceanografia de um ecossistema subtropical: plataforma de São Sebastião**. Edusp. São Paulo, 2008. 449-462 p.

POFFO, I. R. F.; MIDAGLIA, C. L.; HEITZMANN, S. R.; CAETANO, N.; CANTAO, R. F.; POMPEIA, S. L.; EYSINK, G. G.; NAKASAKI, A. Oil spill analysis in Sao Sebastiao channel São Paulo (SP) Brazil, from 1974 to 1994. **Pollution processes Incoastal Environmen**. 2000

POFFO, I. R. F.; Vazamentos de Óleo no Litoral Norte do Estado de São Paulo: Análise Histórica (1974 a 1999). *In:* ABRAMOVAY, R. **Construindo a Ciência Ambiental**. São Paulo, SP: Annablume – FAPESP,pag . 235 a 263. 2002.

POFFO, I.R.F.; XAVIER, J.C.M.; SERPA, R.R. A História dos 27 anos de Vazamento de Óleo no Litoral Norte do Estado de São Paulo (1974-2000). **Revista Meio Ambiente Industrial**. No 30, p.98-104. 2001

Portaria MMA 445. **Lista nacional oficial de espécies da fauna ameaçadas de extinção – Peixes e Invertebrados aquáticos**. De 17 de Dezembro de 2014

POWER, E. A.; CHAPMAN, P. M. Assessing sediment quality. *In:* BURTON JR, G. A. **Sediment toxicity assessment**. Lewis Publishers. Pag 1 – 18. 1992.

PRÓSPERI, V. A. Comparação de métodos ecotoxicológicos na avaliação de sedimentos marinhos e estuarinos. Tese de doutorado apresentada a Escola de Engenharia de São Carlos. 2002.

PRÓSPERI, V. A.; ARAUJO, M. M. S. Teste de Toxicidade crônica com *Lytechinus variegatus*, Lamarck 1816 e *Echinometra lucunter*, Linnaeus 1758 (Echinodermata: Echinoidea). *In*: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. (Eds). **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**. Artes Gráficas e Indústria Ltda. São Paulo, 2002. 99-110 p.

PRÓSPERI, V. A.; NASCIMENTO, I. A. Avaliação ecotoxicológica de ambientes marinhos e estuarinos. *In:* ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. Ed. Rima. São Carlos, 2006. 269-292 p

RACHID, B. R. F. **Avaliação ecotoxicológica dos efluentes domésticos lançados pelos sistemas de disposição oceânica da Baixada Santista, SP**. Tese de doutorado apresentada ao Instituto Oceanográfico da USP. 2002

RACHID, B. R. F. **Ecotoxicidade de efluentes sanitários urbanos lançados ao mar através de emissários submarinos**. Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto Oceanográfico da USP. 1996

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of aquatic toxicology.** 662p. 1985

Resolução Conama 357 **Classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento**. De 17 de março de 2005.

ROCHA, C. E. F.; KIHARA, T. C.; TODARO, M A.; HOOGE, M.; JOHNSSON, R. Meiofauna. *In* AMARAL, A. C. Z.; NALLIN, S. A. H. **Biodiversidade e ecossistemas bentônicos marinhos do Litoral Norte de São Paulo, Sudeste do Brasil**. Campinas, SP: UNICAMP/IB, pag 43 – 47. 2011

RODRIGUES, M. **Mapeamento da sensibilidade ambiental a derramamentos de óleo para a região costeira de São Sebastião e Caraguatatuba, litoral norte de São Paulo (SP), com uso de modelagem em sig de sistema especialista baseado em conhecimento e árvore de decisão**. Tese de doutorado apresentada a Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. 2009

ROMANELLI, R. F.; SENA, H. C.; SILVA, G. P. SAMPA, M. H. O.; BORRELY, S. I. Whole acute toxicity removal from industrial and domestic effluents treated by electron bean radiation: emphasis on anionic surfactants**. Radiat. Phys. Chem**. Vol 71, pag 463 – 465. 2004.

RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6ª Edição. Thomson Learning, Inc. 1994, 678 – 799p.

RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. **Zoologia dos invertebrados.** Editora Roca LTDA. 2005.

SHEPARD, F. P. Nomenclature based on sand-silt-clay ratios: **Journal of Sedimentary Petrology**. Vol. 24, pag 151-158. 1954

SILVA, D. A. M.; BÍCEGO, M. C. Polycyclic aromatic hydrocarbons and petroleum biomarkers in São Sebastião Channel, Brazil: Assessment of petroleum contamination. **Marine Environmental Research**. 69, 277–286 2010.

SOUSA, C. R. G. Considerações sobre a origem de um depósito marinho pleistocênico no Litoral Norte do Estado de São Paulo. **Bol. IG-USP, Sér.Cient**., 23:pag 43 – 54. 1990

SOUSA, E. C. P. M Toxicologia Marinha: Histórico. *In*: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. (Eds). **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**. Artes Gráficas e Indústria Ltda. São Paulo, 2002. 09-14 p.

SOUSA, E. C. P. M. **12 anos de Monitoramento Ecotoxicológico na área de disposição de um Terminal Petrolífero no Litoral Norte do Estado de São Paulo**. Tese de Livre Docência apresentada ao Instituto Oceanográfico da USP. 2013

SOUSA, E. C. P. M.; ABESSA, D. M. S.; RACHID, B. R. F.; GASPARRO, M. R.; ZARONI, L. P. Ecotoxicological assessment of sediments from the port of Santos and the disposal sites of dredged material**. Brazilian Journal Of Oceanography**, 55(2):75-81. 2007

SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. (Eds). **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**. Artes Gráficas e Indústria Ltda. São Paulo, 2002. 245-253 p.

SUGUIO, K. **Dicionário de Geologia Marinha.** Editora TA Queiroz. 171p. São Paulo. 1992

SUGUIO, K. **Introdução á sedimentologia.** Edgard Blucher LTDA. São Paulo, 1937. 26-58 p.

SWARTZ, R. C.; DEBEN, W. A.; JONES, J. K. P.; LAMBERSON, J. O.; CODE, F. A. Phoxocephalid amphipod bioassay for marine sediment toxicity. *In:* CARDWELL, R. D.; PURDY, R.; BAHNER, R. C. **Aquatic toxicology and hazard assessment**. Vol 7, pag 284 – 307.

VIEIRA, D. C.; RESGALLA JR, C. COMPARAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE ECHINODERMATAS FRENTE A TOXICIDADE DA AMÔNIA NÃO IONIZADA. **XII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia**. Porto de Galinhas – PE. 2012

WARD, D. J.; PEREZ-LANDA, V.; SPADARO, D. A.; SIMPSON, S. L.; JOLLE, D. F. An Assessment of Three Harpacticoid Copepod Species for Use in Ecotoxicological Testing. **Arch Environ Contam Toxicol,** 61:414–425. 2011

WEBER, R. Sistemas Costeiros e oceânicos. **Química Nova.** 1992. 15 (2).147-143 p.

ZAGATTO, P. A. Ecotoxicologia. *In:* ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. Ed. Rima. São Carlos, 2006. 1-13 p.

ZAMBONI, A. J.; ABESSA, D. M. S. Tríade da qualidade do sedimento *In*: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. (Eds). **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**. Artes Gráficas e Indústria Ltda. São Paulo, 2002. 233-243 p.

ZAMBONI, A. J.; COSTA J. B. Teste de toxicidade com sedimentos marinhos utilizando tanaidáceos. *In*: NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. (Eds). **Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil**. Artes Gráficas e Indústria Ltda. São Paulo, 2002. 179-188 p.

ZANARDI, E. **Hidrocarbonetos no Canal de São Sebastião e na plataforma interna adjacente: influência do derrame de maio de 1994. 1996**. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Química e Geológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996

ZANARDI, E.; BICEGO, M. C.; MIRANDA, L. B.; WEBER, R. R. Distribution and Origin of Hydrocarbons in Water and Sediment in S~ão Sebastiãoo, SP, Brazil. **Marine Pollution Bulletin.** Vol. 38, No. 4, pp. 261-267, 1999

ZANARDI, E.; BÍCEGO, M. C.; WEBER, R. R. Dissolved/dispersed Petroleum Aromatic Hydrocarbons in the São Sebastião Channel, São Paulo, Brazil **Marine Pollution Bulletin** Vol. 38, No. 5, pp. 410-413. 1999

ZARONI, L. P. **Avaliação da qualidade dos sedimentos marinhos e estuarinos no município de Bertioga-SP.** Monografia de doutorado apresentada ao Instituto Oceanográfico USP. 2006

ZULKOSKY, A. M.; FERGUSON, P. L.; MCELROY, A. R. Effects of sewage-impacted sediment on reproduction in the benthic crustacean Leptocheirus plumulosus. **Marine Environmental Research.** 54, 615–619 2002