

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO OCEANOGRÁFICO

MARCELA CORRÊA VEDOLIN

Bioacumulação de metais em *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda,
Grapsidae) de dois manguezais do estado de São Paulo, Brasil, com distintos impactos
antrópicos

São Paulo

2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO OCEANOGRÁFICO

MARCELA CORRÊA VEDOLIN

Bioacumulação de metais em *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) de dois manguezais do estado de São Paulo, Brasil, com distintos impactos antrópicos

Versão Original

Tese apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências, Programa de Oceanografia, área de Oceanografia Química.

Orientador: Prof. Dr. Rubens Cesar Lopes Figueira
Co-orientadora: Dra. Mônica Angélica Varella Petti

São Paulo

2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO OCEANOGRÁFICO

MARCELA CORRÊA VEDOLIN

Bioacumulação de metais em *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) de dois manguezais do estado de São Paulo, Brasil, com distintos impactos antrópicos

Tese apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências, Programa de Oceanografia, área de Oceanografia Química.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Dr. _____ Conceito: _____

Dr. _____ Conceito: _____

Dr. _____ Conceito: _____

Aos meus pais, Edna e João, pelo apoio e carinho e à minha tia Adriana, pela inspiração.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, João e Edna, por todo apoio, amor e incentivo.

Ao Prof.º Dr. Rubens Cesar Lopes Figueira, pela oportunidade de desenvolver este trabalho, confiança, apoio e auxílio dado para que isto fosse possível.

À Dr.ª Mônica Petti pela coorientação e por acreditar no potencial do trabalho. Foram inúmeras correções, mas conseguimos.

Às Prof.ª Dr.ª Rosalinda Montone e Prof.ª Dr.ª Elisabete Braga, pelas contribuições durante a entrevista para entrada no doutorado.

À Prof.ª Dr.ª Alessandra Majer, à Prof.ª Dr.ª Márcia Bicego e ao Prof. Dr. Marcelo Pinheiro pelas contribuições durante o exame de qualificação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro e institucional.

Ao Instituto Oceanográfico e em especial aos funcionários da base de Cananeia (Base de Pesquisa “Dr. João de Paiva Carvalho”) e do transporte, por todo apoio e companhia nas logísticas de coleta.

Aos demais barqueiros e pescadores, que auxiliaram nas coletas.

Aos colegas do LaQIMar, pela companhia e troca de conhecimentos.

Em especial à Tailisi e a Amanda, pelos ensinamentos técnicos e amizade construída.

E à Letícia Nigro, pelos vários dias em laboratório dissecando caranguejos

Aos meus familiares e amigos, pelos momentos de respiro e leveza.

Agradeço a todos (já citados ou não) que fizeram parte desta etapa da minha vida.

Germinam os desejos da alma, crescem os atos da vontade, maturam os frutos da vida.

Eu sinto meu destino, meu destino me encontra.

Eu sinto minha estrela, minha estrela me encontra.

Eu sinto meus objetivos, meus objetivos me encontram.

Minha alma e o mundo são um só. A vida, ela se torna mais clara ao redor de mim; a vida, ela se torna mais árdua para mim; a vida, ela se torna mais rica em mim. Busque a Paz, Viva em Paz, Ame a Paz.

(Rudolf Steiner)

RESUMO

VEDOLIN, Marcela Corrêa. **Bioacumulação de metais em *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) de dois manguezais do estado de São Paulo, Brasil, com distintos impactos antrópicos**. 2019. 135 f. Tese (Doutorado em Oceanografia) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Goniopsis cruentata é um caranguejo semiterrestre comum nos manguezais brasileiros e desempenha um importante papel na teia alimentar desse ecossistema, participando da ciclagem de nutrientes e de outros elementos, incluindo metais. Geralmente esses ecossistemas estão localizados em regiões de intensa atividade antrópica e possuem características físico-químicas que favorecem a estabilização de contaminantes. Este trabalho teve como objetivo investigar a concentração dos metais (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb e Zn) entre compartimentos bióticos e abióticos (vegetação, fauna e sedimento) em dois manguezais do estado de São Paulo (Ilha do Cardoso e São Vicente) com diferentes níveis de contaminação. Os valores das razões isotópicas de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) foram utilizados como ferramenta complementar, pois permitem inferir as fontes alimentares da espécie e seu nível trófico, respectivamente. As análises foram realizadas em amostras do sedimento superficial, da vegetação em diferentes estágios foliares (jovens, maduras e senescentes), e dos tecidos (músculo, brânquias e hepatopâncreas) e conteúdo estomacal do caranguejo, cujos itens presentes também foram descritos. Os valores da concentração de metais no sedimento e no caranguejo foram comparados aos valores de referência para verificar se eram adequados ao consumo humano. Os metais foram quantificados pela técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), sendo, para Hg, associada ao VGA (Geração de Vapor Frio). As razões isotópicas foram realizadas em um espectrômetro de massa Elemental Analyser – Isotope Ratio Mass Spectrometer. Para as amostras de sedimento dois métodos foram utilizados: digestão por água régia e extração sequencial. As maiores concentrações de metais ocorreram nas brânquias e no conteúdo estomacal, potenciais vias de entrada desses contaminantes, sendo que, com exceção do Hg, foram maiores na região menos impactada (Ilha do Cardoso). Em relação ao Hg, ocorreram no tecido muscular dos indivíduos coletados na Ilha do Cardoso, e nas brânquias e conteúdo estomacal daqueles coletados em São Vicente. Já nas amostras de folhas, ocorreram na região mais impactada, principalmente no estágio senescente. As concentrações de metais

no sedimento estiveram abaixo dos valores de referência em ambos os locais, indicando que não seriam esperados efeitos adversos para a biota. O item alimentar dominante no conteúdo estomacal de *G. cruentata* foi sedimento, seguido de fragmentos vegetais, que representam uma possível fonte de nitrogênio para a espécie. As razões isotópicas de C foram maiores no tecido muscular e, em relação às razões isotópicas de N, os maiores valores foram encontrados no conteúdo estomacal. A correlação entre os dados, concentração de metais e razões isotópicas, obtidos permite inferir sobre a existência da concentração de contaminantes entre os diferentes níveis tróficos no ambiente manguezal. Os resultados de tecido muscular foram comparados aos valores permitidos pela legislação brasileira para consumo sendo que, para Hg, todos os valores possíveis de quantificação foram considerados adequados para o consumo humano. Já em relação aos demais metais, estiveram acima destes limites, sendo impróprios para o consumo.

Palavras-chave: Crustáceos. Contaminantes Inorgânicos. Isótopos Estáveis. Manguezais.

ABSTRACT

VEDOLIN, Marcela Corrêa. **Bioacumulação de metais em *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) de dois manguezais do estado de São Paulo, Brasil, com distintos impactos antrópicos.** 2019. 135 f. Tese (Doutorado em Oceanografia) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Goniopsis cruentata is a common semi-terrestrial crab in Brazilian mangroves and plays an important role in the food web of this ecosystem, participating in the cycling of nutrients and other elements, including metals. These ecosystems, in general, are in regions of intense anthropic activity and have physicochemical characteristics that helps the stabilization of contaminants. The aim of this work was to investigate the concentration of metals (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb and Zn) between biotic and abiotic compartments (vegetation, fauna and sediment) in two mangroves in the state of São Paulo (Cardoso Island and São Vicente) with different levels of contamination. The values of isotopic ratios of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) were used as a complementary tool, since they may infer on the food sources of the species and its trophic level, respectively. Analyzes were performed on samples of surface sediment, vegetation at different leaf stages (buds, green mature, and pre-abscission senescent), and on tissues (muscle, gills and hepatopancreas) and stomach content, which had their food items described. Metal concentration values in sediment and crab were compared to reference values to verify that they were suitable for human consumption. The metals were quantified by the Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) and, for Hg, associated with VGA (Vapor Generation Accessory). Isotopic ratios were performed by the Elemental Analyser – Isotope Ratio Mass Spectrometer. Two methods were used for sediment samples: aqua regia digestion and sequential extraction. Metal levels in crab samples, except for Hg, were higher in Cardoso Island, the least impacted region, than in São Vicente. The highest concentrations occurred in gills and stomach content, important pathways of these contaminants. The highest concentrations occurred in muscle tissue of individuals residing in Cardoso Island and in gills and stomach content of those from São Vicente, except for Hg. The highest leaf concentrations were observed at the most impacted region, especially in the senescent stage. In both sites, the metal concentrations in the sediment were below the reference values, indicating that no adverse effects on biota are expected. Sediment was the

dominant food item, followed by plant fragments that represented a possible source of nitrogen for the species. The results of $\delta^{13}\text{C}$ were higher in muscle tissue compared to the others, whereas, the results of $\delta^{15}\text{N}$ were higher in stomach content. The correlation between the data may infer the existence of the concentration of contaminants between the different trophic levels in the mangrove environment. Muscle tissue results were compared to the values allowed by the Brazilian legislation for consumption and, for Hg, all values were considered adequate for human consumption. In relation to the other metals, they were above these limits, being unfit for human consumption.

Keywords: Crustacean. Inorganic Contaminants. Stable Isotopes. Mangrove.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1 - Localização das duas áreas amostradas no litoral de São Paulo, Brasil, representando uma região mais urbanizada, localizada na porção central (Município de São Vicente) e a outra mais preservada, localizada na porção sul (Ilha do Cardoso).25
- Figura 1.2 - Valores das médias (n=4) dos níveis de metais (dados transformados/ log x) nos diferentes tecidos (branquial, hepatopâncreas, muscular) de exemplares da espécie *G. cruentata*. O resultado do teste de Tukey está indicado por letras para cada elemento; letras idênticas representam diferenças não significativas ($p > 0,05$).31
- Figura 1.3 - Valores médios dos níveis de metais (mg kg^{-1}) em amostras de tecido muscular (n=3) de exemplares fêmeas e machos da espécie *G. cruentata* coletados em duas áreas de manguezal no litoral de São Paulo (Ilha do Cardoso e São Vicente) nas diferentes estações do ano.32
- Figura 2.1 - Localização das duas áreas amostradas no litoral de São Paulo, Brasil, representando uma região mais urbanizada, localizada na porção central (Município de São Vicente) e a outra mais preservada, localizada na porção sul (Ilha do Cardoso).41
- Figura 2.2 - Estimativa média (%) da composição da dieta em exemplares machos e fêmeas de *G. cruentata* coletados em duas regiões: A) Ilha do Cardoso e B) São Vicente, durante as quatro estações do ano (inverno, primavera, verão e outono).46
- Figura 2.3 - Valores médios e desvio padrão (n=4) de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ (‰) da musculatura e do conteúdo estomacal da espécie *G. cruentata* e dos itens alimentares (folhas em diferentes estágios de maturação e sedimento) coletados em duas regiões: A) Ilha do Cardoso (IC) e B) São Vicente (SV), nas quatro estações do ano (inverno, primavera, verão e outono). Nota: MM=macho/músculo; MCE=macho/ conteúdo estomacal; FM= fêmea/ músculo; FCE= fêmea/ conteúdo

estomacal; FJOV= folhas jovens; FMAD= folhas maduras; FSENEC= folhas senescentes; SED= sedimento.48

Figura 3.1 - Localização das duas áreas amostradas no litoral de São Paulo, Brasil, representando uma região mais urbanizada, localizada na porção central (Município de São Vicente) e a outra mais preservada, localizada na porção sul (Ilha do Cardoso).59

Figura 3.2 - Concentração de mercúrio (Hg) total nos diferentes tecidos (músculo, brânquias, e hepatopâncreas) e conteúdo estomacal de exemplares da espécie *G. cruentata*, machos e fêmeas, em duas regiões Ilha do Cardoso (A) e São Vicente (B) nas diferentes estações do ano (inverno, primavera, verão e outono).62

Figura 4.1 - Localização das duas áreas amostradas no litoral de São Paulo, Brasil, representando uma região mais urbanizada, localizada na porção central (Município de São Vicente) e a outra mais preservada, localizada na porção sul (Ilha do Cardoso).72

Figura 4.2 - Relação entre a razão isotópica de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) e as concentrações de metais na espécie *G. cruentata* e nos demais compartimentos do manguezal da região de Ilha do Cardoso (IC) e São Vicente (SV).81

Figura 4.3 - Concentração (mg.kg^{-1}) média ($n=5$) de metais associados às frações disponíveis nas amostras de sedimento nas regiões de Ilha do Cardoso e São Vicente83

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.1 - Valores da média (n=5) e desvio padrão dos níveis de metais (mg kg^{-1}) em sedimento coletado em São Vicente (SV) e Ilha do Cardoso (IC) nas diferentes estações do ano.30
- Tabela 1.2 - Valores médios (n=3) e desvio padrão obtidos neste trabalho para amostras de tecido muscular em todas as estações do ano coletadas e em ambos os sexos, comparados aos limites permitidos pela legislação brasileira para crustáceos.....33
- Tabela 2.1 - Médias (\pm desvio padrão; n=4) e valores do Carbono Orgânico Total (COT) %, Nitrogênio Total (NT) %, C/N e das razões isotópicas de C e N (‰) em amostras de folhas em diferentes estágios de maturação (jovens, maduras e senescentes) de *Laguncularia racemosa* na região de Ilha do Cardoso (IC) e de *Avicennia schaueriana* na região de São Vicente (SV), nos quatro períodos de coleta (inverno, primavera, verão e outono).49
- Tabela 2.2 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) %, Nitrogênio Total (NT) %, C/N e das razões isotópicas de C e N (‰) em amostras de sedimento superficial para ambas as regiões (Ilha do Cardoso= IC e São Vicente= SV), durante os quatro períodos de coleta (inverno, primavera, verão e outono).50
- Tabela 3.1 - Concentração de mercúrio (Hg) total em amostras de folhas em diferentes estágios de maturação (jovens, maduras e senescentes) em duas espécies, *Laguncularia racemosa* na região de Ilha do Cardoso (IC) e *Avicennia schaueriana* na região de São Vicente (SV), nos quatro períodos de coleta (inverno, primavera, verão e outono).63
- Tabela 4.1 - Valores da razão C/ N em amostras de folhas em diferentes estágios de maturação (jovens, maduras e senescentes) de *Laguncularia racemosa* na região de Ilha do Cardoso (IC) e de *Avicennia schaueriana* na região de São Vicente (SV), nos quatro períodos de coleta (inverno, primavera, verão e outono).....78

Tabela 4.2 - Valores dos níveis de metais (mg kg^{-1}) em amostras de folhas em diferentes estágios de maturação (jovens, maduras e senescentes) de *Laguncularia racemosa* na região de Ilha do Cardoso e de *Avicennia schaueriana* na região de São Vicente, nos quatro períodos de coleta (inverno, primavera, verão e outono).....79

Tabela 4.3 - Resultados do teste de correlação (*Spearman*) considerando a concentração de cada metal e os valores de $\delta^{15}\text{N}$ nas diferentes matrizes (tecidos e conteúdo estomacal do caranguejo, folhas e sedimento). As correlações destacadas em negrito foram significativas ($p < 0,001$). Os asteriscos (*) representam as relações que não foram possíveis de analisar devido aos resultados estarem < LDM.80

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo geral	20
2.2 Objetivos específicos	21
CAPÍTULO I. Concentração de metais em <i>Goniopsis cruentata</i> (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) em duas áreas de manguezais (São Paulo, Brasil)	22
RESUMO.....	22
1. INTRODUÇÃO	22
2. MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1 Área de estudo	25
2.2 Amostragem e preparo.....	26
2.3 Procedimentos analíticos	27
2.3.1 Amostras de sedimento	27
2.3.2 Amostras biológicas.....	28
2.3.3 Análise estatística.....	29
3. RESULTADOS	29
3.1 Concentração de metais em sedimento.....	29
3.2 Concentração de metais em tecidos de <i>G. cruentata</i>	30
4. DISCUSSÃO	33
CAPÍTULO II. Ecologia alimentar de <i>Goniopsis cruentata</i> (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae): uma abordagem com o uso de isótopos estáveis	38
RESUMO.....	38
1. INTRODUÇÃO	39
2. MATERIAL E MÉTODOS	41
2.1 Área de estudo	41
2.2 Amostragem e preparo.....	42
2.3 Procedimentos analíticos	43
2.3.1 Análise dos Isótopos Estáveis de C e N.....	43
2.3.2 Análise de dados	44
3. RESULTADOS	45
3.1 Análise de conteúdo estomacal.....	45
3.2 Razões Isotópicas	47

4. DISCUSSÃO	50
CAPÍTULO III. Avaliação dos níveis de mercúrio total em <i>Goniopsis cruentata</i> (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) em duas áreas de manguezais (São Paulo, Brasil).....	55
RESUMO.....	55
1. INTRODUÇÃO	56
2. MATERIAL E MÉTODOS	58
2.1 Área de estudo	58
2.2 Amostragem e preparo.....	60
2.3 Procedimentos analíticos	61
3. RESULTADOS	61
4. DISCUSSÃO	63
CAPÍTULO IV. Análise dos níveis de metais e composição isotópica de carbono e nitrogênio na espécie <i>Goniopsis cruentata</i> (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) em áreas de manguezais do estado de São Paulo, Brasil.....	68
RESUMO.....	68
1. INTRODUÇÃO	69
2. MATERIAL E MÉTODOS	72
2.1 Área de estudo	72
2.2 Amostragem e preparo.....	73
2.3 Procedimentos analíticos	74
2.3.1 Quantificação dos metais	74
2.3.1.1 Amostras biológicas	74
2.3.1.2 Amostras de sedimento	75
2.3.2 Análise dos isótopos estáveis de C e N.....	76
2.3.3 Análise de dados	77
3. RESULTADOS	77
4. DISCUSSÃO	84
3. CONCLUSÕES.....	89
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	90
REFERÊNCIAS	92
APÊNDICES	129

1. INTRODUÇÃO

Manguezais são ecossistemas de transição entre o ambiente terrestre e marinho que ocorrem em áreas abrigadas do litoral entre as zonas tropicais e subtropicais (SCHAEFFER-NOVELLI, 1991; SPALDING et al., 2010). Estima-se que estes ecossistemas ocupem uma área de cerca de 156.220 quilômetros quadrados, o que representa 75% das regiões costeiras do mundo (GHOSH et al., 2015). No Brasil, apresentam distribuição descontínua ao longo da costa e cobrem uma área de 9.600 km², a terceira maior área de manguezal no planeta (GIRI et al., 2011). Estes ambientes desempenham um papel significativo na proteção e estabilização de zonas costeiras (ALONGI, 2002; 2008). Sua intensa ciclagem de nutrientes proporciona condições favoráveis para alimentação, proteção e reprodução de muitos organismos, constituindo um ecossistema de grande importância ecológica, social e econômica para espécies de valor comercial, como mariscos, peixes e crustáceos (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995; LOURENÇO; MARQUES JÚNIOR, 2002; BUI; LEE, 2014).

Estes ecossistemas estão em constante ameaça, pois estão associados a áreas de intensa atividade urbana como complexos industriais, portos e grandes cidades (ELLIOT; WHITFIELD, 2011; FERREIRA et al., 2016), além de possuírem características físico-químicas que favorecem sua ação como barreira biogeoquímica, possibilitando a retenção de contaminantes que entram pelos rios e zona costeira (VANNUCCI et al., 2001; MIOLA et al., 2016). O impacto antrópico sobre os ambientes costeiros é intenso, sendo estimado que 70 milhões de pessoas vivam a menos de 200 km da costa, totalizando quase um terço da população brasileira (IBGE, 2010). De acordo com o Ministério do Meio Ambiente, 3 mil toneladas de poluentes líquidos, incluindo rejeitos industriais contendo metais em sua formulação, são lançadas diariamente no mar (MMA, 2002). A poluição por estes contaminantes tem causado grande alerta entre a população devido à sua toxicidade e persistência, pois podem acumular na biota facilmente, possibilitando sua magnificação nas redes tróficas (AHEARN et al., 2004; RAINBOW; BLACK, 2005; RAINBOW, 2007).

Metais são elementos químicos muito reativos que podem ser rapidamente depositados no sedimento ou assimilados por organismos (CLARK, 2001). Quando introduzidos no meio marinho tendem a se acumular no sedimento por meio de processos naturais e antrópicos, tais como intemperismo, escoamento e lixiviação de efluentes, erosão superficial do solo, bioturbação, dragagem, drenagem agrícola, deposição

atmosférica, resíduos de mineração e uso de fertilizantes e pesticidas (SOARES et al., 1999; YANG; ROSE, 2005, NOURI et al., 2008; AKOTO; DARKO, 2008). No sedimento associam-se a carbonatos, sulfatos e elementos orgânicos, entre outros, formando complexos que podem ser liberados para o ambiente marinho por meio de processos de remobilização (HIROSE, 2006). Fatores reguladores como pH, salinidade, tamanho de grão, potencial redox, teor de carbono orgânico e processos biológicos influenciam na distribuição de metais em sedimentos de manguezais (KULKARNI et al., 2018). A contínua degradação dos manguezais no sudeste brasileiro, derivada do processo de desenvolvimento costeiro, acarreta em alterações que desequilibram os parâmetros físico-químicos reguladores desse ambiente e, conseqüentemente, resulta na transferência trófica dos contaminantes para organismos detritívoros e outros de nível superior na teia alimentar (KELDERMAN et al., 2000; FERREIRA et al., 2016).

Os metais ocorrem naturalmente na crosta terrestre e podem ser classificados como essenciais, atuando como nutrientes, ou não essenciais, como metais traços (BROADLEY et al., 2012) ou pesados (EPSTEIN; BLOOM, 2004), dependendo de sua densidade. O termo "metal pesado" apresenta diferentes definições, sendo algumas delas baseadas na densidade atômica, peso ou número atômico (GUIMARÃES, 2008). Porém, o uso em estudos toxicológicos e biológicos, com enfoque em meio ambiente, é aceito (TCHOUNWOU et al., 2012). Assim, é usado para classificar os elementos que apresentam efeitos adversos à saúde como arsênio (As), cádmio (Cd), cobre (Cu), cromo (Cr), mercúrio (Hg), chumbo (Pb) e zinco (Zn), que estão associados com poluição e toxicidade (GUIMARÃES, 2008).

O Cu é um metal essencial presente no pigmento hemocianina dos crustáceos, responsável pelo transporte de oxigênio (WHITE; RAINBOW, 1982). Também tem um importante papel fisiológico nas plantas pois atua nos processos de fotossíntese, respiração, reprodução e metabolismo de carboidratos e nitratos (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). Já o Zn também atua em funções de regulação em muitos organismos aquáticos (PHILLIPS; RAINBOW, 1988) e na formação de enzimas e proteínas (RAINBOW, 1997). As principais fontes desses elementos no ambiente aquático são de origem antrópica e envolvem o descarte de efluentes de esgotos, incineração de lixo, atividades de mineração, produção de ferro e aço, emissões atmosféricas, drenagem de água subterrânea contaminada, usos agrícolas de pesticidas e fungicidas e a presença de tintas antiincrustantes, utilizadas em portos e marinas (CARVALHO; LACERDA, 1992; SÁ, 2003; ABDALLAH, 2008). Outros elementos como o cobalto (Co), ferro (Fe),

alumínio (Al), escândio (Sc), manganês (Mn) e níquel (Ni) também são essenciais às atividades metabólicas dos organismos, porém se encontram no limite entre ser essencial e tóxico (EISLER, 2010).

Os metais não essenciais como o Cd, Hg e Pb e o metaloide As não possuem função biológica conhecida e representam um problema devido à toxicidade e à persistência no meio ambiente, podendo causar danos em nível molecular, bioquímico, celular e fisiológico, como alterações na reprodução, desenvolvimento e mutações genéticas (AHEARN et al., 2004). A entrada de metais potencialmente tóxicos pode ocorrer por contato e/ou absorção (AHEARN et al., 2000; PEPPLER; AHEARN, 2003), por meio das brânquias (VERBOST et al., 1989; BURY et al., 1999; 2003; GROSELL; WOOD, 2002) ou via alimentação (MARSDEN; RAINBOW 2004). O Cd penetra nas células dos caranguejos através dos transportadores de cálcio (Ca) (RAINBOW; BLACK, 2005) e, em altas concentrações, tem efeito teratogênico (FERM; LAYTON, 1981). A literatura indica que o Pb provoca efeitos adversos à biota, incluindo aqueles relacionados a sobrevivência, crescimento, reprodução, desenvolvimento, comportamento, aprendizagem e metabolismo (EISLER, 2010). Entre os metais estudados, o Hg é considerado o mais tóxico, principalmente em sua forma metilada, causando efeitos adversos relacionados a reprodução e crescimento de organismos aquáticos (EISLER, 2010); possui alta mobilidade e afinidade com matéria orgânica, além de grande capacidade de biomagnificação (SEIXAS et al., 2009). Por fim, o As é um metaloide que apresenta diversos estados de oxidação e sua disponibilidade e toxicidade variam de acordo com essas propriedades químicas (EISLER, 2010).

Os crustáceos possuem mecanismos de desintoxicação celular e excreção que reduzem as concentrações de metais potencialmente tóxicos em seu metabolismo, como: (1) regulação fisiológica através do equilíbrio das taxas de excreção e absorção do metal no ambiente; (2) sequestro intracelular de metais envolvendo locais de alta afinidade com proteínas de baixo peso molecular (metalotioneínas), seguido por sua eliminação através do sistema lisossomal de endomembranas; (3) processos intracelulares de sequestro de metais envolvendo vacúolos específicos, onde ocorre a produção de fósforo metálico sólido ou grânulos de enxofre que, subsequentemente, sofrem exocitose para eliminação (RAINBOW, 2002; AHEARN et al., 2004). Concentrações elevadas de Cd e Hg podem prejudicar a síntese das metalotioneínas, inviabilizando a eliminação dos metais e causando efeitos prejudiciais ao organismo (ROESIJADI, 1992; VIARENGO; NOTT, 1993).

Os caranguejos fazem parte da fauna característica dos manguezais, possuindo um papel importante na teia alimentar e no processo de decomposição da matéria orgânica, além de representarem um dos grupos de maior relevância econômica na região Nordeste do Brasil (SANTOS et al., 2001) e com potencial ascensão no Sudeste brasileiro, devido ao declínio da população da espécie atualmente exploradas (DIAS NETO, 2011). O gênero *Goniopsis* (Família Grapsidae) possui três espécies: *G. cruentata* (LATREILLE, 1803), *G. pelli* (HERKLOTS, 1851) e *G. pulchra* (LOCKINGTON, 1876), sendo que somente *G. cruentata* tem registro de ocorrência no Brasil (MELO, 1996). Conhecido popularmente como aratu, maria-mulata ou aratu-vermelho, *G. cruentata* é encontrado ao longo da costa oeste da África, no Pacífico Americano e no Atlântico Ocidental, desde as Bermudas, Flórida, Golfo do México, Antilhas, Guianas, até o território brasileiro, do estado do Pará até as proximidades de Santa Catarina (MELO, 1996). É um caranguejo semiterrestre, encontrado em praias lamosas, braços de mar ou estuários, do supralitoral até a região entremarés (MELO, 1996; OSHIRO et al., 1998; SOUSA et al., 2000; SANTOS et al., 2001). *G. cruentata* é uma espécie onívora; sua alimentação é baseada tanto em tecidos vegetais, como folhas e propágulos de mangue, quanto em crustáceos menores, podendo alimentar-se ainda dos indivíduos da própria espécie, além de matéria orgânica do sedimento (BOTELHO, 2004; KOCH; NORDHAUS, 2010; LIMA-GOMES et al., 2011).

A qualidade dos alimentos pode limitar o crescimento dos organismos e das populações dos caranguejos, mesmo com a grande oferta de comida, como é o caso das folhas de mangue (KOCH; NORDHAUS, 2010). No entanto, tais folhas tendem a ser consideradas alimentos de pouca importância nutricional devido ao baixo teor de nitrogênio (N), além da baixa digestibilidade e grande teor de taninos. Algumas espécies também se alimentam de tecidos animais, como forma de suplemento de N para sua dieta (BOUILLON et al., 2004; NORDHAUS et al., 2011). O conhecimento sobre a variedade e dominância de itens alimentares de um organismo é fundamental para o entendimento de sua ecologia alimentar e de seu papel funcional dentro da teia alimentar (PETTI et al., 1996; NORDHAUS, 2003; ZAINAL et al., 2013). Análises de conteúdo estomacal indicam que folhas de mangue são itens alimentares dominantes na dieta de *G. cruentata*, embora itens como tecido animal, sedimento e fragmentos calcáreos também foram registrados (LIMA-GOMES et al., 2011). A aplicação da técnica de isótopos estáveis nos estudos sobre a dieta dos caranguejos permite inferir sobre a importância nutricional dos

itens consumidos, bem como, a sua real assimilação (MAZUMDER; SAINTILAN, 2010; PHILLIPS et al., 2014).

A combinação das análises de conteúdo estomacal e da razão isotópica de C e N nos tecidos da espécie *G. cruentata*, bem como de seus itens alimentares de maior ocorrência, pode fornecer informações importantes sobre a relação ecológica desses organismos com o meio onde vivem. Esses resultados, quando associados a níveis de contaminação, permitem um melhor entendimento da influência dos fatores bióticos e abióticos e de outros aspectos relacionados à exposição aos compostos contaminantes, contribuindo para o estudo da espécie em questão. A hipótese deste estudo é que a diferença nos níveis de impactos antrópicos nas duas áreas amostradas (Sistema Estuarino Santos-São Vicente e o Complexo Estuarino-Lagunar Cananéia-Iguape) tenha influência na bioacumulação dos metais em tecidos do caranguejo aratu (*Goniopsis cruentata*). Essa hipótese também leva em consideração a possibilidade da espécie ocupar diferentes níveis tróficos, estando exposta a concentrações distintas de contaminantes em cada local, de acordo com os itens alimentares dominantes.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve como objetivo investigar e avaliar a relação do caranguejo *Goniopsis cruentata* com o ecossistema manguezal em duas regiões no litoral paulista com níveis distintos de impacto antrópico (São Vicente e Ilha do Cardoso), além de contribuir com o conhecimento de sua ecologia alimentar e obter uma melhor compreensão do seu papel funcional no ambiente. Para apresentação dos resultados obtidos, a tese encontra-se organizada em quatro capítulos, em formato de artigos científicos, correspondentes aos objetivos específicos descritos em seguida.

2.2 Objetivos específicos

(a) Avaliar e comparar a concentração de metais (As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn) em três tecidos (músculo, hepatopâncreas e brânquias) da espécie *G. cruentata* e em amostras de sedimento superficial:

- o objetivo do capítulo foi verificar as relações entre as concentrações de metais com as variáveis: estações do ano (inverno, primavera, verão e outono), local (São Vicente e Ilha do Cardoso) e sexo (macho e fêmea) em diferentes tecidos da espécie. Também foi verificado se as concentrações de metais na musculatura de *G. cruentata* eram adequadas para consumo humano.

(b) Promover dados a respeito da ecologia alimentar da espécie por meio da abordagem das técnicas de análise de conteúdo estomacal e razão isotópica de carbono (C) e nitrogênio (N):

- o capítulo teve como objetivo caracterizar a dieta natural da espécie por meio da identificação dos itens alimentares presentes no conteúdo estomacal e relacionar sua assimilação pela quantificação das frações de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em tecido muscular, conteúdo estomacal, folhas e sedimento.

(c) Avaliar e comparar a concentração de mercúrio total (Hg) nos tecidos e no conteúdo estomacal da espécie *G. cruentata*, além das folhas da espécie de mangue mais abundante de cada região estudada:

- o capítulo teve como objetivo verificar as relações entre as concentrações do mercúrio (Hg) com as variáveis: estações do ano (inverno, primavera, verão e outono), local (São Vicente e Ilha do Cardoso) e sexo (macho e fêmea), além de verificar se existem relações entre as os diferentes tecidos, conteúdo estomacal e folhas; por fim, foi avaliada a concentração de Hg disponível para consumo humano, bem como para os predadores estuarinos da espécie.

(d) Verificar a correlação das razões isotópicas de carbono (C) e nitrogênio (N) com os valores encontrados para os metais (As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn) nos compartimentos abióticos e bióticos (sedimento, vegetação e caranguejos):

- o capítulo teve como objetivo verificar as relações entre as concentrações de metais nos tecidos e conteúdo estomacal com a posição da espécie na teia trófica, além de verificar a disponibilidade dos metais para os organismos por meio da análise de extração sequencial em sedimento.

Capítulo I

Concentração de metais em *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) em duas áreas de manguezais (São Paulo, Brazil)

RESUMO

O caranguejo *Goniopsis cruentata* ocorre em áreas de manguezal ao longo de todo o território brasileiro. Esses ecossistemas estão localizados, em geral, em regiões de intensa atividade antrópica, além de possuírem características físico-químicas que favorecem a estabilização de contaminantes, como os metais, proporcionando relevante barreira biogeoquímica. Este estudo teve como objetivo quantificar a concentração de sete metais (As, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb e Zn) no sedimento e em três tecidos (brânquias, hepatopâncreas e músculo) de *G. cruentata* coletados em diferentes períodos do ano, em duas áreas de manguezal, Ilha do Cardoso e São Vicente, localizadas no litoral do estado de São Paulo, com níveis distintos de impactos antrópicos. As concentrações de metais no sedimento estiveram abaixo dos valores estabelecidos para TEL e PEL em ambos os locais, indicando que não são esperados efeitos adversos para a biota local. Os níveis de metais nos tecidos diferiram entre si e seus valores apresentaram o mesmo padrão de comportamento, sendo: brânquias > hepatopâncreas ≥ músculo, exceto para Zn, cujas maiores concentrações foram registradas no tecido muscular. Já em relação aos elementos tóxicos (As, Cd e Pb), houve diferenças significativas entre os fatores analisados (local, estação do ano e sexo), sendo as maiores concentrações encontradas na Ilha do Cardoso. Os resultados de tecido muscular foram comparados com os valores permitidos pela legislação brasileira para consumo. Todos os valores possíveis de quantificação estiveram acima destes limites, sendo impróprios para o consumo humano.

Palavras-chave: Crustáceos. Contaminantes inorgânicos. Metais. Manguezal.

1. INTRODUÇÃO

O ecossistema manguezal é considerado um dos ambientes mais ameaçados do planeta, pois geralmente está associado a áreas de intensa atividade urbana, como complexos industriais, portos e grandes cidades (ELLIOT; WHITFIELD, 2011). Além disso, possuem características físico-químicas que favorecem a estabilização de

contaminantes devido ao comportamento filtrador e retentor de materiais orgânicos e inorgânicos, tornando-o importante reservatório para metais (VANNUCCI, 2001).

Estes contaminantes são conhecidos pelo seu alto grau de toxicidade e persistência (AHEARN et al., 2004; RAINBOW; BLACK, 2005; RAINBOW, 2007), podendo acumular facilmente nos tecidos de crustáceos em concentrações elevadas em comparação com as da coluna de água e do sedimento (RAINBOW, 2007). Eles podem ser considerados não essenciais como mercúrio (Hg), chumbo (Pb) e cádmio (Cd), que possuem elevado grau de toxicidade mesmo em pequenas concentrações; e essenciais como cobre (Cu) e zinco (Zn), com importante papel no metabolismo animal, embora tornem-se tóxicos em altas concentrações (EISLER, 2010).

O conhecimento sobre os teores destes elementos tem sido útil para o estabelecimento de parâmetros de contaminação em ambientes naturais (RAINBOW, 2007; LUOMA; RAINBOW, 2008). No Brasil, vários estudos descreveram os efeitos da poluição e toxicidade em crustáceos (HARRIS; SANTOS, 2000; PINHEIRO et al., 2012; ÁLVARO et al., 2015; ALMEIDA et al., 2016; BANCI et al., 2017; DUARTE et al., 2016, 2017). A biodisponibilidade de metais em invertebrados marinhos pode ser influenciada por diversos fatores: biológicos (tamanho, idade, dieta e sexo) (RAINBOW, 1985; JECKEL et al., 1996; CHEN et al., 2005; FRANCHI et al., 2011), sazonais (BELTRAME et al., 2010; 2011) e em função da área (ÁLVARO et al., 2015; ORTEGA et al., 2017), resultando no desenvolvimento de estratégias e respostas fisiológicas.

Os caranguejos, em particular, possuem mecanismos de detoxificação e são capazes de armazenar metais tóxicos em organelas intracelulares, como hepatopâncreas e lisossomos, quando estes estão acima dos limites fisiologicamente toleráveis, tornando-os, assim, inativos. Há também mecanismos intracelulares de sequestro para metais envolvendo locais de alta afinidade com proteínas de baixo peso molecular (metalotioneínas) seguido por sua eliminação através do sistema lisossomal de endomembranas (AHEARN et al., 2004); ou mesmo compartimentos em grânulos formados pelo hepatopâncreas, principal órgão de detoxificação (CORRÊA-JÚNIOR et al., 2000). As brânquias, porta de entrada para contaminantes, é um órgão seletivo que associa o ambiente interno ao externo e possui elevada capacidade de armazenar os metais acumulados (ORTEGA et al., 2014).

O caranguejo *Goniopsis cruentata* (LATREILLE, 1803), conhecido popularmente como aratu, maria-mulata ou aratu-vermelho, é uma espécie semi-terrestre comum nos manguezais brasileiros, encontrada no Atlântico Oriental, do Senegal até Angola e Ilhas

Cabo Verde e no Atlântico Ocidental, desde a Flórida, Golfo do México, Bermudas, Antilhas, Guianas e Brasil (MELO, 1996). Esta espécie desempenha um importante papel ecológico nos ecossistemas de manguezal, afetando a biogeoquímica do solo, taxas de decomposição e ciclagem de nutrientes (KRISTENSEN, 2008; LIMA-GOMES et al., 2011) e constitui um recurso pesqueiro para as comunidades tradicionais no litoral brasileiro do Nordeste (SANTOS et al., 2001; SANTOS; BOTELHO, 2002; MOURA; COELHO, 2004; PINHEIRO et al., 2016) Não há registros formais que a espécie seja explorada economicamente na costa Sudeste brasileira, contudo, devido à crescente exploração das populações de outras espécies de caranguejos na região e seu consequente declínio, *G. cruentata* seria uma potencial espécie a ser explorada, como ocorre no Nordeste do Brasil (BOTELHO et al., 2004).

O impacto antrópico sobre os ambientes costeiros é intenso. Estima-se que quase um terço da população brasileira (70 milhões de pessoas) vive a menos de 200 km da costa, o que implica em consequências diretas aos manguezais e outros ecossistemas adjacentes. Esse processo de urbanização tem sido acentuado próximo aos grandes centros, onde baías e estuários são comprometidos pela poluição e intensa exploração dos recursos naturais (IBAMA, 2002; MMA, 2002). O Ministério do Meio Ambiente estima que 3 mil toneladas de contaminantes líquidos, incluindo rejeitos industriais contendo metais pesados em sua formulação, são lançadas diariamente no mar, o que representa grande ameaça para os manguezais e estuários (MMA, 2002). Uma síntese recente sobre poluentes no litoral paulista revelou uma maior concentração de metais e contaminantes orgânicos na região da Baixada Santista, onde está localizado o Município de São Vicente, em relação ao extremo sul do litoral, onde está localizada a Ilha do Cardoso e o Município de Cananeia (DUARTE et al., 2016).

A contaminação química oriunda do sedimento e de pequenos organismos consumidos pode induzir mudanças genéticas nos predadores, causando danos fisiológicos e desequilíbrio ecológico (KIRSCHBAUM et al., 2009). Pinheiro e Toledo (2010) registraram má formação em um exemplar da espécie *Ucides cordatus*, potencialmente causada por estresse pelos altos níveis de poluição ambiental em Santos, resultando numa intensificação de estudos sobre poluição para analisar os riscos ecológicos e suas consequências para a vida estuarina da região.

Considerando a biodisponibilidade potencial dos metais nesses ecossistemas, este estudo teve como objetivo quantificar os níveis de arsênio (As), cádmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), níquel (Ni), chumbo (Pb) e zinco (Zn) em três tecidos (brânquias,

hepatopâncreas e músculo) do caranguejo *Goniopsis cruentata*, bem como em sedimentos superficiais coletados em duas áreas de mangue no litoral de São Paulo, Ilha do Cardoso e São Vicente, com diferentes níveis de impacto, para avaliar os níveis de contaminação local e o risco da espécie como potencial recurso pesqueiro para a região. A influência de fatores como sexo e sazonalidade na concentração de metais em exemplares da espécie também foi verificada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

Foram selecionados dois locais, com diferentes níveis de poluição, na porção central e sul do litoral de São Paulo: 1) Município de São Vicente, localizado no Estuário Santos-São Vicente ($23^{\circ}56'29.57''\text{S}$ e $46^{\circ}27'1.77''\text{O}$) e 2) Ilha do Cardoso ($25^{\circ}05'30.20''\text{S}$ e $48^{\circ}58'26.54''\text{O}$), que faz parte do Sistema Estuarino Lagunar Cananéia-Iguape (Figura 1.1).

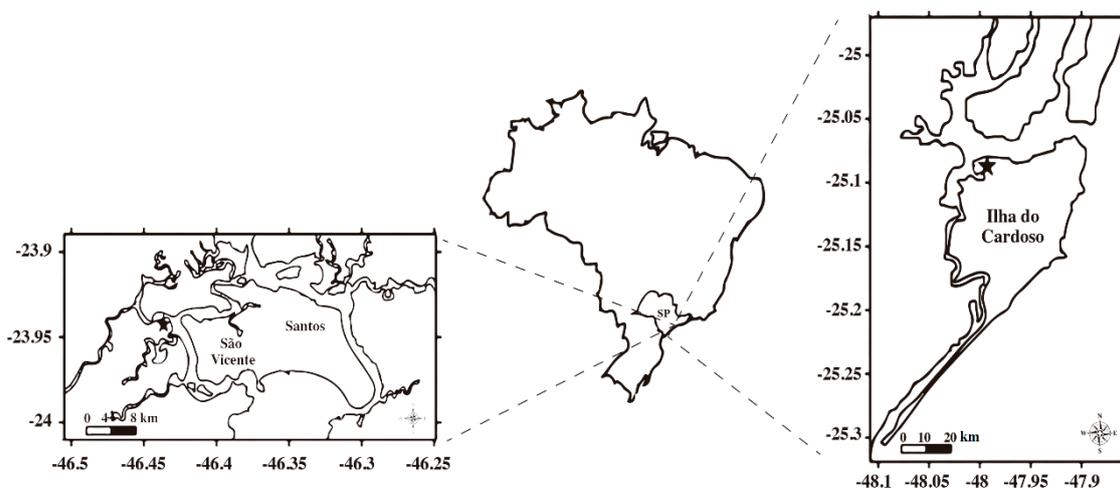


Figura 1.1 - Localização das duas áreas amostradas no litoral de São Paulo, Brasil, representando uma região mais urbanizada, localizada na porção central (Município de São Vicente) e a outra mais preservada, localizada na porção sul (Ilha do Cardoso).

O litoral de São Paulo possui 622 km de costa, divididos em três setores: norte, sul e central (metropolitana). Esta última conhecida como “Região Metropolitana da Baixada Santista”, compreendendo uma área densamente urbanizada e de grande importância econômica, principalmente pela presença do Porto de Santos, o maior da América Latina (HARARI; GORDON, 2001). Assim, o Sistema Estuarino Santos-São Vicente representa um dos maiores exemplos brasileiros de degradação ambiental devido

à intensa industrialização da região. As principais fontes de contaminação por metais das águas e sedimentos da Baixada Santista são originárias dos despejos industriais, detritos humanos e domésticos (ABESSA, 2002). De acordo com o levantamento de contaminação nesta região, realizado pela CETESB (2001) em diferentes matrizes (água, sedimento e material biológico), as concentrações para os elementos Cd, Cu, Hg, Ni, Pb e Zn encontraram-se acima do que é esperado para efeitos nocivos em organismos (PEL – *Probable Effect Level*, Environment Canada, 1999). O crescimento econômico da região, relacionado à exploração de óleo e gás na Bacia de Santos e à expansão das atividades portuárias poderão direcionar ainda mais o adensamento urbano para São Vicente (MELLO et al., 2013), onde já figuram diversas palafitas em rios e estuários (AZEVEDO et al., 2012), sem grande condição sanitária e/ou descarte correto de resíduos sólidos (CORDEIRO; COSTA, 2010).

Por outro lado, o Sistema Estuarino Lagunar Cananéia-Iguape, localizado no extremo sul do litoral de São Paulo, é considerado como a zona costeira mais conservada do estado (CUNHA-LIGNON et al., 2011). Possui cerca de 100 km de extensão, sendo composto por um complexo de canais que circundam as ilhas do Cardoso, de Cananeia e Comprida (BERNARDES; MIRANDA, 2001). Reconhecida pela UNESCO como Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, este sistema sofreu importantes mudanças ambientais devido à abertura do canal artificial do Valo Grande, em Iguape (SP), e às atividades de mineração de minério de chumbo que foram intensificadas na década de 90. Atualmente, esta área representa um ponto importante para a economia local, por sua abundância e diversidade em espécies de importância comercial (MAHIQUES et al., 2013).

2.2 Amostragem e preparo

Foram selecionados 152 indivíduos adultos de *G. cruentata*, na fase de intermuda, sendo: 75 em São Vicente (30 fêmeas e 45 machos) e 77 na Ilha do Cardoso (37 fêmeas e 40 machos). Os exemplares foram coletados manualmente, de modo aleatório nas diferentes estações do ano (inverno, primavera, verão e outono), durante os períodos de maré baixa no intervalo de agosto de 2016 a julho de 2017. Os indivíduos foram imediatamente sacrificados por hipotermia e transportados em caixas térmicas com gelo. No laboratório, os indivíduos foram medidos (LC= largura cefalotorácica) e agrupados de acordo com o sexo e tamanho da LC. Os indivíduos adultos foram selecionados

segundo Lima-Gomes (2011), que tem como critério a largura cefalotorácica, sendo utilizados aqueles com LC igual e/ou superior a 33 ± 5 mm.

Posteriormente, os caranguejos foram descongelados e lavados com água corrente e destilada, na sequência. Medidas preventivas foram adotadas para garantir a qualidade das análises e evitar a contaminação das amostras. Toda a vidraria utilizada foi descontaminada por imersão em solução de Extran® (5%) durante o período de 24 horas, seguida de imersão em solução de HNO₃ (7,5%) com o mesmo período de duração e, posterior enxágue com água destilada. Os exemplares foram lavados para retirada total da lama, de maneira a evitar contaminação, dissecados cuidadosamente para coleta das brânquias (anterior e posterior), do hepatopâncreas (lobos anteriores, intermediários e posteriores) e do músculo (apêndices). As amostras foram agrupadas de acordo com o sexo, o local de amostragem e os tecidos, compondo um “*pool*”, sendo 16 no total (em média, n=9 indivíduos). Cada amostra foi lavada com água destilada e seca em filtro de papel; na sequência foram liofilizadas por 48h e depois homogeneizadas em cadinhos de porcelana com auxílio de pistilo.

Amostras de sedimento (n=5 por período do ano; 10 cm de sedimento superficial) também foram coletadas com auxílio de espátulas, em áreas não bioturbadas, e congeladas na sequência. Em laboratório, foram secas em estufa à 60°C durante 48h, para posterior análise.

2.3 Procedimentos analíticos

2.3.1 Amostras de sedimento

Para a quantificação dos elementos de interesse (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn) nas amostras de sedimento foi escolhido o método de digestão por água régia com base no procedimento recomendado pela Norma ISO 11466 (PUEYO et al., 2001). Nesta análise 0.5g de sedimento são digeridos com 5mL de água régia (ácida clorídrico 37% e ácido nítrico 65%, na proporção 3:1), seguido de digestão a frio por 16h. Na sequência, a suspensão foi aquecida em banho de água (90°C) durante um período de 2h. Após resfriamento, a solução foi filtrada e diluída para 35 mL com água Milli-Q.

A quantificação de metais foi feita pela técnica do ICP-OES e o controle de qualidade foi realizado com análise (n=4) paralela do material de referência CRM 701 do IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements), que possui valores

informativos disponíveis para os elementos citados - excluindo, dessa maneira, o As das análises. Os valores de recuperação para esse método ficaram entre 72% e 83%. O limite de detecção do método (LDM) foi calculado e todos os resultados obtidos abaixo desse valor foram considerados como não quantificados e denominados abaixo do LDM. Os resultados foram: Cd 0,17 mg kg⁻¹; Cr 0,14 mg kg⁻¹; Cu 0,10 mg kg⁻¹; Ni 0,07 mg kg⁻¹; Pb 0,19 mg kg⁻¹; Zn 0,60 mg kg⁻¹.

2.3.2 Amostras biológicas

Nas amostras de caranguejo, foi escolhida a técnica de digestão ácida usada em Trevizani et al. (2016) para quantificar os elementos: As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn. Neste método, 0.35 g de cada amostra seca foram digeridas com 4 mL de ácido nítrico, seguido da adição de 1 mL de peróxido de hidrogênio. Após 18h, os analitos tratados foram colocados em bloco digestor à 90°C para aquecimento durante o período de 3h, na sequência, após resfriamento, a solução final foi filtrada e diluída para 35 mL com água Milli-Q.

A quantificação da concentração dos metais foi realizada por meio da técnica de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES, Equipamento Varian, modelo 710ES), que se baseia na emissão espontânea de fótons a partir de átomos e íons excitados por uma descarga de radiofrequência. Para o controle de qualidade dos dados gerados, foi realizado paralelamente a análise (n=6) do material de referência certificado 2976 (tecido de mexilhão – elementos traço - seco e congelado pelo National Institute of Standards and Technology), que mostraram recuperações entre 74 e 113%. Além disso, o limite de detecção do método (LDM), que representa a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, foi calculado para cada elemento de interesse. Os resultados foram: As 0,89 mg kg⁻¹; Cd 0,17 mg kg⁻¹; Cr 0,20 mg kg⁻¹; Cu 0,32 mg kg⁻¹; Ni 0,40 mg kg⁻¹; Pb 0,66 mg kg⁻¹; Zn 0,64 mg kg⁻¹. Todos os resultados obtidos abaixo desse valor foram considerados como não quantificados e denominados abaixo do LDM.

2.3.3 Análise estatística

Para melhor compreensão do comportamento dos metais analisados, foi realizada uma análise de variância (ANOVA *two way*) comparando cada fator (local, estação do ano e sexo) com as concentrações encontradas em amostras de músculo (n=3),

seguido do teste *a posteriori* de Tukey. Também foi feita uma ANOVA *one way* para comparar as concentrações de metais nos diferentes tecidos, ambas seguidas do teste *a posteriori* de Tukey. Para análise dos resultados de sedimento foi feita uma ANOVA *two way* para comparação das concentrações no local e estação do ano, seguido do teste *a posteriori* de Tukey.

Anteriormente às análises, foram testadas as premissas de normalidade e homocedasticidade dos dados (ZAR, 1999). Para a análise de comparação entre os tecidos (ANOVA *one way*) os dados foram transformados ($\log x$), devido à quebra das premissas citadas. Todas as análises estatísticas foram realizadas com nível de significância de 5%. As amostras, cujos resultados estavam abaixo do limite de detecção (LDM) tiveram seus valores substituídos pela metade do valor do mesmo e, dessa maneira, inseridas nos testes estatísticos. Os elementos cujo o número de resultados abaixo do LDM estavam superiores a 70% foram excluídos das análises. As análises estatísticas foram efetuadas com o uso do software *Statistica*® 13.

3. RESULTADOS

3.1 Concentração de metais em sedimento

A Tabela 1.1 mostra as concentrações médias (mg kg^{-1}) de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn nas amostras de sedimentos em ambos os locais de estudo (Ilha do Cardoso e São Vicente). Diferenças estatísticas foram encontradas entre os locais para todos os elementos ($F= 22,92$; $p < 0,05$), no entanto não houve diferenças entre as estações do ano ($F= 1,04$; $p= 0,427$). Além disso, a distribuição sazonal dos metais no sedimento apresentou um padrão similar em todos os períodos do estudo.

As maiores concentrações médias para cada elemento foram registradas em São Vicente, com exceção da concentração média de Cr no verão. A lei brasileira não fornece valores de referência para sedimentos estuarinos. Os resultados foram comparados aos valores fornecidos pelo Environment Canada (1999), que compreende duas categorias: 1) ISQG - *Interim Sediment Quality Guidelines* (antigo TEL- *Threshold Effect Level*): 0,7 mg kg^{-1} Cd; 18,7 mg kg^{-1} Cu; 52,3 mg kg^{-1} Cr; 15,9 mg kg^{-1} Ni; 30,2 mg kg^{-1} Pb, 124 mg kg^{-1} Zn; e 2) PEL - *Probably Effect Level*: 4,21 mg kg^{-1} Cd; 108 mg kg^{-1} Cu; 160 mg kg^{-1} Cr; 42,8 mg kg^{-1} Ni; 112 mg kg^{-1} Pb, 271 mg kg^{-1} Zn. Para valores abaixo do ISQG efeitos

adversos raramente irão acontecer, enquanto acima do PEL tais efeitos são esperados. Neste estudo, nenhum valor foi encontrado acima de PEL.

Tabela 1.1 - Valores da média (n=5) e desvio padrão dos níveis de metais (mg kg^{-1}) em sedimento coletado em São Vicente (SV) e Ilha do Cardoso (IC) nas diferentes estações do ano.

Metal	Local	Concentração (mg kg^{-1}) / Estações			
		Inverno	Primavera	Verão	Outono
Cd	SV	0,47± 0,06	0,30± 0,14	0,57± 0,34	0,43± 0,07
	IC	0,26± 0,05	0,27± 0,06	0,36± 0,07	0,27± 0,13
Cr	SV	15,84± 1,14	17,23± 1,83	14,57± 1,79	15,17± 1,18
	IC	11,23± 1,48	11,65± 1,62	16,15± 3,24	7,66± 4,42
Cu	SV	9,66± 1,16	9,63± 2,22	8,79± 1,23	8,95± 1,07
	IC	4,23± 0,68	4,06± 0,56	5,96± 0,98	4,24± 1,61
Ni	SV	7,05± 0,60	7,90± 0,96	6,67± 0,91	6,63± 0,41
	IC	4,81± 0,95	4,68± 0,79	6,62± 1,05	4,61± 0,73
Pb	SV	12,94± 1,36	13,60± 1,94	11,66± 1,66	12,04± 1,80
	IC	7,42± 2,09	7,42± 0,84	10,73± 1,98	6,74± 2,43
Zn	SV	48,73± 6,96	52,42± 9,73	45,97± 6,80	42,95± 4,18
	IC	21,51± 4,43	21,36± 3,41	29,69± 4,53	37,40± 30,60

3.2 Concentração de metais em tecidos de *G. cruentata*

Houve diferença significativa entre os tecidos (brânquias, hepatopâncreas e músculo) para todos os metais ($F= 86,35$; $p < 0,05$). A concentração diminuiu nos tecidos no sentido das brânquias para o músculo, exceto para o elemento Zn, cujas maiores concentrações foram observadas no tecido muscular (Figura 1.2).

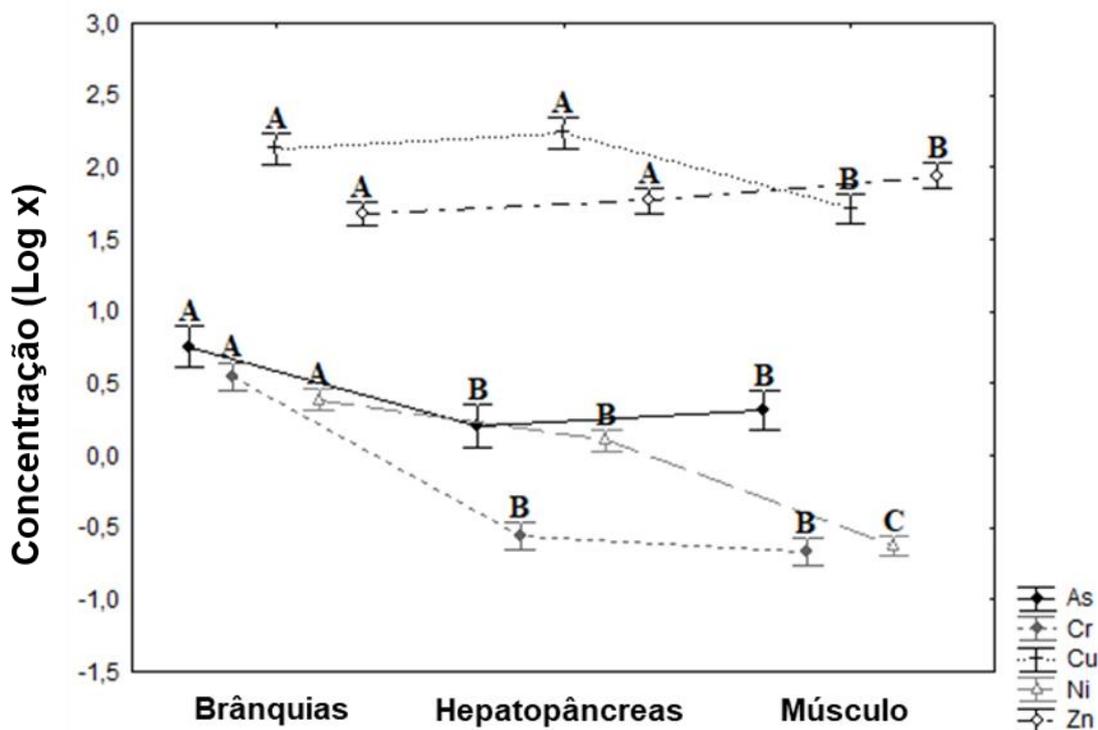


Figura 1.2 - Valores das médias (n=4) dos níveis de metais (dados transformados/ log x) nos diferentes tecidos (branquial, hepatopâncreas, muscular) de exemplares da espécie *G. cruentata*. O resultado do teste de Tukey está indicado por letras para cada elemento; letras idênticas representam diferenças não significativas ($p > 0,05$).

A análise de variância realizada nas amostras de tecido muscular (n=3) mostrou que houve diferenças significativas entre as concentrações de metais e os fatores analisados: local ($F= 174, 93$ e $p < 0,05$); sexo ($F= 64,93$ e $p < 0,05$); estação do ano ($F= 28,24$ e $p < 0,05$). Em relação aos locais coletados, houve diferença significativa para As e Cu ($p < 0,05$), sendo para As, as maiores concentrações encontradas nos indivíduos coletados na Ilha do Cardoso e, para Cu, em São Vicente (Apêndice A). Já para as estações do ano, as diferenças foram observadas para Cu em todas as estações ($p < 0,05$) e para Zn ($p < 0,05$), sendo o verão diferente das demais, com as maiores concentrações em ambos os locais (Figura 1.3). Por fim, houve diferença significativa entre os sexos ($p < 0,05$) para os elementos Cu e Zn, considerados essenciais para os organismos (Figura 1.3). Os valores quantificados para as amostras analisadas estão disponíveis no Apêndice A.

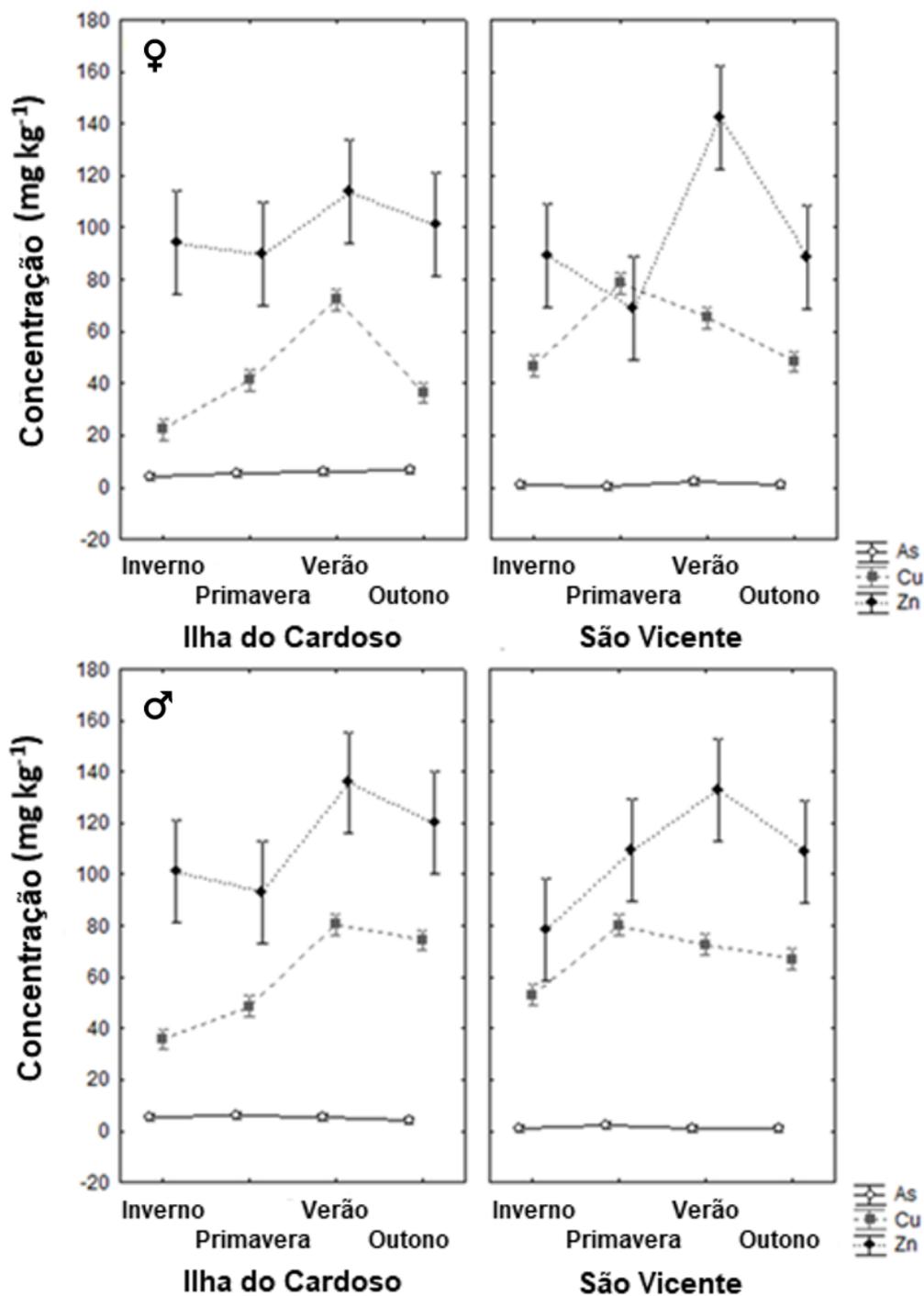


Figura 1.3 - Valores médios dos níveis de metais (mg kg^{-1}) em amostras de tecido muscular ($n=3$) de exemplares fêmeas e machos da espécie *G. cruentata* coletados em duas áreas de manguezal no litoral de São Paulo (Ilha do Cardoso e São Vicente) nas diferentes estações do ano.

No Brasil, o limite máximo de contaminantes inorgânicos permitido por lei para alimentos está regulamentado desde 1965 por meio do Decreto Lei 55.871-65. Esses limites têm sido reafirmados e atualizados em tratados internacionais (Mercosul/GMC

102-94, 103/94, 35/96 e 42/13) e órgãos nacionais (Portaria ANVISA nº 685/1998) (Tabela 1.2). Para avaliar a qualidade da carne de *G. cruentata* para consumo humano foram utilizados tais valores como referência e constatou-se que grande parte dos resultados obtidos para amostras de todos os tecidos analisados (ver Apêndice A) estão acima desses limites (Tabela 1.2). Estes resultados mostram que os indivíduos coletados na Ilha do Cardoso apresentaram as maiores concentrações de metais em relação aos de São Vicente. No entanto, em ambos os locais as amostras se apresentam acima dos limites estabelecidos, sendo a espécie imprópria para o consumo humano.

Tabela 1.2 - Valores médios (n=3) e desvio padrão obtidos neste trabalho para amostras de tecido muscular em todas as estações do ano coletadas e em ambos os sexos, comparados aos limites permitidos pela legislação brasileira para crustáceos.

Elementos	Concentrações (mg kg ⁻¹)		
	Brasil (1998; 2013)	Amostras de músculo (m± dp) - SV	Amostras de músculo (m± dp) - IC
As	1,0	**	3,72± 2,58
Cd	0,5	<LDM	<LDM
Cu	30,0	72,09± 132,16	136,31± 66,09
Cr	0,1	**	0,19± 0,21
Ni	*	<LDM	<LDM
Pb	0,5	**	0,94± 0,85
Zn	50,0	107,55± 43,53	99,17± 30,70

Nota: m= média; dp= desvio padrão; SV= São Vicente; IC= Ilha do Cardoso; LDM= limite de detecção do método; * não há valores estabelecidos para este elemento; ** >70% amostras abaixo do LDM.

4. DISCUSSÃO

Todos os valores de concentração de metais das amostras de sedimento, em ambos os locais coletados, encontram-se abaixo dos valores estabelecidos para TEL e PEL, não sendo esperados riscos adversos à biota. Ainda assim, esses resultados diferem daqueles encontrados por Banci et al. (2017), cujos valores em amostras de sedimento superficial, coletadas no período de janeiro a março de 2009, no Município de São Vicente foram um pouco menores em relação ao presente estudo: Cd 0,10 (± 0,02) mg

kg^{-1} , Cr $7,07 (\pm 0,45) \text{ mg kg}^{-1}$ e Pb $10,33 (\pm 0,56) \text{ mg kg}^{-1}$; para o Cu $5,81 (\pm 1,28) \text{ mg kg}^{-1}$. Tais diferenças podem ser decorrentes do período de coleta, ponto amostral, granulometria e outros fatores que podem alterar a disponibilidade e mobilidade dos metais no sedimento, como forma química e/ou tipo de ligação (PUEYO et al., 2001; KELDERMAN; OSMAN, 2007) que, por sua vez, são controlados por características físicoquímicas e biológicas dos locais (SAKAN et al., 2009).

A alta concentração de matéria orgânica e de sulfetos presentes no sedimento de manguezal resulta em retenção de metais e, conseqüentemente, em exposição crônica dos caranguejos e outros animais a estes contaminantes (MACHADO et al., 2002). Lima-Gomes et al. (2011) sugerem que a espécie *G. cruentata* seja detritívora, com predomínio de sedimento na composição de sua dieta. Dessa maneira, é esperado que as concentrações nos tecidos analisados sejam semelhantes àquelas do sedimento, fato que ocorre para a maioria dos elementos, exceto Cu e Zn. Os resultados indicam que há uma tendência de bioconcentração desses elementos nos tecidos branquial e muscular, respectivamente, pois os valores encontrados foram de duas a três vezes maiores em relação aos valores encontrados para sedimento. Duarte et al. (2017) também relataram uma maior concentração de Cu nesses tecidos (músculo e hepatopâncreas) de *Ucides cordatus* em relação ao sedimento. Tais resultados são esperados devido ao caráter essencial desses elementos. O Cu está presente nos crustáceos no pigmento hemocianina, responsável pelo transporte de oxigênio no sistema respiratório (WHITE; RAINBOW, 1982); já o zinco também atua em funções de regulação em muitos organismos aquáticos (PHILLIPS; RAINBOW, 1988) e na formação de enzimas e proteínas (RAINBOW, 1997), o que explica as maiores concentrações deste elemento no tecido muscular, não seguindo os mecanismos de desintoxicação.

Apesar da função essencial do Cu como pigmento respiratório, suas maiores concentrações ocorreram no hepatopâncreas, exceto durante o inverno e em machos na primavera, em ambos os locais. Este resultado corrobora com o encontrado por Pinheiro et al. (2012), que sugerem uma maior eficiência do hepatopâncreas em relação às brânquias na eliminação do excesso de Cu. De acordo com Scott-Fordsmand e Depledge (1997), quando as concentrações de Cu ultrapassam as do meio externo, há uma tendência de acúmulo do elemento nos decápodes. Altas concentrações de Cu no hepatopâncreas são comuns, devido ao caráter "estocador" deste órgão (ENGEL; ROESIJADI, 1987; BELTRAME et al., 2010). Além disso, para sobreviver em altas concentrações de Cu, o organismo deve manter o Cu em excesso na sua forma mais inerte, estocando

permanentemente ou temporariamente no corpo (RAINBOW, 1998). Os valores de Cu relatados aqui para o músculo de *G. cruentata* corroboram com os valores estimados para a espécie de crustáceo *Pandalus montagui* (38,1 µg/g e 57,4±18,9 µg/g), como sendo o valor necessário de Cu para os mecanismos vitais desse organismo (LUOMA; RAINBOW, 2008; NUGEGODA; RAINBOW, 1988).

A sazonalidade pode influenciar as concentrações de metais nos tecidos, resultando em alterações no ciclo biológico do organismo (BELTRAME et al., 2010). Neste estudo, houve diferença para o Cu ($p < 0,05$) em todas as estações e para o Zn ($p < 0,05$), somente o verão diferiu das demais estações, com maiores concentrações em ambos os locais. Esta estação coincide com o período de maior atividade metabólica da espécie (SANTOS et al., 2001) e parte do período reprodutivo para o estado de São Paulo, que ocorre de outubro a maio (COBO; FRANZOZO, 2003). O período reprodutivo pode gerar maior consumo de energia, produzindo assim diminuição da capacidade de detoxificação e, portanto, aumento da bioacumulação de metais (BELTRAME et al., 2010). Durante a gametogênese, reservas de compostos tais como proteínas, mucopolissacarídeos, carotenóides e lipídios são acumulados; tal fato, ocorre paralelamente com o aumento do consumo de oxigênio, repercutindo nos requisitos de metais essenciais como Cu e Zn. Tais elementos apresentaram diferença ($p < 0,05$) entre os sexos e pode estar relacionado ao processo de gametogênese. Assim, os mecanismos de ação e síntese das metalotioneínas podem ser afetados pelos principais processos cíclicos de vida dos crustáceos, incluindo período de muda e ciclos reprodutivos (MOUNEYRAC et al., 2001; ENGEL; BROUWER, 1993).

As vias de entrada de metais potencialmente tóxicos podem ocorrer através de todo o corpo dos organismos marinhos (AHEARN et al., 2000; PEPPLER; AHEARN 2003), das brânquias (BURY et al., 1999; 2003; GROSELL; WOOD, 2002) e/ou via dieta (WANG, 2002), fazendo com que os ambientes mais poluídos geralmente sejam mais nocivos aos organismos. No entanto, neste estudo as maiores concentrações de As, Cd e Pb, metais não essenciais e extremamente tóxicos, foram registradas na Ilha do Cardoso, região considerada menos impactada. Tal fato pode ser explicado com base em duas hipóteses: 1) o funcionamento da mineradora Plumbum na região, atuante até os anos 90, com o descarte de efluentes no Rio Ribeira, sem passar por processos de depuração, fazendo com que resíduos sejam detectáveis na biota local, especialmente Cd e Pb (CETESB, 2000); 2) Ortega et al. (2017) sugeriram que organismos que vivem em ambientes contaminados possuem mecanismos fisiológicos de transporte mais eficientes

e de estrutura bioquímica celular que lhes confere maiores adaptações sem a necessidade de aumento dos níveis de metalotioneínas, dessa forma sem acumular grandes concentrações de metais em seus tecidos. Tais hipóteses corroboram com as diferenças ($p < 0,05$) encontradas em relação aos locais amostrados: na Ilha do Cardoso, o elemento As, que diferiu dos demais (Cu e Zn), apresentou as maiores concentrações; já em São Vicente, o elemento Cu, que diferiu de As e Zn, teve suas maiores concentrações relatadas, fato que pode estar relacionado com a alta demanda desse elemento essencial para processos fisiológicos de detoxificação. Portanto, pode-se inferir sobre a singularidade deste resultado, uma vez que contrasta com a hipótese inicial que as maiores concentrações de metais seriam de organismos coletados em São Vicente, área de manguezal mais poluída. As concentrações dos metais diferiram entre os tecidos de *G. cruentata*, especialmente o Ni, que apresentou diferenças significativas entre os três tecidos analisados. De maneira geral, houve uma tendência de detoxificação ocorrendo nos tecidos, resultando em menores concentrações na musculatura, chegando a valores abaixo do limite de detecção do método, como nos casos de Cd, Ni e Pb. Essa tendência também foi observada por Almeida et al. (2016) em indivíduos da espécie *Ucides cordatus* na região do Rio de Janeiro, onde as maiores concentrações ocorreram nas brânquias, seguido do hepatopâncreas e músculo, exceto para Zn. Apesar de ambos os estudos apresentarem a mesma tendência, as concentrações relatadas são diferentes, sendo maiores na espécie *G. cruentata*. Essa variação entre espécies é esperada como consequência das diferentes condições ambientais, fontes de alimento, posição trófica e metabolismo dos organismos (RAINBOW, 2002).

O conhecimento das concentrações de metais e de outros contaminantes em tecidos de *G. cruentata* é importante devido ao caráter econômico (BOTELHO et al., 2004; DIAS NETO, 2011) e biomarcador da espécie (DAVANSO et al., 2013). Costa et al. (2017) analisaram amostras *in natura* e em diferentes estágios de processamento culinário dos tecidos da mesma espécie na região Nordeste do Brasil (Bahia) e encontraram níveis menores que os encontrados neste estudo, porém com tendência de aumento quando aquecidos. Em ambas as áreas aqui analisadas as concentrações estavam acima do permitido pela legislação brasileira para consumo, indicando contaminação de metais tóxicos como As e Pb nas amostras de *G. cruentata*.

Interpretar os níveis de metais nesta espécie envolve compreender tanto os efeitos no próprio organismo quanto aqueles nos organismos que os consomem. Do ponto de vista biológico, as concentrações de metais encontradas nos tecidos desta espécie são de

grande preocupação para o ambiente estuarino e de manguezal, devido ao importante caráter da mesma no papel de transferência de contaminantes a níveis tróficos superiores. Efeitos adversos à saúde humana podem ser esperados caso haja consumo excessivo desses organismos. Estes resultados devem ser usados como ferramenta de biomonitoramento no meio ambiente para avaliação do grau de contaminação regional.

Capítulo II

Ecologia alimentar de *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae): uma abordagem com o uso de isótopos estáveis

RESUMO

Goniopsis cruentata (Decapoda, Grapsidae) é uma espécie comum nos manguezais brasileiros e possui grande importância ecológica, podendo atuar em mais de um nível trófico. Análises de conteúdo estomacal e de isótopos estáveis são ferramentas complementares para obtenção de informações sobre o comportamento alimentar do organismo e, portanto, fundamentais para o entendimento de sua ecologia e papel funcional no ecossistema. Este estudo teve como objetivo caracterizar a dieta natural da espécie por meio da identificação dos itens alimentares no conteúdo estomacal e relacionar sua assimilação pela quantificação das frações de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em tecido muscular, conteúdo estomacal, folhas e sedimento. Os indivíduos foram coletados em duas regiões do litoral do estado de São Paulo, nas diferentes estações do ano. Amostras de sedimento superficial e de folhas em diferentes estágios de maturação (jovens, maduras e senescentes) também foram coletadas. As razões isotópicas de C e N foram realizadas em um espectrômetro de massa Elemental Analyser – Isotope Ratio Mass Spectrometer. Em ambos os locais, o item alimentar dominante foi sedimento, seguido de fragmentos vegetais. Os valores das razões isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ foram menores no conteúdo ingerido em relação ao assimilado, já para valores de $\delta^{15}\text{N}$ ocorreu o inverso. Essas diferenças podem ser resultado de processos metabólicos que envolvem a incorporação dos isótopos. Embora folhas de mangue sejam consideradas de baixo valor nutricional em termos de N, as folhas senescentes parecem ser uma possível fonte em ambas as regiões, enquanto o sedimento atua como fonte de C. Este estudo confirma o papel dominante desses itens na dieta de *G. cruentata*, além de confirmar que o comportamento da espécie na ingestão de sedimento modifica a biodegradação microbiana, influenciando na ciclagem e conservação de nutrientes.

Palavras-chave: Crustáceos. Isótopos estáveis. Conteúdo estomacal. Manguezal.

1. INTRODUÇÃO

Manguezais são ecossistemas de transição entre o ambiente terrestre e marinho onde há grande produção de detritos (serrapilheira) com intensa ciclagem de nutrientes, situação que proporciona um ambiente favorável para reprodução e crescimento de várias espécies, incluindo crustáceos (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995; BUI; LEE, 2014). No Brasil, apresentam distribuição descontínua ao longo da costa e cobrem 9.600 km², cerca de 7- 8,5% da área total de manguezal no mundo (FAO, 2007; SPALDING et al., 2010; GIRI et al., 2011).

Caranguejos grapsídeos possuem grande importância ecológica, uma vez que atuam como consumidor primário e secundário nesses ambientes (NEGREIROS-FRANSOZO, 2002; BUI; LEE, 2014). O forrageamento realizado por esses organismos é um importante processo que atua diretamente nas vias tróficas das áreas de mangue, armazenando nutrientes e matéria orgânica e, conseqüentemente, impedindo sua perda durante o regime de marés (LEE, 1998; NORDHAUS et al., 2006). Há evidências sobre o consumo de sedimento como fonte de alimento por indivíduos da espécie *Goniopsis cruentata* (LATREILLE, 1803), abundante ao longo da costa brasileira (MCKEE; FELLER, 1992; LIMA-GOMES et al., 2011). Conhecida como aratu, é uma espécie semi-terrestre com ampla distribuição geográfica, incluindo o oeste do Oceano Atlântico, das Bermudas ao Brasil, e o leste do Oceano Atlântico do Senegal a Angola (MELO, 1996). Os estudos sobre o comportamento alimentar de caranguejos de mangue têm como abordagem principal indivíduos da família Sesarmidae (SKOV; HARTNOLL, 2002; CHEN; YE, 2008; NEROT et al., 2009; MAZUMDER; SAINTILAN, 2010; HERBON; NORDHAUS, 2013; HARADA; LEE, 2016), sendo escassas as informações sobre a família Grapsidae.

O conhecimento sobre o hábito alimentar de um organismo pode ser obtido por meio de observações diretas em campo ou laboratório e por análises de conteúdo estomacal ou isótopos estáveis, entre outras técnicas (NORDHAUS; WOLFF, 2007; KRISTENSEN et al., 2010; NORDHAUS et al., 2011; 2013; DIVINE et al., 2017). A análise de conteúdo estomacal fornece um registro dos hábitos da alimentação local e recente do organismo. É um método adequado para verificar dietas de espécies de caranguejo que ocupam diferentes habitats (SQUIRES; DAWE, 2003; BAETA et al., 2006; NORDHAUS et al., 2011; VISWANATHAN; RAFFI, 2015), investigar alterações

sazonais (NORDHAUS et al., 2009; KUNSOOK et al., 2014; DIVINE et al., 2017) e, até mesmo, presença de resíduos plásticos (WÓJCIK-FUDALEWSKA et al., 2016).

Por sua vez, a utilização de isótopos estáveis com base nas razões $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ tem sido amplamente utilizada por ser uma técnica que fornece valores que permitem identificar fontes primárias de carbono e posição trófica das espécies (POST, 2002), além de dar informações sobre os itens ingeridos em longo prazo por um organismo (MINTENBECK et al., 2007; KAUFMAN et al., 2008; WEEMS et al., 2012). Expressa, também, a nutrição de um organismo em médio e longo prazo, pois a composição isotópica dos tecidos é resultado da contribuição dos diferentes componentes da dieta e dos processos de assimilação do consumidor (PETERSON; FRY, 1987; FANELLI; CARTES, 2010).

Análises de conteúdo estomacal e de isótopos estáveis são ferramentas complementares para obtenção de informações sobre a variedade de itens alimentares e preferências de um organismo, sendo fundamental para o entendimento de sua ecologia e papel funcional no ecossistema. A estratégia de alimentação dos caranguejos pode ser alterada em função do local e relacionada com o tipo de sedimento (MILLER, 1961) e disponibilidade de material vegetal (NORDHAUS, 2003). Sendo assim, a composição isotópica dos organismos reflete a diferença do tipo de fonte de alimento (KON et al., 2007).

No Brasil, folhas de mangue têm sido citadas como fonte primária na dieta de caranguejos: Nordhaus et al. (2006) relataram consumo de 81,3% de folhas de *Rhizophora mangle* em *Ucides cordatus* e Lima-Gomes et al. (2011) relataram cerca de 60% de ocorrência de fragmento vegetal em estômagos de *G. cruentata*. Pouco se sabe sobre os valores nutricionais dos componentes alimentares ingeridos por esses organismos, além do fato das folhas de árvores de mangue serem fontes de nitrogênio. Esses valores podem ser expressos pela relação C/N, bem como, pelo conteúdo de taninos presentes nas folhas (MAZUMDER; SAINTILAN, 2010; OAKES et al., 2010). Alimentos considerados com alto valor nutricional possuem teores de carbono e nitrogênio balanceados e relação C/N abaixo de 17 (RUSSEL-HUNTER, 1970).

Alguns estudos indicam que características das folhas podem alterar a escolha do organismo durante sua alimentação, sendo sugerida a “hipótese de envelhecimento das folhas”, a qual diz que o movimento das quelas dos caranguejos nas paredes das tocas cria uma superfície que permite a lixiviação dos taninos das folhas, aumento da quantidade de nitrogênio durante a decomposição por atividade microbiana e redução da

relação C/N, tornando a folha mais palatável (GIDDINS et al., 1986; NEILSON et al., 1986; WAFAR et al., 1997). No entanto, Skov e Hartnoll (2002) concluíram que as folhas de mangue são improváveis fontes das necessidades nutricionais dos caranguejos em qualquer estado de decomposição devido seu baixo valor nutricional ($> C/N$). As taxas de assimilação podem ser baixas para as folhas de mangue em comparação com outras fontes alimentares, como sugerido por Lee (1998).

Outros estudos sugerem fontes alternativas de alimentos como microfitobentos, que tem sido apontado como um importante contribuinte para a dieta de caranguejos de mangue (BOUILLON et al., 2002; BUI; LEE, 2014) e sedimento, que poderiam atuar como uma fonte mais rica de N (BOUILLON et al., 2008; KRISTENSEN et al., 2017; LIMA-GOMES et al., 2011). A aplicação da técnica de isótopos estáveis no estudo da dieta de caranguejos levanta questões sobre a importância nutricional dessas fontes de alimentos.

Este estudo tem como hipótese que os valores das assinaturas de isótopos estáveis dos organismos são relacionados às assinaturas isotópicas do mangue dominante em cada região e do sedimento superficial. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi caracterizar a dieta natural da espécie por meio da identificação dos itens alimentares no conteúdo estomacal e relacionar sua assimilação pela quantificação das frações de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ em tecido muscular, conteúdo estomacal, folhas e sedimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

Duas áreas de manguezais foram selecionadas, na costa Sudeste do Brasil com perfis semelhantes, mas com diferentes níveis de atividade e degradação: 1) Município de São Vicente, localizado no Estuário Santos-São Vicente ($23^{\circ}56'29.57''S$ e $46^{\circ}27'1.77''O$); e 2) Ilha do Cardoso ($25^{\circ}05'30.20''S$ e $48^{\circ}58'26.54''O$), que faz parte do Sistema Estuarino Lagunar Cananéia-Iguape (Figura 2.1).

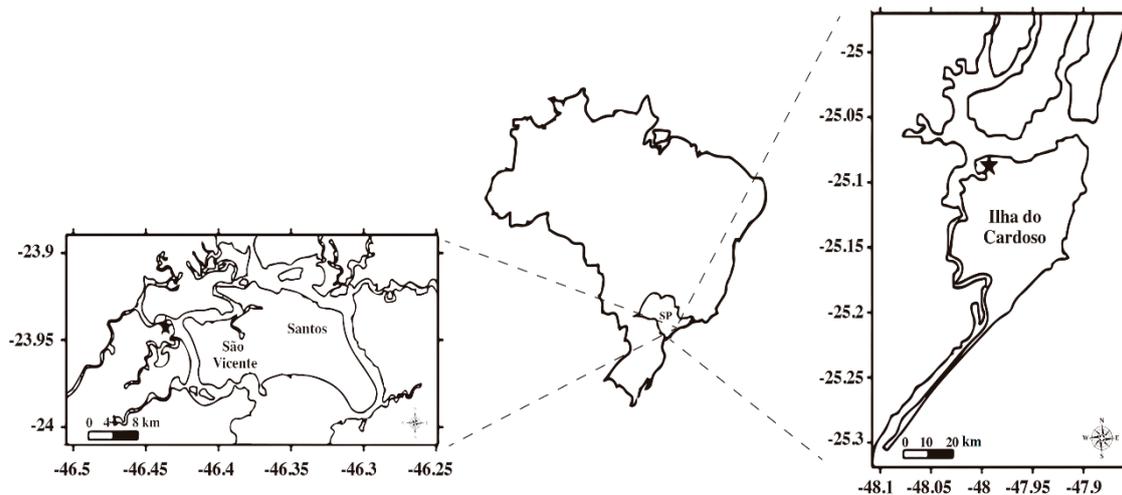


Figura 2.1 - Localização das duas áreas amostradas no litoral de São Paulo, Brasil, representando uma região mais urbanizada, localizada na porção central (Município de São Vicente) e a outra mais preservada, localizada na porção sul (Ilha do Cardoso).

O Sistema Estuarino Lagunar Cananéia-Iguape, localizado no extremo sul do litoral de São Paulo, consiste em um complexo de canais que circundam as ilhas do Cardoso, de Cananeia e Comprida e, desde 1999, é reconhecida como Patrimônio da Humanidade pela UNESCO (TESSLER et al., 1990; MAHIQUES et al., 2013). O Sistema Estuarino de Santos-São Vicente compreende uma área densamente urbanizada e de grande importância econômica, principalmente pela presença do Porto de Santos, o maior da América Latina, e do Complexo Industrial de Cubatão (HARARI; GORDON, 2001). Estima-se que a região perdeu cerca de 60% de suas florestas de mangue devido às atividades industriais. Segundo Cunha-Lignon et al. (2009), a expansão da área urbana, construção de estradas e expansões portuárias reduziram e fragmentaram extensas áreas de vegetação de mangue nesse sistema. A combinação dos métodos de isótopos estáveis e análise do conteúdo estomacal permite caracterizar as mudanças na dinâmica nos manguezais da região de Cananeia e Santos-São Vicente, exemplos particularmente interessantes, uma vez que demonstram diferentes comportamentos relacionados às respostas a diversos aspectos das mudanças ambientais (CONTI et al., 2016).

2.2 Amostragem e preparo

Foram selecionados 152 indivíduos adultos de *G. cruentata*, na fase de intermuda, sendo: 75 em São Vicente (30 fêmeas e 45 machos) e 77 na Ilha do Cardoso (37 fêmeas e 40 machos). Os exemplares foram coletados manualmente, de modo aleatório nas

diferentes estações do ano (inverno, primavera, verão e outono), durante os períodos de maré baixa entre agosto de 2016 e julho de 2017. Os indivíduos foram imediatamente sacrificados por hipotermia e transportados em caixas térmicas com gelo. As amostras de sedimento (10 cm de sedimento superficial) foram coletadas com auxílio de espátulas, em áreas não bioturbadas, e congeladas na sequência; em laboratório, foram secas em estufa à 60°C durante 48h e maceradas com auxílio de cadinho e pistilo, para posterior análise. Para a coleta das folhas foi considerada a espécie mais abundante na área amostrada: *Laguncularia racemosa* na Ilha do Cardoso, e *Avicennia schaueriana*, na região de São Vicente. As folhas foram retiradas manualmente contemplando três estágios de maturação: jovens, maduras (folhas do 3º ramo) e senescentes (amareladas). As amostras foram congeladas na sequência, seguida de liofilização por 48h e posterior homogeneização.

No laboratório, os caranguejos foram descongelados e lavados com água corrente e destilada para evitar contaminação. Os exemplares foram medidos (LC= largura cefalotorácica) e agrupados de acordo com o sexo e tamanho da LC. Os exemplares adultos foram selecionados segundo Lima-Gomes et al. (2011) que tem como critério a LC, sendo utilizados aqueles com LC igual e/ou superior a 33±5 mm. Após a biometria, amostras de músculos (apêndices) foram retiradas, lavadas com água destilada e congeladas. Posteriormente, foram liofilizadas por 48h e homogeneizadas em cadinhos de porcelana com auxílio de pistilo para análise de isótopos estáveis. Durante a dissecação, os estômagos foram retirados, o grau de repleção anotado e o conteúdo colocado individualmente em placas de Petri, para análise imediata em estereomicroscópio. Todos os itens alimentares foram registrados e divididos em categorias baseadas em estimativas visuais: sedimento fino (lamoso), sedimento grosso (arenoso), fragmento vegetal, fragmento calcáreo, outros (tecidos, fragmentos plásticos e fragmentos não identificados). Os estômagos vazios foram registrados. As amostras foram agrupadas de acordo com o sexo e local de amostragem, compondo um “pool”.

2.3 Procedimentos analíticos

2.3.1 Análise dos Isótopos Estáveis de C e N

A metodologia aplicada para determinação dos isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) nos tecidos, conteúdo estomacal, folhas e sedimentos foi

baseada no método de Hobson e Welch (1992), na qual as amostras são liofilizadas e maceradas. Após o término das etapas de preparo, as amostras foram pesadas (0,50 mg biota e 6 mg sedimento) e embaladas em cápsulas de estanho para análise, realizada em um espectrômetro de massa Elemental Analyser – Isotope Ratio Mass Spectrometer (EA – IRMS). A composição isotópica de cada amostra (δ) foi calculada em relação a um padrão internacional, e expressa em partes por mil (‰), de acordo com Peterson e Fry (1987):

$$\delta^{13}\text{C ou }^{15}\text{N} = [(R \text{ amostra}/R \text{ padrão}) - 1] \times 1000$$

Sendo: R amostra: razão isotópica determinada na amostra

R padrão: razão isotópica determinada no padrão de referência (gás CO₂ para $\delta^{13}\text{C}$ e N₂ para $\delta^{15}\text{N}$).

As porcentagens em massa de carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) foram obtidas através da relação entre as proporções do padrão e das áreas correspondentes dos picos obtidos do padrão e da amostra:

$$\% = (\% \text{ padrão} \times m \text{ padrão} / A \text{ padrão}) \times A \text{ amostra}$$

Sendo: m padrão: massa do padrão utilizada;

A padrão: área do pico do padrão;

A amostra: área do pico da amostra.

O padrão utilizado foi o Solo LECO (502 – 309 – LECO Corporation), para a quantificação das porcentagens, cujo teor de C é 13,77% e de N 0,81%.

2.3.2 Análise de dados

Para identificar a fonte de alimento consumida pelos caranguejos, os valores da assinatura isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em tecido muscular foram comparados com as assinaturas isotópicas dos principais itens alimentares vinculados à espécie (folhas e sedimento). Para melhor compreensão da relação entre tecidos e itens alimentares foi realizado um teste de regressão linear simples, comparando as amostras de músculo e

conteúdo estomacal com amostras de folhas (jovens, maduras e senescentes) e sedimento, para todos os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$. As análises estatísticas foram efetuadas com o uso do software *SigmaPlot*® 11.0 (nível de significância de 5%).

3. RESULTADOS

3.1 Análise de conteúdo estomacal

A maioria dos estômagos analisados apresentou algum conteúdo, sendo registrados apenas dois vazios na região da Ilha do Cardoso (verão) e 10 (um no outono e nove inverno) na região de São Vicente, em um total de 152 estômagos analisados. Para ambos os locais, o item de maior ocorrência foi sedimento, principalmente o de granulometria fina predominante, seguido por fragmentos vegetais. Fragmentos calcáreos, incluindo estruturas de organismos e grãos de quartzo foram encontrados em menor quantidade. Na categoria descrita como “outros” foram registrados ovos da mesma espécie; partes de organismos como brânquias, espinhas de peixe e fragmentos de carapaça; itens não identificados devido ao grau avançado de digestão e fragmentos plásticos, como fibras (Figura 2.2).

Na região da Ilha do Cardoso o período de maior grau de repleção dos estômagos foi a primavera, para ambos os sexos. Na região de São Vicente, houve a mesma tendência, embora no verão também foi possível notar uma maior ingestão de alimento nos machos; já no inverno houve menor ingestão, com a maior quantidade de indivíduos com estômagos vazios (n=9). A variedade de itens alimentares não diferiu entre as estações. No entanto, no outono, em ambas as regiões, foi encontrada uma maior quantidade de fragmentos vegetais com menor grau de decomposição, indicando que tenham sido recém ingeridos. Não houve diferença de itens alimentares entre machos e fêmeas (Figura 2.2).

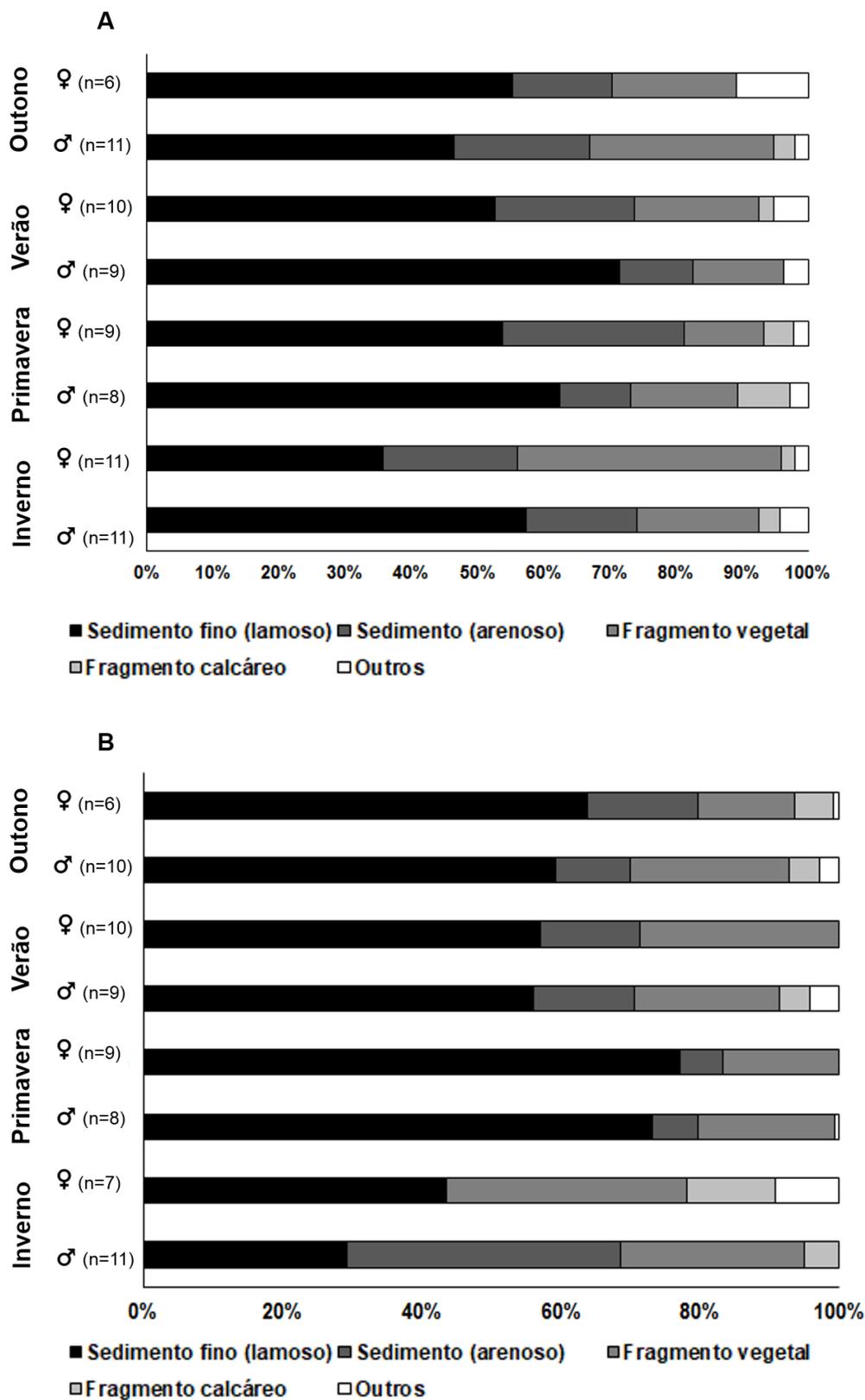
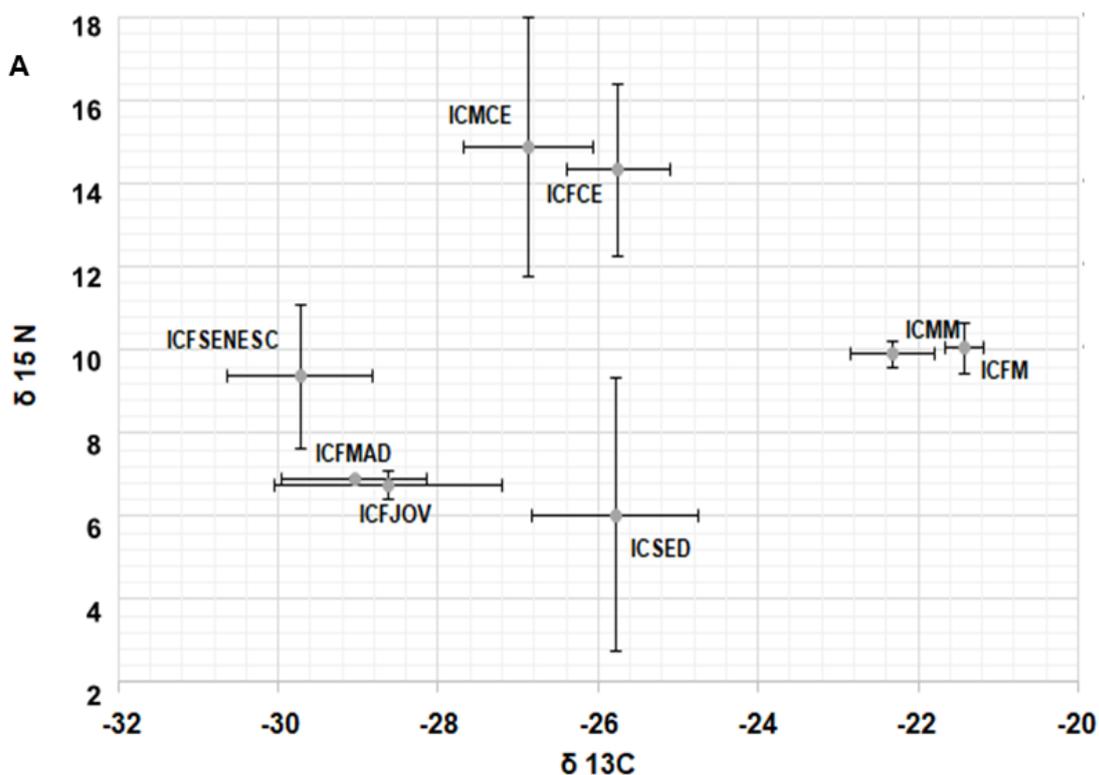


Figura 2.2 - Estimativa média (%) da composição da dieta em exemplares machos e fêmeas de *G. cruentata* coletados em duas regiões: A) Ilha do Cardoso e B) São Vicente, durante as quatro estações do ano (inverno, primavera, verão e outono).

3.2 Razões Isotópicas

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ foram menores no conteúdo ingerido em relação ao assimilado, já para valores de $\delta^{15}\text{N}$ ocorreu o inverso (Apêndice B), com exceção dos valores obtidos no inverno em São Vicente. Essas diferenças entre o tecido muscular e o conteúdo estomacal foram maiores nos indivíduos coletados na Ilha do Cardoso (Figura 2.3.A) em relação aos de São Vicente (Figura 2.3.B). As assinaturas de $\delta^{13}\text{C}$ no tecido muscular e conteúdo estomacal apresentaram valores similares em relação à região e ao sexo dos indivíduos, sendo esses valores $<2\text{‰}$ (Figura 2.3). No entanto, para $\delta^{15}\text{N}$ é possível notar diferenças entre os locais, sendo a região de São Vicente com variação até $<4\text{‰}$ e Ilha do Cardoso com variação até $>10\text{‰}$ entre o tecido muscular e o conteúdo estomacal, para ambos os sexos (Apêndice B). A análise de regressão linear indicou que não há forte correlação entre os resultados de isótopos no tecido e conteúdo estomacal com os principais itens alimentares, sedimento e folhas ($r^2 < 0,20$; $p > 0,05$), indicando que a espécie pode atuar em outro nível trófico, ou seja com presença de itens alimentares não discriminados.



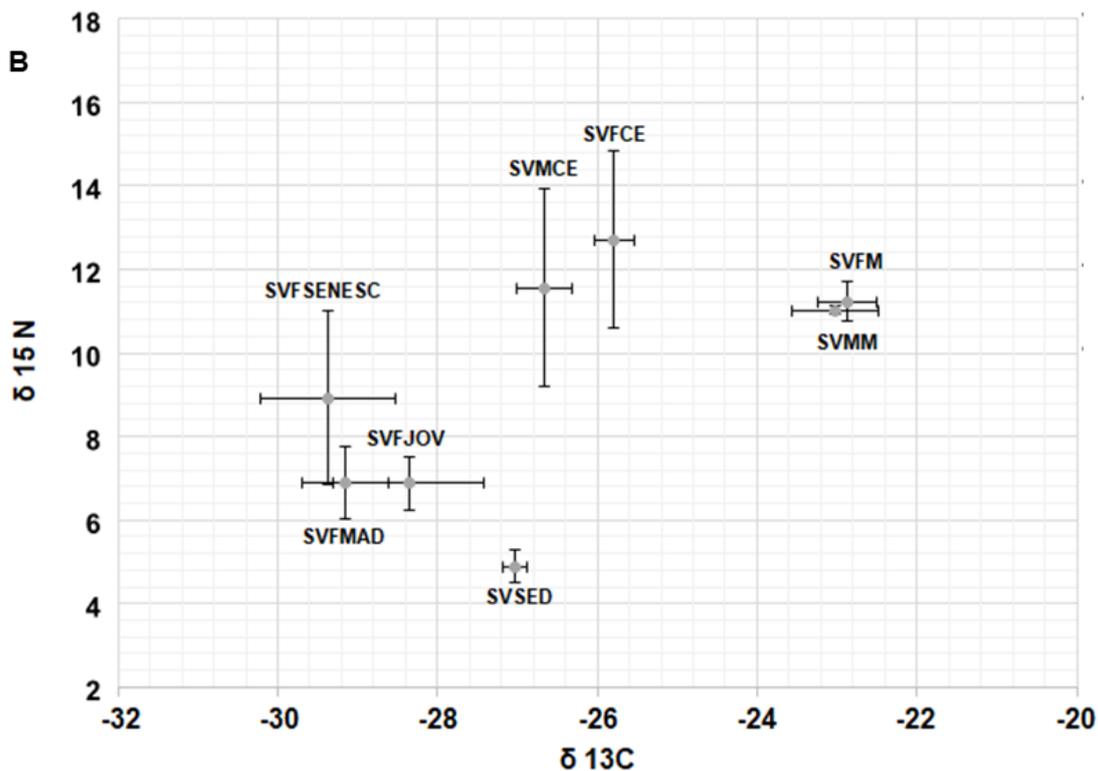


Figura 2.3 - Valores médios e desvio padrão ($n=4$) de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ (‰) da musculatura e do conteúdo estomacal da espécie *G. cruentata* e dos itens alimentares (folhas em diferentes estágios de maturação e sedimento) coletados em duas regiões: A) Ilha do Cardoso (IC) e B) São Vicente (SV), nas quatro estações do ano (inverno, primavera, verão e outono). Nota: MM=macho/músculo; MCE= macho/ conteúdo estomacal; FM= fêmea/ músculo; FCE= fêmea/ conteúdo estomacal; FJOV= folhas jovens; FMAD= folhas maduras; FSENESEC= folhas senescentes; SED= sedimento.

Nas folhas de mangue, nos diferentes estágios de maturação, os valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ tiveram pouca variação ($\sim 2\%$). Já para valores de $\delta^{15}\text{N}$ as maiores variações ocorreram nas folhas senescentes, em ambos os locais (Figura 2.3, Tabela 2.1). Os valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ para sedimento foram $-25,79 \pm 1,04\%$ e $-27,03 \pm 0,16\%$ para Ilha do Cardoso e São Vicente, respectivamente, enquanto os de $\delta^{15}\text{N}$ foram $6,04 \pm 3,30\%$ e $4,89 \pm 0,40\%$, respectivamente (Figura 2.3, Tabela 2.2). A relação C/N das folhas jovens apresentaram os menores valores: $29,66 \pm 2,52$ (*Laguncularia racemosa*) e $17,99 \pm 6,00$ (*Avicennia schaueriana*), em comparação com os demais estágios (Tabela 2.1)

Tabela 2.1 - Médias (\pm desvio padrão; n=4) de valores do Carbono Orgânico Total (COT) %, Nitrogênio Total (NT) %, razão C/N e das razões isotópicas de C e N (‰) em amostras de folhas em diferentes estágios de maturação (jovens, maduras e senescentes) de *Laguncularia racemosa* na Ilha do Cardoso (IC) e de *Avicennia schaueriana* em São Vicente (SV), nos quatro períodos de coleta (inverno, primavera, verão e outono).

Local	Estação	Estágio Foliar	% COT	$\delta^{13}\text{C}$	% NT	$\delta^{15}\text{N}$	C/N
IC	Inverno	Jovem	41,05	-27,40	1,35	6,29	30,49
	Primavera		46,70	-27,54	1,48	7,04	31,55
	Verão		47,46	-29,16	1,87	6,65	25,35
	Outono		43,43	-30,39	1,39	6,94	31,24
	m\pm dp		44,66\pm 2,98	-28,62\pm 1,42	1,52\pm 0,24	6,73\pm 0,34	29,66\pm 2,52
	Inverno	Madura	43,36	-28,23	1,26	6,92	34,48
	Primavera		39,63	-28,48	1,05	6,92	37,89
	Verão		45,94	-29,21	1,34	6,84	34,28
	Outono		43,43	-30,27	1,26	6,94	34,45
	m\pm dp		43,09\pm 2,60	-29,05\pm 0,91	1,23\pm 0,13	6,91\pm 0,05	35,28\pm 1,51
	Inverno	Senescente	39,83	-28,44	0,92	7,33	43,40
	Primavera		42,23	-29,77	0,61	9,71	68,80
	Verão		44,19	-30,17	0,48	11,48	92,38
	Outono		43,17	-30,52	0,72	8,94	59,59
	m\pm dp		42,35\pm 1,86	-29,72\pm 0,91	0,53\pm 0,40	9,37\pm 1,72	66,04\pm 17,72
	SV	Inverno	Jovem	47,00	-28,49	1,66	7,08
Primavera		45,95		-28,50	3,53	7,50	13,03
Verão		44,55		-29,37	2,83	6,00	15,72
Outono		33,85		-27,09	2,26	6,95	14,97
m\pm dp		42,84\pm 6,07		-28,36\pm 0,95	2,57\pm 0,80	6,89\pm 0,63	17,99\pm 6,00
Inverno		madura	45,12	-28,43	1,97	6,14	22,87
Primavera			43,28	-29,14	1,63	6,59	26,57
Verão			41,70	-29,73	2,46	6,69	16,95
Outono			38,20	-29,32	1,61	8,13	23,72
m\pm dp			42,08\pm 2,94	-29,15\pm 0,54	1,92\pm 0,40	6,88\pm 0,86	22,53\pm 3,50
Inverno		senescente	43,57	-29,03	1,56	6,03	27,93
Primavera			44,75	-30,59	1,29	8,97	34,70
Verão			40,92	-29,21	0,73	10,80	55,78
Outono			36,96	-28,65	0,82	9,90	45,07
m\pm dp			41,55\pm 3,46	-29,37\pm 0,85	1,10\pm 0,39	8,93\pm 2,07	40,87\pm 10,55

Nota: m \pm dp = média \pm desvio padrão.

Tabela 2.2 - Valores de Carbono Orgânico Total (COT) %, Nitrogênio Total (NT) %, C/N e das razões isotópicas de C e N (‰) em amostras de sedimento superficial para ambas as regiões (Ilha do Cardoso= IC e São Vicente= SV), durante os quatro períodos de coleta (inverno, primavera, verão e outono).

Local	Estação	%COT	$\delta^{13}\text{C}$	%NT	$\delta^{15}\text{N}$	C/N
IC	Inverno	2,33	-24,87	0,28	11,03	8,22
	Primavera	6,25	-27,47	0,40	2,00	15,52
	Verão	3,15	-24,96	0,27	6,50	11,75
	Outono	3,93	-25,86	0,32	4,62	12,21
SV	Inverno	5,07	-26,79	0,32	5,08	15,60
	Primavera	5,67	-26,99	0,30	5,22	18,87
	Verão	4,97	-27,17	0,27	5,06	18,36
	Outono	6,95	-27,17	0,37	4,21	18,63

4. DISCUSSÃO

Os resultados da análise do conteúdo estomacal de *G. cruentata* corroboram estudos anteriores que apontam a espécie como generalista, alimentando-se desde folhas de mangue, outros crustáceos, inclusive da própria espécie, e matéria orgânica do sedimento (BOTELHO et al., 2004; LIMA-GOMES et al., 2011). Esta espécie pode processar e consumir grandes quantidades de folhas em decomposição, atuando como consumidora primária (LEE, 1998) e sedimento, atuando como um organismo detritívoro (LIMA-GOMES et al., 2011). A predominância de sedimento em sua dieta está relacionada ao seu papel de mediadora na transferência da produção primária de ambientes de mangue para outros níveis tróficos (LEE, 1998; NORDHAUS et al., 2006; BUI; LEE, 2014). Alguns estudos sugerem que a ingestão de sedimento pode fornecer recursos na produção do exoesqueleto durante o período de muda (WILLIAMS, 1981; CHOY, 1986).

A dieta de caranguejos pode variar em função da época do ano e do local (BOEHM et al., 2016; DIVINE et al., 2017). Esta hipótese é apoiada pela diminuição observada na quantidade de alimento nos estômagos de *G. cruentata* no inverno, época que antecede o período de muda, conforme relatado por Cobo e Fransozo (2005) para a mesma espécie. Já o aumento observado na primavera e verão coincide com o período de maior atividade metabólica da espécie (SANTOS et al., 2001) e com parte do período reprodutivo que ocorre de outubro a maio (COBO; FRANSOZO, 2003). No entanto, não há diferenças nos itens alimentares encontrados entre as estações e locais, como já observado em outros grapsídeos (MIA et al., 2001).

Os dados de conteúdo estomacal indicam uma dieta similar entre machos e fêmeas, tendência já descrita em outros estudos com caranguejos cuja morfologia e tamanho são semelhantes entre os sexos (NORDHAUS; WOLF, 2007; VISWANATHAN; RAFFI, 2015; DIVINE et al., 2017). Existem indícios de que fêmeas tenham tendência a aumentar a taxa de consumo dos recursos alimentares em função de necessidades nutricionais específicas associadas à reprodução (FRAGOSO, 2013). As pequenas variações observadas nos valores das assinaturas isotópicas entre os sexos podem ser explicadas pela existência de um intervalo de variação natural descrito por DeNiro e Epstein (1978), que considera tais diferenças como sendo de menor importância biológica.

A aplicação da técnica de isótopos estáveis em estudos de dietas de caranguejo tem levantado questões importantes sobre o valor nutricional de alguns itens alimentares consumidos, além de permitir fazer inferências sobre a composição da dieta assimilada do organismo (MAZUMDER; SAINTILAN, 2010; PHILLIPS et al., 2014). Este estudo teve como pressuposto que as assinaturas isotópicas nos tecidos e conteúdo estomacal dos caranguejos se relacionam às assinaturas da espécie de mangue dominante e do sedimento de cada local de coleta. Porém, os resultados da análise de regressão linear indicaram que não houve correlação entre as amostras.

Apesar das taxas de assimilação serem baixas para as folhas de mangue em comparação com outras fontes alimentares (LEE, 1998), tal recurso foi citado como principal fonte primária da dieta de caranguejos grapsídeos em diversos trabalhos (SKOV; HARTNOLL, 2002; MAZUMDER; SAINTILAN, 2010; NORDHAUS et al., 2011; HERBON; NORDHAUS, 2013; BUI; LEE, 2014; CLAUDINO et al., 2015). Outras fontes de alimentos como sedimento, serrapilheira, pequenos crustáceos e microfítobentos tem sido apontadas como importantes contribuintes para a dieta de caranguejos (LIMA-GOMES et al., 2001; BOUILLON et al., 2002; MAZUMDER; SAINTILAN, 2010; BUI; LEE, 2014).

As assinaturas isotópicas de carbono no tecido muscular de *G. cruentata* foram enriquecidas em comparação ao conteúdo estomacal, já para as assinaturas isotópicas de nitrogênio ocorreu o inverso. De maneira geral, as amostras de tecido muscular e conteúdo estomacal foram mais enriquecidas em relação aos recursos alimentares, demonstrando que a existência do consumo desses não se relaciona necessariamente com sua assimilação. A ingestão e não assimilação do alimento pode indicar que o organismo tenha passado por um período de inanição (HOBSON et al., 1993; OLIVE et al., 2003;

OELBERMANN et al., 2002), o que causa um aumento da relação $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ devido a metabolização das suas próprias proteínas e excreção de ^{14}N (GANNES et al., 1997).

O enriquecimento dos isótopos nos tecidos em relação aos itens da dieta reflete o equilíbrio dinâmico entre a taxa de alimentação e processos de assimilação e excreção (OLIVE et al., 2003). De acordo com DeNiro e Epstein (1978) os organismos apresentam maior quantidade dos isótopos pesados ^{15}N ou ^{13}C em relação aos seus alimentos, isso ocorre, pois os produtos que serão excretados contém maior quantidade dos isótopos leves ^{12}C ou ^{14}N , em relação ao assimilado (DENIRO; EPSTEIN, 1978; MINAGAWA; WADA, 1984) e, à medida que são transportados, o tecido torna-se mais enriquecido.

A fração isotópica pesada é acumulada no tecido muscular, que representa o armazenamento a longo prazo, como por exemplo em crustáceos, o qual faz referência a dieta de 6 ou 8 semanas (GOROKHOVA; HANSSON, 1999). Bodin et al. (2007) e Herbon e Nordhaus (2013) relataram valores maiores de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ no músculo em comparação a outros tecidos em diversas espécies de caranguejos. Estudos anteriores mostraram que tecidos com baixo teor de lipídios, como o músculo, apresentam valores mais altos de $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ devido às altas taxas de renovação desses tecidos (MCCUTCHAN et al., 2003; CABANELLAS-REBOREDO et al., 2009). Neste estudo, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ para as amostras de *G. cruentata*, seguiram esse padrão, já os maiores valores de $\delta^{15}\text{N}$ foram registrados no conteúdo estomacal em comparação com o tecido muscular, isso se deve a uma dieta rica em N, porém com pouca assimilação (HERBON; NORDHAUS, 2013). Tal fato corrobora o hábito alimentar da espécie, que consiste na maceração da serrapilheira que acelera o processo de decomposição e aumenta o enriquecimento de N local, via depósito de fezes (LEE, 1997; SKOV; HARTNOLL, 2002). A presença de fontes de esgoto e outras atividades antropogênicas próximas ao local também aumentam as concentrações de N (SOUZA et al., 2018; PEREIRA et al., 2019). Em ambos os locais, os valores das razões isotópicas do conteúdo estomacal e do músculo não foram semelhantes, fato que refuta a ideia da ingestão contínua dos mesmos itens consumidos, anteriormente apresentada por Herbon e Nordhaus (2013,) que resultaria em valores semelhantes tanto no item consumido (conteúdo estomacal) quanto no local de assimilação (músculo).

Os resultados de C no conteúdo estomacal em ambos os locais corroboram com o observado por Bouillon et al. (2002), que relataram valores de C para caranguejos sesarmídeos mais semelhantes aos valores de sedimento em relação às folhas, sugerindo que este pode ter maior importância nutricional na dieta de caranguejos, sendo uma

possível fonte de carbono. Da mesma forma, outros autores observaram a ingestão de sedimento como fonte de nutrientes para caranguejos (KRISTENSEN et al., 2017; PEREIRA et al., 2019). O sedimento também pode ser uma fonte mais rica de nitrogênio, como indicado nas relações C/N (Tabela 2.2). Além de constituir um item ingerido regularmente (SKOV; HARTNOLL, 2002), cujos valores foram até três vezes menores quando comparados às folhas das espécies analisadas (Tabela 2.1).

Valores de COT e C/N também têm potencial para fornecer informações sobre a origem da matéria orgânica no sedimento de ambientes costeiros, sendo valores C/N >8 de fonte marinha (LAMB et al., 2006). A análise desses dados em conjunto permite inferir sobre as contribuições de matéria orgânica de outras fontes como bactérias e algas, sendo a ação bacteriana responsável pelo aumento de nitrogênio no sedimento e consequente diminuição da razão C/N (RICE; HANSON, 1984). Os maiores teores de COT e das relações C/N devem estar relacionadas às altas proporções de serrapilheira na região, sendo a entrada de C no solo resultante da decomposição do mangue (THIMDEE et al., 2001; GIARRIZZO et al., 2011; ALONGI, 2014). Os resultados indicaram a influência de outras fontes orgânicas apenas no período de inverno na Ilha do Cardoso, quando foi registrado o maior valor de $\delta^{15}\text{N}$ (11,03‰) e a menor taxa C/N (8,22). Tal fato pode ser resultado das diferentes fontes de carbono orgânico e/ou da eficiência da mistura de sedimentos no local (GRAHAM et al., 2001).

A análise de isótopos estáveis das folhas, tecidos e conteúdo estomacal, aparentemente, não esclarecem os dados que apoiam a contribuição de carbono e nitrogênio na dieta dos grapsídeos. Outros estudos também colocaram em questão a importância das folhas de mangue como fonte de nutrição e possível fonte de N (IMGRABEN; DITTMANN, 2008; SAINTILAN et al., 2000; MAZUMDER; SAINTILAN, 2010; HERBON; NORDHAUS, 2013; BUI; LEE, 2014; NATÁLIO, 2016). Embora grapsídeos sejam consumidores oportunistas, muitos possuem hábito herbívoro e podem consumir grande quantidade de detritos e folhas de mangue (LEE, 1998), o que pode ser considerado inusitado, uma vez que as folhas de mangues possuem alto teor de taninos e relações C/N que excedem 17, limite considerado como o máximo para melhor nutrição animal (SKOV; HARTNOLL, 2002). Apesar da espécie não ser um organismo que vive em tocas, para melhoramento da palatabilidade, autores indicam a existência da “hipótese do envelhecimento das folhas”, através da qual, com auxílio das quelas, os caranguejos arrumam as paredes das tocas de modo que ocorra a lixiviação de taninos e aumento no conteúdo de N durante a decomposição por atividade microbiana

(GIDDINS et al., 1986; NEILSON et al., 1986; WAFAR et al., 1997; WERRY; LEE, 2005). Uma maneira de analisar o valor o nutricional das folhas é a relação C/N, pois valores mais baixos indicam maiores quantidades de nitrogênio em relação ao carbono e, conseqüentemente, melhor para os consumidores (ASHTON et al., 1999). Houve um aumento gradativo da taxa C/N das folhas jovens às senescentes, fato que não corrobora com Skov e Hartnoll (2002), os quais não encontraram diferença entre as relações C/N de folhas “envelhecidas” e folhas frescas. Embora folhas de mangue sejam consideradas de baixo valor nutricional (BUI; LEE, 2014), as folhas senescentes parecem ser uma possível fonte de N, em ambas as regiões, além do mais, o fato dos caranguejos escolherem um determinado estágio de decomposição em detrimento de outro não significa necessariamente que eles consigam assimilá-las (SKOV; HARTNOLL, 2002).

Capítulo III

Avaliação dos níveis de mercúrio total em *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) em duas áreas de manguezais (São Paulo, Brazil)

RESUMO

Nos manguezais brasileiros, o gênero *Goniopsis* é o mais comum da família *Grapsidae*, sendo a espécie *Goniopsis cruentata* a mais abundante. Ela desempenha um importante papel na teia alimentar desse ecossistema, pois participa da ciclagem de nutrientes e de outros elementos, incluindo mercúrio (Hg) e matéria orgânica. Os manguezais estão localizados em regiões de intensa atividade antrópica, atuando como receptores e retentores de contaminantes, como o Hg. Este estudo tem como objetivo avaliar os níveis de Hg em diferentes tecidos (músculo, brânquias e hepatopâncreas) e no conteúdo estomacal de *G. cruentata*, além das folhas de duas espécies de mangue em diferentes estágios foliares (jovem, madura e senescente), além de avaliar a adequação da espécie para consumo. As amostras foram coletadas em dois manguezais do estado de São Paulo, com diferentes níveis de contaminação, nas quatro estações do ano. A quantificação do Hg foi realizada por meio da técnica de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES), associada ao VGA (Geração de Vapor Frio). Os resultados indicaram uma maior concentração no tecido muscular (máx 0,232 mg.kg⁻¹ e mín 0,026 mg.kg⁻¹) da região considerada mais impactada e nas brânquias (máx 0,087 mg.kg⁻¹ e mín 0,027 mg.kg⁻¹) e conteúdo estomacal (máx 0,046 mg.kg⁻¹ e mín 0,023 mg.kg⁻¹) da região menos impactada. As maiores concentrações em folhas foram observadas na região mais impactada, principalmente no estágio senescente, considerado um importante item alimentar da espécie. Os organismos de áreas impactadas tendem a acumular mais Hg em relação aos de áreas não impactadas, devido à uma maior emissão desse elemento na região. No entanto, todos os valores possíveis de quantificação estiveram dentro daqueles considerados adequados para consumo humano. A presença de atividades antropogênicas pode afetar diretamente os níveis de Hg nos organismos, porém é necessário levar em consideração as concentrações encontradas em áreas remotas que podem ser afetadas pelo transporte e deposição atmosférica desse contaminante.

Palavras-chaves: Crustáceos. Contaminantes inorgânicos. Mercúrio total. Manguezal.

1. INTRODUÇÃO

Organismos invertebrados que vivem em ambientes aquáticos tendem a acumular diferentes quantidades de metais em seus tecidos, sejam esses essenciais ou não (RAINBOW, 2002; EISLER, 2010). Há diversos fatores que influenciam a acumulação desses contaminantes em crustáceos, independente da presença de fontes antropogênicas (RAINBOW, 1998; MARSDEN; RAINBOW, 2004). Condições biológicas como tamanho do corpo, sexo ou maturidade do indivíduo afetam os processos fisiológicos que envolvem a acumulação e eliminação de metais (MARSDEN; RAINBOW, 2004). Além das mudanças físico-químicas no ambiente que afetam sua biodisponibilidade e toxicidade (RAINBOW; BLACK, 2002).

Caranguejos são membros característicos do ecossistema manguezal e estão presentes em uma grande variedade de nichos. A espécie *Goniopsis cruentata*, comum em toda a costa brasileira, desempenha um papel fundamental na teia alimentar desse ambiente por apresentar um hábito onívoro, atuando em mais de um nível trófico, além de participar ativamente do processo de ciclagem de diversos elementos, incluindo o Hg e a matéria orgânica (LEE, 1998; BOTELHO et al., 2004; NORDHAUS et al., 2006). O histórico de vida e o comportamento dos caranguejos os colocam em contato com contaminantes metálicos no ambiente através da coluna de água, sedimento e itens alimentares, que podem afetar a fisiologia desses organismos (AHEARN et al., 2000; TAYLOR; CALABRESE, 2018).

Estudos com a espécie *Callinectes sapidus* em habitats contaminados e não contaminados com metais, concluíram que habitats contaminados reduzem a capacidade do organismo em capturar presas ativas (REICHMUTH et al., 2009). Quanto à contaminação por Hg, foi observada a redução na sobrevivência dos estágios iniciais de vida e inibição na eclosão das larvas (ENGEL; THAYER, 1998). Chen et al. (2005) investigaram as relações entre metais no tecido muscular e o tamanho dos indivíduos da espécie *Thalamita crenata* e verificaram que os caranguejos adultos são capazes de ajustar fisiologicamente a concentração dos contaminantes, mantendo-a constante. Já para a espécie *Ucides cordatus* foi registrada má formação nas estruturas locomotoras em alguns indivíduos, provavelmente causada por estresse ambiental, devido a altos níveis de contaminação por metais (PINHEIRO; TOLEDO, 2010).

Os diferentes tipos de tecidos analisados oferecem resultados relativos à contaminação por Hg que podem ser aplicados a múltiplos parâmetros, incluindo aspectos

de saúde e consumo humano, desenvolvimento e sucesso da espécie, bem como sua dinâmica nos ecossistemas costeiros (TAYLOR; CALABRESE, 2018). A espécie *G. cruentata* é um recurso pesqueiro para as comunidades tradicionais no litoral brasileiro do Nordeste (SANTOS et al., 2001; SANTOS; BOTELHO, 2002; MOURA; COELHO, 2004; PINHEIRO et al., 2016). Ainda que não haja registros formais que a espécie seja explorada economicamente na costa Sudeste brasileira é esperado que, devido à crescente exploração das populações de outras espécies de caranguejos na região e seu consequente declínio, a espécie seria uma alternativa a ser explorada (BOTELHO et al., 2004). Dessa forma, a ingestão de Hg ou outros contaminantes por meio do consumo da espécie pode ser um risco em relação à saúde humana e, até mesmo, em relação ao ecossistema.

A costa brasileira abriga cerca de 42% da população, aumentando consideravelmente a pressão sobre essa região e, conseqüentemente, sobre os manguezais e ecossistemas adjacentes (IBGE, 2010). A degradação contínua dessas áreas na região Sudeste do país, impulsionada pelo desenvolvimento costeiro, urbanização e eliminação inadequada de resíduos sólidos, acarreta a descaracterização desse ambiente, prejudicando as espécies que ali habitam (FERREIRA et al., 2016). O Brasil é considerado o 7º país com os maiores índices de emissão de Hg para atmosfera (UNEP, 2013). Atividades antropogênicas como queima de combustíveis fósseis, mineração, incineração de esgoto, descarte incorreto de alguns materiais (baterias, lâmpadas fluorescentes, termômetros, termostatos, amálgamas dentárias) e substâncias (tintas e pesticidas) liberam Hg para o meio ambiente, causando o aumento de seus níveis (JACKSON, 1997; SCHROEDER; MUNTHE, 1998).

A Convenção de Minamata em relação ao Hg foi assinada e ratificada por mais de 120 nações e tem como principal objetivo “proteger a saúde humana e o meio ambiente das emissões antropogênicas e liberações de mercúrio e compostos de mercúrio” (UNEP, 2014). Um dos principais desafios para os pesquisadores é desenvolver ligações entre o contaminante na atmosfera, sua deposição e a contaminação do ecossistema (PIRRONE et al., 2013). O Hg é um elemento não essencial e potencialmente tóxico, ou seja, sem função bioquímica para os organismos. Seu ciclo atmosférico é controlado por emissões antrópicas e naturais da forma gasosa do elemento para a atmosfera. Em escala global, no período de 2015, a emissão média de Hg total para a atmosfera proveniente de fontes antrópicas foi de 2220 toneladas, o que representa cerca de 30% do emitido anualmente (UNEP, 2018). Já 60% são provenientes de reemissões do Hg, resultantes de processos que envolvem a reciclagem de produtos antropogênicos previamente depositados em

solos superficiais e oceanos, sendo a deposição atmosférica uma das principais rotas aos ecossistemas aquáticos. Os demais 10% são derivados de fontes naturais geológicas, como vulcões (USEPA, 1997; UNEP, 2013; 2018; LE et al., 2017). As emissões para os ambientes aquáticos, para o mesmo período (2015), atingiram cerca de 580 toneladas, sendo as principais fontes: tratamento de resíduos (43%), mineração (40%) e fonte de energia (17%) (UNEP, 2018).

A contaminação por Hg é detectada quando há o aumento do uso por parte das indústrias (AZEVEDO et al., 2011). Nesse contexto, a região do Estuário de Santos-São Vicente fica em evidência devido à proximidade do Complexo Industrial de Cubatão, onde estão localizadas diversas instalações industriais como petroquímicas, metalúrgicas e siderúrgicas (ABESSA et al., 2005; USIMINAS, 2011; BURUAEM et al., 2012). A existência de lançamentos antigos e/ou ilegais causam impacto na retenção dos contaminantes, especialmente nas partículas finas do sedimento, comuns em áreas de manguezal (CETESB, 2001; 2005; HORTELLANI et al., 2005). No entanto, mesmo em baixas concentrações, é possível observar a presença do Hg em organismos marinhos, fato que tem causado preocupação visto que é um elemento que tende à biomagnificação, podendo ser absorvido por predadores de topo, incluindo humanos (FRAGOSO, 2013; ADAMS et al., 2014; LE et al., 2017; TAYLOR; CALABRESE, 2018; TREVIZANI, 2018).

Este estudo teve como objetivo principal quantificar a concentração de mercúrio total nos indivíduos da espécie *G. cruentata* e nas folhas da espécie de mangue mais abundante, em duas áreas de manguezal com níveis distintos de contaminação no litoral do estado de São Paulo, Brasil. Foram investigadas as diferenças nos níveis de Hg no músculo (quelípedes e apêndices locomotores), nas brânquias (anterior e posterior), no hepatopâncreas (lobos anteriores, intermediários e posteriores) e no conteúdo estomacal em relação ao sexo, local e período de coleta (estação do ano). O risco de consumo da espécie em relação às concentrações de mercúrio também foi avaliado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

Para analisar a diferença nos níveis de Hg total foram selecionadas duas áreas de manguezais com diferentes níveis de contaminação localizadas na porção central e sul do litoral de São Paulo: 1) Município de São Vicente, localizado no Estuário Santos-São

Vicente ($23^{\circ}56'29.57''\text{S}$ e $46^{\circ}27'1.77''\text{O}$) e 2) Ilha do Cardoso ($25^{\circ}05'30.20''\text{S}$ e $48^{\circ}58'26.54''\text{O}$), que faz parte do Sistema Estuarino Lagunar Cananéia-Iguape (Figura 3.1).

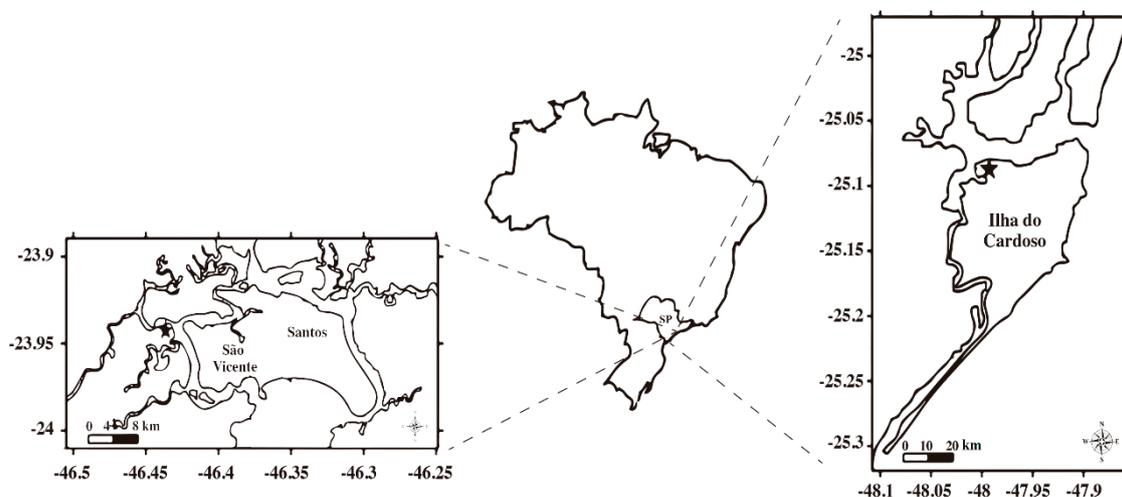


Figura 3.1 - Localização das duas áreas amostradas no litoral de São Paulo, Brasil, representando uma região mais urbanizada, localizada na porção central (Município de São Vicente) e a outra mais preservada, localizada na porção sul (Ilha do Cardoso).

O Brasil representa a terceira maior área de manguezal no mundo com um total de 9.600 km^2 , sendo a Região Sudeste contemplada com cerca de 30% de extensão dos manguezais brasileiros (GIRI et al., 2011; FERREIRA et al., 2016). No litoral do estado de São Paulo as regiões com maior ocorrência de manguezais são a Baixada Santista e o Sistema Costeiro Cananéia-Iguape, considerado o mais preservado (CUNHA-LIGNON et al., 2009). No entanto, a contaminação gerada em outras regiões pode ser transportada para áreas mais protegidas (CRUZ et al., 2019).

O Sistema Costeiro Lagunar Cananeia-Iguape é um dos maiores complexos estuarinos do Brasil e foi a primeira Reserva da Biosfera brasileira reconhecida pela UNESCO, além do título de patrimônio da humanidade (UNESCO, 1999). A região de Cananeia, a qual pertence a Ilha do Cardoso, inclui áreas de manguezais preservados e com ótima qualidade ambiental (DUARTE et al., 2017). Ao longo dos anos, a região de Cananeia tem sido uma área de referência em estudos de biomonitoramento, principalmente pelos baixos níveis de contaminantes encontrados (BRAGA et al., 2000; AZEVEDO et al., 2009a). No entanto, o transporte e a deposição de Hg observados em locais prístinos têm elevado a preocupação em relação à sua emissão atmosférica por resíduos industriais nestas regiões (WIEDINMYER et al., 2014; LE et al., 2017).

Localizado no Complexo Estuarino Santos-São Vicente, o Município de São Vicente é uma região com intenso crescimento econômico, principalmente relacionado à exploração de óleo e gás na Bacia de Santos e à expansão das atividades portuárias (MELLO et al, 2013). Devido à proximidade com o Complexo Industrial de Cubatão, é uma área com um longo histórico de impacto humano, incluindo registros de contaminação por Hg, que tem como fonte fábricas de papel, fertilizantes, indústrias química, petroquímicas e siderúrgicas, além do descarte de resíduos domésticos e sedimentos contaminados (ABESSA et al., 2005; BURUAEM et al., 2012).

2.2 Amostragem e preparo

Foram selecionados 152 indivíduos adultos de *G. cruentata*, na fase de intermuda, sendo: 75 em São Vicente (30 fêmeas e 45 machos) e 77 na Ilha do Cardoso (37 fêmeas e 40 machos). Os exemplares foram coletados manualmente, de modo aleatório nas diferentes estações do ano (inverno, primavera, verão e outono), durante os períodos de maré baixa no intervalo de agosto de 2016 a julho de 2017. Os indivíduos foram imediatamente sacrificados por hipotermia e transportados em caixas térmicas com gelo. Para a coleta das folhas foi considerada a espécie mais abundante na área amostrada: *Laguncularia racemosa* na Ilha do Cardoso, e *Avicennia schaueriana*, na região de São Vicente. As folhas foram retiradas manualmente contemplando três estágios de maturação: jovens, maduras (folhas do 3º ramo) e senescentes (amareladas). As amostras foram congeladas na sequência, seguida de liofilização por 48h e homogeneização.

No laboratório, os exemplares foram medidos (LC= largura cefalotorácica) e agrupados de acordo com o sexo e tamanho da LC. Indivíduos adultos foram selecionados segundo Lima-Gomes et al. (2011), que tem como critério a largura cefalotorácica, sendo utilizados aqueles com LC igual e/ou superior a 33 ± 5 mm. Após a biometria, os exemplares foram lavados para retirada total da lama, de maneira a evitar contaminação, dissecados cuidadosamente para coleta das brânquias (anterior e posterior), do hepatopâncreas (lobos anteriores, intermediários e posteriores) e do tecido muscular (apêndices). Durante a dissecação, os estômagos foram retirados e, o conteúdo colocado individualmente em placas de Petri, para análise imediata com auxílio de estereoscópio. As amostras foram agrupadas de acordo com o sexo e local de amostragem, compondo um “pool”. Cada amostra foi lavada com água destilada e seca em filtro de papel, na

sequência foram congeladas, liofilizadas por 48h e depois homogeneizadas em cadinhos de porcelana com auxílio de pistilo.

2.3 Procedimentos analíticos

Para quantificação do Hg total foi utilizada a metodologia de digestão adaptada 7471B (USEPA, 2007). Neste método, 0,60 g de cada amostra seca foi digerida com 1,7 mL de água deionizada aos tubos e a mesma quantidade de água régia (HCl 3:1 HNO₃). Na sequência, os analitos foram aquecidos em banho d'água (90°C) por um período de 2 minutos. Após o resfriamento das amostras foi adicionado 4,9 mL de permanganato de potássio (KMnO₄) e 16,4 mL de água deionizada. Posteriormente, a solução foi, novamente, em banho d'água (90°C) por um período de 30 minutos. Por fim, após resfriamento foi adicionado 2,0 mL de cloridrato de hidroxilamina (HONH₂·HCl). A solução final foi diluída para 40 mL com água deionizada e os frascos homogeneizados por agitação.

A quantificação da concentração do Hg foi realizada por meio da técnica de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES, Equipamento Varian, modelo 710ES), que se baseia na emissão espontânea de fótons a partir de átomos e íons excitados por uma descarga de radiofrequência. Para a análise de Hg, a técnica de ICP-OES foi associada ao VGA (Geração de Vapor Frio), a fim de aumentar os limites de detecção do equipamento. Para o controle de qualidade dos dados gerados, foi realizado paralelamente a análise (n=3) do material de referência certificado DORM – 2 (*Fish protein CRM certified for trace metals - National Research Council Canada*), que mostrou uma recuperação média de 93%. Além disso, o limite de detecção do método (LDM), que representa a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, foi calculado para o elemento de interesse, sendo o resultado: 0,02 mg kg⁻¹.

3. RESULTADOS

As concentrações de Hg total no tecido muscular dos indivíduos da Ilha do Cardoso se apresentaram abaixo do limite de detecção do método (<LDM). Maiores valores foram encontrados nas brânquias (máx-mín: 0,087 mg.kg⁻¹ e 0,027 mg.kg⁻¹, respectivamente) e no conteúdo estomacal (máx-mín: 0,046 mg.kg⁻¹ e 0,023 mg.kg⁻¹, respectivamente), relevantes vias de entrada desse contaminante (Figura 3.2.A). Na

região de São Vicente os valores foram maiores no tecido muscular (máx-mín: 0,232 mg.kg⁻¹ e 0,026 mg.kg⁻¹, respectivamente) em relação aos demais tecidos e ao conteúdo estomacal (Figura 3.2.B).

A concentração de Hg foi similar entre machos e fêmeas em cada uma das regiões. No entanto, as fêmeas da Ilha do Cardoso apresentaram valores maiores nas brânquias em relação aos machos e, em São Vicente, ocorreu o oposto. As amostras de conteúdo estomacal também apresentaram valores expressivos, sinalizando ser uma importante via de entrada em ambos locais, sendo menores apenas em fêmeas de São Vicente (Figura 3.2).

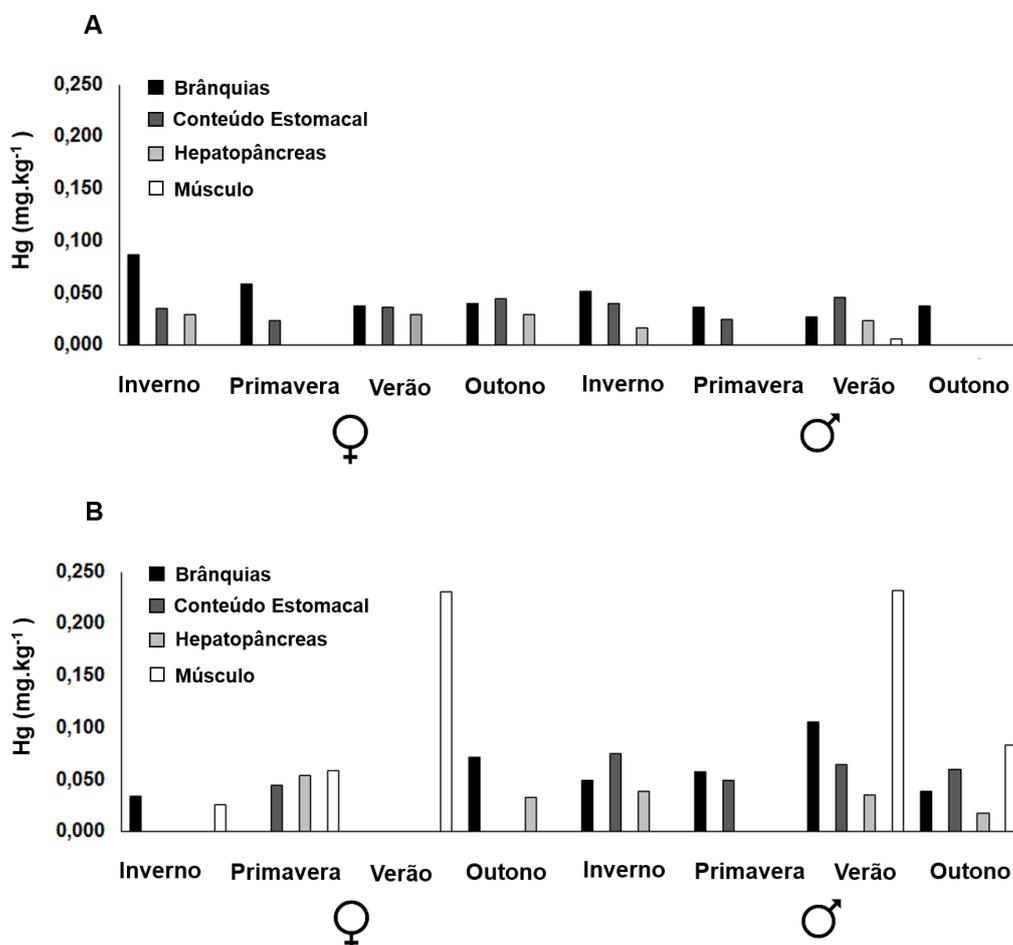


Figura 3.2 - Concentração de mercúrio (Hg) total nos diferentes tecidos (músculo, brânquias, e hepatopâncreas) e conteúdo estomacal de exemplares da espécie *G. cruentata*, machos e fêmeas, em duas regiões Ilha do Cardoso (A) e São Vicente (B) nas diferentes estações do ano (inverno, primavera, verão e outono).

Em relação às amostras de folhas, as maiores concentrações foram registradas em São Vicente em todas as estações do ano, especialmente em folhas senescentes, um dos itens considerado dominante na alimentação da espécie. Os valores de Hg variaram

entre 0,02 mg.kg⁻¹ e 0,03 mg.kg⁻¹ para *Laguncularia racemosa* e entre 0,03 mg.kg⁻¹ e 0,09 mg.kg⁻¹ para *Avicennia schaueriana*. Os demais estágios foliares, jovens e maduras, apresentaram valores menores, sendo que todas as amostras da Ilha do Cardoso estiveram abaixo do limite de detecção do método (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 - Concentração de mercúrio (Hg) total em amostras de folhas em diferentes estágios de maturação (jovens, maduras e senescentes) em duas espécies, *Laguncularia racemosa* na região de Ilha do Cardoso (IC) e *Avicennia schaueriana* na região de São Vicente (SV), nos quatro períodos de coleta (inverno, primavera, verão e outono).

Estação	Estágio Foliar	Hg (mg.kg ⁻¹)	
		IC	SV
inverno	Jovem	<LDM	<LDM
	madura	<LDM	0,03
	senescente	0,02	0,03
primavera	Jovem	<LDM	<LDM
	madura	<LDM	0,07
	senescente	0,02	0,09
verão	Jovem	<LDM	0,02
	madura	<LDM	<LDM
	senescente	0,03	0,07
outono	Jovem	<LDM	<LDM
	madura	<LDM	<LDM
	senescente	<LDM	0,08

Nota: <LDM = 0,02; IC = Ilha do Cardoso; SV= São Vicente.

4. DISCUSSÃO

Além de fontes naturais, o Hg pode chegar ao meio ambiente via atividades antrópicas como a mineração e queima de combustível fóssil, que desempenham um importante papel na sua deposição nos ecossistemas marinhos (SELIN, 2009; CIPRO et al., 2017). Uma vez na coluna de água, o Hg inorgânico pode ser metilado devido à ação de microrganismos anaeróbicos, sendo o metilmercúrio (MeHg) sua forma mais tóxica, com tendências de bioacumulação em muitas espécies marinhas (NRC, 2000; HSU-KIM et al., 2013). Os resultados indicaram que as brânquias representam uma importante via de entrada do contaminante em ambos os locais analisados. Em crustáceos aquáticos e semi-terrestres, as brânquias atuam como local de armazenamento temporário de contaminantes durante a exposição aos mesmos (SOEGIANTO et al., 1999a; 1999b), além de ser o principal local de absorção dessas substâncias (HENRY et al., 2003). O

acúmulo de metais nas brânquias pode prejudicar vários processos bioquímicos e fisiológicos e, conseqüentemente, inibir algumas funções nesses organismos (CAPPARELLI et al., 2019).

Os contaminantes interagem com as brânquias e, após a adsorção, são transportados via hemolinfa para os demais tecidos, incluindo o hepatopâncreas (BROUWER; LEE, 2007). Este tecido está envolvido em uma variedade de processos fisiológicos e tem um papel importante na detoxificação e eliminação de contaminantes (RAINBOW, 1997), o que explica a concentração baixa ou abaixo do limite de detecção do método nos resultados para espécie estudada pode indicar a ocorrência desses mecanismos. A transferência de metais aos outros tecidos, como o músculo, ocorre apenas quando o contaminante se encontra em excesso no organismo, fato que ocorreu apenas em algumas amostras de São Vicente. As propriedades químicas do elemento considerado e os padrões de acumulação para cada espécie também influenciam na transferência desses contaminantes (RAINBOW, 1987; BORDON et al., 2018). Há também possibilidade de eliminação pelo processo de ecdise, quando ocorre o sequestro dos contaminantes no exoesqueleto e depuração por meio da muda da exúvia. No entanto, essa atividade pode diminuir em relação ao desenvolvimento do organismo (BERGEY; WEIS, 2007; MILLIKIN; WILLIAMS, 1984). A exposição crônica de Hg também pode inibir o processo de ecdise e reduzir a taxa de sobrevivência no estágio inicial de caranguejos braquiúros (WEIS, 1976; WEIS et al., 1992; ENGEL; THAYER, 1998; TAYLOR; CALABRESE, 2018).

Em relação aos tecidos analisados, maiores valores de Hg foram encontrados no tecido muscular ($0,232 \text{ mg.kg}^{-1}$) em indivíduos de São Vicente. Resultado esperado devido ao hábito onívoro da espécie, no entanto, valor abaixo do relatado por Fragoso (2013) para a mesma espécie, $0,49 \text{ mg.kg}^{-1}$ em manguezais localizados no estuário do rio Paraíba do Sul (RJ). Na região de São Vicente, os resultados foram semelhantes aos de estudos anteriores com a espécie *Callinectes sapidus*, cujas concentrações de Hg foram menores no hepatopâncreas em relação ao tecido muscular (REICHMUTH et al., 2010; ADAMS et al., 2014). No entanto, na região da Ilha do Cardoso ocorreu o oposto, sendo todas as concentrações abaixo do limite de detecção do método no tecido muscular, fato esperado por ser uma região menos impactada.

Os crustáceos possuem diversas estratégias para assimilar e excretar metais não essenciais, que podem ser diferentes para os caranguejos semi-terrestres que mantêm contato constante com o sedimento e, portanto, com os contaminantes (RAINBOW;

BLACK, 2005; CAPPARELLI et al., 2019). A espécie *G. cruentata* tem o hábito alimentar onívoro e, além de consumir fragmentos vegetais, consome outros recursos incluindo sedimento (MCKEE, 1995; BOTELHO et al., 2004; LIMA-GOMES et al., 2011). As características gerais do sedimento dos manguezais, como granulometria fina, ambiente redutor e conteúdo elevado de matéria orgânica, favorecem o processo de retenção de contaminantes, incluindo o Hg (LAURIER et al., 2003; ARAÚJO et al., 2015).

O processo de transferência do Hg atmosférico para os compartimentos terrestres ocorre via processos de deposição úmida e seca, sendo este último responsável pela acumulação desse elemento nas folhas da vegetação que, posteriormente, transfere ao sedimento do ecossistema, através dos processos de deposição e decomposição da serrapilheira (SILVA et al., 1990; REA et al., 1996). Os níveis de Hg no tecido muscular dos caranguejos refletem diretamente seu hábito alimentar, sendo possível observar uma similaridade nos dados referentes às concentrações desse elemento entre os caranguejos e folhas (NORDHAUS; WOLFF, 2007). Com base nos valores das concentrações de Hg nos diferentes estágios foliares é possível concluir que uma alimentação herbívora contribuiu para os baixos valores de Hg observados tanto no tecido muscular quanto no conteúdo estomacal.

Houve um aumento nas concentrações de Hg em relação ao estágio foliar, sendo maiores nas folhas senescentes. Esse aumento demonstra que este elemento está associado a compostos relacionados à atividade microbiana e decomposição, dado que os fungos são conhecidos por sequestrarem Hg e outros metais (RASMUSSEN et al., 1991; MOORE et al., 1995; FRAGOSO, 2013). Embora folhas em avançado estágio foliar sejam uma importante fonte de alimento para invertebrados do manguezal e, conseqüente, via de entrada de Hg no sistema, deve-se levar em conta o papel da decomposição como uma fonte importante do fluxo desse contaminante para as teias alimentares desse ecossistema (BOUILLON et al., 2003; DING et al., 2011; LEE et al., 2017).

A existência e magnitude da acumulação de Hg nos organismos marinhos podem ocorrer por uma multiplicidade de fatores, incluindo diferenças nas fontes de entrada desse contaminante, localização, variáveis biogeoquímicas, sazonalidade, bem como fatores biológicos como tamanho e sexo (TUROCZY et al., 2001; CHEN et al., 2008; UNEP, 2018). Estudos relataram que a concentração de Hg aumentou em relação ao tamanho do corpo dos indivíduos, além de inferir sobre a ausência de diferenças entre os

sexos, fato que corrobora com o encontrado para a espécie *G. cruentata* (TUROCZY et al., 2001; MUTO et al., 2014; TAYLOR; CALABRESE, 2018).

As mudanças sazonais podem influenciar o metabolismo dos organismos, o ambiente, a disponibilidade e tipo de alimento, além das concentrações de contaminantes no ambiente e nos tecidos (BELTRAME et al., 2010; JEDRUCH et al., 2018). Neste estudo, não foi possível notar alterações entre as estações do ano na região da Ilha do Cardoso, conforme descrito em Pereira et al. (2006), que também não relataram uma sazonalidade marcada em áreas consideradas preservadas, provavelmente devido a um ambiente mais constante, oferta de alimentos e um regime de salinidade estável. Os indivíduos de São Vicente apresentaram algumas variações, sendo as maiores concentrações no tecido muscular no período de verão, que coincide com o período de maior atividade metabólica da espécie (SANTOS et al., 2001) e em parte do período reprodutivo para o estado de São Paulo (COBO; FRANSOZO, 2003). O período reprodutivo pode gerar maior consumo de energia, produzindo assim diminuição da capacidade de detoxificação e, portanto, aumento na concentração de contaminantes no organismo (BELTRAME et al., 2010).

Como esperado, os indivíduos analisados na área considerada menos preservada (São Vicente) apresentaram as maiores concentrações. Esta região tem apresentado um aumento da concentração de Hg, possivelmente, pela constante deposição de sedimento dragado do canal de Santos em uma região de águas abertas localizadas próxima ao Município de São Vicente, que tende a se dispersar (TORRES et al., 2009; BURUAEM et al., 2013; MUTO et al., 2014). A emissão de Hg pela combustão de resíduos sólidos industriais e municipais tem sido uma grande preocupação e, devido ao transporte e deposição atmosférica de longo alcance, níveis elevados do contaminante estão sendo observados mesmo em áreas remotas e habitats prístinos, como a Ilha do Cardoso (CHEN et al., 2013; WIEDINMYER et al., 2014; LE et al., 2017).

Le et al. (2017) relataram que as concentrações de Hg são relativamente baixas na serrapilheira e nos sedimentos em regiões de mangue, porém aumentam gradualmente de acordo com os níveis tróficos dos consumidores. A transferência de metais em caranguejos é crítica àqueles predadores que consomem um grande número desse item alimentar (ADAMS et al., 2014). Se a eficiência de assimilação é alta, os caranguejos representam risco óbvio de transferência de Hg para espécies predadoras ou mesmo para a população humana, já que esta espécie é um recurso natural no ambiente manguezal e

representa uma via de contaminação, através da bioacumulação e processos de biomagnificação (PEREIRA et al., 2006).

Segundo Maciel e Alves (2009) houve um aumento na captura de aratu (*G. cruentata*) na região Nordeste do país como resultado da prática de pesca não regulamentada e, conseqüentemente, aumento do consumo do mesmo. Alguns estudos sobre a ocorrência de metais em caranguejos relataram que valores de concentrações preocupantes podem ocorrer em alguns tecidos comestíveis (TUROCZY et al., 2001). A toxicidade devido à presença de contaminantes metálicos tem sido regularmente avaliada pelas autoridades de segurança alimentar (OMS, 2000). O Comitê de Especialistas da FAO/OMS sobre Aditivos Alimentares estabeleceu um valor, que corresponde a ingestão semanal tolerável provisória para alguns elementos, incluindo o Hg de 0,3 mg (5 µg/kg peso corpóreo) (JECFA, 2011). Já os valores de Hg de referência para consumo humano estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) são baseados no peso úmido e tem como teor máximo permitido 0,50 mg.kg⁻¹ (VILHENA et al., 2013; BRASIL, 2013). Neste estudo, todas as amostras analisadas ficaram abaixo desse valor, indicando que o consumo da espécie nessas áreas ainda não apresenta riscos à saúde humana. É válido ressaltar que exceder o limite máximo permitido não significa, necessariamente, que o item é impróprio para consumo, pois tais níveis são estabelecidos para fins regulatórios e assumem os piores cenários (TUROCZY et al., 2001).

Capítulo IV

Análise dos níveis de metais e composição isotópica de carbono e nitrogênio na espécie *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsidae) em áreas de manguezais do estado de São Paulo, Brasil.

RESUMO

A espécie *Goniopsis cruentata* é encontrada em áreas de manguezal ao longo de todo o território brasileiro. Esses ecossistemas estão localizados, em geral, em regiões de intensa atividade antrópica, além de possuírem características físico-químicas que favorecem a estabilização de contaminantes, como os metais, proporcionando relevante barreira biogeoquímica. Os estudos com contaminantes tem ganhado destaque devido a sua grande capacidade de circulação global, persistência e potencial toxicológico sobre a biota. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi investigar a concentração dos metais (As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn) entre compartimentos bióticos e abióticos (vegetação, sedimento e fauna) de duas áreas de manguezal no litoral de São Paulo com diferentes níveis de contaminação. Como ferramenta complementar foi utilizado os valores das razões isotópicas de carbono (C) e nitrogênio (N), que permite inferir sobre as fontes alimentares da espécie por meio dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e, também, caracterizar as estruturas das teias alimentares dos ecossistemas costeiros, utilizando os valores de $\delta^{15}\text{N}$. Os indivíduos foram coletados nas quatro estações do ano, além das amostras de sedimento superficial e de folhas em diferentes estágios de maturação (jovens, maduras e senescentes) também foram coletadas. Os elementos de interesse foram quantificados pela técnica de espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). As amostras de tecidos, conteúdo estomacal e folhas foram solubilizadas seguindo o método de digestão ácida para material biológico. Já para as amostras de sedimento utilizou-se o método de extração sequencial, visando avaliar a disponibilidade dos metais para os principais componentes do sedimento e da biota associada. As razões isotópicas de carbono (C) e nitrogênio (N) foram avaliadas utilizando-se um espectrômetro de massa Elemental Analyser - Isotope Ratio Mass Spectrometer (EA-IRMS). Para os compartimentos bióticos, as maiores concentrações ocorreram na região considerada menos impactada (Ilha do Cardoso), corroborando estudos anteriores que sugerem maior tolerância aos organismos expostos a contaminantes por um longo prazo. Em relação aos tecidos, brânquias e conteúdo muscular apresentaram os maiores níveis,

indicando serem potenciais via de entrada desses contaminantes. Os resultados das razões de C foram maiores no tecido muscular em relação aos demais, já em relação às razões de N, os maiores valores foram encontrados no conteúdo estomacal. Para estimar os níveis de contaminação do sedimento valores de referências foram utilizados, porém, neste estudo não houve resultado acima dos níveis alarmantes. Por fim, a correlação entre os dados permitem inferir que a bioconcentração dos contaminantes ocorra entre os diferentes níveis tróficos no ambiente manguezal.

Palavras-chaves: Metais. Contaminantes inorgânicos. Isótopos estáveis. Crustáceos.

1. INTRODUÇÃO

Goniopsis cruentata é uma espécie de caranguejo com ampla distribuição geográfica que habita manguezais em diferentes latitudes ao longo da costa do Brasil (MELO, 1996). É um crustáceo semi-terrestre frequentemente encontrado no substrato em áreas acima do nível da maré, que se alimenta predominantemente de fragmentos vegetais. No entanto, sedimento é comumente encontrado em seu conteúdo estomacal, o qual desempenha um importante papel ecológico nesse ecossistema devido ao seu hábito alimentar que consiste em macerar os itens alimentares, acelerando os processos de decomposição e, conseqüentemente, causando o enriquecimento de nitrogênio no ambiente via deposição de fezes (LEE, 1997; SKOV; HARTNOLL, 2002; LIMA-GOMES et al., 2011). Essa espécie também atua como biomonitora, indicando a qualidade ambiental em sistemas estuarinos (DAVANSO et al., 2013).

Manguezais estão entre os ecossistemas mais ameaçados em todo o mundo pois estão associados com áreas de intensa ocupação urbana, incluindo grandes cidades, portos e complexos industriais. Eles apresentam grande relevância ecológica por constituírem um importante local de reprodução e alimentação para uma ampla variedade de espécies (ELLIOT; WHITFIELD, 2011). São regiões constantemente sujeitas a diferentes temperaturas, regimes de chuvas e taxas de evaporação, fatores que influenciam na reprodução de *G. cruentata* ou no aumento do risco de dessecação do organismo devido à exposição direta (ATKINSON, 1994; COBO; FRANSOZO, 2005; ALLEN et al., 2012; LIRA et al., 2013).

Esses ecossistemas também têm importância histórica e são fundamentais para o desenvolvimento humano, uma vez que é comum o crescimento populacional ocorrer em

torno desses ambientes costeiros (MIRANDA et al., 2002). O desenvolvimento industrial decorrente desse processo de expansão contribui para o aumento dos níveis de nutrientes e contaminantes orgânicos e inorgânicos, como os metais, devido ao uso de fertilizantes e combustíveis fósseis (LIVINGSTONE, 1993; 1998; AZEVEDO et al., 2011). Apesar dos esforços para a conservação das regiões costeiras e estuarinas, tais ambientes são continuamente degradados como as regiões dos complexos estuarinos de Santos- São Vicente (SP) e Cananeia (SP), áreas investigadas neste estudo, as quais apresentam diferentes níveis de contaminação (AZEVEDO et al., 2009; 2011; GARCIA et al., 2018).

Os metais são componentes naturais da crosta terrestre e apresentam papel fundamental para o funcionamento da vida no planeta como os elementos: zinco (Zn), cobre (Cu), cromo (Cr) e níquel (Ni), considerados micronutrientes essenciais às atividades metabólicas dos organismos, e se encontram no limite entre sua necessidade vital e toxicidade. Elementos como o cádmio (Cd), chumbo (Pb) e mercúrio (Hg) não possuem função biológica conhecida e são considerados contaminantes pelo seu alto grau de toxicidade e persistência, podendo acumular facilmente nos tecidos de crustáceos (AHEARN et al., 2004; RAINBOW; BLACK, 2005; RAINBOW, 2007). O arsênio (As) é considerado um metaloide e também pode apresentar alta toxicidade (EISLER, 2010; TREVIZANI, 2018).

Tais metais são geralmente persistentes e tendem a se acumular nas teias alimentares (CHAPMAN et al., 1998). São transportados pela água ou pelo vento para áreas costeiras, onde são depositados no sedimento, aumentando a importância do mesmo como fonte direta desses potenciais contaminantes para a biota local (MARCHAND et al., 2011). Essa mobilização indica que eles podem ser acumulados nos tecidos do corpo de organismos vivos e/ou transferidos através de teias alimentares aquáticas, aumentando sua concentração à medida que passam de níveis tróficos inferiores para os superiores (NÉGREL et al., 2012).

O conhecimento sobre os níveis de metais em sedimento é um tema relevante na pesquisa ambiental, pois, além de ser um reservatório para espécies químicas, os sedimentos são considerados compartimentos aquáticos ativos que desempenham um papel significativo na redistribuição desses elementos para a biota (COTTA et al., 2006; CUONG; OBBARD, 2006; TRAMONTE et al., 2018). As concentrações de metais nesse compartimento abiótico são afetadas por alguns fatores como a ocorrência de reações óxido-redutoras e/ou tamanho do grão (FURNESS; RAINBOW, 1990). A análise da composição isotópica tem sido utilizada como uma ferramenta acessória em estudos

ambientais, permitindo investigar as fontes e o caminho da matéria orgânica e, assim, inferir sobre sua ciclagem nos ecossistemas (HEDGES et al., 1997).

A exposição através da alimentação, como uma das principais via de contaminantes em teias alimentares marinhas, tem sido foco de estudos sobre a transferência de metais em ambientes estuarinos (RAINBOW, 2002; WANG, 2002; CROTEAU et al., 2005; MAJER et al., 2014; TREVIZANI et al., 2016; DUARTE et al., 2017). Isótopos estáveis naturais de carbono (C) e nitrogênio (N) podem ser usados como marcadores para investigar as relações tróficas em teias alimentares e qualquer potencial de biomagnificação de contaminantes (MUTO et al., 2010; CUI et al., 2011; ZENG et al., 2013; ANNABI et al., 2018; GRIBOFF et al., 2018). Estudos de biomagnificação implicam no conhecimento da posição trófica dos organismos na teia alimentar, o que demanda o uso de ferramentas eficientes como a utilização de $\delta^{15}\text{N}$, que possui uma taxa de enriquecimento constante de 3-4‰ entre os diferentes níveis tróficos (CHEUNG; WANG, 2008; CUI et al., 2011; GRIBOFF et al., 2018). Já a análise de $\delta^{13}\text{C}$ é usada para inferir sobre as fontes que compõem a dieta do organismo e sua assimilação, além de fornecer informações sobre o uso espacial do habitat e fontes de carbono (PETERSON; FRY, 1987; LAMB et al., 2006). Sua taxa de enriquecimento nos tecidos entre os diferentes níveis tróficos é de, aproximadamente, 1‰ (DEHN et al., 2006).

Análises de isótopos estáveis são amplamente utilizadas em estudos ambientais com o objetivo de elucidar o comportamento de contaminantes em toda a teia trófica (CUI et al., 2011). Alguns estudos têm empregado esta técnica para estabelecer a relação entre a dinâmica da teia alimentar e a presença de contaminantes metálicos no ambiente aquático, especialmente para outros metais que não seja o Hg (STEWART et al., 2004; CROTEAU et al., 2005; NÉGREL et al., 2012; CHEUNG; WANG, 2013; ANNABI et al., 2018; GRIBOFF et al., 2018). As razões isotópicas de C e N associadas a níveis de contaminação podem fornecer um melhor entendimento da relação ecológica dos organismos e de outros aspectos relacionados à exposição aos compostos contaminantes, contribuindo para o estudo da ecologia da espécie em questão. O objetivo deste estudo é quantificar os níveis de metais (As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn) em compartimentos bióticos e abióticos (vegetação, fauna e sedimento) em duas áreas de manguezais do estado de São Paulo e relacioná-los às razões isotópicas de C e N.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

A área de estudo compreende dois sistemas estuarinos localizados na costa sudeste do Brasil: 1) Estuário Santos-São Vicente, localizado no Município de São Vicente, ($23^{\circ}56'29.57''\text{S}$ e $46^{\circ}27'1.77''\text{O}$); e 2) Sistema Estuarino Lagunar Cananéia-Iguape, o qual faz parte a Ilha do Cardoso ($25^{\circ}05'30.20''\text{S}$ e $48^{\circ}58'26.54''\text{O}$) (Figura 4.1).

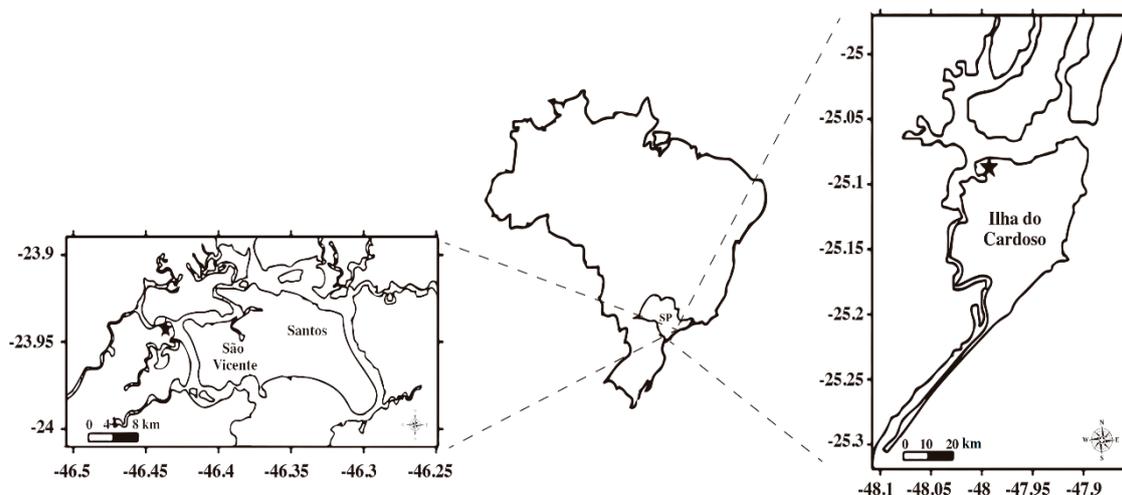


Figura 4.1 - Localização das duas áreas amostradas no litoral de São Paulo, Brasil, representando uma região mais urbanizada, localizada na porção central (Município de São Vicente) e a outra mais preservada, localizada na porção sul (Ilha do Cardoso).

O Sistema Estuarino Santos- São Vicente é formado pelas baías de Santos e São Vicente e fica no litoral central do estado de São Paulo, com uma área total de $2,4 \text{ km}^2$ e uma extensão de 40 km (IBGE, 2010). É uma região altamente urbanizada devido à intensa atividade industrial com a presença de petroquímicas, metalúrgicas, produtoras de fertilizantes e áreas portuárias, além da entrada intensiva de compostos químicos pelo emissário submarino e ocupação urbana (AZEVEDO et al., 2009 e 2011; CETESB, 2008). O Sistema Estuarino-Lagunar de Cananeia- Iguape é o principal sistema da costa sul do estado de São Paulo (SP), composto por uma extensa planície costeira com canais estreitos e largos (GARCIA et al., 2018). A cidade de Cananeia, a qual pertence a Ilha do Cardoso, é uma região de grande importância ecológica, pois apresenta ambientes diversificados com biodiversidade de fauna e flora, além de abrigar uma grande variedade de invertebrados, como camarões e caranguejos (DIEGUES, 1987; CHAGA-SOARES et al., 1995; SEVERINO-RODRIGUES et al., 2009; GARCIA et al., 2016 e 2018). É uma

região altamente preservada e frequentemente utilizada como ambiente de referência devido ao baixo impacto antrópico (AZEVEDO et al., 2009^a; 2011; TREVIZANI et al., 2019).

2.2 Amostragem e preparo

Foram selecionados 152 indivíduos adultos de *G. cruentata*, na fase de intermuda, sendo: 75 em São Vicente (30 fêmeas e 45 machos) e 77 na Ilha do Cardoso (37 fêmeas e 40 machos). Os exemplares foram coletados manualmente, de modo aleatório nas diferentes estações do ano (inverno, primavera, verão e outono), durante os períodos de maré baixa entre agosto de 2016 e julho de 2017. Os indivíduos foram imediatamente sacrificados por hipotermia e transportados em caixas térmicas com gelo. No laboratório, foram medidos (LC= largura cefalotorácica) e agrupados de acordo com o sexo e tamanho da LC. Os indivíduos adultos foram selecionados segundo o critério de Lima-Gomes (2011), sendo utilizados aqueles com LC igual e/ou superior a 33 ± 5 mm.

Posteriormente, os caranguejos foram descongelados e lavados com água corrente e destilada, na sequência. Medidas preventivas foram adotadas para garantir a qualidade das análises e evitar a contaminação das amostras. Toda a vidraria utilizada foi descontaminada por imersão em solução de Extran® (5%) durante o período de 24 horas, seguida de imersão em solução de HNO₃ (7,5%) com o mesmo período de duração e, posterior enxágue com água destilada. Os exemplares foram lavados com água destilada para retirada total da lama, de maneira a evitar contaminação, dissecados cuidadosamente para retirada das brânquias (anterior e posterior), do hepatopâncreas (lobos anteriores, intermediários e posteriores) e do músculo (apêndices). As amostras foram agrupadas de acordo com o sexo, o local de amostragem e os tecidos, compondo um “pool”, sendo 16 no total (em média, n=9). Cada amostra foi lavada com água destilada e seca em filtro de papel; na sequência foram liofilizadas por 48h e depois homogeneizadas em cadinhos de porcelana com auxílio de pistilo.

Amostras de sedimento (n=40, sendo 5 por área em cada estação do ano; 10 cm de sedimento superficial) foram coletadas com auxílio de espátulas, em áreas não bioturbadas, e congeladas na sequência. Em laboratório, foram secas em estufa à 60°C durante 48h, para posterior análise. Para a coleta das folhas foi considerada a espécie mais abundante na área amostrada: *Laguncularia racemosa* na Ilha do Cardoso, e *Avicennia schaueriana*., na região de São Vicente. As folhas foram retiradas manualmente

contemplando três estágios de maturação: jovens, maduras (folhas do 3º ramo) e senescentes (amareladas); as amostras foram congeladas na sequência, seguida de liofilização por 48h e posterior homogeneização.

2.3 Procedimentos analíticos

2.3.1 Quantificação dos metais

2.3.1.1 Amostras biológicas

A técnica descrita em Trevizani et al. (2016) foi utilizada para realizar a digestão das amostras da biota (folhas, tecidos e conteúdo estomacal), nas quais foram quantificados todos os elementos de interesse (As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn). Neste método, 0,35 g de cada amostra seca foram digeridas com 4 mL de ácido nítrico, seguido da adição de 1 mL de peróxido de hidrogênio. Após 18h, os analitos tratados foram colocados em bloco digestor à 90°C para aquecimento durante o período de 3h. Na sequência, após resfriamento, a solução final foi filtrada e diluída para 35 mL com água Milli-Q.

A quantificação da concentração dos metais foi realizada por meio da técnica de Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES, Equipamento Varian, modelo 710ES), que se baseia na emissão espontânea de fótons a partir de átomos e íons excitados por uma descarga de radiofrequência. Para o controle de qualidade dos dados gerados foi realizado também a análise (n=6) do material de referência certificado 2976 (tecido de mexilhão – elementos traço – seco e congelado pelo National Institute of Standards and Technology), que mostraram recuperações entre 74 e 113%. Além disso, o limite de detecção do método (LDM), que representa a menor quantidade detectada do analito presente em uma amostra, foi calculado para cada elemento de interesse. Os resultados foram: As 0,89 mg kg⁻¹; Cd 0,17 mg kg⁻¹; Cr 0,20 mg kg⁻¹; Cu 0,32 mg kg⁻¹; Ni 0,40 mg kg⁻¹; Pb 0,66 mg kg⁻¹; Zn 0,64 mg kg⁻¹. Todos os resultados obtidos abaixo desse valor foram considerados como não quantificados e denominados abaixo do LDM.

2.3.1.2 Amostras de sedimento

A técnica descrita em Tramonte et al. (2018) foi utilizada para a quantificação dos elementos de interesse (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn) nas amostras de sedimento. Este método

possibilita estudar o fracionamento e a disponibilidade de metais em sedimentos das áreas de estudo. Para isso, ele estabelece três fases distintas, nas quais os metais associados são liberados sequencialmente pela ação química de reagentes específicos para cada uma das fases, simulando a remobilização de metais em sedimentos no caso de variação nas condições ambientais. Os teores de Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn foram determinados para as frações geoquímicas nas amostras de sedimento superficial, sendo realizada a quantificação em 3 réplicas. Abaixo é apresentada uma síntese do procedimento aplicado com base no método descrito em Pueyo et al. (2001):

- etapa 1: solúvel em ácido (F1): para cada 0,5g de sedimento, 20 mL de ácido acético (0,11 mol/L) foi adicionado. A suspensão foi agitada por um período de 16h em temperatura ambiente. Posteriormente, foi centrifugada para separação do extrato e da fase sólida.

- etapa 2: redutível (F2): para cada 0,5g de amostra inicial, 20 mL de cloridrato de hidroxilamina (0,5 mol/L) foi adicionado ao resíduo da etapa 1. Posteriormente, foi centrifugada para separação do extrato e da fase sólida.

- etapa 3: oxidável (F3): para cada 0,5g de amostra inicial, 5mL de peróxido de hidrogênio (30% v/v) foi adicionado ao resíduo da etapa 2. Inicialmente a extração ocorreu na temperatura ambiente, seguida de aquecimento com acréscimo de outra porção de 5mL de peróxido de hidrogênio (30% v/v). Após redução do volume e resfriamento foi adicionado 25 mL de acetato de amônio (1,0 mol/L; pH:2). Posteriormente, a amostra foi centrifugada para separação do extrato e da fase sólida.

As extrações foram realizadas em alíquotas de sedimento seco e os resíduos lavados com água Milli-Q, sob agitação, antes da utilização nas próximas etapas. Os extratos líquidos obtidos em cada etapa foram mantidos sob refrigeração até o momento de análise. Sua quantificação foi realizada através da técnica ICP-OES (Espectroscopia Acoplada Indutivamente - Espectrometria de Emissão Óptica, Equipamento Varian, modelo 710ES). Para o controle de qualidade dos dados gerados foi realizada, paralelamente, a análise de amostras (n=6) do material de referência certificado (CRM) número 701, do Instituto de Materiais de Referência e Medidas (IRMM) que mostraram recuperações entre 84-107%, 96-114% e 108-123% para F1, F2 e F3, respectivamente, mostrando o bom desempenho deste método. Os limites de detecção do método (LDM) foram de Cr 0,29 mg kg⁻¹; Cu 0,45 mg kg⁻¹; Ni 0,27 mg kg⁻¹; Pb 0,52 mg kg⁻¹; Zn 0,93 mg kg⁻¹.

2.3.2 Análise dos isótopos estáveis de C e N

Após o término das etapas de preparo, as amostras foram pesadas (0,50 mg biota e 6 mg sedimento) e embaladas em cápsulas de estanho para análise, realizada em um espectrômetro de massa Elemental Analyser – Isotope Ratio Mass Spectrometer (EA – IRMS). A razão isotópica é calculada a partir da divisão dos átomos do isótopo menos abundante pelo isótopo mais abundante. Como essa razão resulta em um valor muito pequeno, foi estabelecido a notação “ δ ”, a qual representa a expressão dos resultados em partes por mil (‰) e é expressa de acordo com a fórmula abaixo (PETERSON; FRY, 1987; MARTINELLI et al., 2009):

$$\delta^{13}\text{C} \text{ ou } \delta^{15}\text{N} = [(R \text{ amostra}/R \text{ padrão}) - 1] \times 1000$$

Sendo: R amostra: razão isotópica na amostra

R padrão: razão isotópica no padrão de referência (gás CO₂ para $\delta^{13}\text{C}$ e N₂ para $\delta^{15}\text{N}$).

As porcentagens em massa de carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) foram obtidas através da relação entre as proporções do padrão e das áreas correspondentes dos picos obtidos do padrão e da amostra:

$$\% = (\% \text{ padrão} \times m \text{ padrão} / A \text{ padrão}) \times A \text{ amostra}$$

Sendo: m padrão: massa do padrão utilizada;

A padrão: área do pico do padrão;

A amostra: área do pico da amostra.

O padrão utilizado foi o Solo LECO (502 – 309 – LECO Corporation), para a quantificação das porcentagens, cujo teor de C é 13,77% e de N 0,81%.

2.3.3 Análise dos dados

Anteriormente às análises, foram testadas as premissas de normalidade e homocedasticidade dos dados (ZAR, 1999). Devido à quebra das premissas, foi realizado o teste não paramétrico de correlação de *Spearman* para os dados referentes às concentrações de metais, composição isotópica e elementar nas diferentes áreas de estudo

e períodos de amostragem. As análises tiveram como objetivo verificar correlações entre as variáveis: metais *vs.* $\delta^{15}\text{N}$ nas diferentes matrizes (caranguejo, folhas e sedimento), metais *vs.* carbono orgânico total (COT) em amostras de sedimento e metais *vs.* razão C/N em amostras de folhas. Também foi feita uma ANOVA *one way* para comparar as concentrações de metais nos diferentes estágios foliares (jovens, maduras e senescentes), ambas seguidas do teste *a posteriori* de Tukey.

Todas as análises estatísticas foram realizadas com nível de significância de 5%. As amostras, cujos resultados estavam abaixo do limite de detecção (LDM) tiveram seus valores substituídos pela metade do valor do mesmo e inseridas nos testes estatísticos. Os elementos cujo o número de resultados abaixo do LDM estavam superiores a 70% foram excluídos das análises. Para as análises de sedimento foram utilizados os valores de somatória das frações de cada metal. As análises estatísticas foram efetuadas com o uso do *software Past*.

3. RESULTADOS

As maiores concentrações de metais ocorreram no conteúdo estomacal, exceto para Cu e Zn, que apresentaram valores elevados nas brânquias e músculo, respectivamente. Em relação aos locais, a região da Ilha do Cardoso apresentou as maiores concentrações, principalmente para As, Cd, Cr e Pb. Os resultados entre as concentrações de machos e fêmeas foram similares (Apêndices A1 e A2). Assim como os resultados das razões isotópicas de C e N entre os locais, estações e sexo, que também apresentaram similaridade. Em ambas as regiões, os maiores de valores de $\delta^{13}\text{C}$ ocorreram no músculo e de $\delta^{15}\text{N}$, no conteúdo estomacal (Apêndices B1 e B2).

A Tabela 4.1 apresenta os resultados das razões C/N das amostras de folhas, calculadas a partir dos valores de carbono orgânico total e nitrogênio total (Resultados Cap. 2, Tabela 2.1). Houve diferenças entre os locais, sendo as razões na Ilha do Cardoso maiores em relação às de São Vicente, fato provavelmente explicado pela diferença da espécie analisada em cada área. Os maiores valores ocorreram em folhas senescentes, exceto no inverno em São Vicente, quando os valores de folhas jovens e senescentes foram semelhantes (Tabela 4.1).

Em relação às concentrações de metais em folhas nos diferentes estágios de maturação, não houve diferença significativa entre os estágios foliares (jovens, maduras e senescente) para o Cr ($F= 0,74$; $p>0,05$) e Zn ($F= 0,62$; $p>0,05$). Apenas para Cu ($F=$

5,18; $p < 0,05$) as concentrações em folhas jovens foram maiores em relação às senescentes em ambas as áreas (Tabela 4.2).

As concentrações entre os locais foram semelhantes, porém na região de São Vicente o outono foi o período de maior concentração de Zn, com valores até cinco vezes maiores em relação ao período do inverno. Os metais contaminantes (As, Cd e Pb) apresentaram valores $< \text{LDM}$.

A análise de correlação realizada entre a concentração de metais e a razão C/N indicou associações com a maior ou menor razão C/N dependendo do contaminante. Apenas o Cu em folhas maduras indicou uma correlação negativa significativa e forte ($R^2: 0,64$; $p > 0,05$).

Tabela 4.1 - Valores da razão C/ N em amostras de folhas em diferentes estágios de maturação (jovens, maduras e senescentes) de *Laguncularia racemosa* na região de Ilha do Cardoso (IC) e de *Avicennia schaueriana* na região de São Vicente (SV), nos quatro períodos de coleta (inverno, primavera, verão e outono).

		Inverno	Primavera	Verão	Outono
IC	Jovem	30,5	31,5	25,3	31,2
	Madura	34,5	37,9	34,3	34,5
	Senescente	43,4	68,8	92,4	59,6
SV	Jovem	28,2	13,0	15,7	15,0
	Madura	22,9	26,6	16,9	23,7
	Senescente	27,9	34,7	55,8	45,1

Tabela 4.2 - Valores dos níveis de metais (mg kg^{-1}) em amostras de folhas em diferentes estágios de maturação (jovens, maduras e senescentes) de *Laguncularia racemosa* na região de Ilha do Cardoso e de *Avicennia schaueriana* na região de São Vicente, nos quatro períodos de coleta (inverno, primavera, verão e outono).

Locais	Metais	Estágio de maturação foliar	Concentração (mg.kg^{-1})			
			Inverno	Primavera	Verão	Outono
Ilha do Cardoso	As	Todos	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
	Cd					
	Cr	Jovens	0,31	0,32	0,28	0,52
		Maduras	0,25	0,47	0,33	0,29
		Senescentes	0,23	0,20	0,20	0,29
	Cu	Jovens	2,31	5,21	4,25	2,90
		Maduras	1,90	4,71	2,62	1,90
		Senescentes	1,48	2,81	1,28	1,20
	Ni	Jovens		<LDM		0,41
		Maduras	<LDM	0,47	<LDM	<LDM
		Senescentes		<LDM		<LDM
	Pb	Jovens	0,56			
		Maduras		<LDM	<LDM	<LDM
		Senescentes	<LDM			
	Zn	Jovens	9,63	17,65	23,36	17,83
Maduras		12,47	26,53	15,50	19,35	
Senescentes		10,49	18,98	18,27	18,29	
São Vicente	As	Todos	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
	Cd					
	Cr	Jovens	<LDM		0,28	0,52
		Maduras	0,21	<LDM	0,26	0,30
		Senescentes	0,20		0,31	0,30
	Cu	Jovens	4,37	2,99	6,02	4,64
		Maduras	2,96	1,23	4,74	4,32
		Senescentes	2,54	1,15	2,62	2,49
	Ni	Jovens	<LDM			0,56
		Maduras	0,43	<LDM	<LDM	<LDM
		Senescentes	0,40			
	Pb	Jovens				
		Maduras	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
		Senescentes				
	Zn	Jovens	7,09	13,09	19,10	22,77
Maduras		6,33	13,22	14,26	23,13	
Senescentes		5,83	20,60	17,82	26,07	

*LDM = limite de detecção do método

O resultado da correlação entre as concentrações de metais (Cr, Cu, Ni, Pb e Zn) e a razão isotópica de N nas diferentes matrizes analisadas mostrou que houve correlação

positiva e fraca para o Cu nos períodos de primavera e outono e, para o Zn, no inverno na região de São Vicente (SV); já na Ilha do Cardoso (IC) apenas o elemento Cr no inverno (Tabela 4.3 e Figura 4.2).

Tabela 4.3 - Resultados do teste de correlação (*Spearman*) considerando a concentração de cada metal e os valores de $\delta^{15}\text{N}$ nas diferentes matrizes (tecidos e conteúdo estomacal do caranguejo, folhas e sedimento). As correlações destacadas em negrito foram significativas ($p < 0,05$). Os asteriscos (*) representam as relações que não foram possíveis de analisar devido aos resultados estarem $< \text{LDM}$.

Local	Metais	Estações			
		Inverno	Primavera	Verão	Outono
IC	Cr	R²: 0,45	R ² :0,01	R ² : 0,03	R ² : 0,01
		p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
	Cu	R ² : 0,09	R ² : 0,07	R ² :0,10	R ² : 0,02
		p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
	Ni	R ² : 0,15	R ² : 0,24	*	R ² : 0,29
		p>0,05	p>0,05		p>0,05
Pb	R ² : 0,04	*	*	*	
	p>0,05				
SV	Zn	R ² : 0,08	R ² : 0,01	R ² : 0,04	R ² : 0,07
		p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
	Cr	R ² : 0,11	*	R ² : 0,15	R ² : 0,02
		p>0,05		p>0,05	p>0,05
	Cu	R ² : 0,20	R²: 0,38	R ² :0,25	R²: 0,37
		p>0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05
Ni	R ² : 0,03	*	*	*	
	p>0,05				
Pb	*	*	*	*	
Zn	R²: 0,36	R ² : 0,22	R ² : 0,26	R ² : 0,01	
	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	

Nota: LDM = limite de detecção do método.

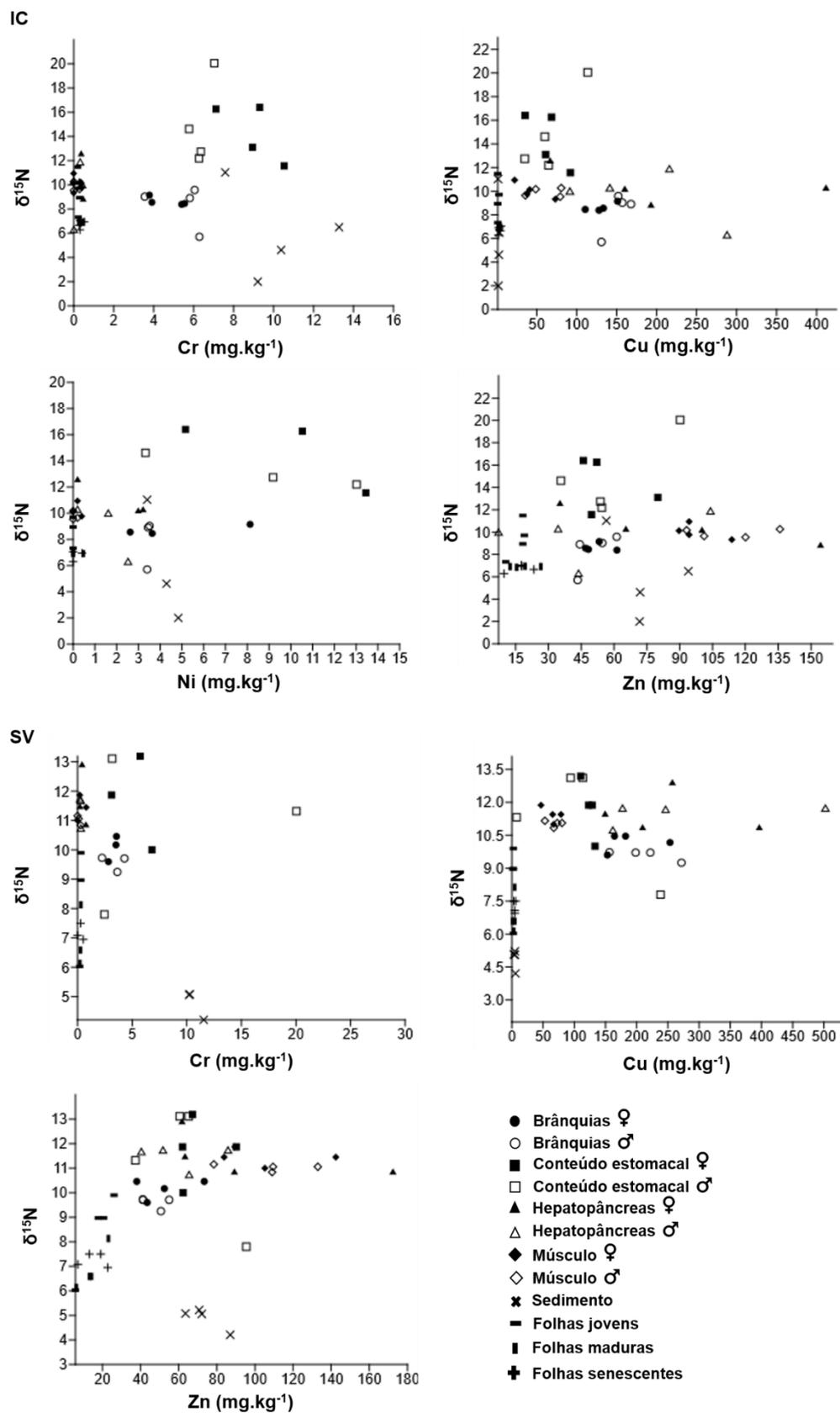


Figura 4.2 - Relação entre a composição isotópica de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) e as concentrações de metais na espécie *G. cruentata* e nos demais compartimentos do manguezal da região de Ilha do Cardoso (IC) e São Vicente (SV).

Para avaliar o grau de contaminação das amostras de sedimento, níveis disponíveis (somatório F1 + F2 + F3) dos metais foram comparados aos valores estabelecidos em diretrizes de qualidade de sedimentos. A lei brasileira não fornece valores de referência para sedimentos estuarinos, portanto, os resultados foram comparados com os valores fornecidos pelo Environment Canada (1999), o qual compreende duas categorias: 1) ISQG – *Interim Sediment Quality Guidelines* (antigo TEL- *Threshold Effect Level*): 0,7 mg kg⁻¹ Cd; 18,7 mg kg⁻¹ Cu; 52,3 mg kg⁻¹ Cr; 15,9 mg kg⁻¹ Ni; 30,2 mg kg⁻¹ Pb, 124 mg kg⁻¹ Zn; e 2) PEL – *Probably Effect Level*: 4,21 mg kg⁻¹ Cd; 108 mg kg⁻¹ Cu; 160 mg kg⁻¹ Cr; 42,8 mg kg⁻¹ Ni; 112 mg kg⁻¹ Pb, 271 mg kg⁻¹ Zn. Para valores abaixo do ISQG efeitos adversos raramente irão acontecer, enquanto acima do PEL tais efeitos são esperados.

Neste estudo, nenhum valor foi encontrado acima de PEL (Apêndice C). No entanto, todas amostras de Pb apresentaram-se maiores que o ISQG, exceto no inverno na Ilha do Cardoso (Figura 4.3). Os elementos Cr, Cu e Ni apresentaram as maiores concentrações, ou seja, a maior associação na F3, já Pb e Zn apresentaram associação nas três fases. A análise de correlação entre as concentrações de metais e o teor de carbono total permite inferir sobre a importância da matéria orgânica na acumulação dos contaminantes na matriz sedimentar do manguezal, embora os resultados não apresentassem diferenças significativas ($p > 0,05$).

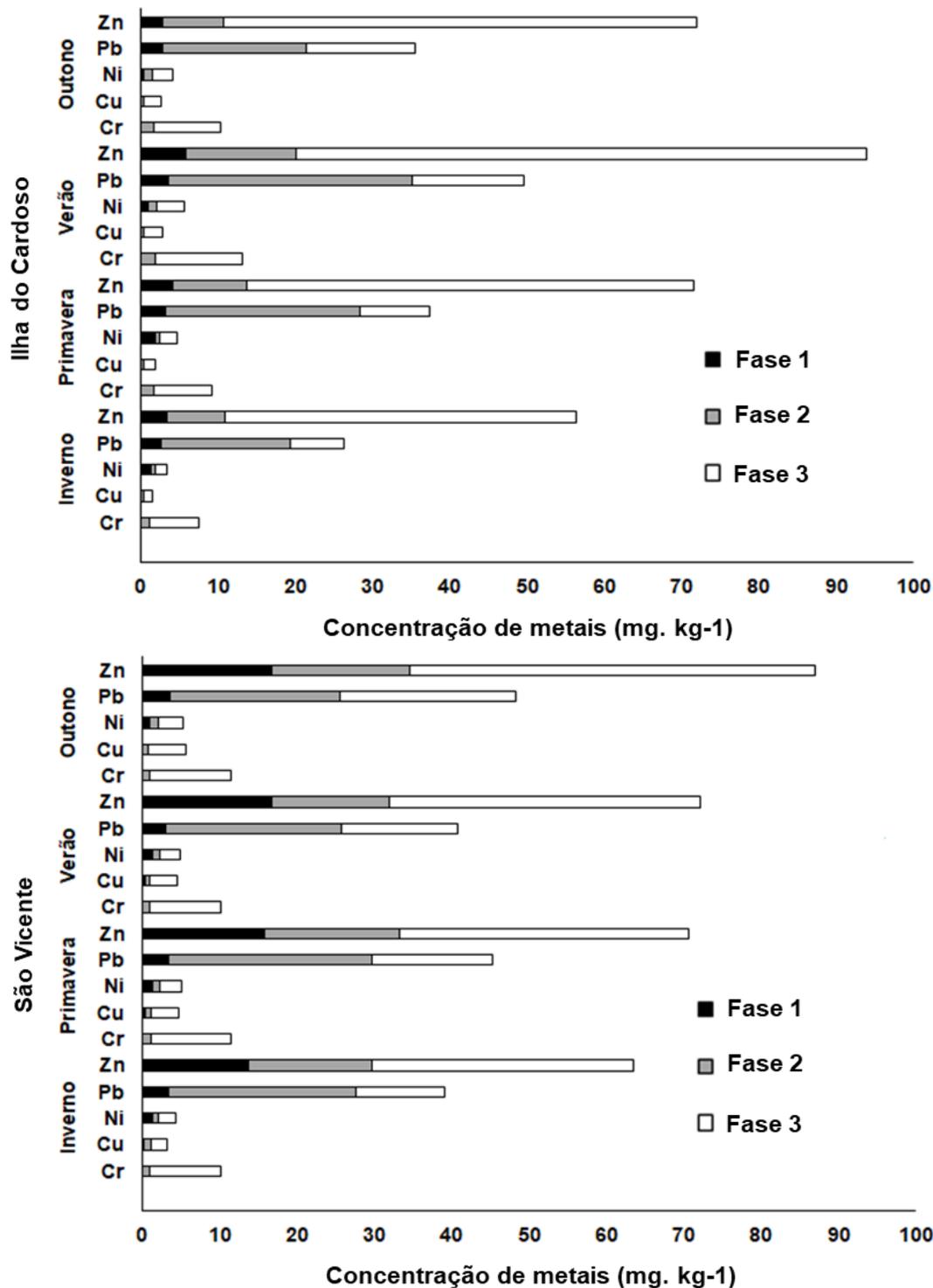


Figura 4.3 - Concentração (mg.kg⁻¹) média (n=5) de metais associados às frações disponíveis nas amostras de sedimento nas regiões de Ilha do Cardoso e São Vicente.

4. DISCUSSÃO

As vias de entrada de metais potencialmente tóxicos ocorrem através do corpo dos organismos marinhos (AHEARN et al., 2000; PEPPLER; AHEARN, 2003), pelas

brânquias (BURY et al., 1999; 2003; GROSELL; WOOD, 2002) e/ou pela dieta (WANG, 2002). Os metais absorvidos por ingestão de alimentos tendem a se acumular no hepatopâncreas (CANLI; FURNESS, 1995; CERVILLIONE et al., 2017). Os resultados indicaram que as maiores concentrações ocorreram no tecido branquial e no conteúdo estomacal, com exceção do Cu e Zn. O Cu está presente nos crustáceos no pigmento hemocianina, responsável pelo transporte de oxigênio no sistema respiratório (WHITE; RAINBOW, 1982). No entanto, suas maiores concentrações ocorreram no hepatopâncreas, exceto durante o inverno e em machos na primavera, em ambos os locais (Apêndice A). Estudos sugerem que altas concentrações de Cu no hepatopâncreas são comuns, devido ao caráter "estocador" deste órgão (ENGEL; ROESIADI, 1987; BELTRAME et al., 2010; PINHEIRO et al., 2012). O zinco também atua em funções de regulação em muitos organismos aquáticos e na formação de enzimas e proteínas, o que explica as maiores concentrações deste elemento no tecido muscular, não seguindo os mecanismos de desintoxicação (PHILLIPS; RAINBOW, 1988; RAINBOW, 1997).

Os níveis mais elevados dos metais não essenciais como o Cd e Pb, encontrados no tecido branquial, indicam a contaminação via troca gasosa, ou seja, mediante a absorção corpórea do meio circundante através das brânquias, fato que pode sugerir contaminação recente (COMBS; GEORGES, 1978; BRYAN, 1980). Os organismos possuem mecanismos que deslocam os metais em excesso para outros tecidos, principalmente para o hepatopâncreas, principal órgão de ação detoxificante nos crustáceos (RAINBOW, 2007; EISLER, 2010). Tal fato explica a maioria de amostras neste tecido com concentrações abaixo dos limites de detecção, além das menores concentrações na musculatura para As, Cd, Cr, Ni e Pb. Altas concentrações de As em amostras de tecido branquial e conteúdo estomacal, em ambos os locais, podem ser um reflexo das atividades antropogênicas e, também, da liberação através do intemperismo natural das rochas (LUIZ-SILVA et al., 2008; EISLER, 2010). A presença de As no meio ambiente e biota representa uma ameaça potencial para os ecossistemas marinhos, onde a contaminação pode afetar os organismos e a qualidade da água do mar (ELLIOTT; MCLUSKY, 2002).

As diferenças observadas nas concentrações dos metais independem somente das características geológicas de cada área específica, mas também de potenciais fontes de origens antropogênicas, sendo esperado que ambientes poluídos sejam mais nocivos aos organismos. No entanto, as maiores concentrações de As, Cd e Pb, metais não essenciais e extremamente tóxicos, foram registradas na Ilha do Cardoso, região considerada menos

impactada. Este resultado corrobora estudos anteriores que sugerem que organismos expostos a metais por um longo prazo tendem a desenvolver maior tolerância biológica (ZHAO et al., 2015; TOPAL et al., 2017; DUARTE et al., 2019). Pode-se inferir que o contínuo processo de exposição aos contaminantes culminou na resistência da espécie, resultado da aclimação fisiológica durante o ciclo de vida do organismo ou de uma adaptação genética da população (TERLIZZI et al., 2005; ESPINOSA et al., 2007; PINHEIRO et al., 2012; DUARTE et al., 2016; 2017).

Isótopos estáveis naturais de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$) são usados como marcadores para investigar as relações tróficas em teias alimentares e qualquer potencial biomagnificação e/ou bioconcentração de contaminantes (CUI et al., 2011). O enriquecimento dos isótopos nos tecidos reflete o equilíbrio dinâmico entre a taxa de alimentação e processos de assimilação e excreção (OLIVE et al., 2003). Neste estudo, os resultados das razões de C foram maiores no tecido muscular em relação aos demais, fato considerado normal, pois os produtos que serão excretados contêm maior quantidade dos isótopos leves ^{12}C ou ^{14}N , em relação ao consumido (DENIRO; EPSTEIN, 1978; MINAGAWA; WADA, 1984) e, à medida que são assimilados, torna-se enriquecido. Já em relação às razões de N, os maiores valores foram encontrados no conteúdo estomacal e refletem os alimentos consumidos no momento da captura e ainda não assimilados.

Pereira et al. (2019) relataram que a espécie *G. cruentata* apresenta grande assimilação de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$: média e desvio padrão do tecido muscular: $11,75 \pm 0,83\%$), tais valores corroboram com os encontrados neste estudo (Apêndice B). Isto ocorre porque a demanda desse elemento na espécie é alta devido à sua rápida taxa de crescimento (LEITE et al., 2014; REIS et al., 2015; DE LIRA et al., 2015). Nos organismos forrageadores é esperado um aumento da demanda de N por conta do investimento energético no crescimento do organismo durante o processo de forrageamento (STERNER; ELSER, 2002). As altas proporções de COT (>30%) e NT (>10%) no tecido muscular da espécie indica que o organismo atua como “engenheiro” do ecossistema, colaborando com a ciclagem de nutrientes (PEREIRA et al., 2019).

Uma vez no compartimentos abiótico, os metais podem se tornar disponíveis e serem absorvidos pela biota, incluindo as plantas (KULKARNI et al., 2018). Assim, o acúmulo de metais nos tecidos vegetais é determinado pela biodisponibilidade desses elementos no sedimento e a eficiência da planta em absorvê-lo e translocá-lo em raízes e tecidos vasculares (QIAN et al., 2012; SOUZA et al., 2015). Espécies de mangue, prevalentes nos ambientes estudados, têm sido usadas como captação e distribuição de

metais (KAMARUZZAMAN et al., 2011; SOUZA et al., 2015; KULKARNI et al., 2018). Apesar de serem espécies distintas analisadas em cada local, não foi possível observar diferenças entre os resultados das concentrações de metais. A maioria das plantas tende a excluir o excesso de contaminantes biodisponíveis em suas raízes, ligando-os a ácidos orgânicos e ligantes ou armazenando-os em vacúolos. Tais mecanismos podem explicar a ausência dos principais metais contaminantes (As, Cd e Pb) em todas as amostras (MACFARLANE; BURCHETT, 1999; HOSSAIN et al., 2012; GALL; RAJAKARUMA, 2013). O Pb é um elemento não essencial e possui um fator de translocação menor e mais limitado que os demais metais, o que se deve ao mecanismo de exclusão presente nas plantas (MACFARLANE et al., 2003).

Apenas as concentrações de Cu nas folhas jovens foram maiores que nas senescentes (ANOVA $p < 0,05$). Já os resultados da correlação entre concentração de metais e razão C/N foram significativos para este mesmo elemento nas folhas maduras, indicando que os maiores níveis de Cu estão relacionados a este estágio foliar, que apresenta a maior razão C/N. O Cu é um metal essencial em processos fisiológicos em plantas, incluindo a fotossíntese e respiração, reprodução, resistência a doenças, permeabilidade à água, metabolismo de carboidratos e nitratos (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001; HALL, 2002). Segundo Farooqui e Siddiqui (2014), durante o processo de crescimento e desenvolvimento foliar, as plantas tendem a ingerir nutrientes e água do meio circundante de forma mais rápida, o que pode proporcionar uma maior absorção desse elemento nos estágios jovens e maduros. Saenger e McConchie (2004) e Pinheiro et al., (2012) comprovaram a tendência de acumulação dos metais essenciais, como o Cu e Zn, em folhas jovens em relação às senescentes em *Avicennia marina* e em *Rhizophora mangle*, respectivamente, fato que também ocorreu para as espécies *Laguncularia racemosa* e *Avicennia shaueriana* neste estudo.

Os níveis de metais encontrados no sedimento não foram semelhantes aos encontrados nas folhas, o que indica que as espécies possuem mecanismos para impedir a entrada de metal, como a liberação de oxigênio no ambiente, provocando alterações químicas no sedimento e impedindo a entrada do contaminante em suas raízes (MACHADO et al., 2002; SOUZA et al., 2015). As concentrações de metais nos sedimentos estuarinos são afetadas por estas alterações que influenciam a quantidade de metal adsorvido por meio de reações de oxidação e redução (AZEVEDO et al., 2011). Os resultados da análise de extração sequencial permitiram inferir sobre os teores de metais associados às diferentes frações do sedimento, solúvel em ácido (F1), redutora (F2) e

oxidante (F3). Os metais extraídos na fração F1 são aqueles adsorvidos na superfície dos sedimentos por interação eletrostática relativamente fraca e podem ser liberados por processos de troca iônica e co-precipitados com carbonatos, sendo a remobilização dos elementos controlada pela redução do pH e mudanças na composição iônica (MARIN et al., 1997). Neste caso, os elementos de maior importância foram o Ni, Pb e Zn, cujas concentrações foram maiores que o LDM, porém não representaram uma ameaça visto que eram níveis mais baixos que as demais frações.

Na F2 são extraídos os metais associados aos óxidos de ferro (Fe) e manganês (Mn). O Pb foi o metal mais associado a esta fração. Neste caso ele pode ser liberado sob condições redutoras, uma vez que alterações no potencial redox podem induzir à dissolução dos óxidos (TRAMONTE et al., 2018). As correntes diárias de maré, típicas do ecossistema manguezal, influenciam nas mudanças do potencial redox dos sedimentos estuarinos (CALMANO et al., 1993). As altas concentrações de Pb observadas nesta fração podem estar relacionadas à intensa atividade mineradora realizada no Alto Ribeira, região próxima à Cananeia (MAHIQUES et al., 2013) e às atividades vinculadas ao Porto de Santos e Cubatão em São Vicente (ABESSA, 2002; AZEVEDO et al., 2009). Este metal também está relacionado à fração redutora nos sedimentos da região de Cananeia, que estão disponíveis no ambiente para absorção da biota (TRAMONTE et al., 2016). Assim, o Pb continua sendo um elemento preocupante na região com teores disponíveis superiores aos seus valores de comparação (ISQG, antigo *TEL*) na maioria das amostras.

Os metais extraídos na F3 são aqueles associados à matéria orgânica e aos sulfetos, ambos presentes em grande quantidade no sedimento de manguezal (MACHADO et al., 2002). Todos os metais, exceto o Pb, estão associados à F3, sendo o Zn o elemento com as maiores concentrações nesta fração. Os elementos, quando associados a F3, podem ser liberados sob condições oxidantes, que ocorrem durante a ressuspensão de sedimentos e movimentos do ciclo de marés, fazendo com que partículas do sedimento entrem em contato com águas ricas em oxigênio (MARIN et al., 1997; MORILLO et al., 2004). Tais movimentos resultam na retenção de metais no sedimento e, conseqüentemente, em exposição crônica dos caranguejos e outros organismos a estes contaminantes (MACHADO et al., 2002; STORELLI; BARONE, 2013). Jitar et al. (2015) relataram que 90% da carga de contaminantes metálicos nos ecossistemas aquáticos estão associadas às partículas suspensas e sedimentos, contudo não foram observadas correlações entre essa matriz abiótica.

As relações entre as concentrações de metais e a razão isotópica de nitrogênio em diversas matrizes têm sido utilizadas para verificar a ocorrência de biomagnificação ou biodiluição em teias tróficas e, mesmo quando não se mostra significativa, permite verificar tendências de bioconcentração de metais em determinados grupos tróficos (FRAGOSO, 2013). O resultado da correlação entre as concentrações de metais e a razão isotópica do $\delta^{15}\text{N}$ na espécie *G. cruentata* e as demais matrizes (folhas e sedimento) foi significativo apenas para alguns elementos como o Cr na Ilha do Cardoso e Cu e Zn, em São Vicente (Tabela 4.3). Os dados apresentados na Figura 4.2 da composição isotópica nas diferentes matrizes, juntamente com as diferenças nos níveis de metais, dão suporte à hipótese de que a bioconcentração dos contaminantes ocorra entre os diferentes níveis tróficos no ambiente manguezal. Dessa forma, mais estudos tornam-se necessários para um melhor entendimento do papel ecológico desempenhado por essa espécie nos sistemas estuarinos.

3. CONCLUSÕES

Capítulo I

As maiores concentrações de metais foram encontradas nos organismos capturados na Ilha do Cardoso, área menos impactada. As diferenças entre as estações do ano devem estar relacionadas com o metabolismo e período reprodutivo da espécie. De maneira geral, as maiores concentrações de metais ocorreram no hepatopâncreas, devido ao papel “detoxificador” desse órgão, com exceção do Cr e do Zn, cujas concentrações foram mais elevadas nas brânquias e no músculo, respectivamente, provavelmente devido à função essencial desses elementos.

As concentrações de metais no sedimento foram maiores em São Vicente, mas estiveram abaixo dos valores estabelecidos para TEL e PEL nas duas áreas, indicando que não seriam esperados efeitos adversos para a biota local.

As altas concentrações de metais encontradas em todos os tecidos analisados de *Goniopsis cruentata* em ambas as regiões indicaram a espécie como imprópria para consumo humano.

Capítulo II

A análise do conteúdo estomacal confirmou a dominância de sedimento e de folhas de mangue na dieta de *Goniopsis cruentata*, o que comprova o importante papel ecológico da espécie como forrageadora nesses ambientes e, conseqüentemente, responsável pela ciclagem desses nutrientes. Os resultados da análise de isótopos estáveis somados aos das análises do conteúdo estomacal permitem inferir sobre a necessidade de investigações sobre os mecanismos de assimilação desses alimentos de baixa qualidade, com o intuito de compreender as interações da espécie com o ambiente manguezal e suas fontes de nutrientes.

Capítulo III

As maiores concentrações de mercúrio foram encontradas no tecido branquial e no conteúdo estomacal de *Goniopsis cruentata* da região da Ilha do Cardoso e no tecido muscular em São Vicente. Esses resultados indicaram a respiração e a alimentação como as vias principais de entrada deste contaminante em *G. cruentata*. O hepatopâncreas

participa dos mecanismos de detoxificação, apresentando baixas concentrações e, conseqüentemente, diminuindo a assimilação no tecido muscular.

Os valores das concentrações encontradas nas folhas nos diferentes estágios de maturação foram, em sua maioria, abaixo do limite de detecção do método, com exceção das folhas senescentes da região de São Vicente. A presença de atividades antrópicas afeta diretamente os níveis de Hg nos organismos, mas é necessária uma maior atenção em áreas remotas que podem ser afetadas com o transporte e a deposição atmosférica desse elemento.

Capítulo IV

As maiores concentrações de metais encontradas no sedimento e na vegetação quando comparadas aos menores valores dos tecidos e do conteúdo estomacal de *Goniopsis cruentata* indicaram a existência de mecanismos importantes na espécie para evitar uma maior contaminação através destes itens alimentares. Diferentes padrões de acumulação foram observados entre os locais analisados, sendo que os organismos de áreas consideradas mais pristinas, apresentaram maiores níveis de As, Cd e Pb. As assinaturas isotópicas de todas as amostras analisadas estão de acordo com o esperado para a matriz. As correlações entre as concentrações de metais e as razões de C e N são coerentes com a literatura, sendo os metais essenciais aqueles responsáveis por correlações significativas na biota (caranguejo e folhas) analisada.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A combinação das análises de conteúdo estomacal e da razão isotópica de C e N nos tecidos da espécie *G. cruentata*, bem como de seus itens alimentares de maior ocorrência, pode fornecer informações importantes sobre a relação ecológica desses organismos com o meio onde vivem. Esses resultados, quando associados a níveis de contaminação, permitem um melhor entendimento da influência dos fatores bióticos e abióticos e de outros aspectos relacionados à exposição aos compostos contaminantes, contribuindo para o estudo da vulnerabilidade da espécie em questão.

Este estudo teve como hipótese que a diferença nos níveis de impactos antrópicos nas duas áreas amostradas (Sistema Estuarino Santos-São Vicente e o Complexo Estuarino-Lagunar Cananéia-Iguape) tenha influência na bioacumulação dos metais em tecidos do caranguejo aratu (*Goniopsis cruentata*), sendo os organismos residentes em

áreas mais impactadas aqueles com os maiores níveis de contaminantes. No entanto, neste estudo ocorreu o contrário, indicando uma possível adaptação fisiológica dos indivíduos em relação à presença dos metais.

Devido ao valor econômico da espécie, também foram feitas comparações entre as concentrações encontrados com aquelas permitidas para consumo humano. Os elementos contaminantes apresentaram-se acima desses níveis, com exceção das concentrações de Hg. Embora este resultado não revele números alarmantes, estudos de concentrações desse contaminante e dos demais metais em áreas de manguezais são relevantes e úteis para monitorar a saúde da população e do meio ambiente. O uso de *Goniopsis cruentata* como indicador biológico se mostrou adequado para futuros programas de monitoramento ambiental com o intuito de qualificar sistemas estuarinos e de manguezal, bem como de avaliar a evolução da contaminação de metais pesadosnesses ambientes.

REFERÊNCIAS¹

ABDALLAH, M.A.M. Trace element levels in some commercially valuable fish species from coastal waters of Mediterranean Sea, Egypt. **Journal of Marine Systems**, v. 73, p. 114-122, 2008.

ABESSA, D.M.S. **Avaliação da qualidade de sedimentos do Sistema Estuarino de Santos, SP, Brasil**. 295 f. Tese de doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

ABESSA, D.M.S.; CARR, R.S.; RACHID, B.R.F.; SOUSA, E.C.P.M.; HORTELANI, M.A.; SARKIS, J.E. Influence of a Brazilian sewage outfall on the toxicity and contamination of adjacent sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, p. 875-885, 2005.

ADAMS, D.H.; ENGEL, M.E. Mercury, lead and cadmium in blue crabs, *Callinectes sapidus*, from the Atlantic coast of Florida, USA: A multipredator approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 102, p. 196–201, 2014.

AHEARN, H.R.H.; AHEARN, G.A.; GOMME, J. Effects of cadmium on integumentary uptake of 3H-L-histidine in the marine polychaete worm, *Nereis succinea*. **Journal of Experimental Biology**, v. 203, p. 2877–2885, 2000.

AHEARN, G.A.; MANDAL, P.K.; MANDAL, A. Mechanisms of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: a review. **Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic and Environmental Physiology**, v. 174, p. 439–452, 2004.

AKOTO, O.; BRUCE, T.E.; DARKO, G. Heavy metals pollution profiles in streams serving the Owabi reservoir. **Journal of Environmental Science and Technology**, v. 2, p. 354-359, 2008.

¹De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023).

ALLEN, B.J.; RODGERS, B.; TUAN, Y.; LEVINTON, J.S. Size-dependent temperature and desiccation constraints on performance capacity: implications for sexual selection in a fiddler crab. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 438, p. 93–99, 2012.

ALMEIDA, E.V.; KÜTTER, V.T.; MARQUES, E.D.; FILHO-SILVA, E.V. First assessment of trace metal concentration in mangrove crab eggs and other tissues, SE Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, p. 421- 435, 2016.

ALONGI, D.M. Present state and future of the world's mangrove forests. **Environmental Conservation**, v. 29, p. 331–349, 2002.

ALONGI, D.M. Mangrove forests: Resilience, protection from tsunamis, and responses to global climate change. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 76, n. 1, p. 1-13, 2008.

ÁLVARO, N.V.; NETO, A.I.; COUTO, R.P.; AZEVEDO, J.M.N.; RODRIGUES, A.S. Crabs tell the difference – relating trace metal content with land use and landscape attributes. **Chemosphere**, v. 144, p. 1377–1383, 2015.

ANNABI, A.; BARDELLI, R.; VIZZINI, S.; MANCINELLI, G. Baseline assessment of heavy metals content and trophic position of the invasive blue swimming crab *Portunus segnis* (Forskål, 1775) in the Gulf of Gabès (Tunisia). **Marine Pollution Bulletin**, v. 136, p. 454-463, 2018.

ARAÚJO, B.F.; ALMEIDA, M.G.; RANGEL, T.P.; REZENDE, C.E. Distribuição e fracionamento do Hg em sedimentos do Rio Paraíba do Sul e RJ, Brasil. **Química Nova**, v. 38, n. 1, p. 30-36, 2015.

ASHTON, E.C.; HOGARTH, P.J.; ORMOND, R. Breakdown of mangrove leaf litter in a managed mangrove forest in Peninsular Malaysia. **Hydrobiologia**, v. 413, 77-88, 1999.

ATKINSON, D. Temperature and organism size: a biological law for ectotherms? **Advances in Ecological Research**, v. 25, p. 1–58, 1994.

AZEVEDO, J.S.; BRAGA, E.S.; FAVARO, D.T.; PERRETTI, A.R.; REZENDE, C.E.; SOUZA, C.M. Total mercury in sediments and in Brazilian Ariidae catfish from two estuaries under different anthropogenic influence. **Marine pollution bulletin**, v. 62, n. 12, p. 2724-31, 2011.

AZEVEDO, J.S.; HORTELLANI, M.A.; SARKIS, J.E.S. Accumulation and distribution of metals in the tissues of two catfish species from Cananéia and Santos-São Vicente estuaries. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 60, p. 463–472, 2012.

AZEVEDO, J.S.; SERAFIM, A.; COMPANY, R.; BRAGA, E.S.; FÁVARO, D.I.; BEBIANNO, M.J. Biomarkers of exposure to metal contamination and lipid peroxidation in the benthic fish *Cathorops spixii* from two estuaries in South America, Brazil. **Ecotoxicology**, v. 18, 1001-1010, 2009.

BAETA, A.; CABRAL, H.N.; MARQUES, J.C.; PARDAL, M.A. Feeding ecology of the green crab *Carcinus maenas* (L.,1758) in a temperate estuary, Portugal. **Crustaceana**, v. 79, n. 10, p. 1181-1193, 2006.

BANCI, K.R.S.; MORI, G.M.; OLIVEIRA, M.A.; PAGANELLI, F.L.; PEREIRA, M.R.; PINHEIRO, M.A.A. Can environmental pollution by metals change genetic diversity? *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) as a study case in Southeastern Brazilian mangroves. **Marine Pollution Bulletin**, v. 116, p. 440- 447, 2017.

BARONE, G.; STUFFLER, R.G.; STORELLI, M. Comparative study on trace metal accumulation in the liver of two fish species (Torpedinidae): Concentration-size relationship. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 97, p. 73-77, 2013.

BELTRAME, M.O.; DE MARCO, S.G.; MARCOVECCHIO, J.E. Influences of sex, habitat, and seasonality on heavy-metal concentrations in the burrowing crab (*Neohelice granulata*) from a coastal lagoon in Argentina. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 58, n. 3, p. 746–756, 2010.

BELTRAME, M.O.; DE MARCO, S.G.; MARCOVECCHIO, J.E. The burrowing crab *Neohelice granulata* as potential bioindicator of heavy metals in estuarine systems of the Atlantic coast of Argentina. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 172, p. 379–389, 2011.

BERGEY, L.; WEIS, J.S. Molting as a mechanism of depuration of metals in the fiddler crab, *Uca pugnax*. **Marine Environmental Research**, v. 64, p. 556–562, 2007.

BERNARDES, M.E.C.; MIRANDA, L.B. Circulação estacionária e estratificação do sal em canais estuarinos: simulação com modelos analíticos. **Revista Brasileira de Oceanografia**, v. 49, n. 1-2, p. 115- 132, 2001.

BODIN, N.; LE LOC', H.F.; HILY, C. Effect of lipid removal on carbon and nitrogen stable isotope ratios in crustacean tissues. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 341, p. 168–175, 2007.

BOEHM, F.R.; SANDRINI-NETO, L.; MOENS, T.; LANA, P.C. Sewage input reduces the consumption of *Rhizophora mangle* propagules by crabs in a subtropical mangrove system. **Marine Environmental Research**, v. 122, p. 23-32, 2016.

BORDON, I.C.; EMERENCIANO, A.A.K.; MELO, J.R.C.; SILVA, J.R.M.C.; FAVARO, D.I.T.; GUSSO- CHOUERI, P.G.; CAMPOS, B.G.; ABESSA, D.M.S. Implications on the Pb bioaccumulation and metallothionein levels due to dietary and waterborne exposures: The *Callinectes danae* case. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 162, p. 415–422, 2018.

BOTELHO, E.R.O.; ANDRADE, C.E.R.; SANTOS, M.C.F. Estudo da população de aratu-do-mangue, *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustacea, Decapoda, Grapsidae) no estuário do rio Camaragibe, Barra de Camaragibe (Alagoas – Brasil). **Boletim Técnico Científico do CEPENE**, Tamandaré, v. 12. n.1, p. 91-98, 2004.

BOUILLON, S.; CONNOLLY, R.M.; LEE, S.Y. Organic matter exchange and cycling in mangrove ecosystems: Recent insights from stable isotope studies. **Journal of Sea Research**, v. 59, n. 1-2, p. 44–58, 2008.

BOUILLON, S.; DAHDOUH-GUEBAS, F.; RAO, A.; KOEDAM, N.; DEHAIRS, F. Sources of organic carbon in mangrove sediments: variability and possible ecological implications. **Hydrobiologia**, v. 495, p. 33–39, 2003.

BOUILLON, S.; KOEDAM, N.; RAMAN, A.V.; DEHAIRS, F. Primary producers sustaining macro-invertebrate communities in intertidal mangrove forests. **Oecologia**, v. 130, p. 441–448, 2002.

BOUILLON, S.; MOENS, T.; OVERMEER, I.; KOEDAM, N.; DEHAIRS, F. Resource utilization patterns of epifauna from mangrove forests with contrasting inputs of local versus imported organic matter. **Marine Ecology Progress Series**, v. 278, p. 77–88, 2004.

BRAGA, E.S.; BONETTI, C.V.D.H.; BURONE, L.; BONETTI FILHO, J. Eutrophication and bacterial pollution caused by industrial and domestic wastes at the Baixada Santista Estuarine System–Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 2, p. 165–173, 2000.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria ANVISA nº 685. Princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 28 ago. 1998.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 42, de 29 de agosto de 2013. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 30 ago. 2013.

BROADLEY, M.; BROWN, P.; CAKMAK, I.; RENGEL, Z.; ZHAO, F. Function of nutrients: micronutrients,” in **Marschner’s Mineral Nutrition of Higher Plants**, 3rd Ed., London: Marschner, P., 2012. p. 191–248.

BROUWER, M.; LEE, R.F. Responses to toxic chemicals at the molecular, cellular, tissue, and organismal level. In V.S. Kennedy and L.E. Cronin, editors. **The blue crab *Callinectes sapidus***. Maryland Sea Grant, Maryland, 2007. p. 565–654.

BRYAN, G.W. Recent trends in research on heavy-metal contamination in the sea. **Helgoländer Meeresuntersuchungen**, v. 33, n. 6, 1980.

BUI, T.H.H.; LEE, S.Y. Does “you are what you eat” apply to mangrove grass crabs? **PLoS One**, v. 9, n. 2, e89074, 2014.

BURUAEM, L.M.; HORTELLANI, M.A.; SARKIS, J.E.; COSTA-LOTUFO, L.V.; ABESSA, D.M. Contamination of port zone sediments by metals from Large Marine Ecosystems of Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, p. 479–488, 2012.

BURUAEM, L.M.; DE CASTRO, Í.B.; HORTELLANI, M.A.; TANIGUCHI, S.; FILLMANN, G. Integrated quality assessment of sediments from harbour areas in Santos-São Vicente Estuarine System, Southern Brazil Estuarine. **Coastal and Shelf Science**, v. 130, p. 179–189, 2013.

BURY, N.R.; GROSELL, M.; GROVER, A.K.; WOOD, C.M. ATP-dependent silver transport across the basolateral membrane of rainbow trout gills. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 159, p. 1–8, 1999.

BURY, N.R.; WALKER, P.A.; GLOVER, C.N. Nutritive metal uptake in teleost fish. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, p. 11–23, 2003.

CABANELLAS-REBOREDO, M.; DEUDERO, S.; BLANCO, A. Stable isotope signatures ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) of different tissues of *Pinna nobilis* Linnaeus, 1758 (Bivalvia): isotopic variations among tissues and between seasons. **Journal of Molluscan Studies**, v. 75, p. 343–349, 2009.

CALMANO, W.; HONG, J.; FÖRSTNER, U. Binding and mobilization of heavy metals in contaminated sediments affected by pH and redox potential. **Water Science and Technology**, v. 28, n. 8–9, p. 223–235, 1993.

CAPPARELLI, M.V.; GUSSO-CHOUERI, P. K.; ABESSA, D.M.S.; MCNAMARA, J. C. Seasonal environmental parameters influence biochemical responses of the fiddler crab *Minuca rapax* to contamination in situ. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 216, p. 93–100, 2019.

CANLI, M.; FURNESS, R.W. Heavy metals in tissue of the Norway lobster *Nephrops norvegicus*: effects of sex, size and season. **Chemistry and Ecology**, v. 8, p. 19-32, 1993.

CARVALHO, C.E.V.; LACERDA, L.D. Heavy Metals in the Guanabara Bay Biota: Why Such Low Concentrations? **Ciência e Cultura**, v. 44, p. 184-186, 1992.

CERVELLIONE, F.; MCGURK, C.; VAN DEN BROECK, W. “Perigastric organ”: a replacement name for the “hepatopancreas” of Decapoda. **Journal of Crustacean Biology**, v. 37, n. 3, p. 353-355, 2017.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Sistema Estuarino de Santos e São Vicente. **Relatório do Programa de Controle de Poluição**. 2001. 178 p.

CETESB - Companhia de Tecnologia e Saneamento ambiental do Estado de São Paulo. **Qualidade das águas litorâneas no estado de São Paulo: relatório técnico – balneabilidade das praias**. 2008. 249 p.

CHAGA-SOARES, F.; PEREIRA, O.M.; SANTOS, E.P. Contribuição ao Ciclo Biológico de *Penaeus schmitti* Burkenroad, 1936, *Penaeus brasiliensis* Latreille, 1817 e *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967, Na Região Lagunar-Estuarina de Cananéia. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, Brasil, v. 22., p. 49–59, 1995.

CHAPMAN, P.M.; WANG, F.Y.; JANSSEN, C.; PERSOONE, G.; ALLEN, H.E. Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 55, p. 2221–2243, 1998.

CHEN, G.C.; YE, Y. Leaf consumption by *Sesarma plicata* in a mangrove forest at Jiulongjiang estuary, China. **Marine Biology**, v. 154, p. 997-1007, 2008.

CHEN, L.G.; LIU, M.; FAN, R.F.; MA, S.X.; XU, Z.C.; REN, M.Z.; HE, Q.S. Mercury speciation and emission from municipal solid waste incinerators in the pearl river delta. South China. **Science of the Total Environment**, v. 447, p. 396–402, 2013.

CHEN, M.H.; CHEN, C.Y.; CHOU, H.Y.; WEN, T.C. Gender and size effects of metal bioaccumulation on the rock crab, *Thalamita crenata*, in Dapeng Bay, southwestern Taiwan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, p. 463–484, 2005.

CHEUNG, M.S.; WANG, W-S. Analyzing biomagnification of metals in different marine food webs using nitrogen isotopes. **Marine Pollution Bulletin**, v. 56, p. 2082–2105, 2008.

CHOY, S.C. Natural diet and feeding habits of the crabs *Liocarcinus puber* and *L. holsatus* (Decapoda, Brachyura, Portunidae). **Marine Ecology Progress Series**, v. 31, p. 87-99, 1986.

CIPRO, C.V.Z.; MONTONE, R. C.; BUSTAMANTE, P. Mercury in the ecosystem of Admiralty Bay, King George Island, Antarctica: Occurrence and trophic distribution. **Marine Pollution Bulletin**, v. 114, p. 564–570, 2017.

CLARK, R.B. **Marine Pollution**. Oxford University Press: Oxford, 2001. 161 p.

CLAUDINO, M.C.; PESSANHA, A.L.M.; ARAUJO, F.G.; GARCIA, A.M. Trophic connectivity and basal food sources sustaining tropical aquatic consumers along a mangrove to ocean gradient. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, v. 167, p. 45–55, 2015.

COBO, V.J.; FRANSOZO, A. External factors determining breeding season in the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Crustacea, Decapoda, Grapsidae), on the São Paulo State. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 2, p. 213-217, 2003.

COBO, V.J.; FRANSOZO, A. Physiological maturity and relationships of growth and reproduction in the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille) (Brachyura, Grapsidae) on the coast of São Paulo, **Brazil**. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 1, p. 219-223, 2005.

CONTI, L.A.; ARAÚJO, C.A.S.; CUNHA-LIGNON, M. Spatial database modeling for mangrove forests mapping; example of two estuarine systems in Brazil. **Modeling Earth Systems and Environment**, v. 2, p. 73, 2016.

COOMBS, T.L.; GEORGE, S.G. Mechanisms of immobilization and detoxification of metals in marine organisms. In: McLusky D. S., Berry A. J. (eds.) **Physiology and behaviour of marine organisms**. Oxford and New York, Pergamon Press, 1978. p. 179–187.

CORDEIRO, C.A.M.M.; COSTA, T.M. Evaluation of solid residues removed from a mangrove swamp in the São Vicente Estuary, SP, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 1762–1767, 2010.

CORRÊA-JÚNIOR, J.D.; ALLODI, S.; AMADO-FILHO, G.M.; FARINA, M. Zinc accumulation in phosphate granules of *Ucides cordatus* hepatopancreas, **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 217–221, 2000.

COSTA, R.G.; BAH, H.A.F.; BANDEIRA, M.J.; OLIVEIRA, S.S.P.; MENEZES-FILHO, J.A. Lead and cadmium in mangrove root crab (*Goniopsis cruentata*), *in natura* and at food processing stages. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 10, n. 3, p. 216-222, 2017.

COTTA, J.A.O.; REZENDE, M.O.O.; PIOVANI, M.R. Avaliação do teor de metais em sedimento do Rio Betari no parque estadual turístico do Alto Ribeira - Petar, São Paulo, Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 40–45, 2006.

CROTEAU, M.-N.M.; LUOMA, S.N.S.; STEWART, A.R. Trophic transfer of metals along freshwater food webs: evidence of cadmium biomagnification in nature. **Limnology and Oceanography**, v. 50, p. 1511–1519, 2005.

CUI, B.; ZHANG, Q.; ZHANG, K.; LIU, X.; ZHANG, H. Analyzing Trophic Transfer of Heavy Metals for Food Webs in the Newly-Formed Wetlands of the Yellow River Delta, China. **Environmental pollution**, v. 159, p. 1297-306, 2011.

CUNHA-LIGNON, M.; COELHO-JR, C.; ALMEIDA, R.; MENGHINI, R.; CORREA, F.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; CINTRÓN-MOLERO, G.; DAHDOUH-GUEBAS, F. Mangrove forests and sedimentary processes on the south coast of São Paulo state (Brazil). **Journal of Coastal Research**, v. 56, p. 405–409, 2009.

CUNHA-LIGNON, M.; KAMPEL, M.; MENGHINI, R.P.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; CINTRÓN, G.; DAHDOUH-GUEBAS, F. Mangrove forests submitted to depositional processes and salinity variation investigated using satellite images and vegetation structure surveys. **Journal of Coastal Research**, v. 64, p. 344-348, 2011.

CUONG, D.T.; OBBARD, J.P. Metal speciation in coastal marine sediments from Singapore using a modified BCR-sequential extraction procedure. **Applied Geochemistry**, v. 21, p. 1335–1346, 2006.

DAVANSO, T.M.; TADDEI, F.G.; SIMÕES, S.M.; FRANSOZO, A.; COSTA, R.C. Population dynamics of the freshwater crab *Dilocarcinus pagei* in tropical waters in southeastern Brazil. **Journal of Crustacean Biology**, v. 33, p. 235-243, 2013.

DE LIRA, J.J.P.R.; CALADO, T.C.; DOS, S.; REZENDE, C.F.; SILVA, J.R.F. Comparative biology of the crab *Goniopsis cruentata*: geographic variation of body size, sexual maturity, and allometric growth. **Helgoland Marine Research**, v. 69, p. 335–342, 2015.

DEHN, L.A.; FOLLMANN, E.H.; THOMAS, D.L.; SHEFFIELD, G.G.; ROSA, C.; DUFFY, L.K.; O'HARA, T.M. Trophic relationships in an Arctic food web and implications for trace metal transfer. **Science of the Total Environment**, v. 362, p. 103–123, 2006.

DENIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 42, p. 495–506, 1978.

DIAS NETO, J. **Proposta de plano nacional de gestão para o uso sustentável do Caranguejo-Uçá, do Guaiamum e do Siri-Azul**. Brasília: IBAMA, 2011. 156 p.

DIEGUES, A.C. Conservação e Desenvolvimento Sustentado de Ecossistemas Litorâneos No Brasil. Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo. *In: Simpósio sobre Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileira: síntese dos conhecimentos*. Anais, v. 3, ACIESP, São Paulo, 1987. 363 p.

DING, Z.; WU, H.; FENG, X.; LIU, J.; YUAN, Y.; ZHANG, L.; LIN, G.; JIAYONG, P. Distribution of Hg in mangrove trees and its implication for Hg enrichment in the mangrove ecosystem. **Applied Geochemistry**, v. 26, p. 205-212, 2011.

DIVINE, L.M.; BLUHM, B.A.; MUETER, F.J.; IKEN, K. Diet analysis of Alaska Arctics now crabs (*Chionoecetes opilio*) using stomach contents and $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ stable isotopes. **Deep-Sea Research II**, v. 135, p. 124–136, 2017.

DUARTE, L.F.A.; SOUZA, C.A.; NOBRE, C.R.; PEREIRA, C.D.S.; PINHEIRO, M.A.A. Multi-level biological responses in *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Brachyura, Ucididae) as indicators of conservation status in mangrove areas from the western Atlantic, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 133, p. 176–187, 2016.

DUARTE, L.F.A.; SOUZA, C.A.; PEREIRA, C.D.S.; PINHEIRO, M.A.A. Metal toxicity assessment by sentinel species of mangroves: In situ case study integrating chemical and biomarkers analyses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 145, p. 367- 376, 2017.

EISLER, R. Crustaceans. In: Eisler, R., (ed.). **Compendium of Trace Metals and Marine Biota**. Elsevier, 2010. p. 399–516.

ELLIOTT, M.; MCLUSKY, D.S. The need for definitions in understanding estuaries. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 55, n. 6, p. 815–827, 2002.

ELLIOTT, M.; WHITFIELD, A.K. Challenging paradigms in estuarine ecology and management. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 94, p. 306–314, 2011.

ENGEL, D.W.; ROESIJADI, G. Metallothioneins: a monitoring tool. In: Vernberg, W.B., Calabreze, A., Thurberg, F.P. e Vernberg, F.J., (ed). **Pollution Physiology of Estuarine**

Organism. University of South Carolina Press, Columbia, Belle W. Baruch Library in Marine Science. p. 421-438, 1987.

ENGEL, D.W.; BROUWER, M. Crustaceans as models of metal metabolism: I. Effects of the molt cycle on blue crab metal metabolism and metallothionein. **Marine Environmental Research**, v. 35, p. 1- 5, 1993.

ENGEL, D.W.; THAYER, G.W. Effects of habitat alteration on blue crabs. **Journal of Shellfish Research**, v. 17, p. 579–585, 1998.

ENVIRONMENT CANADA. 1999. **Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life.** Summary tables. Disponível em: <<http://www.ec.gc.ca>>. Acesso em: outubro de 2017.

EPSTEIN, E; BLOOM, A.J. **Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives**, 2nd ed., Sinauer Associates, Sunderland, MA, USA, 2005. p. 399.

ESPINOSA, F.; GUERRA- GARCÍA, J.M.; GARCÍA – GÓMEZ, J.C. Sewage pollution and extinction risk: an endangered limpet as a bioindicator? **Biodiversity and Conservation**, v. 16, n. 2, p. 377- 397, 2007.

FANELLI, E.; CARTES, J.E. Temporal variations in the feeding habits and trophic levels of three deep-sea demersal fishes from the western Mediterranean Sea, based on stomach contents and stable isotope analyses. **Marine Ecology Progress Series**, v. 402, p. 213-232, 2010.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The World's Mangroves: 1980–2005.** FAO Forestry Paper 153. Food and Agricultural Organization, Rome, Italy. 2007. p. 77

FAROOQUI, Z.; SIDDIQUI, P.J. Assessment of vegetative phenology with respect to leaf elongation pattern of *Avicennia marina* and *Rhizophora mucronata* in Hajambro creek, Indus delta, Pakistan. **Journal of Tropical Life Science**, v. 4, p. 142-148, 2014.

FERREIRA, C.A.; LACERDA, L.D. Degradation and conservation of Brazilian mangroves, status and perspectives. **Ocean & Coastal Management**, v. 125, p. 38-46, 2016.

FERM, V.H.; LAYTON JR, W.M. Teratogenic and mutagenic effects of cadmium. Pages 743-756 in J. O. Nriagu (ed.). **Cadmium in the environment. Part 2, Health effects**. John Wiley, New York, 1981.

FRAGOSO, C.P. **Mercúrio em compartimentos biótico e abióticos do manguezal da foz do Rio Paraíba do Sul (RJ), utilizando a composição elementar e isotópica do carbono e do nitrogênio**. 99 f. Dissertação de Mestrado. Centro de Biociências e Biotecnologia -Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro, 2013.

FRANCHI, M.; MENEGÁRIO, A.A.; BROSSI-GARCIA, A.L.; CHAGAS, G.C.; SILVA, M.V.; PIÃO, A.C.S.; GOVONE, J.S. Bioconcentration of Cd and Pb by the River Crab *Trichodactylus fluviatilis* (Crustacea: Decapoda). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 2, p. 230–238, 2011.

FURNESS, R.W.; RAINBOW, P.S. **Heavy Metals in the Marine Environment**. CRC Press, 1990. 256 p.

GALL, J.E.; RAJAKARUNA, N. The physiology, functional genomics, and applied ecology of heavy metal-tolerant Brassicaceae. In: **Brassicaceae: Characterization, Functional Genomics, and Health Benefits**. Nova Science Publishers, Inc., New York, NY, 2013, p. 121-148.

GANNES, L.Z.; O'BRIEN, D.M.; DEL RIO, C.M. Stable isotopes in animal ecology: assumptions, caveats, and a call for laboratory experiments. **Ecology**, v. 78, p. 1271–1276, 1997.

GARCIA, J.R.; LOPES, A.E.B.; SILVESTRE, A.K.C.; GRABOWSKI, R.C.; BARIOTO, J.G.; COSTA, ROGÉRIO; CASTILHO, A. Environmental characterization of the Cananéia coastal area and its associated estuarine system (São Paulo state, Brazil):

Considerations for three Penaeoidean shrimp species. **Regional Studies in Marine Science**, v. 19, p. 9-16, 2018.

GARCIA, J.R.; WOLF, M.R.; COSTA, R.C.; CASTILHO, A.L. Growth and reproduction of the shrimp *Rimapenaeus constrictus* (Decapoda: Penaeidae) from the southeastern coast of Brazil. **Regional Studies in Marine Science**, v. 6, p. 1–9, 2016.

GHOSH, S.; BAKSHI, M.; BHATTACHARYYA, S.; NATH, B.; CHAUDHURI, P. A Review of Threats and Vulnerabilities to Mangrove Habitats: With Special Emphasis on East Coast of India. **Journal of Earth Science & Climatic Change**, v. 6, n. 4, 2015.

GIARRIZZO, T.; SCHWAMBORN, R.; SAINT-PAUL, U. Utilization of carbon sources in a northern Brazilian mangrove ecosystem. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 95, p. 447–457, 2011.

GIDDINS, R.L.; LUCAS, J.S.; NEILSON, M.J.; RICHARDS, G.N. Feeding ecology of the mangrove crab *Neosarmatium smithi* (Crustacea: Decapoda: Sesarmidae). **Marine Ecology Progress Series**, v. 33, p. 147–155, 1986.

GIRI, C.; OCHIENG, E.; TIESZEN, L.L.; ZHU, Z.; SINGH, A.; LOVELAND, T.; MASEK, J.; DUKE, N. Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data. **Global Ecology and Biogeography**, v. 20, n. 1, p. 154–159, 2011.

GOROKHOVA, E.; HANSSON, S. An experimental study on variations in stable carbon and nitrogen isotope fractionation during growth of *Mysis mixta* and *Neomysis integer*. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 56, p. 2203–2210, 1999.

GRAHAM, M.C.; EAVES, M.A.; FARMER, J.G.; DOBSON, J.; FALLICK, A.E. A study of carbon and nitrogen stable isotope and elemental ratios as potential indicators of source and fate of organic matter in sediments of the Forth Estuary, Scotland. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 51, p. 375–380, 2001.

GRIBOFF, J.; HORACEK, M.; WUNDERLIN, D. Bioaccumulation and trophic transfer of metals, As and Se through a freshwater food web affected by anthropic pollution in Córdoba, Argentina. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 148, p. 275-284, 2017.

GROSELL, M.; WOOD, C.M. Copper uptake across rainbow trout gills: mechanisms of apical entry. **Journal of Experimental Biology**, v. 205, p. 1179–1188, 2002.

GUIMARÃES, V.; SÍGOLO, J.B. Associação de resíduos da metalurgia com sedimentos em suspensão – Rio Ribeira de Iguape. *Geociências USP. Série Científica*, v. 8, n. 2, p. 1–10, 2008.

HALL, J. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1-11, 2002.

HARADA, Y.; LEE, S.Y. Foraging behavior of the mangrove sesamid crab *Neosarmatium trispinosum* enhances food intake and nutrient retention in a lowquality food environment. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 174, n. 41–48, 2016.

HARARI, J.; GORDON, M. Simulações numéricas da dispersão de substâncias no Porto e Baía de Santos, sob a ação de marés e ventos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 6, n. 4, p. 115–131, 2001.

HARRIS, R.R.; SANTOS, M.C.F. Heavy metal contamination and physiological variability in the Brazilian mangrove crabs *Ucides cordatus* and *Callinectes danae* (Crustacea: Decapoda). **Marine Biology**, v. 137, p. 691–703, 2000.

HEDGES, J.I.; KEIL, R.G.; BENNER, R. What happens to terrestrial organic matter in the ocean? **Organic Geochemistry**, v. 27, n. 5-6, p. 195-212, 1997.

HENRY, R.P.; GEHRICH, S.; WEIHRAUCH, D.; TOWLE, D.W. Salinity-mediated carbonic anhydrase induction in the gills of the euryhaline green crab, *Carcinus maenas*. **Comparative Biochemistry & Physiology - Part A: Molecular and Integrative Physiology**, v. 136, p. 243–258, 2003.

HERBON, C.M.; NORDHAUS, I. Experimental determination of stable carbon and nitrogen isotope fractionation between mangrove leaves and crabs. **Marine Ecology Progress Series**, v. 490, p. 91–105, 2013.

HIROSE, K. Chemical Speciation of Trace Metals in Seawater: A Review. **Analytical Science**, v. 22, p. 1055- 1063, 2006.

HOBSON, K.A.; ALISAUSKAS, R.T.; CLARK, R.G. Stable-Nitrogen isotope enrichment in avian tissues due to fasting and nutritional stress: Implications for isotopic analyses of diet. **Condor**, v. 95, p. 388–394, 1993.

HORTELLANI, M.A.; SARKIS, J.E.S.; BONETTI, J.; BONETTI, C. Evaluation of Mercury Contamination in Sediments from Santos – São Vicente Estuarine System, São Paulo State, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6a, p. 1140-1149, 2005.

HOSSAIN, M.A.; PITYADTIDA, P.; DA SILVA, J.A.T.; FUJITA, M. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation. **Journal of Botany**, v. 2012, p. 1-37, 2012.

HSU-KIM, H.; KUCHARZYK, K.H.; ZHANG, T.; DESHUSSES, M.A. Mechanisms regulating mercury bioavailability for methylating microorganisms in the aquatic environment: a critical review. **Environmental Science & Technology**, v. 47, p. 2441–2456, 2013.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **GEO Brasil 2002 - Perspectivas do Meio Ambiente no Brasil**. Edições IBAMA, 2002. 440 p.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo demográfico: 2010**. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 29 fev. 2016.

IMGRABEN, S.; DITTMANN, S. Leaf litter dynamics and litter consumption in two temperate South Australian mangrove forests. **Journal of Sea Research**, v. 59, p. 83–93, 2008.

JACKSON, T.A. Long-range atmospheric transport of mercury to ecosystems and the importance of anthropogenic emissions – a critical review and evaluation of the published evidence. **Environmental Reviews**, v. 5, p. 99–120, 1997.

JECKEL, W.H.; ROTH, R.R.; RICCI, L. Patterns of trace-metal distribution in tissues of *Pleoticus muelleri* (Crustacea: Decapoda: Solenoceridae). **Marine Biology**, v. 125, p. 297–306, 1996.

JĘDRUCH, A.; BEŁDOWSKA, M.; GRACA, B. Seasonal variation in accumulation of mercury in the benthic macrofauna in a temperate coastal zone (Gulf of Gdańsk). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 164, p. 305–316, 2018.

JITAR, O.; TEODOSIU, C.; OROS, A.; PLAVAN, G.; NICOARA, M. Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms from the Romanian sector of the Black Sea New. **Journal of Biotechnology**, v. 32, n. 3, p. 369-378, 2015.

JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES. Meeting (74th: 2011: Rome, Italy) & World Health Organization. **Safety evaluation of certain food additives and contaminants: prepared by the Seventy fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)**. World Health Organization, 2012. 825 p.

KABATA-PENDIAS, A.; PENDIAS, H. **Trace elements in soils and plants**. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. 413 p.

KAMARUZZAMAN, B.Y.; SHARLINDA, M.Z.R.; JOHN, B.A.; WAZNAH, A.S. Accumulation and distribution of lead and copper in *Avicennia marina* and *Rhizophora apiculata* from Balok mangrove forest, Pahang, Malaysia. **Sains Malaysiana**, v. 40, p. 555–560, 2011.

KAUFMAN, M.R.; GRADINGER, R.R.; BLUHM, B.A.; O'BRIEN, D.M. Using stable isotopes to assess carbon and nitrogen turnover in the Arctic sympagic amphipod *Onisimus litoralis*. **Oecologia**, v. 158, n. 1, p. 11–22, 2008.

KELDERMAN, P.; DROSSAERT, W.M.E; ZHANG, M.; GALIONE, L.S; OKONKWO, L.C.; CLARISSE, I.A. Pollution assessment of the canal sediments in the city of Delft (The Netherlands). **Water Research**, v. 34. p. 936-944, 2000.

KELDERMAN, P.; OSMAN, A.A. Effect of redox potential on heavy metal binding forms in polluted canal sediments in Delft (The Netherlands). **Water Research**, v. 41, p. 4251–4261, 2007.

KIRSCHBAUM, A.A.; SERIANI, R.; PEREIRA, C.D.S.; ASSUNÇÃO, A.; ABESSA, D.M S; ROTUNDO, M.M.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. Cytogenotoxicity biomarkers in fat snook *Centropomus parallelus* from Cananéia and São Vicente estuaries, SP, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v.32, n.1, p. 151- 154, 2009.

KOCH, V.; NORDHAUS, I. Feeding ecology and ecological role of North Brazilian mangrove crabs. In **Mangrove Dynamics and Management in North Brazil**. Edited by Saint-Paul U, Schneider H. Ecological Studies, 211. Springer, p. 265-273, 2010.

KON, K.; KUROKURA, H.; HAYASHIZAKI, K. Role of microhabitats in food webs of benthic communities in a mangrove forest. **Marine Ecology Progress Series**, v. 340, p. 55-62, 2007.

KRISTENSEN, D.K.; KRISTENSEN, E.; MANGION, P. Food partitioning of leaf-eating mangrove crabs (Sesarminae): Experimental and stable isotope (¹³C and ¹⁵N) evidence. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 87, p. 583–590, 2010.

KRISTENSEN, E. Mangrove crabs as ecosystem engineers; with emphasis on sediment processes. **Journal of Sea Research**, v. 59, n. 1–2, p. 30–43, 2008.

KRISTENSEN, E.; LEE, S.Y.; MANGION, P.; QUINTANA, C.O.; VALDEMARSEN, T. Trophic discrimination of stable isotopes and potential food source partitioning by leaf-

eating crabs in mangrove environments. **Limnology and Oceanography**, v. 62, p. 2097–2112, 2017.

KULKARNI, R.; DEOBAGKAR, D.; ZINJARDE, S. Metals in mangrove ecosystems and associated biota: A global perspective. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 153, p. 215-228, 2018.

KUNSOOK, C.; GAJANESI, N.; PAPHAVASIT, N. The feeding ecology of the blue swimming crab *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758), at Kung Krabaen Bay, Chathaburi Province, Thailand. **Tropical Life Sciences Research**, v. 25, ed. 1, p. 13-27, 2014.

KON, K.; KUROKURA, H.; HAYASHIZAKI, K. Role of microhabitats in food webs of benthic communities in a mangrove forest. **Marine Ecology Progress Series**, v. 340, p. 55-62, 2007.

LAMB, A.L.; WILSON, G.P.; LENG, M.J. A review of coastal palaeoclimate and relative sealevel reconstructions using $\delta^{13}C$ and C/N ratios in organic material. **Earth-Science Reviews**, v. 75, p. 29– 7, 2006.

LAURIER, F.J.G.; COSSA, D.; GONZALEZ, J.L.; BREVIERE, E.; SARAZIN, G. Mercury transformations and exchanges in high turbidity estuary: the role of organic matter and amorphous oxyhydroxides. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 67, p. 3329-3345, 2003.

LE, D.Q.; TANAKA, K.; DUNG, L.V.; SIAU, Y.F.; LACHS, L.; KADIR, S.T.S.A.; SANO, Y.; SHIRAI, K. Biomagnification of total mercury in the mangrove lagoon foodweb in east coast of Peninsula, Malaysia. **Regional Studies in Marine Science**, v. 16, p. 49–55, 2017.

LEE, S.Y. Potential trophic importance of the faecal material of the mangrove sesarime crab *Sesarma messa*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 159, p. 275–284, 1997.

LEE, S.Y. Ecological role of grapsid crabs in mangrove ecosystems: a review. **Marine and Freshwater Research**, v. 49, p. 335-343, 1998.

LEITE, M.DE M.L.L.; OGAWA C.Y.; REZENDE, C.F.; SILVA, J.R.F. Temporal variation in the weight-size relationship of the mangrove crab *Ucides cordatus* L. (Decapoda: Ucididae) in relation to its life cycle phases. **Animal Biology**, v. 64, p. 333–342, 2014.

LIMA-GOMES, R.C.; COBO, V.J.; FRANZOZO, A. Feeding Behavior and ecosystem role of the red mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Decapoda, Grapsoidea) in a subtropical estuary on the Brazilian coast. **Crustaceana**, v. 84, p. 735–747, 2011.

LIRA, J.J.P.R.; CALADO, T.C.S.; ARAÚJO, M.S.L.C. Breeding period in the mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Decapoda: Grapsidae) in Northeast Brazil. **Revista de Biologia Tropical**, v. 61, p. 29–38, 2013.

LIVINGSTONE, D.R. Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarker in the aquatic environment. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 57, p. 195–211, 1993.

LIVINGSTONE, D.R. The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. **Comparative Biochemistry & Physiology**, v. 120A, p. 43–49, 1998.

LOURENÇO, S.O.S.; MARQUES JUNIOR, A.N. Produção Primária Marinha. In: Pereira, R. C.; Soares-Gomes, A. **Biologia Marinha**. Rio de Janeiro: Interciência, 2002. p. 196-227.

LUIZ-SILVA, W.; MACHADO, W.; MATOS, R.H.R. Multi-elemental contamination and historical record in sediments from the Santos-Cubatão Estuarine System, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 18, p. 1490-1500, 2008.

LUOMA, S.N.; RAINBOW, P.S. **Metal Contamination in Aquatic Environments: Science and Lateral Management**. Cambridge University Press, 2008. 573 p.

MACIEL, D.C.; ALVES, A.G.C. Conhecimentos e práticas locais relacionados ao aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) em Barra de Sirinhaem, litoral sul de Pernambuco, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 9, n. 4, p. 29-36, 2009.

MACFARLANE, G.R.; BURCHETT, M.D. Zinc distribution and excretion in the leaves of the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. **Environmental and Experimental Botany**, v. 41, p. 167-175, 1999.

MACHADO, W.; SILVA-FILHO, E.V.; OLIVEIRA, R.R.; LACERDA, L.D. Trace metal retention in mangrove ecosystems in Guanabara Bay SE Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, p. 1277- 1280, 2002.

MAHIQUES, M.M.; FIGUEIRA, R.C.L.; SALAROLI, A.B.; ALVES, D.P.V.; GONÇALVES, C. 150 years of anthropogenic metal input in a Biosphere Reserve: the case study of the Cananeia–Iguape coastal system, Southeastern Brazil. **Environmental-Earth Science**, v. 68, p. 1073–1087, 2013.

MAJER, A.P.; PETTI, M.A.V; CORBISIER, T.N.; RIBEIRO, A.P; THEOPHILO, C.Y.S; FERREIRA, P.A.L; FIGUEIRA, R.C.L. Bioaccumulation of potentially toxic trace elements in benthic organisms of Admiralty Bay (King George Island, Antarctica). **Marine Pollution Bulletin**, v. 79, p. 321-325, 2014.

MARCHAND, C.; ALLENBACH, M.; LATTIER-VERGÈS, E. Relationships between heavy metals distribution and organic matter cycling in mangrove sediments (Conception Bay, New Caledônia). **Geoderma**, v. 160, p. 444–456, 2011.

MARIN, B.; VALLADON, M.; POLVE, M.; MONACO, A. Reproducibility testing of a sequential extraction scheme for the determination of trace metal speciation in a marine reference sediment by inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 342, p. 91–112, 1997.

MARSDEN, I.D.; RAINBOW, P.S. Does the accumulation of trace metals in crustaceans affect their ecology — the amphipod example? **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 300, n. 1-2, p. 343–71, 2004.

MARTINELLI, L.A.; OMETTO, J.P.H.B.; FERRAZ, E.S.; VICTORIA, R.L.; CAMARGO, P.B.; MOREIRA, M.Z. **Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis**. São Paulo: Oficina de Textos, 2009. 144 p.

MAZUMDER, D.; SAINTILAN, N.A. comparison of sampling techniques in the assessment of burrowing crab abundance in saltmarsh and mangrove environments. **Wetlands Australia**, v., 21, n. 1, p. 1-15, 2010.

MCCUTCHAN, J.H.; LEWIS, W.M.; KENDALL, C.; MCGRATH, C.C. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. **Oikos**, v. 102, p. 378–390, 2003.

MCKEE, K.; FELLER, C. Factors influencing rates of mangroves leaf litter removal by crabs in Belize. **Bulletin of the Ecological Society of America**, v. 73, p. 269, 1992.

MELO, G.A.S. **Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro**. São Paulo: Plêiade/FAPESP, 1996. 603p.

MELLO, K.; TOPPA, R.H.; ABESSA, D.M.S.; CASTRO, M. Dinâmica de expansão urbana na zona costeira brasileira: o caso do município de São Vicente, São Paulo, Brasil. **Journal of Coastal Zone Management**, v. 13, n.4, p. 539–551, 2013.

MIA, Y.; SHOKITA, S.; WATANABE, S. Stomach contents of two grapsid crabs, *Helice formosensis* and *Helice leachi*. **Fisheries Science**, v. 67, p. 173–17, 2001.

MILLER, D.C. The feeding mechanism of fiddler crabs, with ecological considerations of feeding adaptations. **Zoologica: New York Zoological Society**, v. 46, n. 8, 89–100, 1961.

MILLIKIN, M.R.; WILLIAMS, A.B. Synopsis of biological data on the blue crab, *Callinectes sapidus* Rathbun. In: FAO Fisheries Synopsis, n. 138. **NOAA Technical Report NMFS**, n. 1, p. 1–38, 1984.

MINAGAWA, M.; WADA, E. Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relationship between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 48, p. 1135-1140, 1984.

MINTENBECK, K.; JACOB, U.; KNUST, R.; ARNTZ, W.E.; BREY, T. Depth-dependence in stable isotope ratio $\delta^{15}\text{N}$ of benthic POM consumers: The role of particle dynamics and organism trophic guild. **Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers**, v. 54, n. 6, p. 1015-1023, 2007.

MIOLA, B.; MORAIS, J.; PINHEIRO, L. Trace metal concentrations in tropical mangrove sediments, NE Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 102, p. 206-209, 2016.

MIRANDA, L.B.; CASTRO, B.M.; KJERFVE, B. **Princípios de Oceanografia Física de Estuários**. Ed. EdUSP, São Paulo, Brasil, 2002. 417 p.

MMA - MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Avaliação e Identificação de Áreas e Ações Prioritárias para Conservação, Utilização Sustentável e Repartição de Benefícios da Biodiversidade Brasileira**. MMA/SBF. 2002. 404p.

MOUNEYRAC, C.; AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J.C.; RAINBOW, P.S. Comparison of metallothionein concentrations and tissue distribution of trace metals in crabs (*Pachygrapsus marmoratus*) from a metal-rich estuary, in and out of the reproductive season. **Comparative Biochemistry and Physiology: Part C**, v. 129, p. 193-209, 2001.

MOORE, T.R.; BUBIER, J.L.; HEYES, A.; FLETT, R.J. Methyl and total mercury in boreal wetland plants, Experimental Lakes Area, Northwestern Ontario. **Journal of Environmental Quality**, v. 24, p. 845-850, 1995.

MORILLO, J.; USERO, J.; GRACIA, I. Heavy metal distribution in marine sediments from the southwest coast of Spain. **Chemosphere**, v. 55, p. 431-442, 2004.

MOURA, N.F.O.; COELHO, P.A. Maturidade sexual fisiológica em *Goniopsis cruentata* (Latreille) (Crustacea, Brachyura, Grapsidae) no Estuário do Paripe, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 4, p. 1011-1016, 2004.

MUTO, E.Y.; SOARES, L.S.H.; SARKIS, J.E.S.; HORTELLANI, M.A.; PETTI, M.A.V.; CORBISIER, T.N. Biomagnification of mercury through the food web of the Santos continental shelf, subtropical Brasil. **Marine Ecology Progress Series**, v. 512, n. 55–69, 2014.

NATÁLIO, L.F. **Ecologia evolutiva de caranguejos do gênero *Uca*: fatores abióticos e recursos alimentares**. 39 f. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), São Paulo, 2016.

NÉGREL, P.; BLESSING, M.; MILLOT, R.; PETELET-GIRAUD, E.; INNOCENT, C. Isotopic methods give clues about the origins of trace metals and organic pollutants in the environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 38, p. 143–153, 2012.

NEGREIROS-FRANSOZO, M.L. Size variation in the grapsid crab *Aratus pisonii* (H. Milne-Edwards, 1837) among populations of different subtropical mangroves. In: Escobar-Briones, E. & Alvarez, F. **Modern approaches to the study of Crustacea**. Kluwer Academic-Plenum Publishers, New York, NY, USA, p. 183-188, 2002.

NEILSON, M.J.; GIDDENS, R.L.; RICHARDS, G.N. Effects of tannins on the palatability of mangrove leaves to the tropical sesarminid crab *Neosarmatium smithi*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 34, p. 185–186, 1986.

NEROT, C.; MEZIANE, T.; PROVOST- GOVRICH, A; RYBARCZYK, H. E.; LEE, S. Y. Role of grapsid crabs, *Parasesarma erythroductyla*, in entry of mangrove leaves into an estuarine food web: a mesocosm study. **Marine Biology**, v. 156, n. 11, p. 2343-2352, 2009.

NORDHAUS, I. **Feeding ecology of the semi-terrestrial crab *Ucides cordatus* (Decapoda: Brachyura) in a mangrove forest in northern Brazil.** 203 f. Tese de Doutorado, Universidade de Bremen, Alemanha, 2003.

NORDHAUS, I.; HADIPUDJANA, F.A.; JANSSEN, R.; PAMUNGKAS, J. Spatio-temporal variation of macrobenthic communities in the mangrove-fringed Segara Anakan lagoon, Indonesia, affected by anthropogenic activities. **Regional Environmental Change**, v. 9, n. 4, p. 291-313, 2009.

NORDHAUS, I.; SALEWSKI, T.; JENNERJAHN, T.C. Food preferences of mangrove crabs related to leaf nitrogen compounds in the Segara Anakan Lagoon, Java, Indonesia. **Journal of Sea Research**, v. 65, p. 414-426, 2011.

NORDHAUS, I.; WOLFF, M. Feeding ecology of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Ocypodidae): Food choice, food quality and assimilation efficiency. **Marine Biology**, v. 151, p. 1665–1681, 2007.

NORDHAUS, I.; WOLFF, M.; DIELE, K. Litter processing and population food intake of the mangrove crab *Ucides cordatus* in a high intertidal forest in northern Brazil. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, v. 67, p. 239–250, 2006.

NOURI, J.; MAHVI, A.H.; JAHED, G.R.; BABAEI, A.A. Regional distribution pattern of groundwater heavy metals resulting from agricultural activities. **Environmental Geology**, v. 55, n. 6, p. 1337-1343, 2008.

NRC - National Research Council. **Toxicological Effects of Methylmercury.** National Academy of Sciences. National Academy Press, Washington, D.C, p. 368, 2000.

OAKES, J.M.; CONNOLLY, R.M.; REVILL, A.T. Isotope enrichment in mangrove forests separates microphytobenthos and detritus as carbon sources for animals. **Limnology and Oceanography**, v. 55, n. 393–402, 2010.

OELBERMANN, K.; SCHEU, S. Stable isotope enrichment (d15N and d13C) in a generalist predator (*Pardosa lugubris*, Araneae: Lycosidae): Effects of prey quality. **Oecologia**, v. 130, p. 337–344, 2002.

OLIVE, P.J.W.; PINNEGAR, J.K.; POLUNIN, N.V.C.; RICHARDS, G.; WELCH, R. Isotope trophic-step fractionation: a dynamic equilibrium model. **Journal of Animal Ecology**, v. 72, p. 608–617, 2003.

ORTEGA, P.; CUSTÓDIO, M.R.; ZANOTTO, F.P. Characterization of cádmium plasma membrana transport in gills of a mangrove crab *Ucides cordatus*. **Aquatic Toxicology**, v. 157, p. 21–29, 2014.

ORTEGA, P.; VITORINO, H.A.; MOREIRA, R.G.; PINHEIRO, M.A.A.; ALMEIDA, A.A.; CUSTÓDIO, M.R.; ZANOTTO, F.P. Physiological differences in the crab *Ucides cordatus* from two populations inhabiting mangroves with diferente levels of cadmium contamination. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 2, p. 361–371, 2017.

OSHIRO, L.M.O.; SILVA, R.; SILVA, Z.S. Composição da fauna de braquiúros (Crustacea, Decapoda) dos Manguezais da Baía de Sepetiba – RJ. **Nauplius**, v. 6, p. 31–40, 1998.

PEPPLER, J.E.; AHEARN, G.A. Effect of heavy metals on the uptake of 3H-L-histidine by the polychaete *Nereis succinea*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 136, p. 181–189, 2003.

PEREIRA, E.; ABREU, S.N.; COELHO, J.P.; LOPES, C.B.; PARDAL, M.A.; VALE, C.; DUARTE, A.C. Seasonal fluctuations of tissue mercury contents in the European shore crab *Carcinus maenas* from low and high contamination areas (Ria de Aveiro, Portugal). **Marine Pollution Bulletin**, v. 52, p. 1450–1457, 2006.

PEREIRA, T.M.; NÓBREGA, G.N.; FERREIRA, O.T.; OGAWA, Y.C.; CAMARGO, P.B.; SILVA, J.R.F.; REZENDE, C.F. Does food partitioning vary in leaf-eating crabs in response to source quality? **Marine Environmental Research**, v. 144, p. 72–83, 2019.

PETERSON, B.J.; FRY, B. Stable isotopes in ecosystem studies. **Annual Review of Ecology**, v. 18, p. 293–320, 1987.

PETTI, M.A.V.; NONATO, E.F.; PAIVA, P.C. Trophic relationships between polychaetes and brachyuran crabs on the southeastern Brazilian coast. **Revista Brasileira de Oceanografia**, v. 44, n.1, p. 61-67, 1996.

PHILLIPS, D.J.H.; RAINBOW, P.S. Barnacles and mussels as biomonitors of trace elements: a comparative study. **Marine Ecology Progress Series**, v. 49, p. 83–93, 1988.

PHILLIPS, D.L.; INGER, R.; BEARHOP, S.; JACKSON, A.L.; MOORE, J.W.; PARNELL, A.C.; SEMMENS, B.X.; WARD, E.J. Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. **Canadian Journal of Zoology**, v. 92, n.10, p. 823-835, 2014.

PINHEIRO, M.; TOLEDO, T. Malformation in the crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae), in São Vicente, State of São Paulo, Brazil. **Revista CEPSUL - Biodiversidade e Conservação Marinha**, v. 1, p. 61-65, 2010.

PINHEIRO, M.A.A.; SILVA, P.P.G.; DUARTE, L.F.A.; ALMEIDA, A.A.; ZANOTTO, F.P. Accumulation of six metals in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea: Ocypodidae) and its food source, the red mangrove *Rhizophora mangle* (Angiosperma: Rhizophoraceae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 81, p. 114–121, 2012.

PINHEIRO, M.A.A.; SANTANA, W.; BEZERRA, L.E.A.; KRIEGLER, N.; RIO, J.P.P. Avaliação dos Caranguejos Grapsídeos (Decapoda: Grapsidae). Cap. 14: 182-191. In: Pinheiro, M.A.A.; Boos, H. (Org.). **Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014**. Porto Alegre (RS): Sociedade Brasileira de Carcinologia - SBC, 2016. 466 p.

PIRRONE, N.; CINNIRELLA, S.; FENG, X.; FINKELMAN, R.B.; FRIEDLI, H.R.; LEANER, J.; MASON, R.; MUKHERJEE, A.B.; STRACHER, G.B.; STREETS, D.G.; TELMER, K. Global mercury emissions to the atmosphere from anthropogenic and natural sources. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 10, p. 5951–5964, 2010.

POST, D.M. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. **Ecology**, v. 83, p. 703–718, 2002.

PUEYO, M.; RAURET, G.; LUCK, D.; YLI-HALLA, M.; MUNTAU, H.; QUEVAUVILLER, PH.; LÓPEZ-SÁNCHEZ, F.J. Certification of the extractable contents of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn in a freshwater sediment following a colaboratively tested and optimised three-steps sequential extraction procedure. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 3, p. 243- 250, 2001.

RAINBOW, P.S. Accumulation of Zn, Cu and Cd by crabs and barnacles. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 21, p. 669–686, 1985.

RAINBOW, P.S. Ecophysiology of trace metal uptake in crustaceans. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, v. 44, p. 169- 176, 1997.

RAINBOW, P.S. Phylogeny of trace metal accumulation in crustaceans. In: Langston, W. J. e Bebianno, M., (ed). **Metal metabolism in aquatic environments**. Chapman & Hall, London, 1998, p. 285-319.

RAINBOW, P.S. Trace metals concentration in aquatic invertebrates: why and so what? **Environmental Pollution**, v. 120, p. 497-507, 2002.

RAINBOW, P.S. Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. **Environment International**, v. 33, p. 576–582, 2007.

RAINBOW, P.S.; BLACK, W.H. Cadmium, zinc and uptake of calcium by two crabs, *Carcinus maenas* and *Eriocheir sinensis*. **Aquatic Toxicology**, v. 72, p. 45-65, 2005.

RASMUSSEN, P.E.; MIERLE, G.; NRIAGU, J.O. The analysis of vegetation for total mercury. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 56, p. 379–390, 1991.

REA, A.W.; KEELER, G.J.; SCHERBATSKOY, T. Litterfall in the Lake Champlain watershed e a short term study. **Atmospheric Environment**, v. 30, n. 19, 3257-3263, 1996.

REICHMUTH, J.M.; ROUDEZ, R.; GLOVER, T.G.; WEIS, J.S. Differences in prey capture behavior in populations of blue crab (*Callinectes sapidus* Rathbun) from contaminated and clean estuaries in New Jersey. **Estuaries and Coasts**, v. 32, p. 298–308, 2009.

REICHMUTH, J.M.; WEIS, P.; WEIS, J.S. Bioaccumulation and depuration of metals in blue crabs (*Callinectes sapidus* Rathbun) from a contaminated and clean estuary. **Environmental Pollution**, v. 158, p. 361–368, 2010.

REIS, C.R.G.; TADDEI, F.G.; COBO, V.J. Growth and reproduction of the mangrove crab *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (crustacea: Decapoda: Grapsidae) in southeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 87, p. 699–711, 2015.

RICE, D.L.; HANSON, R.B. 1984. A kinetic model for detritus nitrogen: role of the associated bacteria in nitrogen accumulation. **Bulletin of Marine Science**, v. 35, p. 326–340, 1984.

ROESIJADI, G. Metallothionein in metal regulation and toxicity in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**, v. 22, p. 81-114, 1992.

RUSSELL-HUNTER, W.D. **Aquatic Productivity: an Introduction to Some Basic Aspects of Biological Oceanography and Limnology**. Collier-MacMillan, London, UK, 1970. p. 306.

SÁ, F. **Distribuição e fracionamento de contaminantes nos sedimentos superficiais e atividades de dragagem no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá**. 106 f. Dissertação (Mestrado em Geologia Ambiental) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

SAINTILAN, N.; GRIFFITHS, K.; JAAFAR, W.; TIBBEY, M. A possible experimental artefact associated with leaf-tethering in crab herbivory experiments. **Wetlands** (Australia), v. 18, n. 2, p. 55–59, 2000.

SAENGER, P.; MCCHONCHIE, D. **Heavy metals in mangroves: methodology, monitoring and management**. ENVIS Forestry Bulletin, v. 4, p. 52–62, 2004.

SAKAN, S.M.; DORDEVÍĆ, D.S.; MANOJLOVIĆ, D.D.; PREDRAG, P.S. Assessment of heavy metal pollutants accumulation in the Tisza river sediments. **Journal of Environmental Management**, v. 90, p. 3382–3390, 2009.

SANTOS, M.C.F.; BOTELHO, E.R.O. Estudos biológicos do aratu, *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustacea: Decapoda: Grapsidae) no estuário do rio Una, município de São José da Coroa Grande (Pernambuco – Brasil). **Boletim Técnico Científico do CEPENE, Tamandaré**, v. 10, n.1, p. 171-186, 2002.

SANTOS, M.C.F.; BOTELHO, E.R.O.; IVO, C.T.C. Biologia populacional e manejo da pesca de aratu, *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustacea: Decapoda: Grapsidae) no litoral sul de Pernambuco – Brasil. **Boletim Técnico Científico do CEPENE**, v. 9, n. 1, p. 87-123, 2001.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. **Manguezais brasileiros**. 42 f. Tese de livre docência. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. **Manguezal: ecossistema entre a terra e o mar**. Caribbean Ecological Research, São Paulo, Brasil, 1995. 64 p.

SCHROEDER, W.H.; MUNTHE, J. Atmospheric Mercury-an Overview. **Atmospheric Environment**, v. 32, n. 5, p. 809-822, 1998.

SCOTT-FORDSMAND, J.J.; DEPLEDGE, M.H. Changes in the tissue concentrations and contents of calcium, copper and zinc in the shore crab *Carcinus maenas* (L.) (Crustacea: Decapoda) during moult cycle and following copper exposure during ecdysis. **Marine Environmental Research**, v. 44, p. 397–414, 1997.

SEIXAS, T.G.; KEHRIG, H.A.; DI BENEDITTO, A.P.M.; SOUZA, C.M.M.; MALM, O.; MOREIRA, I. Trace-elements in different species of cetacean from Rio de Janeiro coast. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 2, p. 243–251, 2009.

SELIN, N.E. Global biogeochemical cycling of mercury: A review. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 34, p. 43–63, 2009.

SEVERINO-RODRIGUES, E.; SOARES, F.C.; GRAÇA-LOPES, R.; SOUZA, K.H.; CANÉO, V.O.C. Diversidade e biologia de espécies de Portunidae (Decapoda: Brachyura) no estuário de Iguape, Ilha Comprida e Cananéia, São Paulo, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, n. 1, p. 47–60, 2009.

SKOV, M.W.; HARTNOLL, R.G. Paradoxical selective feeding on a low-nutrient diet: why do mangrove crabs eat leaves? **Oecologia**, v. 131, p. 1–7, 2002.

SOARES, H.M.V.; BOAVENTURA, R.A.R.; MACHADO, A.A.S.C.; ESTEVES DA SILVA, J.C.G. Sediments as monitors of heavy metal contamination in the Ave river basin (Portugal): multivariate analysis of data. **Environmental Pollution**, v. 105, p. 311–323, 1999.

SOEGIANTO, A.; CHARMANTIER-DAURES, M.; TRILLES, J.P.; CHARMANTIER, G. Impact of cadmium on the structure of gills and epipodites of the shrimp *Penaeus japonicus*. **Aquatic Living Resources**, v. 12, n. 1, p. 57–70, 1999.

SOUZA, E.C.; ACIOLE, S.D.G.; CALADO, T.C.S. Considerações ecológicas do caranguejo *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) (Crustacea: Decapoda: Grapsidae) no Complexo Estuarino-Lagunar Mundaú/Manguaba –Alagoas. **Boletim Nível Estudos Ciências Marinhas, Maceió**, v.11, p.143-164, 2000.

SOUZA, I.C.; ARRIVABENE, H.P.; CRAIG, C-A.; MIDWOOD, A.J.; THORNTON, B.; MATSUMOTO, S.T.; ELLIOTT, M.; WUNDERLIN, D.A.; MONFERRÁN, M.V.; FERNANDES, M.N. Interrogating pollution sources in a mangrove food web using

multiple stable isotopes. **Science of the Total Environment**, v. 640–641, n. 1, p. 501–511, 2018.

SOUZA, I.C.; ROCHA, L.D.; MOROZESK, M.; BONOMO, M.; ARRIVABENE, H.; DUARTE, I.; FURLAN, L.; MONFERRAN, M.; MAZIK, K.; ELLIOTT, M.; MATSUMOTO, S.; MILANEZ, C.; WUNDERLIN, D.; FERNANDES, M. Changes in bioaccumulation and translocation patterns between root and leaf of *Avicennia schaueriana* as adaptive response to different levels of metals in mangrove system. **Marine Pollution Bulletin**, v. 94, n. 1-2, p. 176-184, 2015.

SPALDING, M.D.; KAINUMA, M.; COLLINS, L. **World Atlas of Mangroves**. London: Earthscan, 2010. 319 p.

SQUIRES, H.J.; DAWE, E.G. Stomach contents of snow crab (*Chionoecetes opilio*, Decapoda, Brachyura) from the Northeast Newfoundland Shelf. **Journal of Northwest Atlantic Fishery Science**, v. 32, p. 27–38, 2003.

STERNER, R.W.; ELSER, J.J. **Ecological Stoichiometry: the Biology of Elements from Molecules to the Biosphere**. Princeton University Press, Princeton, NJ, 2002. p. 464.

STEWART, A.R.; LUOMA, S.N.; SCHLEKAT, C.E.; DOBLIN, M.A.; HIEB, K.A. Food chain pathway determines how selenium affects aquatic ecosystems. **Environmental Science & Technology**, v. 38, p. 4519–4526, 2004.

TAYLOR, D.L.; CALABRESE, N.M. Mercury content of blue crabs (*Callinectes sapidus*) from southern New England coastal habitats: Contamination in an emergent fishery and risks to human consumers. **Marine Pollution Bulletin**, v. 126, p. 166–178, 2018.

TCHOUNWOU, P.B.; YEDJOU, C.G.; PATLOLLA, A.K.; SUTTON, D.J. Heavy Metal Toxicity and the Environment. In: Luch A. (eds) **Molecular, Clinical and Environmental Toxicology**. Experientia Supplementum, v. 101. Springer, Basel, 2012. p. 133-164.

TESSLER, M.G.; SUGUIO, K.; MAHIQUES, M.M.; FURTADO, V.V. Evolução temporal e espacial da desembocadura lagunar de Cananéia. **Boletim do Instituto Oceanográfico USP**, v. 1, n. 38, p. 23–29, 1990.

TERLIZZI, A.; SCUDERI, D.; FRASCHETTI, S.; ANDERSON, M.J. Quantifying effects of pollution on bioersity: a case study of highly diverse molluscan assemblages in the mediterranean. **Marine Biology**, v. 148, p. 293- 305, 2005.

THIMDEE, W.; DEEIN, G.; SANGRUNGRUANG, C.; MATSUNAGA, K. Stable carbon and nitrogen isotopes of mangrove crabs and their food sources in a mangrove-fringed estuary in Thailand. **Benthos Research**, v. 56, p. 73–80, 2001.

TOPAL, M.N.; KIRAN, S.; ATEŞ, Ç.; EKİCİ, M.; ELLİALTIOĞLU, Ş.Ş.; TIPIRDAMAZ, R.; FURTANA, G.B.; SÖNMEZ, K. A comparative study with commercial rootstocks to determine the tolerance to heavy metal (Pb) in the drought and salt stress tolerant eggplant breeding lines. **Derim**, v.34, n.1, p. 1-10, 2017.

TORRES, R.J.; ABESSA, D.M.S.; SANTOS, F.C.; MARANHO, L.A.; DAVANSO, M.B.; NASCIMENTO, M.R.L.; MOZETO, A.A. Effects of dredging operations on sediment quality: contaminant mobilization in dredged sediments from the Port of Santos, SP, Brazil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 9, p. 420–432, 2009.

TRAMONTE, K.M.; FIGUEIRA, R.C.L.; FERREIRA, P.A.L.; RIBEIRO, A.P.; BATISTA, M.F.; MAHIQUES, M.M. Environmental availability of potentially toxic elements in estuarine sediments of the Cananéia-Iguape coastal system, southeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 103, p. 260–269, 2016.

TRAMONTE, K.M.; FIGUEIRA, R.C.L.; MAJER, A.P.; FERREIRA, P.A.L.; BATISTA, M.F.; RIBEIRO, A.; MAHIQUES, M.M. Geochemical behavior, environmental availability, and reconstruction of historical trends of Cu, Pb, and Zn in sediment cores of the Cananéia-Iguape coastal system, Southeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 127, p. 1-9, 2018.

TREVIZANI, T.H.; DOMIT, C.; VEDOLIN, M.C.; ANGELI, J.L.; FIGUEIRA, R.C.L. Assessment of metal contamination in fish from estuaries of southern and southeastern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, n. 308, 2019.

TREVIZANI, T.H.; FIGUEIRA, R.C.L.; RIBEIRO, A.P.; THEOPHILO, C.Y.S.; MAJER, A.P.; PETTI, M.A.V.; CORBISIER, T.N.; MONTONE, R.C. Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms and sediments from Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. **Marine Pollution Bulletin**, v. 106, p. 366–371, 2016.

TREVIZANI, T.H. **Bioacumulação e biomagnificação de metais pesados em teias tróficas de estuários do sul-sudeste do Brasil**. 155 f. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2018.

TUROCZY, N.J.; MITCHELL, B.D.; LEVINGS, A.H.; RAJENDRAM, V.S. Cadmium, copper, mercury, and zinc concentrations in tissues of the King Crab (*Pseudocarcinus gigas*) from southeast Australian waters. **Environment International**, v. 27, p. 327–334, 2001.

UNEP - United Nations Environment Programme. **Global Mercury Assessment 2013: Sources, Emissions, Releases and Environmental Transport**. Division of Technology and Economics (DTIE), Chemicals Branch Geneva, Switzerland, 2013. 32 p.

UNEP - United Nations Environment Programme. **UN Environment Global Mercury Assessment UN Environment Programme Chemicals and Health Branch**. Geneva Switzerland, 2018. 60 p.

UNEP - United Nations Environment Programme. **Minamata Convention on Mercury**. Japan, 2013. Disponível em: <<http://www.mercuryconvention.org/>>. Acesso em outubro de 2018.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Mercury Study Report to Congress**, Washington (DC), Office of Air Quality Planning and Standards and Office of Research and Development, Report, v. 1–8, n. EPA-452/R-97–005. 1997.

USIMINAS - Usinas Siderúrgicas de Minas Gerais S.A. Disponível em: <<https://www.usiminas.com/quem-somos/>>. Acesso em agosto de 2018.

VANNUCCI, M. What is so special about mangroves? **Brazilian Journal of Biology**, v. 61, n. 4, p.599-603, 2001.

VERBOST, P.M.; VAN ROOIJ, J.; FLIK, G.; LOCK, R.A.C.; BONGA, S.E.W. The movement of cadmium through freshwater trout branchial epithelium and its interference with calcium transport. **Journal of Experimental Biology**, v. 145, p. 185–197, 1989.

VIARENGO, A.; NOTT, J.A. Mini-review. Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 104, p. 355- 372, 1993.

VILHENA, M.S.P.; COSTA, M.L.; BERREDO, J. F. Accumulation and transfer of Hg, As, Se, and other metals in the sediment vegetation- crab-human food chain in the coastal zone of the northern Brazilian state of Pará (Amazonia). **Environmental Geochemistry and Health**, v. 35, n. 4, p. 477–94, 2013.

VISWANATHAN, C.; RAFFI, S.M. The natural diet of the mud crab *Scylla olivacea* (Herbst, 1896) in Pichavaram mangroves, India. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 22, n. 6, p. 698–705, 2015.

WAFAR, S.; UNTAWALE, A.G.; WAFAR, M. Litter fall and energy flux in a mangrove ecosystem. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 44, p. 111-124, 1997.

WANG, W.X. Interactions of trace metals and different marine food chains. **Marine Ecology Progress Series**, v. 243, p. 295-309, 2002.

WEIS, J.S. The effects of mercury, cadmium and lead salts on limb regeneration in the fiddler crab, *Uca pugilator*. **Fishery Bulletin**, v. 74, p. 464–467, 1976.

WEIS, J.S.; CRISTINI, A.; RAO, K.R. Effects of pollutants on molting and regeneration in Crustacea. **American Zoologist**, v. 32, p. 495–500, 1992.

WEEMS, J.; IKEN, K.; GRADINGER, R.; WOOLLER, M.J. Carbon and nitrogen assimilation in the Bering Sea clams *Nuculana radiata* and *Macoma moesta*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 430- 431, n. 1, p. 32- 42, 2012.

WERRY, J.; LEE, S.Y. Grapsid crabs mediate link between mangrove litter production and estuarine planktonic food chains. **Marine Ecology Progress Series**, v. 293, p. 165–176, 2005.

WHITE, S.L.; RAINBOW, P.S. Regulation and accumulation of copper, zinc and cadmium by the shrimp *Palaemon elegans*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 8, p. 95–101, 1982.

WIEDINMYER, C.; YOKELSON, R.J.; GULLETT, B.K. Global emissions of trace gases, particulate matter, and hazardous air pollutants from open burning of domestic waste. **Environmental Science & Technology**, v. 48, p. 9523–9530, 2014.

WILLIAMS, M.J. Methods for analysis of natural diet in portunid crabs (Crustacea: Decapoda: Portunidae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 52, p. 103-113, 1981.

WÓJCIK-FUDALEWSKA, D.; NORMANT-SAREMBA, M.; ANASTÁCIO, P. Occurrence of plastic debris in the stomach of the invasive crab *Eriocheir sinensis*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 113, p. 306–311, 2016.

YANG, H.; ROSE, N.L. Trace element pollution records in some UK lake sediments, their history, influence factors and regional differences. **Environmental International**, v. 3, n. 1, p. 63-75, 2005.

ZAINAL, K.A.Y. Natural food and feeding of the commercial blue swimmer crab *Portunus pelagicus* along the coastal waters of the Kingdom of Bahrain. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, v. 13, p. 1-7, 2013.

ZHAO, D.; LI, T.; SHEN, M.; WANG, J.; ZHAO, Z. Diverse strategies conferring extreme cadmium (Cd) tolerance in the dark septate endophyte (DSE), *Exophiala pisciphila*: Evidence from RNA-seq data. **Microbiological Research**, v. 170, p. 27-35, 2014.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**, 4th ed. Prentice Hall, Universidade de Michigan, Estados Unidos da América, 1999. 663 p.

ZENG, Y.; HUANG, X.; GU, B.; ZHANG, D.; ZHANG, X.; YE, F. Analyzing biogmagnification of heavy metals in food web from Pearl River Estuary, South China, by stable carbon and nitrogen isotopes. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 22, n 6, p. 1652- 1658, 2013.

Apêndice A

Tabela A. 1. Valores dos níveis de metais (mg kg^{-1}) em três tecidos (brânquial, hepatopancreal e muscular*) e conteúdo estomacal retirados de exemplares da espécie *G. cruentata* coletados na Ilha do Cardoso, SP.

Metais	Tecido	Estações							
		Inverno		Primavera		Verão		Outono	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
As	Brânquias	10,54	14,98	15,21	10,63	15,94	16,63	13,60	12,59
	Hepatopâncreas	<LDM	3,86	2,45	5,23	3,60	5,14	2,71	3,97
	Músculo	5,18±1,53	4,33±0,99	6,07±0,38	5,38±0,21	5,42±0,27	6,17±0,22	3,97±3,07	6,76±0,25
	Contéudo estomacal	13,38	20,03	13,91	18,70	18,65	35,07	10,70	17,43
Cd	Brânquias			0,20	0,19	0,24	0,21	0,22	0,51
	Hepatopâncreas			<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
	Músculo	<LDM							
	Contéudo estomacal			0,21		0,21	0,26		0,26
Cr	Brânquias	3,55	3,79	5,81	3,91	6,05	5,40	6,29	5,55
	Hepatopâncreas	<LDM	0,37	0,42	0,39	0,32	0,47	<LDM	0,28
	Músculo	0,29±0,16	0,13±0,12	0,33±0,04	<LDM		<LDM	<LDM	0,32±0,08
	Contéudo estomacal	5,77	9,31	6,36	7,11	7,04	8,95	6,27	10,53
Cu	Brânquias	157,07	151,07	167,88	133,26	152,00	127,86	130,95	110,59
	Hepatopâncreas	141,40	66,68	91,41	160,05	215,93	192,91	288,04	411,85
	Músculo	35,84±6,95	22,39±7,29	48,69±0,67	41,23±0,27	80,60±4,81	72,31±5,09	74,39±4,88	36,42±1,54
	Contéudo estomacal	60,16	35,44	35,04	68,57	113,70	61,17	64,81	92,25

Continuação. Tabela A. 1. Valores dos níveis de metais (mg kg^{-1}) em três tecidos (branquial, hepatopancreal e muscular*) e conteúdo estomacal retirados de exemplares da espécie *G. cruentata* coletados na Ilha do Cardoso, SP.

Metais	Tecido	Estações							
		Inverno		Primavera		Verão		Outono	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Ni	Brânquias	3,51	8,13	3,44	2,62	3,46	3,14	3,40	3,63
	Hepatopâncreas			1,61	2,99	2,07	1,68	2,52	3,21
	Músculo	<LDM		<LDM		<LDM		<LDM	
	Contéudo estomacal	3,32	5,16	9,19	10,53	10,67	8,77	13,02	13,45
Pb	Brânquias	<LDM		7,44	4,41	11,66	10,18	7,94	7,15
	Hepatopâncreas	7,32	7,48	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
	Músculo	0,92±0,57	0,96±0,55	<LDM	1,64±1,17	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
	Contéudo estomacal	1,02	1,72	5,62	3,74	5,20	7,81	5,04	6,75
Zn	Brânquias	54,57	53,16	44,32	47,00	61,18	61,27	43,35	48,24
	Hepatopâncreas	34,40	35,25	47,19	100,18	104,05	154,38	43,74	65,38
	Músculo	101,15±26,31	94,27±22,77	93,13±5,20	89,69±4,08	135,80±4,71	113,84±5,55	120,08±4,41	101,25±9,58
	Contéudo estomacal	35,73	45,93	53,78	52,09	90,20	80,02	54,38	49,67

Nota: <LDM: limite de detecção do método; * valores da média (n=3).

Tabela A. 2. Valores dos níveis de metais (mg kg^{-1}) em três tecidos (branquial, hepatopancreal e muscular*) e conteúdo estomacal retirados de exemplares da espécie *Goniopsis cruentata* coletados em São Vicente, SP.

Metais	Tecido	Estações							
		Inverno		Primavera		Verão		Outono	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
As	Brânquias	5,48	4,73	5,48	18,05	6,41	5,22	1,83	<LDM
	Hepatopâncreas	<LDM	<LDM	<LDM	2,74	2,13	2,35	<LDM	1,93
	Músculo			2,09±0,36	<LDM	<LDM	2,05±2,27		<LDM
	Contéudo estomacal	9,10	16,63	7,98	9,90	11,69	32,46	9,49	16,28
Cd	Brânquias					0,22			
	Hepatopâncreas	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
	Músculo						1,06±0,84		
	Contéudo estomacal							0,45	
Cr	Brânquias	3,64	3,51	3,50	2,42	4,29	5,40	2,24	2,82
	Hepatopâncreas	0,30	0,21	0,25	0,35	0,22	0,7	0,28	0,40
	Músculo	<LDM	0,17±0,06	<LDM	<LDM	<LDM	0,78±0,94	0,29±0,11	<LDM
	Contéudo estomacal	2,46	6,81	5,20	1,72	3,17	3,12	20,05	5,74
Cu	Brânquias	271,74	253,41	221,86	164,35	198,30	127,86	156,34	153,08
	Hepatopâncreas	161,65	149,35	177,21	209,44	502,37	192,91	246,27	257,09
	Músculo	52,93±3,04	46,65± 1,12	80,32±1,42	78,56±1,93	72,74±4,88	65,34±3,47	67,09±2,01	66,92±2,47
	Contéudo estomacal	238,10	133,16	93,94	128,77	113,41	123,01	7,61	110,31

Continuação. Tabela A. 2. Valores dos níveis de metais (mg kg^{-1}) em três tecidos (branquial, hepatopancreal e muscular*) e conteúdo estomacal retirados de exemplares da espécie *Goniopsis cruentata* coletados em São Vicente, SP.

Metais	Tecido	Estações							
		Inverno		Primavera		Verão		Outono	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Ni	Brânquias	2,26	2,21	2,26	1,47	2,92	3,14	1,81	1,83
	Hepatopâncreas	1,31	1,02	1,31	1,30	1,38	1,68	1,57	1,23
	Músculo	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
	Contéudo estomacal	6,01	7,09	6,60	4,74	5,68	6,46	8,10	8,03
Pb	Brânquias	5,51	4,15	4,51	4,85	11,77	2,30	2,13	4,81
	Hepatopâncreas	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM	<LDM
	Músculo		1,05±0,62						
	Contéudo estomacal		3,50	3,81	1,28	2,78	2,20	13,54	4,29
Zn	Brânquias	50,67	52,48	41,29	38,00	55,01	73,41	41,17	43,45
	Hepatopâncreas	65,44	63,32	51,74	89,20	85,86	172,01	40,39	61,73
	Músculo	78,42±9,31	89,45±1,91	109,47±16,74	83,85±29,37	132,99±2,78	142,46±4,94	109,02±1,54	105,17±4,19
	Contéudo estomacal	95,50	62,37	65,22	62,00	60,53	90,16	37,26	67,23

Nota: <LDM: limite de detecção do método; * valores da média (n=3).

Apêndice B

Tabela B. 1 - Valores de %COT (Carbono Orgânico Total), %NT (Nitrogênio Total), razão C/N e razões isotópicas de C e N (‰) em amostras de tecido muscular (M), brânquias (B), conteúdo estomacal (CE) e hepatopâncreas (H), na região da Ilha do Cardoso em machos e fêmeas, durante os quatro períodos de coleta (inverno, primavera, verão e outono).

Sexo	Estação	Tecido	% COT	$\delta^{13}\text{C}$	% NT	$\delta^{15}\text{N}$	C/N
♂	Inverno	M	62,86	-21,41	15,71	9,65	4,00
		B	37,96	-23,21	8,09	9,03	4,69
		CE	28,09	-25,97	2,86	14,61	9,83
		H	52,51	-29,02	3,81	10,30	13,77
♀	Inverno	M	43,61	-21,13	11,22	10,94	3,89
		B	39,57	-22,62	8,11	9,15	4,88
		CE	26,15	-25,84	2,41	16,40	10,84
		H	54,63	-28,49	3,08	12,61	17,73
♂	Primavera	M	41,72	-22,53	10,84	10,17	3,85
		B	36,56	-24,24	7,19	8,91	5,08
		CE	33,95	-27,17	2,14	12,74	15,88
		H	60,27	-30,77	3,06	10,01	19,69
♀	Primavera	M	41,27	-21,29	10,55	10,13	3,91
		B	36,53	-22,39	7,38	8,56	4,95
		CE	17,06	-24,66	1,92	16,26	8,90
		H	49,24	-28,04	4,48	10,22	10,99
♂	Verão	M	39,73	-22,65	10,81	10,27	3,68
		B	35,17	-24,25	7,26	9,58	4,85
		CE	38,01	-28,06	1,55	20,05	24,46
		H	48,69	-29,66	4,82	11,90	10,11
♀	Verão	M	41,03	-21,77	11,10	9,33	3,70
		B	36,54	-23,73	7,45	8,39	4,90
		CE	33,17	-26,37	2,69	13,10	12,32
		H	53,03	-27,60	6,02	8,87	8,81
♂	Outono	M	41,64	-22,66	11,37	9,54	3,66
		B	38,66	-24,17	7,57	5,71	5,11
		CE	31,30	-26,31	2,91	12,19	10,77
		H	38,15	-24,61	5,95	6,32	6,41
♀	Outono	M	43,00	-21,52	11,89	9,77	3,62
		B	38,03	-23,38	7,19	8,46	5,29
		CE	35,42	-26,11	3,85	11,56	9,19
		H	58,05	-30,53	4,22	10,31	13,77

Tabela B. 2 - Valores de %COT (Carbono Orgânico Total), %NT (Nitrogênio Total), razão C/N e razões isotópicas de C e N (‰) em amostras de tecido muscular (M), brânquias (B), conteúdo estomacal (CE) e hepatopâncreas (H), na região de São Vicente em machos e fêmeas, durante os quatro períodos de coleta (inverno, primavera, verão e outono).

Sexo	Estação	Tecido	% COT	$\delta^{13}\text{C}$	% NT	$\delta^{15}\text{N}$	C/N
♂	Inverno	M	41,61	-23,27	10,78	11,16	3,86
		B	38,46	-24,78	8,17	9,25	4,71
		CE	32,23	-26,48	4,30	7,80	7,50
		H	47,22	-28,66	4,88	10,74	9,68
♀	Inverno	M	42,22	-23,05	10,92	11,87	3,86
		B	38,05	-24,04	8,21	10,17	4,63
		CE	29,68	-25,37	3,66	10,00	8,10
		H	51,62	-28,97	4,33	11,49	11,92
♂	Primavera	M	40,70	-23,16	10,87	11,06	3,74
		B	37,50	-24,11	8,06	9,71	4,65
		CE	37,99	-27,03	4,21	13,11	9,03
		H	52,88	-29,46	3,82	11,74	13,83
♀	Primavera	M	39,44	-23,02	10,52	11,45	3,75
		B	36,66	-24,26	7,60	10,46	4,83
		CE	35,17	-25,97	3,96	11,87	8,89
		H	51,73	-28,82	4,94	10,87	10,48
♂	Verão	M	39,99	-23,56	11,10	11,05	3,60
		B	35,01	-24,63	7,20	9,75	4,86
		CE	31,93	-26,97	2,30	14,04	13,90
		H	50,18	-29,22	4,30	13,44	11,66
♀	Verão	M	39,36	-23,19	10,62	10,63	3,71
		B	36,53	-24,06	7,75	10,16	4,71
		CE	30,51	-25,93	2,88	15,82	10,59
		H	43,21	-27,73	5,79	9,66	7,47
♂	Outono	M	43,45	-22,12	11,74	10,84	3,70
		B	38,55	-23,17	7,90	9,73	4,88
		CE	28,15	-26,18	2,67	11,32	10,56
		H	61,24	-29,24	3,28	11,68	18,66
♀	Outono	M	44,60	-22,23	12,15	11,00	3,67
		B	38,23	-23,53	7,74	9,60	4,94
		CE	28,82	-25,92	3,09	13,19	9,34
		H	44,54	-29,67	2,79	12,92	15,95

Apêndice C

Tabela C.1 - Valores médios (média± desvio padrão; n=5) dos níveis de metais (mg kg⁻¹), considerando as diferentes frações analisadas pelo método de extração sequencial, em amostras de sedimento superficial coletados em São Vicente e Ilha do Cardoso, S.

Local	Estação	Fração	Cr	Cu	Ni	B	Zn	
SV	Inverno	1	<LDM	0,35±0,10	1,48±0,11	3,41±0	13,84±4,99	
		2	1,06 ±0,21	0,79±0,16	0,73±0,25	24,36±5,46	15,82±3,16	
		3	9,21±1,08	2,10±0,96	2,27±0,63	11,30±1,80	33,94±1,18	
	Primavera	1	<LDM	0,48±0	1,42±0,48	3,41±0,36	15,86±1,96	
		2	1,18±0,26	0,80±0,20	0,95±0,29	26,29±2,91	17,43±4,38	
		3	10,33±0,98	3,45±1,11	2,83±0,42	15,61±2,71	37,46±1,43	
	Verão	1		0,45±				
				<LDM		1,32±0,33	3,05±0,46	16,86±1,21
					0,01			
		2		0,97±0,07	0,64±0,13	0,93±0,23	22,68±1,61	15,19±3,01
				9,25±0,88	3,52±0,75	2,65±0,52	15,11±3,81	40,07±5,03
Outono	1	<LDM	<LDM	1,07±0,30	3,58±0	16,88±1,68		
	2	1,02±0,18	0,86±0,15	1,09±0,13	22,12±2,44	17,81±2,66		
	3	10,53±1,12	4,85±1,06	3,23±0,50	22,55±4,87	52,35±1,98		
IC	Inverno	1	<LDM	<LDM	1,37±0,20	2,65±0	3,40±0,90	
		2	1,22±0,31	0,46±0,07	0,49±0,21	16,76±4,54	7,64±1,74	
		3	6,36±1,42	1,09±0,27	1,54±0,51	6,88±1,91	45,40±0,83	
	Primavera	1	<LDM	<LDM	1,92±2,12	3,31±0,95	4,27±1,55	
		2	1,83±0,32	0,51±0,08	0,69±0,30	25,05±4,04	9,44±1,56	
		3	7,38±1,23	1,38±0,30	2,21±0,39	9,18±1,54	57,96±11,56	
	Verão	1	<LDM	<LDM	1,06±0,23	3,57±0,52	5,96±1,18	
		2	1,93±0,23	0,53±0,06	1,12±0,21	31,55±6,22	14,13±3,29	
		3	11,35±2,70	2,41±0,84	3,44±0,80	14,47±4,54	73,87±2,92	
	Outono	1	<LDM	<LDM	0,49±0	2,88±0,44	2,83±0,59	
		2	1,84±1,21	0,45±0	1,16±0,91	18,70±4,11	7,96±2,11	
		3	8,54±1,08	2,21±0,55	2,64±0,44	14,08±2,71	61,11±3,00	