
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA), NÍVEL DE DOUTORADO.

IMPACTO GENO E CITOTÓXICO EM POPULAÇÕES
DO CARANGUEJO-UÇÁ, *UCIDES CORDATUS* (LINNAEUS, 1763)
(CRUSTACEA, BRACHYURA, UCIDIDAE), EM MANGUEZAIS
DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL

LUIS FELIPE DE ALMEIDA DUARTE

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em zoologia.

Abril - 2014

**IMPACTO GENO E CITOTÓXICO EM POPULAÇÕES
DO CARANGUEJO-UÇÁ, *UCIDES CORDATUS* (LINNAEUS, 1763)
(CRUSTACEA, BRACHYURA, UCIDIDAE), EM MANGUEZAIS
DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL**

LUIS FELIPE DE ALMEIDA DUARTE

Banca: Prof. Dr. Marcelo Antonio Amaro Pinheiro
Prof. Dr. Marcus Emanuel Barroncas Fernandes
Prof. Dr. Roberto Munehisa Shimizu
Prof. Dr. Camilo Dias Seabra Pereira
Prof. Dr. Milton Cezar Ribeiro

Abril - 2014

595.3 Duarte, Luis Felipe de Almeida
D812i Impacto geno e citotóxico em populações do
 caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763)
 (Crustacea, Brachyura, Ucididae), em manguezais do Estado
 de São Paulo, Brasil / Luis Felipe de Almeida Duarte. - Rio
 Claro, 2014
 154 f. : il., figs., gráfs., tabs., quadros, fots., mapas

 Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista,
 Instituto de Biociências de Rio Claro
 Orientador: Marcelo Antonio Amaro Pinheiro

 1. Crustáceo. 2. Citotoxicidade. 3. Genotoxicidade. 4.
 Ucides cordatus. 5. Metais. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: IMPACTO GENO E CITOTÓXICO EM POPULAÇÕES DO CARANGUEJO-UÇA, UCIDES CORDATUS (LINNAEUS, 1763) (CRUSTACEA, BRACHYURA, UCIDIDAE), EM MANGUEZAIS DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL.

AUTOR: LUÍS FELIPE DE ALMEIDA DUARTE

ORIENTADOR: Prof. Dr. MARCELO ANTONIO AMARO PINHEIRO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARCELO ANTONIO AMARO PINHEIRO

Universidade Estadual Paulista/ Campus Experimental do Litoral Paulista - CLP

Prof. Dr. MARCUS EMANUEL BARRONCAS FERNANDES

Universidade Federal do Pará - Campus Avançado Bragança

Prof. Dr. ROBERTO MUNEHISA SHIMIZU

Depto de Ecologia/Instituto de Biociências/USP

Prof. Dr. CAMILO DIAS SEABRA PEREIRA

UNIFESP - Campus da Baixada Santista

Prof. Dr. MILTON CEZAR RIBEIRO

Departamento de Ecologia / Instituto de Biociências de Rio Claro/UNESP

Data da realização: 25 de abril de 2014.

*Este trabalho é dedicado à minha vovozinha,
Lourdes Gomes dos Passos,
que caminha ao lado de anjos neste momento...*

*"Todas as substâncias são venenos;
não há nenhuma que não seja
veneno. A dose correta diferencia o
veneno de um remédio".*

Paracelsus (1493 - 1541).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS e ao UNIVERSO (talvez o mesmo “SER”) por SEMPRE conspirarem ao meu favor. Sou muito agradecido por todas as portas que se abriram e também as que se fecharam durante o curso. De fato, fazer do que se mais ama na vida um trabalho, é uma dádiva.

Ao meu orientador e amigo, *Prof. Dr. Marcelo Antonio Amaro Pinheiro*, por confiar em mim novamente e aceitar-me como aluno de doutorado. Por me apresentar como a ciência, de fato, funciona, expandindo minha mente para nunca mais voltar ao tamanho original. Por disponibilizar seu projeto de pesquisa *FAPESP (Proc. nº 2009/14725-1)* para uso como meu doutorado, e pelo seu imprescindível auxílio em campo e em laboratório. De fato, o orientador mais presente, envolvido e comprometido que eu já tive notícia, sempre me motivando com idéias brilhantes e sugestões proveitosas. Agradeço, também, por seu posicionamento profissional ético e extremamente dedicado e, sobretudo, por ser uma ótima pessoa, na qual pretendo continuar a manter contato.

À minha família e, principalmente aos meus pais (*Carlos de Almeida Duarte Junior e Maria Aparecida da Silva Duarte*), à minha avó (*Lourdes Gomes dos Passos - In Memoriam*) e à minha “esposa” (*Heloisa Assis Correia de Sousa*), que sempre me entenderam e apoiaram, desde o início, para a concretização deste sonho.

Pelas bolsas de estudos concedidas pela *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (Doutorado Pleno - Proc. nº 2010/01552-9)* e *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES (Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior - PDSE, Proc. nº 10474-12-9)*. Ao assessor “ad-hoc” da *FAPESP*, que embora desconhecido por mim, agradeço pelas valiosas sugestões no decorrer do desenvolvimento do projeto, por ocasião dos relatórios científicos. Agradeço, também, o financiamento do *Projeto Uçá III (FAPESP Proc. nº 2009/14725-1)*, que tornou o estudo plenamente possível.

Meus sinceros agradecimentos aos colegas do *Grupo de Pesquisa em Biologia de Crustáceos (CRUSTA)* e aos vários alunos do Curso de Graduação em Ciências Biológicas (Bacharelado) da *UNESP/CLP*, que auxiliaram o

desenvolvimento do *Projeto Uçá III*, do qual este doutorado faz parte, sejam coletas em campo ou nos procedimentos em laboratório. De fato, não posso deixar de citar alguns deles, como: *Caio Rodrigues Nobre*, *Pablo Pena Gandara e Silva*, *Kátia Vanessa Caetano de Sousa*, *Sérgio Oliveira Asche*, *Stephany Cyrillo Leitão*, *Vanessa de Souza Soares*, *Bruna Trevisan Souza* e *André Luiz Pardal Souza*. Aos barqueiros *José Jackson Silva Barbosa* (São Vicente) e *Dorico Rodrigues de Lima* (Juréia), bem como aos catadores de caranguejo *Anacleute José da Silva* (conhecido como “Zé Guedé”, em São Vicente) e *André Macharette Rodrigues* (Cananéia), que estiveram desde o começo do projeto trabalhando conosco.

Agradeço também o *Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) da UNESP de Rio Claro*, especialmente o Coordenador de Curso, *Prof. Dr. Denis Otávio Vieira de Andrade*, assim como aos demais professores e às secretárias (Ruth e Vanessa). Aos funcionários da *UNESP, Campus Experimental do Litoral Paulista (CLP)*, especialmente ao *Luís Carlos Kubo da Silva*, que contribuiu paciente e imensamente durante os procedimentos de geração de documentos de parceria entre a *Universidade Estadual Paulista (UNESP)* e *University New South Wales (UNSW)*, para que o Doutorado Sanduíche se tornasse realidade. Para o deferimento deste processo, gostaria de agradecer também a ajuda do orientador, da Assessoria de Relações Externas da UNESP (AREX) e da Latino Australia Education.

Agradecimento especial, também, aos doutorandos *Caroline Araújo de Souza* e *Marcelo Ricardo de Souza*, principalmente pelo auxílio na leitura dos micronúcleos e à imprescindível colaboração no manejo do programa R, respectivamente.

Agradeço também aos membros da banca examinadora (*Prof. Dr. Marcos Emanuel Barroncas Fernandes*, *Prof. Dr. Roberto Munehisa Shimizu*, *Prof. Dr. Camilo Dias Seabra Pereira* e *Prof. Dr. Milton Cezar Ribeiro*) que forneceram sugestões excelentes para a melhoria desta tese. Agradecimento especial também à *Dra. Emma L. Johnston*, aos membros de seu grupo de pesquisa e à *UNSW*, que me receberam prontamente para a realização de meu Doutorado Sanduíche em Sydney, Austrália.

Na realidade, precisaria de algumas dezenas de folhas para agradecer a todos aqueles que de alguma forma colaboraram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho. A todos... o meu **MUITO OBRIGADO!**

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1. Contaminação por metais em corpos hídricos receptores e seus impactos na biota.....	01
1.2. Monitoramento ambiental e o caranguejo-uçá (<i>Ucides cordatus</i>) como espécie sentinela de manguezais.....	03
1.3. Manguezais em estudo.....	06
2. OBJETIVOS.....	09
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
3.1. Identificação das áreas de manguezal de interesse.....	10
3.2. Caracterização das subáreas de manguezal.....	13
3.3. Amostras de água para as dosagens dos metais.....	15
3.4. Amostras de sedimento para as dosagens dos metais.....	16
3.5. A escolha das estruturas corpóreas da espécie <i>U. cordatus</i> e dos estágios foliares da espécie <i>Rhizophora mangle</i> para as dosagens dos metais.....	16
3.6. Amostras de folhas da espécie <i>R. mangle</i> para as dosagens de metais.....	17
3.7. Amostras de tecidos da espécie <i>U. cordatus</i> para as dosagens de metais.....	17
3.8. Método de análise dos metais nas amostras bióticas e abióticas.....	18
3.9. Danos geno e citotóxicos na espécie <i>Ucides cordatus</i>	19
3.9.1. Ensaio do micronúcleo: Obtenção de amostras e processamento.....	19
3.9.2. Ensaio do vermelho neutro: Obtenção de amostras e processamento.....	20
3.10. Processamento e análise estatística dos dados.....	23
3.10.1. Exploração de dados e procedimentos iniciais.....	23
3.10.2. Avaliação dos metais por área/subárea e compartimento ambiental/biótico.....	24

3.10.3. Análises multifatoriais.....	24
3.10.4. Análises de correlação entre matrizes.....	26
3.10.5. Análises de correlação de Spearman entre a concentração de metais e os resultados dos biomarcadores.....	26
3.10.6. Pressupostos orientadores de respostas dos biomarcadores utilizados e probabilidade de impactos geno e citotóxico em populações de <i>Ucides cordatus</i> frente a metais nos compartimentos abióticos.....	27
3.10.7. Transferência dos elementos químicos (Fator de transferência) e biodisponibilidade dos metais esperada.....	29
3.11. Valores de referência para a avaliação dos metais por área e compartimento ambiental/abiótico.....	30
4. RESULTADOS	33
4.1. Caracterização das subáreas.....	33
4.1.1. Transecções de amostragem.....	33
4.1.2. Quadrados de amostragem.....	45
4.2. Contraste de metais entre as áreas de manguezal, dentro dos compartimentos abiótico-biótico.....	53
4.2.1. Cobre.....	53
4.2.2. Chumbo.....	55
4.2.3. Cádmio.....	56
4.2.4. Manganês.....	57
4.2.5. Cromo.....	58
4.2.6. Mercúrio.....	60
4.3. Contraste de metais entre os compartimentos, por área de manguezal.....	62
4.3.1. Cobre.....	62
4.3.2. Chumbo.....	62
4.3.3. Cádmio.....	65
4.3.4. Manganês.....	66
4.3.5. Cromo.....	67
4.3.6. Mercúrio.....	68
4.4. Panorama geral sobre o acúmulo de metais.....	69

4.5. Similaridade entre as subáreas.....	69
4.6. Impactos geno e citotóxicos na espécie <i>U. cordatus</i> e sua relação com a presença de metais.....	80
4.7. Transferência dos elementos químicos (Fator de Transferência) e biodisponibilidade dos metais esperada.....	89
5. DISCUSSÃO.....	98
5.1. Caracterização das subáreas de Manguezal.....	98
5.2. Padrões de acúmulo dos metais nos compartimentos abiótico-bióticos.....	99
5.3. Contaminação por metais nos compartimentos abióticos (água e sedimento) e nas folhas de <i>R. mangle</i>	102
5.4. Contaminação por metais na espécie <i>U. cordatus</i> e qualidade da carne para consumo humano.....	111
5.5. Geno e citotoxicidade na espécie <i>U. cordatus</i> , sua relação com as concentrações de metais e transferência esperada/aproximada nos compartimentos ambientais.....	115
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	126
7. CONCLUSÕES.....	128
8. BIBLIOGRAFIA.....	130
9. ANEXO FOTOGRÁFICO.....	150

RESUMO

O presente estudo avaliou o grau de contaminação da água, sedimento, vegetação arbórea (*Rhizophora mangle*) e do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*) por metais, em seis manguezais paulistas, bem como o impacto geno e citotóxico sobre as populações deste crustáceo, com base na frequência de hemócitos (hialinócitos) micronucleados e tempo de retenção do vermelho neutro pelos lisossomos. Os manguezais são áreas de preservação permanente (APPs) e berçários de diversas espécies animais, incluindo o caranguejo-uçá, que é amplamente comercializado e consumido pelo homem em regiões litorâneas. Seis áreas de manguezal do Estado de São Paulo (Cananéia, Iguape, Juréia, Cubatão, São Vicente e Bertioga) foram avaliadas, sendo cada uma representada por três subáreas de amostragem. Amostras de sedimento, folhas da vegetação arbórea (*R. mangle*), estruturas corpóreas do caranguejo-uçá (*U. cordatus*) e água da galeria deste crustáceo foram coletadas para a quantificação de seis metais totais (Cd, Cu, Pb, Cr, Mn e Hg), por espectrometria de absorção atômica. As dosagens de metais obtidas foram submetidas à ANOVA, com as médias comparadas por Tukey (5%). Os resultados obtidos quanto ao comportamento dos seis metais totais se coadunam com a literatura especializada, já que o Cd, Pb, Cr e Hg se acumularam mais no sedimento do que nos demais compartimentos abiótico-bióticos analisados, enquanto o Cu e Mn apresentaram maiores concentrações nas estruturas corpóreas de *U. cordatus* e nas folhas de *R. mangle*, respectivamente. Considerando a disponibilidade de metais associados à água, sedimento e folhas de *R. mangle*, os resultados evidenciam que cada área de manguezal (localidade) possui um ou mais metais em maiores proporções relativas, a saber: Cubatão e Bertioga: Pb e Cd; São Vicente: Hg; Juréia: Cr; Iguape: Cu, Mn e Hg; e Cananéia: Mn (em menor escala). Em relação ao acúmulo de metais nas amostras de caranguejo-uçá por manguezal, verificou-se associação de Cu e Mn aos animais de São Vicente e Iguape; Cr em Iguape; Hg em São Vicente e Cananéia; enquanto para Pb e Cd as concentrações estiveram abaixo do limite de detecção do equipamento. A água das áreas de manguezal de Cubatão e Bertioga apresentaram concentrações de Cu e Pb acima dos limites de qualidade pela legislação brasileira (CONAMA nº 357/05), enquanto os sedimentos de Cubatão e Bertioga apresentaram concentrações de Cd acima do valor estabelecido pela legislação canadense (TEL, *Threshold Effect Level*). Com exceção da Juréia, as concentrações de Hg foram maiores do que o TEL (*Threshold Effect Level*) nos manguezais em estudo, embora todos os valores foram registrados abaixo do PEL (*Probable Effect Level*). A contaminação da água e sedimento por metais esteve associada ao acúmulo desses poluentes nos compartimentos bióticos analisados (folhas e caranguejo). Em *U. cordatus* o acúmulo de metais foi melhor explicado por suas dosagens nas folhas de *R. mangle*, do que pela água e sedimento, evidenciando que a alimentação determina parte da acumulação de metais neste caranguejo. *U. cordatus* apresentou contaminação por cromo em Cubatão, com valores superando o limite para este metal em alimentos, apresentando concentrações três vezes superiores na carne e quase seis vezes no hepatopâncreas. Nos manguezais do Estado de São Paulo, o impacto genotóxico de *U. cordatus* seguiu a seguinte ordem hierárquica: São Vicente > (Cubatão = Bertioga) > Iguape > (Juréia = Cananéia). No caso da integridade fisiológica (ensaio do vermelho neutro), a sequência hierárquica foi: Cubatão < Bertioga < São Vicente < Iguape < Cananéia < Juréia. A área de menor poluição no presente estudo (Juréia) apresentou uma frequência de células micronucleadas <3 MNs%, que foi assumido como valor basal de normalidade genética. Da mesma forma, o tempo médio de retenção do vermelho neutro pelo crustáceo na Juréia superou >250 minutos, sendo esta informação original na literatura. Pelo exposto, os exemplares das áreas mais contaminadas (Cubatão, São Vicente e Bertioga) mostraram impactos geno e citotóxicos aproximadamente 3 vezes superior aos de normalidade aqui estabelecidos. A concentração de mercúrio (sedimento), de cobre (hepatopâncreas de *U. cordatus*) e de chumbo (água e folhas verdes de *R. mangle*), influenciaram diretamente o impacto genotóxico de *U. cordatus*. Já a concentração de cobre (folhas verdes, senescentes e no hepatopâncreas) e chumbo no sedimento, possivelmente influenciaram a integridade da membrana lisossômica. Portanto, representantes de todos os compartimentos estiveram associados a geno e citotoxicidade da espécie, requerendo, portanto, uma visão holística para questões relacionadas aos danos subletais. Houve também uma correlação significativa negativa entre os biomarcadores utilizados, o que denota resultados similares na indicação de áreas de manguezal em função de seu estado de conservação por metais. Foram sugeridos valores orientadores para a frequência de micronúcleos e o tempo de retenção do vermelho neutro, para a categorização dos níveis de impactos geno e citotóxicos (Impacto Nulo Provável = valor basal de normalidade; Baixo Impacto Provável; e Alto Impacto Provável), além de apresentadas probabilidades esperadas para tais danos subletais em relação às concentrações de metais nos compartimentos abióticos. É provável que *U. cordatus* possua comportamentos fisiológicos e tolerâncias biológicas diferenciais para os metais avaliados, diferentemente do observado para o mangue-vermelho (*R. mangle*). Os metais avaliados parecem apresentar uma biodisponibilidade similar entre as áreas de manguezal estudadas. Contudo, os resultados obtidos sobre os danos subletais em manguezais evidenciam a necessidade de políticas públicas voltadas à sua recuperação, bem como confirmam a possibilidade de uso do caranguejo-uçá como bioindicador da contaminação por metais.

Palavras-chave: caranguejo, manguezal, metais, citotoxicidade, genotoxicidade, *Ucides cordatus*.

ABSTRACT

This study evaluated the metals contamination level of water, sediment, woody vegetation (*Rhizophora mangle*) and the “uçá”-crab (*Ucides cordatus*) in six mangrove areas located in São Paulo State, as well as the geno cytotoxic impact on the populations of this crustacean, based on micronucleated hemocytes (hyalinocytes) frequency and the retention time of neutral red in their lysosomes. Mangroves are permanent preservation areas (PPAs) and nurseries to several animal species, including the “uçá”-crab, which is widely traded and consumed by humans at coastlands. Six mangrove areas located in São Paulo State (Cananéia, Iguape, Juréia, Cubatão, São Vicente and Bertioga) were evaluated, each of them were represented by three replicas. Samples from sediment, leaves of woody vegetation (*R. mangle*), body structures from “uçá”-crab (*U. cordatus*) and water from burrows of this crustacean were collected to dosage of six total metals (Cd, Cu, Pb, Cr, Mn and Hg) by atomic absorption spectrophotometer. The metals concentrations were compared by ANOVA and their means by Tukey (at 5%). The results regarding the tendencies of accumulation of six metals are in accordance with the literature, since the Cd, Pb, Cr and Hg have accumulated more in sediment than in others biotic-abiotic compartments analyzed, whereas Cu and Mn have showed higher concentrations in *U. cordatus* body structures and *R. mangle* leaves, respectively. At São Paulo mangroves, taking into account the availability of metals associated with their presence in water, sediment and leaves of *R. mangle*, the results suggest that each area (locality) has one or more metals in larger relative proportions, namely: Cubatão and Bertioga: Pb and Cd; São Vicente: Hg; Juréia: Cr; Iguape: Cu, Mn and Hg; and Cananéia: Mn (smaller scale). About the “uçá”-crab metals accumulation by mangrove area, it were found an association of Cu and Mn in animals from São Vicente and Iguape; Cr: Iguape; Hg: São Vicente and Cananéia, whereas Pb and Cd concentrations were recorded lower than what the equipment could detect. The water from mangrove areas Cubatão and Bertioga showed concentrations of Cu and Pb above the quality limits by Brazilian legislation (CONAMA 357/05), whereas the sediments from Cubatão and Bertioga presented Cd concentrations above the established value by Canadian law (TEL, Threshold Effect Level). Excepting Juréia area, the Hg concentrations were higher than TEL (Threshold Effect Level) in all the mangroves studied, although, all values were below the PEL (Probable Effect Level). The water and sediment contamination by metals were associated with the accumulation of these pollutants in biotic compartments analyzed (leaves and crab). In *U. cordatus* the metals accumulation was best explained by their dosages found in the leaves of *R. mangle*, than by water and sediment, indicating that feeding determines the metals accumulation in this crab. *U. cordatus* showed contamination by chromium in Cubatão, presenting values higher than limit values for this metal in food, with concentrations three times higher found in meat and almost six times in hepatopancreas. Mangroves from São Paulo State, the genotoxic impact found in *U. cordatus* follows this hierarchical order: São Vicente > (Cubatão = Bertioga) > Iguape > (Juréia = Cananéia). About the physiological integrity, neutral red assay, the hierarchical sequence was: Cubatão < Bertioga < São Vicente < Iguape < Cananéia < Juréia. The area of less contamination in the present study (Juréia) had a micronucleated cells frequency <3 MNs%, it was assumed as a baseline value to genetic normality. Similarly, the average of neutral red retention time by the crab at Juréia was >250 minutes, which it is original information at the literature. For the above, animals from the most contaminated areas (Cubatão, São Vicente and Bertioga) showed geno cytotoxic impact approximately 3x higher than normal range established in this study. The mercury concentration (sediment), copper (hepatopancreas of *U. cordatus*) and lead (water and *R. mangle* green leaves), influenced the genotoxic impact of *U. cordatus*. About the copper concentration (green leaves, senescent and hepatopancreas) and lead in the sediment, possibly influenced the lysosomal membrane integrity. Therefore, representatives of all compartments were associated with cyto and genotoxicity of the species, thus requiring a holistic approach to issues related to sublethal damage. There was also a significant correlation between the biomarkers, with both showing similar results due to indicating mangrove areas in better or worse condition as the metals. Guidelines values of micronuclei frequency and neutral red retention time in order to categorize levels of geno cytotoxic impacts have been suggested (Null Impact Probable = normality baseline value, Low Impact Probable and High Impact Probable), and sublethal damage probabilities expected for such metals concentrations in abiotic compartments that presented some significant correlation with the biomarkers. It is probable that the species *U. cordatus* have differential physiological and biological tolerances to metals evaluated, different from that observed for red mangrove (*R. mangle*). The metals analyzed seem to present a similar bioavailability between the mangrove study areas. However, the results obtained about the sublethal damage in mangroves highlight the need for environmental their restoration, as well as confirm the use of the “uçá”-crab as bioindicator of metal contamination.

Keywords: crab, mangrove, metals, cytotoxicity, genotoxicity, *Ucides cordatus*.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Contaminação por metais em corpos hídricos receptores e seus impactos na biota.

Os ambientes costeiros têm sofrido a influência de diversos impactos antrópicos em função de desmatamentos, uso inadequado do solo (WOODWELL *et al.*, 1983; PETTS *et al.*, 1999), sobre-exploração de recursos pesqueiros (KURA, 2004; WORM *et al.*, 2009), introdução de espécies exóticas (SILVA *et al.*, 2004; LODGE *et al.* 2006), intensas atividades mineradoras e, principalmente, por despejos de efluentes domésticos e/ou industriais não tratados (GOULART & CALLISTO, 2003; RAINBOW, 2007; EISLER, 2010; CESAR *et al.*, 2012).

Dentre os contaminantes de maior toxicidade e persistência, lançados em corpos hídricos receptores, estão os metais (AHEARN *et al.*, 2004; RAINBOW & BLACK, 2005; RAINBOW, 2007; LUOMA & RAINBOW, 2008; CESAR *et al.*, 2012). A poluição por estes contaminantes vem chamando atenção mundial, principalmente pelo grande impacto e risco potencial, pois são de difícil degradação e se acumulam na biota facilmente, possibilitando sua magnificação nas cadeias e redes tróficas (AHEARN *et al.*, 2004; RAINBOW, 2007; VILHENA *et al.*, 2012), favorecendo a potencialização de diversos problemas à saúde humana, entre eles o câncer (BERTIN & AVERBECK, 2006).

Desde a década de 60 o Brasil vem regulamentado as concentrações máximas de metais que podem ser encontrados em alimentos, através do Decreto nº 55.871/1965 (BRASIL, 1965) e, mais recentemente, pela Portaria ANVISA nº 685/1998 (BRASIL, 1998). O teor destes contaminantes tem servido como importante parâmetro na quantificação do nível de contaminação de ambientes naturais (RAINBOW, 2007; LUOMA & RAINBOW, 2008). No entanto, existem metais denominados essenciais (como o Cu, Cr e Mn), por fazerem parte de processos metabólicos, tornando-se tóxicos em concentrações elevadas, o mesmo ocorrendo com os metais não-essenciais (como o Hg, Pb e Cd), cuja toxicidade já ocorre em contrações reduzidas (EISLER, 2010).

Em todos os casos, dependendo da dosagem, sua presença na água preocupa pela mobilidade, no sedimento pela persistência (LUOMA & RAINBOW, 2008; VILHENA *et al.* 2012) e na biota pela biodisponibilidade e toxicidade (AHEARN *et al.*, 2004; RAINBOW, 2007). Concentrações tóxicas podem repercutir negativamente sobre a biota, seja por redução de sua biodiversidade (TERLIZZI *et al.*, 2005), extinção de espécies menos tolerantes (POMPEU & ALVES, 2003; ESPINOSA *et al.*, 2007), por desestruturação ecossistêmica (AHEARN, *et al.*, 2004; RAINBOW, 2007) e, não menos importante, por danos subletais aos organismos, o que pode ocorrer por alterações bioquímicas, genéticas, celulares, histológicas, fisiológicas, imunológicas, reprodutivas e/ou comportamentais (BARSIENTE, 2002; AHEARN *et al.*, 2004; NIGRO *et al.*, 2006; PINHEIRO & TOLEDO, 2010; PINHEIRO *et al.*, 2013; AMIARD-TRIQUET *et al.*, 2013; AMIARD-TRIQUET & AMIARD, 2013; PEREIRA *et al.*, 2014).

Além dos danos subletais promovidos diretamente pela intoxicação por metais, estes contaminantes também induzem a efeitos danosos indiretos, contribuindo ao surgimento de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, conhecidas genericamente como radicais livres (LIMA & ABDALLA, 2001). Estes elementos químicos, altamente reativos, oxidam diversos componentes biológicos, como os ácidos graxos poliinsaturados (encontrados nos lipídeos das membranas celulares) e os nucleotídeos (encontrados no DNA), colocando em risco a integridade celular e genética do organismo (GILLER & SINGLER, 1995).

Os sistemas estuarinos e os manguezais estão localizados em regiões onde as atividades humanas são frequentes e intensas, além de possuírem características físico-químicas que favorecem a estabilização destes contaminantes, proporcionando relevante barreira biogeoquímica (MACFARLANE *et al.*, 2007; LUOMA & RAINBOW, 2008). Diante disso, a *Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB)*, órgão ambiental do Estado de São Paulo, adota, basicamente, dois critérios de qualidade ambiental para os sistemas estuarinos, com base em valores-guia para metais presentes nos sedimentos (MACDONALD *et al.*, 1996) e na água (Resolução CONAMA nº 357/2005). O primeiro deles foi estabelecido pela legislação canadense, com a definição de dois limites: o TEL ("*Threshold Effect Level*"), que indica o nível abaixo do qual supostamente não ocorre efeito

adverso à comunidade biológica; e o PEL (“*Probable Effect Level*”), nível acima do qual é provável a ocorrência de efeito adverso à comunidade biológica. Entretanto, segundo CHOUERI *et al.* (2009), o TEL do atlântico Sul é equivalente ao PEL canadense, pois, ao que tudo indica, as espécies de regiões tropicais são mais sensíveis.

1.2. Monitoramento ambiental e o caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*) como espécie sentinela de manguezais

O biomonitoramento refere-se ao uso sistemático de respostas biológicas para avaliar mudanças ambientais, sejam elas promovidas por causas naturais ou antropogênicas (BUSS *et al.*, 2003). Os macroinvertebrados bentônicos destacam-se entre os organismos de maior eficiência ao monitoramento de impactos antrópicos, particularmente em ecossistemas aquáticos continentais (CALLISTO, 2000; GOULART & CALLISTO, 2003). De acordo com FELDMAN & CONNOR (1992), a alteração de parâmetros abióticos pode influenciar a estrutura e distribuição espaço-temporal da comunidade de macroinvertebrados. O uso da biota no monitoramento ambiental é uma prática cada vez mais comum, tal fato é particularmente evidente no caso dos macroinvertebrados bentônicos, que têm sua área de forrageamento limitada e com dependência direta de seus itens alimentares, sua quantidade e disponibilidade (JUNQUEIRA *et al.*, 2000).

Dentre as espécies capazes de responder a estresses ambientais, algumas são consideradas “sentinelas” por revelarem precocemente a presença e toxicidade de xenobióticos nos ambientes naturais (BELTRAME *et al.*, 2011; BRIGITTE, 2013; PEREIRA *et al.*, 2014). Estudos desenvolvidos nos manguezais do Estado de São Paulo por PINHEIRO *et al.* (2012, 2013) já demonstraram que o macroinvertebrado *Ucides cordatus*, conhecido popularmente como caranguejo-uçá, pode ser um bom bioindicador da contaminação por metais, pois acumula estes contaminantes em seus tecidos e apresenta alta correlação significativa com impactos genéticos observados (PINHEIRO *et al.*, 2012, 2013). Este crustáceo vem contribuindo para a biomagnificação destes contaminantes pela cadeia trófica de manguezal, pois é consumido por peixes, aves e mamíferos que frequentam esse ecossistema (FISCARELLI & PINHEIRO, 2002). Além disso, este crustáceo possui íntima

relação com as matrizes ambientais, a saber: 1) água, por contato e ingestão, participando de vários processos fisiológicos e metabólicos, entre os quais a respiração; 2) sedimento, por contato e ingestão, em função de escavar galerias no sedimento e ingerir parte dele durante sua alimentação; e 3) folhas das árvores do manguezal, utilizadas como alimento por esta espécie (FISCARELLI & PINHEIRO, 2002; CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2013; PINHEIRO *et al.*, 2013).

Ademais, o caranguejo-uçá é uma espécie endêmica do ecossistema manguezal, um “berçário” natural frequentado por vários organismos, como sítio de reprodução, alimentação e refúgio (SCHAEFFER-NOVELLI & CINTRÓN, 1986). Além de ser alvo de captura e consumo humano, particularmente pelas populações litorâneas, trata-se de uma espécie-chave ao ecossistema, onde assume importante papel ecológico pelo consumo e degradação de mais de 50% da serapilheira disponível sobre o sedimento local (CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2013). O uso desta espécie bioindicadora ganha importância, pois os impactos são mais evidentes em organismos de vida longa (RAINBOW, 2007), o que já foi confirmado pelas estimativas de longevidade efetuadas PINHEIRO *et al.* (2005), que é de 10 anos, sendo, portanto, seu uso de maior confiabilidade ao acúmulo de metais.

No que se refere às formas de biomonitoramento, os poluentes podem estimular os organismos a gerarem respostas subletais causadas pelo estresse ambiental, que são passíveis de identificação e quantificação por ensaios experimentais conhecidos como biomarcadores (LIMA, 2000; MONSERRAT *et al.*, 2007; AMIARD-TRIQUET *et al.*, 2013). Estes marcadores biológicos indicam a ocorrência de uma determinada disfunção biológica (ou até patológica) em um organismo como resposta a um agente estressor (natural ou antrópico). O uso destes testes em monitoramentos ambientais tem atraído a atenção mundial, por indicarem perturbações subletais e possibilitarem uma gestão ambiental precoce e preventiva, mais eficaz antes que problemas populacionais ocorram nos ecossistemas (AMIARD-TRIQUET *et al.*, 2013).

Considerando os impactos diretos e indiretos (radicais livres), promovidos por intoxicação pelos metais que podem colocar em risco a integridade genética e celular do organismo, chama a atenção o uso de dois tipos de biomarcadores: 1) quantificação de micronúcleos; e 2) o tempo de retenção do vermelho neutro. No primeiro caso, a geração de células

micronucleadas em frequência superior ao normal é uma das respostas do organismo ao efeito dos poluentes, já que se ocorrer comprometimento da integridade do DNA na duplicação celular (ligações químicas frágeis), este pode se romper, formando porções soltas que logo são encapsuladas (micronúcleo). Se houver parte de um gene contido neste encapsulamento, ocorre depleção de sua expressão, o que pode colocar em risco a produção de proteínas e, conseqüentemente, a vida celular (COUNTRYMAN & HEDDLE, 1976). Neste sentido, a técnica de micronúcleo tem sido usada com sucesso desde o final dos anos 50 na indicação de deficiências citogenéticas (BURGEOT *et al.*, 1995; COLLIER *et al.*, 2013), podendo, também, ser empregada na determinação do efeito genotóxico em ambientes costeiros (MARCHAND *et al.*, 2013). A validade do uso desta técnica ganhou força no início do século XX, devido às recentes descobertas que validaram aberrações cromossômicas como preditores de câncer. Portanto, a utilização deste ensaio é de suma relevância populacional e, conseqüentemente, ecológica (BONASSI *et al.*, 2000; NERI *et al.*, 2003). Avaliações do efeito mutagênico em efluentes têm evidenciado o ensaio micronúcleo como um potente marcador genético em mamíferos (SHIMADA *et al.*, 1992), anfíbios (JAYLET *et al.*, 1986), peixes (CARRASCO *et al.*, 1990; WILLIAMS & METCALFE, 1992) e invertebrados (BRUNETTI *et al.*, 1988; SCARPATO *et al.*, 1990; WRISBERG *et al.*, 1992). No caso dos invertebrados, esta ferramenta é extremamente sensível na estimativa de danos genéticos em bivalves do gênero *Mytilus* (vide BARSIENTE, 2002), crustáceos cirripédios do gênero *Balanus* (vide NIGRO *et al.*, 2006) e em crustáceos braquiúros, como é o caso de *Ucides cordatus* (PINHEIRO *et al.*, 2012; 2013). No entanto, a análise de micronúcleos não se restringe apenas aos estudos de genotoxicidade, mas também aos ecotoxicológicos, servindo à tomada de decisões quanto ao gerenciamento de um recurso e minimização da toxicidade ambiental (MARCHAND *et al.*, 2013).

Já o ensaio de incorporação do vermelho neutro em células vivas é um teste *in vitro* de extrema eficácia, de baixo custo, de fácil replicação e que oferece excelentes respostas quantitativas para identificar substâncias potencialmente tóxicas (SVENDSEN *et al.*, 2004). Baseia-se no fato de que o vermelho neutro é um corante vital, hidrossolúvel e que passa através da membrana plasmática e se concentra nos lisossomos dos hialinócitos, onde se fixa por ligações eletrostáticas nos sítios aniônicos da matriz lisossomal (LOWE

et al., 1995). Neste sentido, os metais e os radicais livres, por exemplo, podem danificar as membranas celulares e lisossomais por peroxidação lipídica (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; LIMA & ABDALLA, 2001) resultando no decréscimo de captura e ligação do vermelho neutro (PEREIRA, 2003; BURATTI *et al.*, 2012). Os lisossomos possuem função de reciclar outras organelas e componentes celulares, além de degradar partículas advindas do meio extracelular. De forma geral, o pH do citosol é neutro (7,2), com o melhor funcionamento desta organela, que se baseia na contribuição de várias enzimas (aproximadamente 50), em pH ácido ($\pm 5,0$), o que é mantido no interior do lisossomo desde que a permeabilidade seletiva de sua membrana seja eficientemente. Em caso contrário, a função da organela pode ser comprometida e, conseqüentemente, colocar em risco a própria vida celular, tecidual e/ou, em última instância, do indivíduo (CARNEIRO *et al.*, 2012). Portanto, segundo SVENDSEN *et al.* (2004), este ensaio proporciona ótimas respostas biológicas quanto à relação tempo/dose-resposta, sensibilidade, relevância ecológica e para espécies de diferentes grupos taxonômicos, como o caso dos bivalves *Mytilus galloprovincialis* (GOMIERO *et al.* 2011) e *Anomalocardia brasiliensis* (MARTINS *et al.*, 2005), o camarão *Fenneropenaeus chinensis* (YAO *et al.*, 2008), do siri *Carcinus maenas* (AGUIRRE-MARTÍNEZ *et al.*, 2013) e dos anelídeos *Eisenia fétida* e *Lumbricus terrestres* (ASENSIO *et al.*, 2007).

1.3. Manguezais em estudo

De acordo com PINHEIRO *et al.* (2008), a Região Metropolitana da Baixada Santista (RMBS - SP), composta por nove municípios, representa um cenário contrastante devido a presença de áreas preservadas, entremeadas a outras de expressivo impacto ambiental. PINHEIRO *et al.* (2013) e ABESSA & AMBROZEVICIUS (2008) evidenciam problemas ambientais de várias naturezas, com diferentes fontes e intensidades, mencionando entre as causas o destino inadequado dos resíduos sólidos e a falta de tratamento dos efluentes domésticos/industriais. Citam, também, os metais entre os contaminantes de maior relevância, podendo ser tóxicos quando em doses elevadas, ou mesmo em menores concentrações, quando interagem com outros metais. Podem, ainda, induzir alterações metabólicas e genéticas, que

podem levar a morte de organismos de várias espécies, inclusive do próprio homem.

O Município de Cubatão (SP) enfrenta ameaça constante da poluição, por seu imponente parque industrial, composto por 23 complexos industriais, 111 fábricas e mais de 300 fontes poluentes (PINHEIRO *et al.*, 2012). Segundo GUTBERLET (1996), tal poluição gerou graves problemas ao Rio Cubatão e seus manguezais, onde já foram registrados peixes cegos, com pele manchada e gosto intragável. Apesar disso, SANTOS-FILHO *et al.* (1991) estudaram a pesca de peixes estuarinos em Cubatão, embora conhecessem sua impropriedade ao consumo. Adicionalmente, DOMINGOS *et al.* (1998), também ressaltam que a Mata Atlântica também tem sido afetada por poluentes emitidos pelo Polo Industrial de Cubatão, já mostrando sinais de comprometimento naquela época.

Os manguezais do Município de São Vicente, por sua vez, sofrem influência de 11 fontes industriais poluidoras. Estão, portanto, submetidos à expressiva pressão antropogênica, particularmente pela ocupação irregular (p. ex., palafitas) e descarte incorreto de resíduos sólidos (CETESB, 2007).

No sudeste do Estado de São Paulo, a Bacia Hidrográfica do Rio Ribeira de Iguape também apresenta problemas ambientais, tendo sido alvo de intensa atividade mineradora até 1991, principalmente do chumbo, prata e ouro. Durante cerca de 40 anos, a empresa responsável pelo beneficiamento e fundição desses metais descartou resíduos de mineração nessa bacia hidrográfica, em especial em áreas próximas à nascente do Rio Ribeira de Iguape. Com o fechamento das minas, em 1996, pilhas de rejeitos do beneficiamento e refino ficaram expostas à ação das intempéries, sendo removidas apenas em 2007. Como o Rio Ribeira de Iguape não passa por processo de depuração, possivelmente tais resíduos ainda são detectáveis na biota local, como o cádmio e o chumbo (CETESB, 2000; FIGUEIREDO *et al.*, 2004; SOUSA, 2011). Apesar das atividades de mineração e metalurgia terem cessado, a população do Vale do Ribeira ainda convive com diversas fontes de contaminação e passivos (FIGUEIREDO *et al.*, 2004), amplamente citados em diagnósticos de qualidade ambiental (TESSLER *et al.*, 1987; EYSINK *et al.*, 1988; MORAES, 1997; CETESB, 2000, 2007). No século passado, com a construção do Valo Grande (canal que liga o Rio Ribeira de Iguape ao Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape), é plausível supor que estes

metais se difundiram por toda a Área de Proteção Ambiental de Cananéia-Iguape-Peruíbe (APA/CIP), inclusive sendo registrados na biota dos manguezais (CETESB, 2000; FIGUEIREDO *et al.*, 2004; SOUSA, 2011). Segundo MENDONÇA & MIRANDA (2008), o Município de Cananéia destaca-se por sua expressiva atividade pesqueira, com desembarques da pesca industrial (mar-a-fora) ou artesanal (costeira ou estuarino-lagunar), conferindo a esta área notória importância em análises de impactos por metais e outros poluentes.

As Unidades de Conservação (UCs) têm sido a melhor forma de proteção à biodiversidade (BRUNER *et al.*, 2001). Com a elevação do crescimento populacional humano (e redução dos habitats naturais), essas unidades têm se tornando os únicos redutos da maior parte da biota intolerante à ação humana (KRAMER *et al.*, 1997). A Estação Ecológica da Juréia-Itatins (EEJI), uma UC criada pelo Decreto Estadual nº 24.646/1986, e regulamentada pela Lei nº 5.649/1987, totaliza cerca de 80.000 hectares de área preservada (MARQUES & DULEBA, 2004). Em 2006, por força de legislação estadual (nº 12.406/2006), a EEJI foi transformada em Mosaico de Unidades de Conservação, classificando a região da Barra do Una como Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS), embora seus manguezais não tenham ainda sido classificados quanto ao seu estado de conservação.

Em suma, o conhecimento sobre a contaminação por metais em compartimentos abióticos e bióticos, bem como os impactos subletais na espécie-chave dos manguezais ocidentais, são de extrema relevância ao conhecimento do estado de conservação da população de *U. cordatus* e, consequentemente, do ecossistema que habitam. Com tal conhecimento, seria possível a adoção de medidas cabíveis pelas instituições públicas que tratam da qualidade ambiental no Estado de São Paulo.

2. OBJETIVOS

Tendo em vista o possível problema de poluição por metais em manguezais da Região Metropolitana do Estado de São Paulo, bem como os efeitos deletérios destes poluentes, a presente tese teve como objetivos:

- 1)** Avaliar o grau de contaminação de seis áreas de manguezais paulistas, por seis metais totais (Cd, Cu, Pb, Cr, Mn e Hg), com base em amostras de sedimento, folhas do mangue-vermelho, água de galerias do caranguejo-uçá e em tecidos corpóreos deste crustáceo (hepatopâncreas e musculatura);
- 2)** Avaliar a geno e citotoxicidade do crustáceo nas mesmas áreas de manguezal por dois biomarcadores (frequência de células micronucleadas e o tempo de integridade da membrana lisossômica), com base em amostras de hemolinfa do caranguejo-uçá;
- 3)** Relacionar os danos subletais observados na espécie com os níveis de metais no ambiente, estimando suas probabilidades de geno e citotoxicidade, além da transferência aproximada destes elementos entre os compartimentos abióticos e bióticos e a biodisponibilidade esperada.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Identificação das áreas de manguezal de interesse

O estudo foi delineado inicialmente para cinco áreas de manguezal do Litoral Centro-Sul do Estado de São Paulo (Projeto Uçá III - FAPESP Proc. nº 2009/14725-1), passíveis de contaminação por estes metais e com estado de conservação presumivelmente distintos, a saber: 1) Cananéia, localizada no extremo sul do Estado de São Paulo e caracterizada por intensa atividade pesqueira, inclusive do caranguejo-uçá; 2) Iguape, no mesmo complexo estuarino, com possível contaminação pela intensa atividade mineradora ocorrida às margens do Rio Ribeira de Iguape; 3) Juréia, uma Unidade de Conservação (Estação Ecológica Juréia-Itatins - EEJI), que se acredita livre de contaminantes (controle); 4) Cubatão, com conhecido histórico de contaminação por diversos poluentes industriais; e 5) São Vicente, que por estar localizada no mesmo estuário de Cubatão, pode apresentar também um nível de contaminação representativo. Durante a execução da presente tese, foi possível a inclusão de mais uma área de manguezal (Bertioga) para avaliação, onde são desenvolvidas atividades de pesca artesanal / esportiva e náuticas.

Portanto, estas seis áreas de manguezal do Litoral Centro-Sul Paulista foram previamente selecionadas entre abril a junho/2010, tendo como base seu histórico de influência antrópica, particularmente relacionado aos metais (EISYNK *et al.*, 1988; CETESB, 2001; ABESSA, 2002; PINHEIRO *et al.*, 2013) e com foco em locais com predomínio do mangue-vermelho (*Rhizophora mangle*, L.), onde ocorrem os exemplares de maior porte do caranguejo-uçá (HATTORI, 2006; HATTORI *et al.*, 2008). Cada área compreendeu três subáreas de manguezal (réplicas), evitando a pseudo-replicação (HURLBERT, 1984) e garantindo maior abrangência das áreas em estudo, trazendo maior confiabilidade aos resultados obtidos.

Cada uma das 18 subáreas de manguezal foi demarcada com o auxílio de um GPS (*Global Positioning System*), acoplado a uma antena externa imantada sobre placa de zinco, fixada a um capacete para aumento do sinal dos satélites para o georeferenciamento (Figura 1a). Após a estabilização do ponto de origem na margem, cada subárea (bosque de mangue-vermelho - R.

mangle) foi demarcada com GPS, além de ser registrado de seu perímetro e área total (m²). Para facilitar o retorno da equipe nos meses subsequentes, cada subárea teve uma das árvores próxima à margem no ponto de origem marcada com fita adesiva zebra e placa de identificação plastificada (Figura 1b). A tabela I resume as coordenadas geográficas e áreas totais (m²) de cada subárea amostral, que podem ser consultadas na figura 2.



Figura 1 - Demarcação das subáreas de mangue-vermelho (predomínio de *Rhizophora mangle*), com uso de um GPS (Global Positioning System) acoplado a uma antena externa imantada a uma placa de zinco sobre capacete, visando a ampliação do sinal dos satélites (a) e marcação do ponto de origem com fita adesiva zebra e placa informativa (Fotos: Marcelo Pinheiro).

Tabela I - Coordenadas geográficas e totalização (m²) dos manguezais estudados em cada uma das 18 subáreas amostrais, em seis áreas do litoral do Estado de São Paulo.

Áreas	Subáreas	Coordenadas Geográficas		Total da Subárea (m ²)
		Latitude (S)	Longitude (W)	
São Vicente	SAV 1	23° 56' 18,9"	46° 26' 02,6"	12.493
	SAV 2	23° 57' 25,2"	46° 25' 20,4"	27.459
	SAV 3	23° 58' 51,4"	46° 24' 24,5"	14.368
Cubatão	CUB 1	23° 53' 02,9"	46° 21' 54,6"	15.905
	CUB 2	23° 54' 02,4"	46° 22' 56,9"	4.454
	CUB 3	23° 55' 08,0"	46° 23' 04,8"	9.618
Juréia	JUR 1	24° 26' 06,1"	47° 04' 47,1"	68.024
	JUR 2	24° 26' 01,0"	47° 06' 05,9"	16.558
	JUR 3	24° 25' 16,5"	47° 04' 22,5"	8.712
Iguape	IGU 1	24° 41' 20,2"	47° 27' 57,5"	6.397
	IGU 2	24° 42' 08,0"	47° 28' 55,5"	6.828
	IGU 3	24° 41' 50,7"	47° 30' 51,1"	4.884
Cananéia	CAN 1	25° 05' 38,2"	48° 01' 08,5"	7.469
	CAN 2	25° 07' 28,2"	48° 01' 03,8"	10.999
	CAN 3	25° 09' 25,8"	48° 01' 53,9"	9.095
Bertioga	BET 1	23° 51' 14,9"	46° 09' 15,8"	14.064
	BET 2	23° 50' 23,5"	46° 09' 00,8"	17.530
	BET 3	23° 49' 03,2"	46° 08' 40,9"	14.427

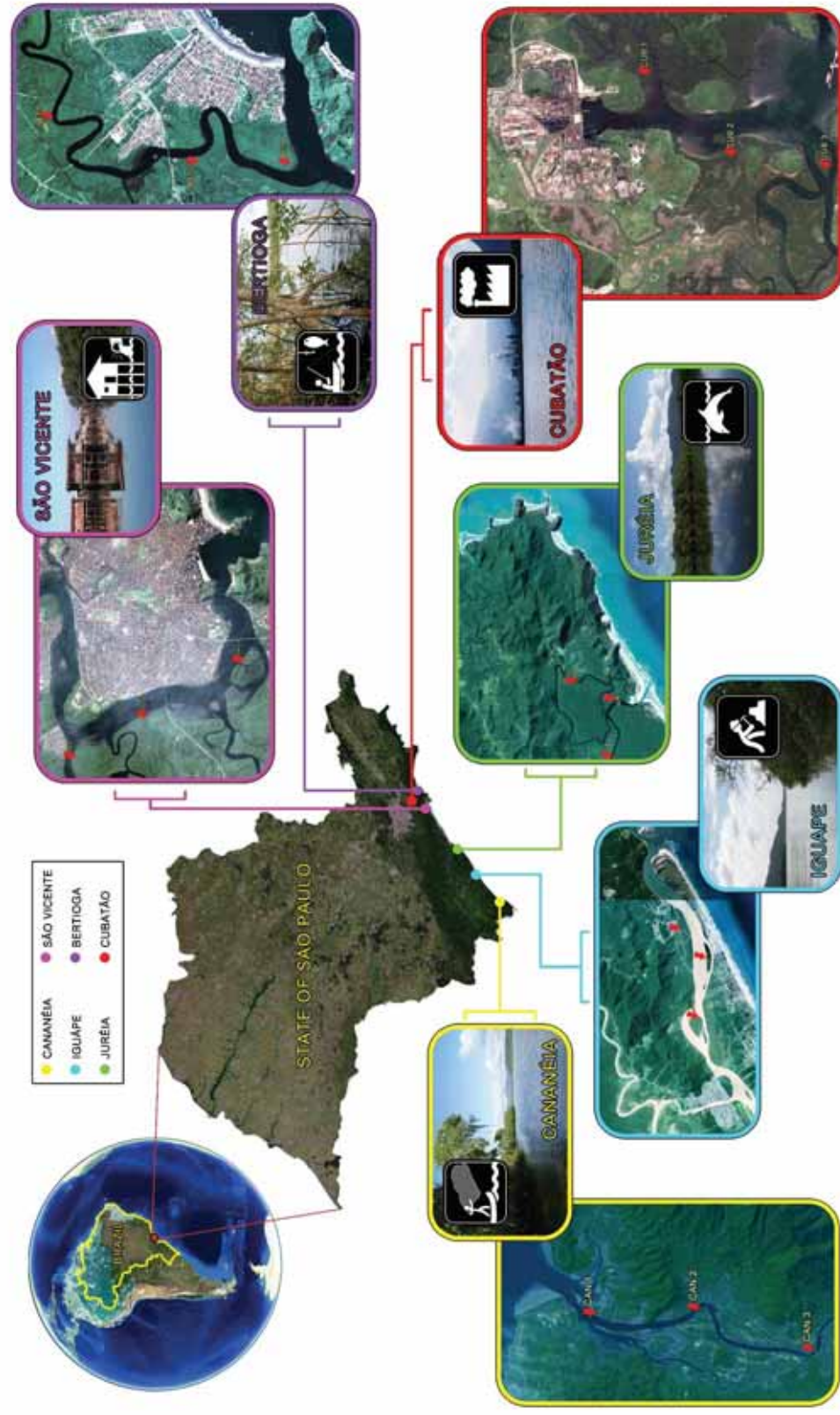


Figura 2 - Localização das seis áreas de manguezal do Estado de São Paulo, com representação iconográfica relativa ao seu estado de conservação ou atividade antrópica. Cada área compreendeu três subáreas amostrais, totalizando uma malha amostral de 18 pontos (Fonte: imagens de satélite do Google Earth®, confeccionado por Gustavo Pinheiro).

3.2. Caracterização das subáreas de manguezal

Durante o verão/2010 (período seco), as 18 subáreas de manguezal foram caracterizadas segundo método adaptado de SCHAEFFER-NOVELLI & CINTRÓN (1986), já aplicado anteriormente por PINHEIRO (2006). Assim, cada bosque de manguezal foi avaliado quanto a sua estrutura, biometria arbórea e produtividade (quantificação da serapilheira), densidade do caranguejo-uçá, além do impacto antrópico (quantificação dos resíduos sólidos e de metais). Neste sentido, dois desenhos amostrais foram empregados, sendo um deles representado por uma transecção e o outro por quadrados amostrais, cujo objetivo foi simplesmente descrever o quanto estas subáreas são similares entre si.

No caso da transecção, uma trena de 50 metros foi estendida perpendicularmente à margem, com direção ao interior do manguezal (Figura 3a), estabelecendo-se, assim, cinco segmentos de 10 metros (0-10 até 40-50m). Em cada faixa foram estabelecidos, ao acaso, 10 espécimes arbóreos das espécies *Rhizophora mangle* L., *Avicennia schaueriana* Moldenke. e *Laguncularia racemosa* C.F.Gaertn, que foram identificados e submetidos à biometria, a saber: **altura**, com uso de um clinômetro com hipsômetro digital, marca Haglöf (Figura 3b); **circunferência à altura do peito (CAP)**, com uma trena em lona, com subsequente transformação para diâmetro à altura do peito (DAP) (Figura 3c); e **limite superior de distribuição vertical de Bostrychietum** (conjunto de algas do gênero *Bostrychia*), determinada em caules e/ou raízes escora das espécies arbóreas, com uso de trena lonada, para avaliação do nível de inundação pelas marés, conforme WUNDERLICH *et al.* (2008).

Na transecção de cada subárea foram coletadas três amostras compostas de sedimento, a 15, 30 e 45 metros da margem, que foram encaminhadas ao *Departamento de Solos e Adubos* da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal, para a execução dos seguintes procedimentos: a) **Análise granulométrica**, por pesagem diferencial e técnica de pipetagem, obtendo sete frações granulométricas (2-1mm, areia muito grossa; 1-0,5mm, areia grossa; 0,5-0,25mm, areia média; 0,25-0,15mm, areia fina; 0,15-0,05mm, areia muito fina; 0,05-0,002mm, silte; e argila, <0,002mm); b) **Determinação do teor de matéria orgânica**, por quantificação e subtração do peso livre das

cinzas, após permanência das amostras em forno mufla (500°C por 3h); c) **Análise química do solo**, representada por análise do potencial hidrogeniônico (pH); macronutrientes (P, K, Ca, Mg e H+Al); e micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn, Zn e S-SO₄).

Quadrados de 5x5m (25m²), confeccionados com canos PVC de meia polegada de diâmetro (Figura 4a), foram utilizados para amostragem aleatória em cada subárea, compreendendo quatro réplicas, sendo duas localizadas a 15m da margem e as remanescentes posicionadas mais internamente (30m), totalizando 100m². Em cada réplica foram realizados os seguintes registros: **diâmetro das galerias de *U. cordatus* abertas com atividade biogênica**, com uso de um paquímetro de precisão (0,05mm), além da contabilização das galerias fechadas, para a estimativa da densidade dessa espécie (Figura 4b); **quantificação dos resíduos sólidos e da serapilheira (folhas e propágulos) sobre o sedimento** (Figura 4c), transportados até o laboratório, onde foram lavados, classificados quanto ao tipo, secos em estufa de ventilação forçada (60°C por 72h) e pesados em balança digital (0,01g); **identificação e contagem das espécies arbóreas adultas** (altura >1,5m) ao nível específico, além de medida de seu **circunferência à altura do peito (CAP)** (utilizando uma trena lonada), com subsequente transformação para diâmetro à altura do peito (DAP); e **identificação/contagem das plântulas arbóreas** (DAP<5cm), presentes sobre o sedimento.



Figura 3 - Chegada da equipe de coleta na subárea de amostragem (a); Prof. Marcelo Pinheiro medindo a altura dos espécimes arbóreos da transecção com clinômetro/hipsômetro digital (b); Pablo Gandara Silva (esq.) e Luis Felipe Duarte (dir.) medindo a circunferência das árvores adultas com trena lonada (c). (Fotos: a e c, Marcelo Pinheiro; b, Felipe Duarte).



Figura 4 - Quadrado de amostragem de 5x5m (25m²), confeccionado com canos PVC, posicionado em uma das subáreas de amostragem (a); Luis Felipe Duarte medindo o diâmetro de uma galeria de *U. cordatus* com paquímetro de precisão (0,05mm) (b); e Leonardo Mesquita coletando serapilheira em um dos quadrados de amostragem (c) (Fotos: Marcelo Pinheiro).

3.3. Amostras de água para as dosagens de metais

O protocolo para a coleta e preparo de todas as amostras (água, sedimento, folhas e estruturas do caranguejo-uçá) foi fornecido pelo CEATOX (IB/UNESP Botucatu). Durante o inverno/2011 (período seco), em cada subárea de manguezal foram obtidas três amostras de água (100mL) das galerias de *Ucides cordatus*, colhidas por sucção com mangueira de silicone e armazenadas em frascos de polietileno etiquetados, previamente descontaminados (solução de HNO₃ a 10% + solução de Extran[®] ácido a 10% + enxágüe final com água deionizada). Foram processadas 54 unidades amostrais de água (06 áreas x 03 subáreas x 03 unidades amostrais), que em campo foram mantidas em caixas térmicas com gelo picado, até a chegada ao laboratório, quando foram transferidas para um refrigerador até o momento das análises dos metais.

3.4. Amostras de sedimento para as dosagens de metais

Assim como visto para as amostras de água, o protocolo para a coleta e preparo das amostras de sedimento foi também fornecido pelo CEATOX (IB/UNESP Botucatu). Durante o inverno/2011 (período seco), nas subáreas de manguezal também foram coletadas três amostras de sedimento (500g), em profundidade de até 10cm, com auxílio de luva cirúrgica e espátula plástica descartáveis, em local próximo às galerias do caranguejo-uçá, embora sem evidência de bioturbação. Cada amostra foi acondicionada em frascos de polietileno etiquetados, previamente descontaminados (vide item anterior) e mantidos em caixas térmicas com gelo picado. Em laboratório, cada uma das 54 unidades amostrais (06 áreas x 03 subáreas x 03 unidades amostrais) tiveram resíduos vegetais (p. ex., raízes) removidos por peneiras plásticas, com posterior homogeneização das amostras e congelamento até a análise de metais.

3.5. A escolha das estruturas corpóreas da espécie *U. cordatus* e dos estágios foliares da espécie *Rhizophora mangle* para as dosagens dos metais

A escolha das estruturas corpóreas de *U. cordatus*, bem como os estágios foliares de *R. mangle* para a quantificação dos metais, foi efetuada com base no “screening” preliminar, realizado por PINHEIRO *et al.* (2012). Assim, considerando a bioacumulação nos tecidos e estruturas avaliadas por estes autores, foram escolhidas para as dosagens dos metais no caranguejo-uçá o hepatopâncreas (órgão detoxificador de metais nos crustáceos) e a musculatura (por servir de alimento humano em várias regiões brasileiras), enquanto para o mangue-vermelho foram selecionadas as folhas verdes e senescentes (itens alimentares deste crustáceo, segundo CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2013). Esta seleção teve o intuito de aproximar a bioacumulação natural dessas espécies nas áreas de interesse (NEWMAN, 2013).

3.6. Amostras de folhas da espécie de *R. mangle* para as dosagens de metais

Durante o inverno/2011 (período seco) foram amostradas 20 folhas de *R. mangle* em cada um dos estágios de maturação foliar (verdes e senescentes pré-abscisão) por subárea. Estas foram obtidas com o auxílio de tesouras de poda e mantidas em sacos plásticos devidamente etiquetados, até serem transportadas ao laboratório.

As folhas passaram por lavagem prévia com água corrente, seguida por água com detergente neutro a 5%, água corrente (segunda lavagem), solução de água destilada saturada com HCl (Figura 5a) e, finalmente, por água destilada em abundância. Posteriormente, as folhas foram secas com panos limpos (Figura 5b), mantidas sob-refrigeração (menos de 48h), desidratadas em estufa de ventilação forçada (60°C por 72h) (Figura 5c) e submetidas à moagem em um moinho de facas. O pó resultante de cada estágio foliar ($\pm$ 20g) foi disposto em frascos plásticos devidamente etiquetados e descontaminados até o momento das análises dos metais.

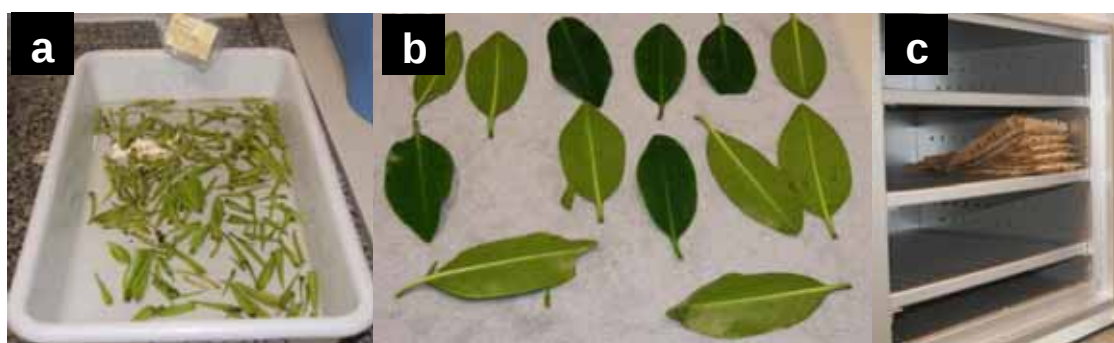


Figura 5 - Lavagem das folhas de *R. mangle* em solução de água destilada saturada com HCl (a); secagem com panos limpos (b); desidratação em estufa de ventilação forçada (60°C por 72h) (Foto: Marcelo Pinheiro).

3.7. Amostras de tecidos da espécie *U. cordatus* para as dosagens de metais

Em maré baixa, durante o inverno/2011 (período seco), foram capturados três exemplares da espécie *U. cordatus* por subárea, totalizando 54 animais. Os exemplares foram machos, em estágio de intermuda (PINHEIRO & FISCARELLI, 2001), utilizando duas técnicas distintas: 1) “braceamento”, que

consiste na captura direta dos animais pelo catador com a introdução de seu braço diretamente nas galerias (Figura 6a,b); ou 2) “redinha”, por armadilha confeccionada artesanalmente pelos catadores de caranguejo, utilizando fios de sacos de rafia (náilon) atados a dois ramos de árvores.

Após serem capturados, os exemplares foram individualizados em sacos plásticos e depositados em uma caixa térmica com gelo picado, para transporte até o Laboratório de Biologia e Ecologia de Crustáceos, da UNESP/CLP. Cada indivíduo foi cuidadosamente lavado e escovado para a retirada da lama, sendo dispostos sobre bancada para biometria e remoção de órgãos e tecidos.

Os animais tiveram sua largura cefalotorácica (LC) medida com paquímetro de precisão (0,05mm). Posteriormente, cada animal foi dissecado com tesouras e pinças esterilizadas, para a remoção de amostras das duas estruturas corpóreas (musculatura dos quelípodos e hepatopâncreas) (Figura 6c). Um total de 108 amostras foi coletado para as análises de metais (3 animais x 6 áreas x 3 subáreas x 2 estruturas corpóreas). Estas foram dispostas em frascos plásticos do tipo *Eppendorf* (2mL), previamente descontaminados, que foram congeladas até o momento das análises dos metais.



Figura 6 - Captura do caranguejo-uçá por “braceamento”, realizado pelo Sr. Anacleute Silva, um dos catadores de São Vicente - Cubatão (a); exibição de dois exemplares machos capturados (b); e Luis Felipe Duarte acondicionando uma amostra de hepatopâncreas em um tubo *Eppendorf* (2 mL), para a análise quali-quantitativa de metais (Fotos: Cristiano Burmester - *Revista Unesp Ciência*).

3.8. Método de análise dos metais nas amostras bióticas e abióticas

Todas as amostras de água, sedimento, estruturas corpóreas de *U. cordatus* e folhas de *R. mangle* foram transportadas em caixas térmicas com gelo picado até o Centro de Assistência Toxicológica (CEATOX), do IB/UNESP

Botucatu, para a quali-quantificação de seis metais totais (Cd, Cu, Pb, Cr, Mn e Hg).

Cada amostra foi submetida ao método de mineralização por via úmida com ácido nítrico (HNO₃ a 65%), segundo BASSET *et al.* (1981), utilizando um forno Provecto-Analítica (DGT-100 Plus) e interpretação dos dados por um programa específico para sedimentos e outros materiais. As análises foram otimizadas por lâmpadas de cátodo oco (LCO), específicas para cada elemento metálico, com leitura efetuada em Espectrômetro de Absorção Atômica GBC-932 AA (ATHANASOPOULOS, 1994).

3.9. Danos geno e citotóxicos na espécie *Ucides cordatus*

3.9.1. Ensaio do micronúcleo: Obtenção de amostras e processamento

Durante o inverno/2013 (período seco), foram coletadas amostras de hemolinfa de cinco exemplares/subárea de manguezal. Para a confecção das lâminas do ensaio micronúcleo, utilizou-se o método modificado de SCARPATO *et al.* (1990), já empregado com sucesso para esta espécie por NUDI *et al.* (2010) e PINHEIRO *et al.* (2013).

A hemolinfa foi coletada com seringas (1mL), munidas de agulhas 21 gauge (0,8x40mm - evitando, assim, danos aos hialinócitos), obtida por inserção da agulha na membrana de articulação interna do carpo-própodo no quelípodo maior. As amostras foram transferidas para tubos siliconizados, seguida de distribuição cuidadosa de hemolinfa (50µL) sobre lâmina de microscopia, com uso de micropipeta. Realizou-se o procedimento individualmente, com a obtenção de três lâminas/exemplar, que foram depositadas em câmara escura úmida (± 30 minutos), para melhor aderência dos hialinócitos à superfície das lâminas. Posteriormente, estas foram secas ao ar e fixadas com Solução de Carnoy (metanol/ácido acético 3:1), por cerca de 20 minutos, e novamente secas à temperatura ambiente. A partir do material fixado, as lâminas foram coradas com Solução Giemsa 2%, em tampão fosfato pH 8,0 (Na₂HPO₄ + KH₂PO₄), também por 20 minutos. Após este procedimento, as lâminas foram lavadas com água deionizada, secas ao ar e aderidas à lamínula com Entellan[®] Merck[®].

O número de células micronucleadas por 1.000 analisadas (MN‰) foi

quantificado para cada animal sob aumento de 1.000x em microscópio ótico comum acoplado a um sistema de análise de imagens por computador (*AxioVision*® v. 4.8 Zeiss®). O hemócito utilizado na quantificação dos MNs foi o hialinócito, excluindo os granulócitos e semi granulócitos das análises, de acordo com HOSE *et al.* (1990), MARTINEZ *et al.* (1999) e MATOZZO & MARIN (2010). As células micronucleadas foram identificadas por confirmação da estrutura micronuclear, que segundo COUNTRYMAN & HEDDLE (1976) possuem tamanho $<1/3$ do núcleo celular, da qual se destacam, possuindo coloração similar (ou mais clara) que o núcleo e descarte da contabilização das células com mais de três micronúcleos. Segundo esta técnica, desenvolvida para bivalves, considera-se uma resposta significativa a xenobióticos quando a frequência de células micronucleadas supera 4 MN‰ (SCARPATO *et al.*, 1990; FOSSI *et al.*, 2000).

3.9.2. Ensaio do vermelho neutro: Obtenção de amostras e processamento

Durante o inverno/2013 (período seco), foram coletados 10 exemplares machos adultos de *U. cordatus* por subárea de manguezal, por “braceamento” (captura direta dos animais pela introdução do braço do catador nas galerias), totalizando 30 exemplares por área ($n_{\text{total}} = 180$ exemplares). A integridade lisossomal foi avaliada por método adaptado de LOWE *et al.* (1995), a partir de amostras de hialinócitos pouco antes do sacrifício dos exemplares para as demais análises. As lâminas de microscopia (76x26mm) foram preparadas imediatamente antes do experimento, sendo pré-lavadas e tratadas com solução de Poly-L-lisina em água destilada (1:10), necessária à adesão dos hialinócitos em sua superfície. Usando uma micropipeta essa solução (10 μ L) foi espalhada uniformemente por toda a superfície da lâmina, por deslizamento de uma lamínula (esfregaço), sendo, posteriormente, secas ao ar em temperatura ambiente. Para a diluição da hemolinfa dos caranguejos, foi utilizada uma solução fisiológica (salina), obtida pela adição de 4,77g de HEPES; 25,48g de cloreto de sódio; 4,36g de sulfato de magnésio; 0,75g de cloreto de potássio; 1,92g de cloreto de cálcio; em 1 litro de água destilada, assegurando um pH 7,36. Foi preparada uma solução estoque de vermelho neutro, constituída pela dissolução de 22,8mg deste corante em 1mL de DMSO (dimetil-sulfoxido), com

durabilidade máxima de 3 semanas, sob refrigeração. Pouco antes do uso, foi preparada a solução de trabalho de vermelho neutro (10 μ L solução estoque + 5mL de solução fisiológica), devidamente homogeneizada com agitador magnético por 1-2 minutos. Foi também preparada uma solução anticoagulante (2,05g glicose; 0,8g de citrato de sódio; 0,42g de cloreto de sódio; em 100mL de água destilada), em proporção 2:1, a saber: 0,334mL de solução anticoagulante : 0,166mL da solução fisiológica. Com uma seringa hipodérmica (1mL), munida de agulha 21 gauge (evitando a destruição dos hialinócitos e diminuição de coágulos), 1,5mL da solução anticoagulante foi transferida para uma seringa, com remoção de 0,5mL de hemolinfa, obtida por inserção da agulha na membrana de articulação interna do carpo-própodo no quelípodo maior. O conteúdo foi transferido da seringa para tubos siliconizados (2mL), onde foi mantido em descanso de 15-20 minutos. Esse procedimento visa minimizar a força de adesão e, conseqüentemente, o rompimento das células sanguíneas e a coagulação. Posteriormente, 40 μ L da solução (hemolinfa do animal + solução fisiológica + solução anticoagulante = 1mL) foi retirada com uma ponteira de pipeta limpa para cada caranguejo, evitando a contaminação das amostras, sendo espalhada por toda a superfície das lâminas de microscopia (previamente tratada com poly-L-lisina). As lâminas foram então mantidas em câmara úmida escura (15 min.), para melhor aderência das células à superfície laminar. Em seguida, 40 μ L da solução de trabalho de vermelho neutro foram dispostos suavemente sobre a camada de hialinócitos/lâmina, as quais foram mantidas em uma câmara escura/úmida, com remoção do excesso do fluido em suspensão após 15 minutos de incubação (penetração do corante nas células) e recobrimento por lamínulas. Na primeira hora, a cada 15 minutos, as lâminas foram examinadas sob microscópio óptico e, caso necessário, durante uma segunda hora a cada 30 minutos. Inicialmente, as células foram focalizadas sob menor aumento (50X), aumentando-se a magnificação para 400 ou 500x. No momento da observação das lâminas a luz incidente deve ser a mais reduzida possível, visando uma melhor visualização celular e menor fotodegradação. Como ocorrido para a técnica de micronúcleos, foram avaliados somente os hialinócitos (HOSE *et al.*, 1990; MARTINEZ *et al.*, 1999; MATOZZO & MARIN, 2010), que foram cuidadosamente examinados, com anotação do tempo de retenção do

vermelho neutro, estimando-se a proporção de células com extravasamento lisossomal para o citossol e, para auxílio na determinação do nível de estresse, foram também conferidas anormalidades no tamanho/cor dos lisossomos. A forma celular também pode ser modificada em função do impacto causado por contaminantes (COLLIER *et al.*, 2013). Pelo exposto, os critérios que foram utilizados estão apresentados no Quadro 1.

Quadro 1 - Critérios para a determinação de hialinócitos saudáveis e sob estresse durante o ensaio do vermelho neutro, segundo método adaptado de LOWE *et al.* (1995).

Critério	Células saudáveis	Células sob estresse
Forma das células	irregular	arredondadas
Tamanho das células	largas	menores
Número de lisossomos	muitos	poucos
Tamanho dos lisossomos	pequenos	alargados / aumentados
Cor dos lisossomos	vermelho pálido / rosado	vermelhos ou rosa escuro, alaranjados, marrons
Pseudópodes	não visíveis	visíveis
Corante vazado das células	não visíveis	visíveis

As lâminas foram avaliadas para quantificação do tempo de retenção do vermelho neutro (vide Quadro 2). Assim, quando as células apresentaram citossol claro e sem evidência de anormalidades estruturais ou estresse, foi anotado o sinal “+”; foi representado por “±” quando constatado algum sinal de estresse celular; e em percentuais de estresse acima de 50% um sinal “-”.

Quadro 2 - Exemplo da análise da quantificação temporal na análise das lâminas durante o ensaio do vermelho neutro, segundo o método adaptado de LOWE *et al.* (1995).

Caranguejo/lâmina	Tempo (min)							Efeito (min)
	15	30	45	60	90	120	180	
1	+	+	+	±	-	-	-	60
2	+	+	+	±	±	-	-	90
3	+	±	±	±	-	-	-	60
4	+	+	±	±	±	-	-	90
5	+	+	±	±	-	-	-	60
6	+	+	±	-	-	-	-	45
7	+	+	±	-	-	-	-	45
8	±	±	-	-	-	-	-	30
9	+	+	±	-	-	-	-	45
10	±	±	-	-	-	-	-	30

“+” = nenhum efeito, hialinócitos normais; “±” = algum sinal de estresse; “-” = mais de 50% de hialinócitos estressados.

3.10. Processamento e análise estatística dos dados

3.10.1. Exploração de dados e procedimentos iniciais

A tabulação dos dados em planilhas foi efetuada com o programa *Microsoft Excel*[®] 2007, enquanto as análises estatísticas e gráficos foram efetuadas com o *R* v. 2.5.0 (IHAKA & GENTLEMAN, 1996), *Sysgran*[®] v. 3.0 (CAMARGO, 2006) e *Statistica*[®] v. 7.0.

A largura cefalotorácica (LC) de *U. cordatus*, estimada com base na relação do tamanho desta espécie com o diâmetro de abertura da galeria (DG), foi empregada na confecção das curvas de densidade para cada área de manguezal, com uso das frequências absolutas por intervalos de tamanho. Os demais parâmetros em estudo (p. ex., biometria arbórea, serapilheira, etc.) foram apresentados sob a forma de tabelas ou gráficos de caixa (“boxplots”). Os parâmetros que apresentaram confirmação da normalidade (teste W, Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (teste B, Bartlett) foram representados como médias, sendo sua comparação entre áreas e subáreas avaliada por teste paramétrico (ANOVA, com contraste entre as médias por Tukey “a posteriori”). Por outro lado, aqueles com ausência de normalidade ou igualdade das variâncias foram representados como medianas, com a aplicação de testes não paramétricos (teste H, ANOVA de Kruskal-Wallis, com contraste das medianas).

Foram confeccionados “boxplots” para a representação da variação dos dados de cada parâmetro, seja ele representado pela média ou mediana, com indicação do significado das caixas, das linhas verticais (“whiskers” = bigodes) e de pontos extrapolando o limite de variação (“outliers”) (THE R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2002). Complementarmente, gráficos de barras (média $\pm$ desvio padrão) também foram utilizados para expressar os resultados dos biomarcadores e fatores de transferência dos metais.

No caso da análise granulométrica das amostras de sedimento, foi utilizado o programa *Sysgran*[®] v. 3.0, seguindo o modelo de FOLK & WARD (1957), que segundo DIAS (2004) apresenta um excelente índice de eficiência (88%). Assim, o sedimento de cada subárea foi avaliado quanto ao tamanho médio dos grãos, classificação granulométrica (diagrama de Shepard) e índice da hidrodinâmica local (diagrama de Pejrup).

O impacto geno e citotóxico na espécie *U. cordatus* foi ilustrado pelo cálculo da média ($\pm$ desvio padrão), sendo as diferenças estatísticas evidenciadas por ANOVA, acompanhada do teste de Tukey (ZAR, 1999).

3.10.2. Avaliação dos metais por área/subárea e compartimento ambiental/biótico

Para análise de diferenças na concentração de metais por área de manguezal e seus compartimentos, os dados foram submetidos a testes estatísticos específicos indicados por SOKAL & ROLF (2003) e ZAR (1999), calculados pelo Programa *R 2.13.0* (IHAKA & GENTLEMAN, 1996). A significância da variação da concentração de cada metal por compartimento e área de manguezal (uso dos dados por subárea), foi avaliada por ANOVA, com contraste das médias *a posteriori* por Tukey (ZAR, 1999). O mesmo também foi efetuado por metal, considerando sua concentração em cada compartimento ambiental/biótico, utilizando a área de manguezal como variável explicativa. Assim, foram avaliadas a influência dos compartimentos, das subáreas e das áreas de manguezal em relação à variação de cada metal analisado.

3.10.3. Análises multifatoriais

Foram empregadas análises multifatoriais, cada uma delas compreendendo uma análise de componentes principais (PCA), distância de similaridade (*Similarity Distances*) e análise de agrupamento (*Cluster Analysis*), com base na distância euclidiana, segundo KAUFMAN & ROUSSEEUW (1990). Os cálculos foram efetuados com o pacote *FactoMineR* (LE *et al.*, 2008; HUSSON *et al.*, 2012) do programa *R 2.13.0* (IHAKA & GENTLEMAN, 1996), com a classificação das subáreas em grupos (modo Q), por similaridade.

Tais análises compreenderam o uso de cinco matrizes distintas, cada uma delas empregando médias de variáveis abióticas, bióticas e relativa aos seis metais nas 18 subáreas amostrais, para reconhecimento de possíveis padrões, com base em agrupamentos oriundos de suas similaridades. São elas: **Matriz 1, Caracterização Ambiental** (matriz de 18 linhas x 21 colunas = subáreas x variáveis ambientais), referente às características bióticas dos 18 bosques de manguezal, representadas pelas médias de 21 variáveis

ambientais, 06 delas bióticas (DA, densidade de árvores; DB, densidade de plântulas arbóreas; SER, biomassa de serapilheira disponível sobre o sedimento; H, altura de árvore; DAP, diâmetro da árvore à altura do peito; e BOS, limite superior de distribuição vertical de *Bostrychietum*) e as demais abióticas, relacionadas ao sedimento de manguezal (pH, potencial hidrogeniônico do sedimento; MO, teor de matéria orgânica; macronutrientes: P, K, Ca, Mg e H+Al; micronutrientes: B, Cu, Fe, Mn, Zn, S-SO₄ e Al; e granulometria: GRA, tamanho médio do grão); **Matriz 2, Contaminação do Ambiente por Metais** (matriz de 18 linhas x 12 colunas = subáreas x metais em dois compartimentos abióticos), relativa às médias de concentração de seis metais (Cu, Cd, Cr, Mn, Pb e Hg) em amostras de água (W) e sedimento (S) de 18 subáreas de amostragem; **Matriz 3, Contaminação da Flora por Metais** (matriz de 18 linhas x 12 colunas = subáreas x metais em dois compartimentos arbóreos), referente às médias de concentração de seis metais (anteriormente citados), acumulados em folhas verdes (GL) e senescentes pré-abscisão (SL) do mangue-vermelho (*R. mangle*), em 18 subáreas de amostragem; **Matriz 4, Contaminação da Fauna por Metais** (matriz de 18 linhas x 12 colunas = subáreas x metais em dois compartimentos animais), compreendendo a média da concentração dos seis metais (anteriormente citados), acumulados em amostras de hepatopâncreas (H) e musculatura (M) do caranguejo-uçá (*U. cordatus*), obtidas nas 18 subáreas amostrais; e **Matriz 5, Contaminação Total** (matriz de 18 linhas x 36 colunas = subáreas x metais em seis compartimentos), relacionada à média de concentração de cada um dos seis metais (anteriormente citados), acumulados nas amostras do ambiente (água e sedimento), da flora (folhas verdes e senescentes do mangue-vermelho) e da fauna (hepatopâncreas e musculatura do caranguejo-uçá), nas 18 subáreas amostrais.

Cada matriz foi previamente testada segundo três formatos distintos: 1) dados originais (não transformados), com respeito às escalas dimensionais; 2) dados log-transformados, onde os dados foram normalizados com base em $\log(n+1)$; e 3) dados transformados pelo “decostand”, com transformação efetuada com auxílio deste pacote do programa *R 2.13.0* (IHAKA & GENTLEMAN, 1996), que segundo LEGENDRE & GALLAGHER (2001) e ANDERSON *et al.* (2006) padroniza os dados numa escala variando de 0 (menor valor observado) a 1 (maior valor registrado),

Os resultados serão apresentados em maior detalhamento para as matrizes 1 e 5, empregadas na avaliação do agrupamento das subáreas amostrais em relação à sua caracterização ambiental e contaminação total, respectivamente, evitando, assim, uma redundância por interpretação de matrizes intermediárias (Matriz 2, 3 e 4).

3.10.4. Análise de correlação entre matrizes

As matrizes citadas no item anterior foram correlacionadas entre si pelo teste de Mantel, segundo LEGENDRE & LEGENDRE (1998), visando evidenciar se uma matriz explicativa pode determinar significativamente as variações encontradas nas demais matrizes resposta. As análises foram efetuadas pelo pacote *Vegan* (OKSANEN *et al.*, 2011), do programa *R 2.13.0* (IHAKA & GENTLEMAN, 1996).

Neste sentido, houve a necessidade de confeccionar outras três matrizes. Duas ocorreram por decomposição da Matriz 2 (gerando a **Matriz 6, Contaminação da Água**; e **Matriz 7, Contaminação do Sedimento**), cada uma delas constituída por 18 linhas x 6 colunas, compreendendo as subáreas x metais em cada compartimento, respectivamente; e uma matriz nova, originada por fusão das matrizes 3 e 4 (gerando a **Matriz 8, Contaminação da Biota**, compreendendo 18 linhas x 24 colunas, referente à contaminação em quatro compartimentos bióticos (dois arbóreos + dois animais).

Primeiramente foi avaliada a contaminação do hepatopâncreas e musculatura do caranguejo-uçá (Matriz 4), utilizada como matriz resposta, em função de matrizes explicativas, relacionadas à contaminação: água (Matriz 6), sedimento (Matriz 7) e folhas de *R. mangle* (Matriz 3). Também foi avaliada a contaminação ambiental por metais (Matriz 2) em função da contaminação da biota (Matriz 8).

3.10.5. Análise de correlação de Spearman entre a concentração de metais e os resultados dos biomarcadores

Para cada metal em estudo foi realizada uma análise de correlação por postos de Spearman, envolvendo as médias de concentração em seis compartimentos (água, sedimento, folhas verdes, folhas senescentes,

hepatopâncreas e musculatura), bem como dos biomarcadores (MN%, frequência de células micronucleadas por 1.000 células analisadas em *U. cordatus*) e o tempo médio de retenção do vermelho neutro pelos hialinócitos (VN, em minutos). Neste sentido, foram realizadas 168 análises (28 relações por metal x 06 metais), cujos coeficientes de Spearman foram confrontados aos valores tabelados com n-2 graus de liberdade (gl = 94), a 5% de significância estatística (ZAR, 1999). Apenas as relações com coeficiente de correlação significativo foram representadas por gráficos de dispersão.

3.10.6. Pressupostos orientadores de respostas dos biomarcadores utilizados e probabilidade de impactos geno e citotóxico em populações do caranguejo-uçá frente a metais nos compartimentos abióticos

Conforme apresentado anteriormente, sabe-se que os manguezais do Estado de São Paulo podem ser classificados por pressupostos quanto ao seu estado de conservação, em áreas muito conservadas (Juréia-Itatins e Cananéia), muito contaminadas (Bertioga, São Vicente e Cubatão) e com contaminação intermediária (Iguape) (TESSLER *et al.*, 1987; EYSINK *et al.*, 1988; GUTBERLET, 1996; MORAES, 1997; CETESB, 2000, 2001, 2007; SILVA *et al.*, 2002; FIGUEIREDO *et al.*, 2004; MARQUES & DULEBA, 2004; VIRGA, 2006; ABESSA & AMBROZEVICIUS, 2008; VIRGA & GERALDO, 2008; PINHEIRO *et al.*, 2008; CHOUERI *et al.*, 2009; PINHEIRO *et al.*, 2012, 2013). Portanto, a amplitude das respostas fisiológicas e genéticas observadas nos exemplares oriundos das diferentes áreas pode ser assumida como uma variação considerável para pressupostos orientadores dos impactos geno e citotóxicos na espécie *U. cordatus*. Assim, aliando dados de contaminação por metais nos manguezais em estudo, com dados históricos de contaminação desses mesmos manguezais por outros xenobióticos (vide autores previamente citados), existe a possibilidade de recomendação de valores orientadores para os biomarcadores em estudo (frequência de micronúcleos e tempo de integridade dos lisossomos). Tais dados pressupõem danos genéticos e fisiológicos a esta espécie, com tais valores norteadores podendo ser empregados para quaisquer outros manguezais brasileiros, haja vista empregarem um gradiente de contaminação para São Paulo, um dos Estados mais industrializados do país. Assim, com base nestes parâmetros foram

recomendados quatro valores orientadores prováveis, a saber: Impacto nulo provável (INP); Baixo Impacto Provável (BIP); e Alto Impacto Provável (AIP). Por exemplo, assumiram-se as respostas biológicas observadas nos manguezais da Juréia-Itatins (controle) como alterações cito genéticas normais e intrínsecas aos indivíduos (impacto nulo), enquanto os maiores danos registrados na espécie foram estabelecidos como de alto impacto provável (AIP).

Complementarmente, utilizando os resultados das correlações de Spearman realizadas (vide item 3.10.5), foram selecionadas as relações significativas entre contaminação por metais nos compartimentos abióticos (água e sedimento) e as supostas respostas subletais observadas nos animais (elevação da frequência de micronúcleos e redução do tempo de retenção do vermelho neutro). Assim, foram calculadas as probabilidades de impacto geno citotóxico frente à concentração dos metais que supostamente determinaram significativos aumentos de danos fisiológicos e genéticos. Para isso, os resultados de frequência relativa acumulada para os biomarcadores foram ajustados a um modelo não paramétrico sigmóide, adaptado de HOVGARD & LASSEN (2000), por estimativa dos mínimos quadrados, entre as concentrações dos metais e estes danos subletais. A saber,

$$P = 1/(1+e^{-r(C-C50\%)})$$

Onde: **P** = Probabilidade de impacto fisiológico ou genético; **r** = inclinação; **C50%** = concentração do metal na qual a probabilidade de impacto é de 50% e **C** = concentração do metal.

Foram plotadas as concentrações de metais na água ou no sedimento (eixo x) em relação à probabilidade dos danos geno ou citotóxicos esperados e seus resultados, no caso a frequência de micronúcleos ou tempo integridade da membrana lisossômica (dois eixos y). Além disso, quando possível, foram também ilustrados na área de plotagem as categorias de valores orientadores (INP, BIP e AIP), bem como os valores orientadores de qualidade para águas estuarinas (CONAMA nº 357/2005, BRASIL, 2005) e para o sedimento (ENVIRONMENT CANADA, 1999).

3.10.7. Transferência dos elementos químicos (Fator de transferência) e biodisponibilidade dos metais esperada

Algumas questões são importantes a serem estabelecidas para determinar a conservação das diferentes áreas de manguezal no presente estudo, como: **1)** Qual a biodisponibilidade aproximada/esperada dos seis metais avaliados?; **2)** Qual a taxa de transferência (aproximada) de cada um dos seis metais avaliados das folhas de *R. mangle* para os tecidos de *U. cordatus*?; **3)** Existe uma tolerância diferenciada de *R. mangle* para os metais em estudo nas diferentes áreas de manguezal?; e **4)** Existe uma tolerância diferenciada da espécie *U. cordatus* para os referidos metais, nas diferentes áreas de manguezal?.

Para tentar responder tais perguntas, a transferência química nos compartimentos ambientais sedimento-folhas-caranguejo foi avaliada por uso do fator de transferência, FT (NOTTEN *et al.*, 2005; KABATA-PENDIAS, 2011; VILHENA *et al.*, 2012), que é definido pela razão da concentração dos elementos químicos entre os diferentes compartimentos ambientais. Para tanto, foram analisadas as seguintes relações:

1) Biodisponibilidade esperada/aproximada dos valores médios dos metais obtidos em:

- a) Folhas verdes e senescentes da espécie *R. mangle* (**Fs**) em relação aos valores médios encontrados no sedimento (**Sed**), ou;
- b) Hepatopâncreas e musculatura da espécie *U. cordatus* (**Crab**) em relação aos valores médios encontrados no sedimento (**Sed**);

2) Taxa de transferência e/ou tolerância diferenciada dos valores médios dos metais obtidos em:

- a) Folhas senescentes (**FS**) em relação aos valores médios encontrados nas folhas verdes (**FV**) de *R. mangle*;
- b) Musculaturas (**M**) em relação aos valores médios encontrados no hepatopâncreas (**H**) da espécie *U. cordatus*;
- c) Hepatopâncreas e musculatura da espécie *U. cordatus* (**Crab**) em relação aos valores médios obtidos nas folhas verdes e senescentes da espécie *R. mangle* (**Fs**).

Para cada relação acima citada, a significância das diferenças encontradas entre as áreas de estudo foram avaliadas por ANOVA, com contraste das médias pelo teste de Tukey “a posteriori” (ZAR, 1999), utilizando o programa *R* v. 2.5.0 (IHAKA & GENTLEMAN, 1996).

Complementarmente, para a estimativa da biodisponibilidade esperada (aproximada) dos metais nas diferentes áreas de manguezal, foi calculado o percentual entre a média da concentração da matriz abiótica em relação à média da matriz biótica. Somente para o mercúrio foram utilizados os dados de acúmulo nos tecidos de caranguejo-uçá (“Crab”) como matriz biótica, enquanto que os demais casos as folhas verdes e senescentes de *R. mangle* (Fs) foram tomadas como base, por serem os compartimentos bióticos ligados diretamente ao sedimento (matriz abiótica para todos os casos para avaliação da biodisponibilidade esperada/aproximada).

3.11. Valores de referência para a avaliação dos metais por área e compartimento ambiental/biótico

Os resultados de dosagem de metais nos compartimentos abióticos foram comparados por dois critérios para avaliação da qualidade ambiental, seja em relação aos sedimentos (MACDONALD, 1996) como da água estuarina (CONAMA nº 357/05, BRASIL, 2005). O primeiro deles foi estabelecido pela legislação canadense, sendo também adotado pela CETESB no Estado de São Paulo, com a definição de dois limites para águas salobras e salinas, a saber: o TEL (“*Threshold Effect Level*”), que indica o nível abaixo do qual supostamente não ocorre efeito adverso à comunidade biológica; e o PEL (“*Probable Effect Level*”), que é o nível acima do qual é provável a ocorrência de efeito adverso à comunidade biológica. Entre estes valores (TEL e PEL) assume-se um possível efeito adverso sobre a comunidade biológica, possibilitando o estabelecimento de cinco classes de qualidade (ótima, boa, regular, ruim e péssima - vide Figura 7), que encontram justificativa na concentração elevada de um único contaminante, já considerado suficiente para causar danos populacionais (MACDONALD, 1996). Na Tabela II são apresentados estes valores de referência (TEL e PEL) para os seis metais avaliados no sedimento, bem como para a água salobra (Classe 1).



Figura 7 - Classificação de contaminantes químicos em cinco faixas de qualidade e sua relação com os critérios TEL e PEL (Hortellani *et al.*, 2008).

Tabela II - Valores de referência (TEL e PEL) para as concentrações de metais no sedimento e na água salobra (Classe 1).

METAL	CONCENTRAÇÃO	SEDIMENTO*		ÁGUA SALOBRA**
		TEL	PEL	
Cd		0,67	4,20	0,005
Pb		30	110	0,01
Cu	µg/g (= mg/kg)	19	110	0,005
Cr		52	160	0,05
Mn		-	-	0,1
Hg	ng/g (= mg/mL)	130	700	0,2

TEL = "Threshold Effect Level"; PEL = "Probable Effect Level"; * Hortellani *et al.* (2008); ** Resolução CONAMA nº 357/05 (BRASIL, 2005)

Os resultados de concentração para cada metal nas amostras de água foram comparados aos valores-guia estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 357/2005 (BRASIL, 2005). De acordo com essa legislação, as águas salobras são classificadas como de classe 1, que segundo seu artigo 6º são destinadas à recreação de contato primário (*vide Resolução CONAMA nº 274/2005*); proteção das comunidades aquáticas; aquicultura e atividade pesqueira; abastecimento para consumo humano após tratamento convencional ou avançado; irrigação de hortaliças consumidas cruas, frutas desenvolvidas rente ao solo (*ingeridas cruas e/ou sem remoção de película*); e irrigação de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto. Portanto, optou-se por assumir os valores-guia como base para as comparações, sendo garantidos os fundamentos da precaução ambiental, por adoção daqueles mais restritivos. Ressalta-se, ainda, que a resolução em vigência não indica valores-guia para o manganês.

Para avaliar a qualidade da carne de *U. cordatus* para consumo humano foram utilizados os valores orientadores citados no Decreto nº 55.871/1965 e na Portaria ANVISA nº 685/1998 (BRASIL, 1965; 1998), que tratam da concentração máxima de metais em alimentos, que têm sido reafirmados em

tratados internacionais (p. ex., Mercosul/GMC 102-94) e órgãos nacionais (p. ex., Portaria ANVISA nº 685/1998). Nestas legislações a concentração de metais é expressa em $\mu\text{g/g}$ (= ppm = mg/kg), não existindo qualquer alusão ao manganês na legislação brasileira em vigência.

4. RESULTADOS

Importante ressaltar que os dados obtidos para três subáreas de manguezal de Bertioga (SP), relacionados à vegetação, sedimento, nível de inundação pelas marés, resíduos sólidos e densidade de *U. cordatus* não são apresentados no presente estudo, devido esta área ter entrado nos planos da tese durante o seu desenvolvimento. Estes dados, na medida da necessidade foram confrontados aos obtidos, particularmente em relação aos resultados dos dois biomarcadores (ensaios micronúcleo e vermelho neutro) no caranguejo, bem como todas as análises referentes às associações resultantes com os metais nos compartimentos abiótico e bióticos.

4.1. Caracterização das subáreas

4.1.1. Transecções de amostragem

Proporção das espécies arbóreas: Embora as subáreas de manguezal tenham sido selecionadas para apresentarem predomínio de *R. mangle*, duas delas (Sav 2 e 3) apresentaram proporção inferior a 50% para esta espécie arbórea (Tabela III). Nas demais subáreas avaliadas, a variação de predomínio de *R. mangle* ficou entre 52 e 100%, para Sav 1 e Jur 3, respectivamente.

Considerando-se as áreas de manguezal, permanece a menor proporção de *R. mangle* para São Vicente, seguida por Cubatão, enquanto nas demais áreas a proporção foi >72%, sendo mais elevada na Juréia (86%).

Altura das árvores: Em 60% das subáreas de manguezal avaliadas, a altura das árvores não diferiu em função da distância da margem (KW<9,84; p<0,043), embora nas subáreas remanescentes as médias de altura diferiram entre alguns segmentos da transecção de amostragem (Tabela IV). Em relação às áreas de manguezal (Figura 8), fica evidente que as árvores mais altas foram registradas em Cubatão, as menores em Cananéia, enquanto nas demais áreas ocorreram árvores com tamanhos intermediários, similares entre si, mas contratando às anteriormente citadas.

Tabela III - Proporção das espécies arbóreas (AS, *A. schaueriana*; LR, *L. racemosa*; e RM, *R. mangle*) nas transecções de cada subárea de manguezal do litoral centro-sul do Estado de São Paulo.

Áreas	Subáreas	Proporção das Espécies Arbóreas (%)			
		AS	LR	RM	Total
Cubatão	Cub 1	22,0	0,0	78,0	100
	Cub 2	24,0	2,0	74,0	100
	Cub 3	48,0	0,0	52,0	100
	Total	31,3	0,7	68,0	100
São Vicente	Sav 1	32,0	16,0	52,0	100
	Sav 2	50,0	2,0	48,0	100
	Sav 3	50,0	2,0	48,0	100
	Total	44,0	6,7	49,3	100
Juréia	Jur 1	16,0	2,0	82,0	100
	Jur 2	0,0	24,0	76,0	100
	Jur 3	0,0	0,0	100,0	100
	Total	5,3	8,7	86,0	100
Iguape	Igu 1	2,0	18,0	80,0	100
	Igu 2	34,0	0,0	66,0	100
	Igu 3	12,0	18,0	70,0	100
	Total	16,0	12,0	72,0	100
Cananéia	Can 1	0,0	18,0	82,0	100
	Can 2	12,0	16,0	72,0	100
	Can 3	0,0	6,0	94,0	100
	Total	4,0	13,3	82,7	100

Tabela IV - Altura das árvores representando todas as espécies (x, média; s, desvio padrão; CV%, coeficiente de variação; KW, ANOVA de Kruskal-Wallis; p, probabilidade associada ao resultado) na transecção de cada subárea de manguezal do litoral centro-sul do Estado de São Paulo.

Área	Subárea	Altura das Árvores (m)			
		x ± s	CV (%)	KW	p
Cubatão	Cub 1	7,64 ± 1,56	20,39	6,092	0,1924
	Cub 2	7,98 ± 2,10	26,36	9,949	0,0413
	Cub 3	9,38 ± 1,64	17,48	8,721	0,0685
	Total	8,33 ± 1,92	23,11	3,941	0,4140
São Vicente	Sav 1	6,05 ± 1,56	25,80	5,697	0,2230
	Sav 2	6,68 ± 2,33	34,89	16,895	0,0020
	Sav 3	7,74 ± 2,72	35,13	5,914	0,2057
	Total	6,82 ± 2,35	34,40	8,3399	0,0799
Juréia	Jur 1	7,52 ± 1,47	19,61	8,259	0,0825
	Jur 2	4,97 ± 0,83	16,73	14,406	0,0061
	Jur 3	8,04 ± 1,91	23,82	23,310	0,0001
	Total	6,84 ± 1,99	29,05	3,746	0,4415
Iguape	Igu 1	7,09 ± 1,01	14,36	23,037	0,0001
	Igu 2	6,9 ± 1,54	22,25	8,351	0,0795
	Igu 3	6,78 ± 4,35	29,74	3,891	0,4210
	Total	6,69 ± 1,54	22,96	3,539	0,4720
Cananéia	Can 1	4,93 ± 1,88	38,15	33,305	< 0,00001
	Can 2	8,24 ± 2,34	28,42	4,523	0,3399
	Can 3	4,48 ± 1,18	26,37	8,515	0,0744
	Total	5,88 ± 2,50	42,51	9,840	0,0432

Diâmetro das árvores (DAP) = Em 73,3% das subáreas de manguezal avaliadas, o diâmetro à altura do peito (DAP) não diferiu em função da distância da margem (KW<9,45; p<0,05), o que ocorreu nas subáreas remanescentes entre alguns segmentos da transecção de amostragem (Tabela V). Em relação às áreas de manguezal (Figura 8), as árvores com maior DAP ocorreram na Juréia, contrastando apenas com Cubatão, enquanto São Vicente, Iguape e Cananéia não apresentaram valores diferentes entre si e com Juréia e Cubatão.

Tabela V - Diâmetro à altura do peito (DAP) das árvores representando todas as espécies (x, média; s, desvio padrão; CV%, coeficiente de variação; KW, ANOVA de Kruskal-Wallis; p, probabilidade associada ao resultado), na transecção de cada subárea de manguezal do litoral centro-sul do Estado de São Paulo.

Área	Subárea	DAP (cm)			
		x ± s	CV (%)	KW	p
Cubatão	Cub 1	11,24 ± 4,87	43,29	11,930	0,0179
	Cub 2	10,02 ± 4,41	44,04	5,313	0,2567
	Cub 3	10,64 ± 4,41	41,49	5,455	0,2437
	Total	10,75 ± 4,5	41,68	8,728	0,0683
São Vicente	Sav 1	10,08 ± 3,47	34,44	7,247	0,1234
	Sav 2	11,41 ± 5,03	44,10	8,049	0,0898
	Sav 3	14,27 ± 9,09	63,72	4,836	0,3045
	Total	11,97 ± 6,49	54,22	9,449	0,0508
Juréia	Jur 1	17,19 ± 5,00	29,08	2,775	0,5962
	Jur 2	7,69 ± 2,24	29,13	10,891	0,0278
	Jur 3	13,00 ± 4,46	30,34	18,366	0,0010
	Total	12,62 ± 5,62	44,53	2,771	0,5968
Iguape	Igu 1	10,70 ± 3,07	28,68	3,168	0,5301
	Igu 2	12,07 ± 4,39	36,40	4,426	0,3514
	Igu 3	9,78 ± 3,25	33,18	5,236	0,2639
	Total	11,19 ± 3,67	32,79	3,074	0,5455
Cananéia	Can 1	10,6 ± 5,45	51,41	21,219	0,0003
	Can 2	15,56 ± 8,19	52,63	2,678	0,6130
	Can 3	11,22 ± 4,86	43,30	3,869	0,4240
	Total	12,42 ± 6,67	53,69	6,959	0,1380

Limite superior de distribuição vertical do *Bostrychietum* = Em 46,6% das subáreas de manguezal avaliadas, o limite vertical do *Bostrychietum* (= nível de inundação pelas marés) não diferiu significativamente com a distância da margem (KW<10,08; p<0,04), o que ocorreu nas subáreas remanescentes entre alguns segmentos da transecção de amostragem (Tabela VI). Em relação às áreas de manguezal (Figura 8), a maior altura de inundação ocorreu nos manguezais de Cananéia, contrastando com a Juréia (2º lugar) e com as

demais avaliadas (Cubatão, Iguape e São Vicente), que apresentaram os menores valores.

Tabela VI - Limite superior de distribuição vertical do *Bostrychietum* (= nível de inundação pelas marés) (x, média; s, desvio padrão; CV%, coeficiente de variação; KW, ANOVA de Kruskal-Wallis; p, probabilidade associada ao resultado), na transecção de cada subárea de manguezal do litoral centro-sul do Estado de São Paulo.

Área	Subárea	Limite superior de distribuição vertical do <i>Bostrychietum</i> (cm)			
		x ± s	CV (%)	H	p
Cubatão	CUB 1	39,03 ± 7,45	19,08	0,621	0,9600
	CUB 2	30,16 ± 4,89	16,22	14,853	0,0050
	CUB 3	29,8 ± 10,06	33,76	6,095	0,1922
	Total	32,99 ± 8,8	26,70	3,221	0,5215
São Vicente	SAV 1	29,04 ± 4,81	16,58	9,352	0,0529
	SAV 2	34,67 ± 5,33	15,36	10,452	0,0335
	SAV 3	37,17 ± 5,42	14,59	4,502	0,3424
	Total	33,62 ± 6,18	18,39	7,506	0,1114
Juréia	JUR 1	33,08 ± 5,53	16,72	2,137	0,7105
	JUR 2	38,79 ± 8,49	21,88	18,653	0,0009
	JUR 3	67,82 ± 5,51	8,12	30,849	< 0,00001
	Total	46,56 ± 16,63	35,71	6,2144	0,1837
Iguape	IGU 1	23,98 ± 6,84	28,56	24,811	0,0001
	IGU 2	32,59 ± 5,09	15,63	10,082	0,0391
	IGU 3	43,58 ± 4,28	9,81	6,715	0,1518
	Total	33,38 ± 9,73	29,15	3,968	0,4104
Cananéia	CAN 1	50,94 ± 11,48	22,55	36,928	< 0,00001
	CAN 2	47,98 ± 5,68	11,85	8,459	0,0761
	CAN 3	78,92 ± 8,37	10,64	30,126	< 0,00001
	Total	59,18 ± 16,39	27,69	20,855	0,0003

Composição granulométrica e química do sedimento = A tabela VII apresenta os resultados das análises granulométricas, segundo o modelo de FOLK & WARD (1957), para cada área (localidade) e respectivas subáreas de manguezal em estudo, devidamente ilustradas pelas figuras 09 a 11. A figura 12 infere sobre a hidrodinâmica dessas regiões com base nas características granulométricas. A composição granulométrica das subáreas foi muito similar para a área de manguezal (localidade), exceto para Sav 3, Jur 3 e Can 1, que diferiram expressivamente das demais subáreas. As subáreas Sav 3 e Can 1 possuíram maior proporção de areia fina, favorecendo uma granulação de sedimento relativamente maior. Esses pontos amostrais estão localizados em regiões mais próximas a foz estuarina (Sav 3, a cerca de 4 km; e Can 1, aproximadamente a 12 km). Em contrapartida, a subárea Jur 3 (mais abrigada) apresentou maior percentual de silte em relação às demais subáreas da Juréia.

Numa avaliação das áreas de manguezal (localidades), foi possível constatar que, de maneira geral, os manguezais de Cananéia apresentaram predomínio de areia fina, enquanto em Iguape ocorreram as maiores quantidades de silte. Os manguezais de São Vicente também apresentaram sedimentos finos, ocupando a segunda posição em relação às demais áreas estudadas, enquanto Cubatão e Juréia demonstraram uma granulometria similar entre si (exceto Jur 3). Com base na granulometria dos sedimentos foi possível caracterizar a hidrodinâmica de cada subárea de manguezal, que variou de baixa a moderada intensidade, sendo muito similar entre si. Novamente as subáreas Sav 3 e Jur 3 foram exceção, com hidrodinâmica distinta à das demais áreas em estudo (São Vicente, Sav 1 e 2; e Juréia, Jur 1 e 2, respectivamente). A subárea Sav 3 apresentou hidrodinâmica moderada, enquanto em Jur 3 ela foi baixa.

As tabelas VIII e IX apresentam os resultados de concentração dos macro e micronutrientes nos sedimentos de manguezal, para cada subárea e áreas de manguezal em estudo. Em função da elevada quantidade de dados obtidos e, em consonância aos objetivos propostos, os resultados obtidos para cada um dos nutrientes do sedimento foram empregados nas análises multifatoriais, não sendo, portanto, descritos neste item.

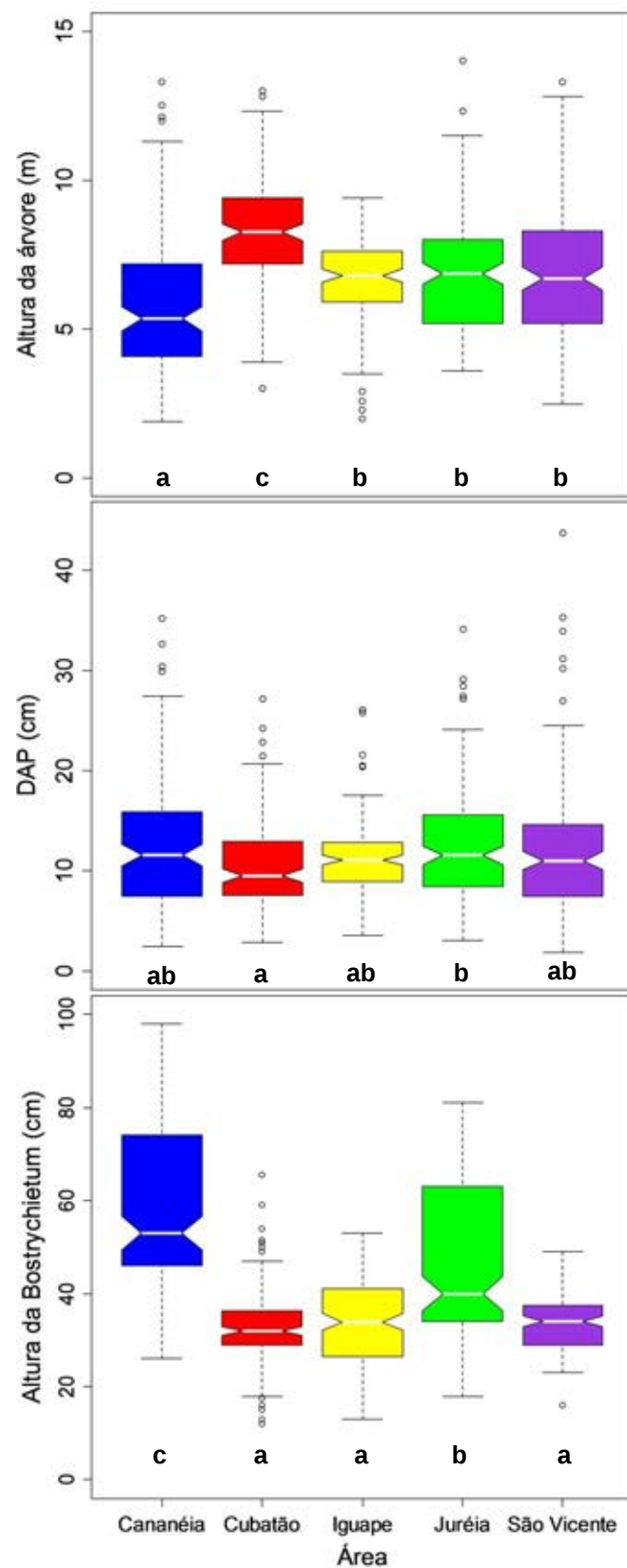


Figura 8 - Gráfico de caixas (medianas, quartis e amplitude de variação) para a altura, diâmetro à altura do peito (DAP) e limite superior de distribuição vertical do *Bostrychietum* (= nível de inundação pelas marés) em árvores pertencentes às cinco áreas de manguezal em estudo no litoral centro-sul do Estado de São Paulo. Para cada parâmetro biométrico, as medianas associadas a uma mesma letra não apresentaram diferença estatística significativa a 5%, segundo a ANOVA de Kruskal-Wallis (KW).

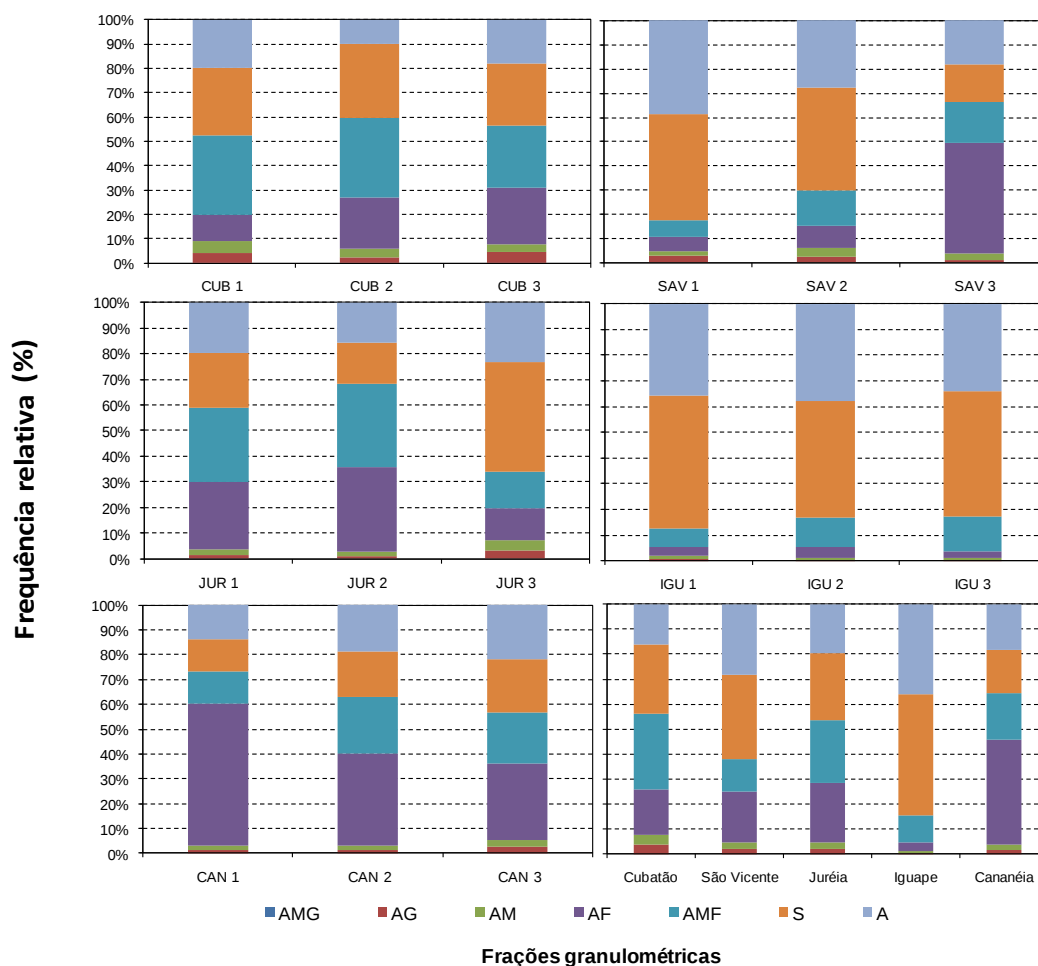


Figura 9 - Frequência relativa (%) das frações granulométricas do sedimento (A: argila, <0,002mm; S: silte, 0,002-0,05mm; AMF: areia muito fina, 0,05-0,15mm; AF: areia fina, 0,150-0,25mm; AM: areia média, 0,25-0,5mm; AG: areia grossa, 0,5-1,0mm; e AMG: areia muito grossa, 1-2mm), nas quinze subáreas e cinco áreas (localidades) de manguezal no litoral centro-sul do Estado de São Paulo.

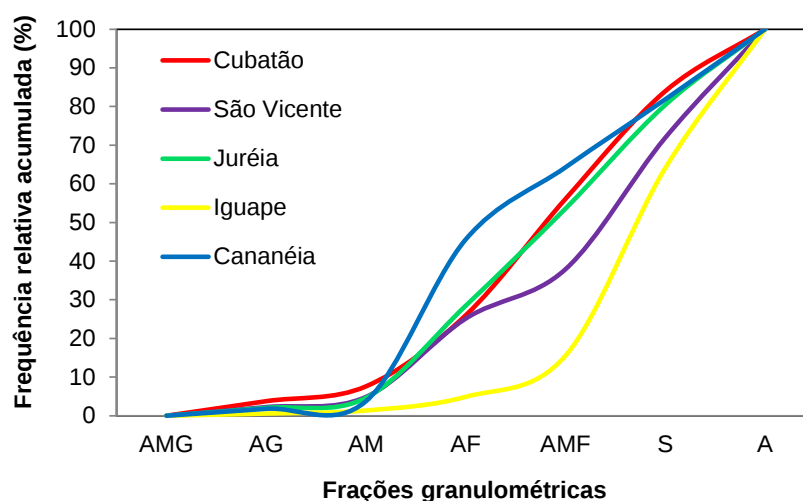


Figura 10 - Curvas de frequência acumulada (%) das frações granulométricas do sedimento (A: argila, <0,002mm; S: silte, 0,002-0,05mm; AMF: areia muito fina, 0,05-0,15mm; AF: areia fina, 0,150-0,25mm; AM: areia média, 0,25-0,5mm; AG: areia grossa, 0,5-1,0mm; e AMG: areia muito grossa, 1-2mm), nas cinco áreas (localidades) de manguezal do litoral centro-sul do Estado de São Paulo.

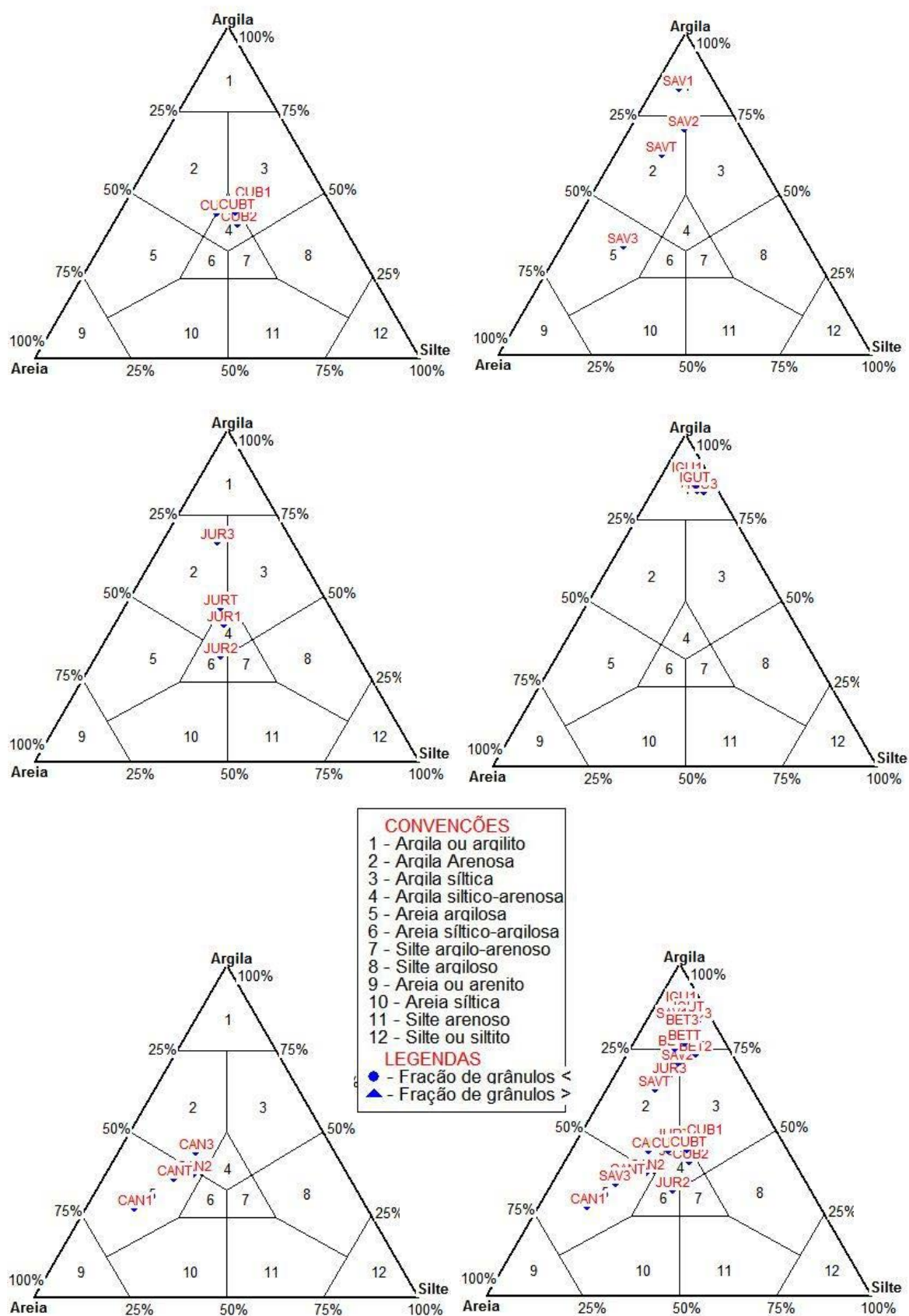


Figura 11 - Diagramas de Shepard, com representação da composição granulométrica segundo sua tendência, em função do percentual das frações areia, argila e silte, para cada uma das quinze subáreas e cinco áreas (localidades) de manguezal do litoral centro-sul do Estado de São Paulo.

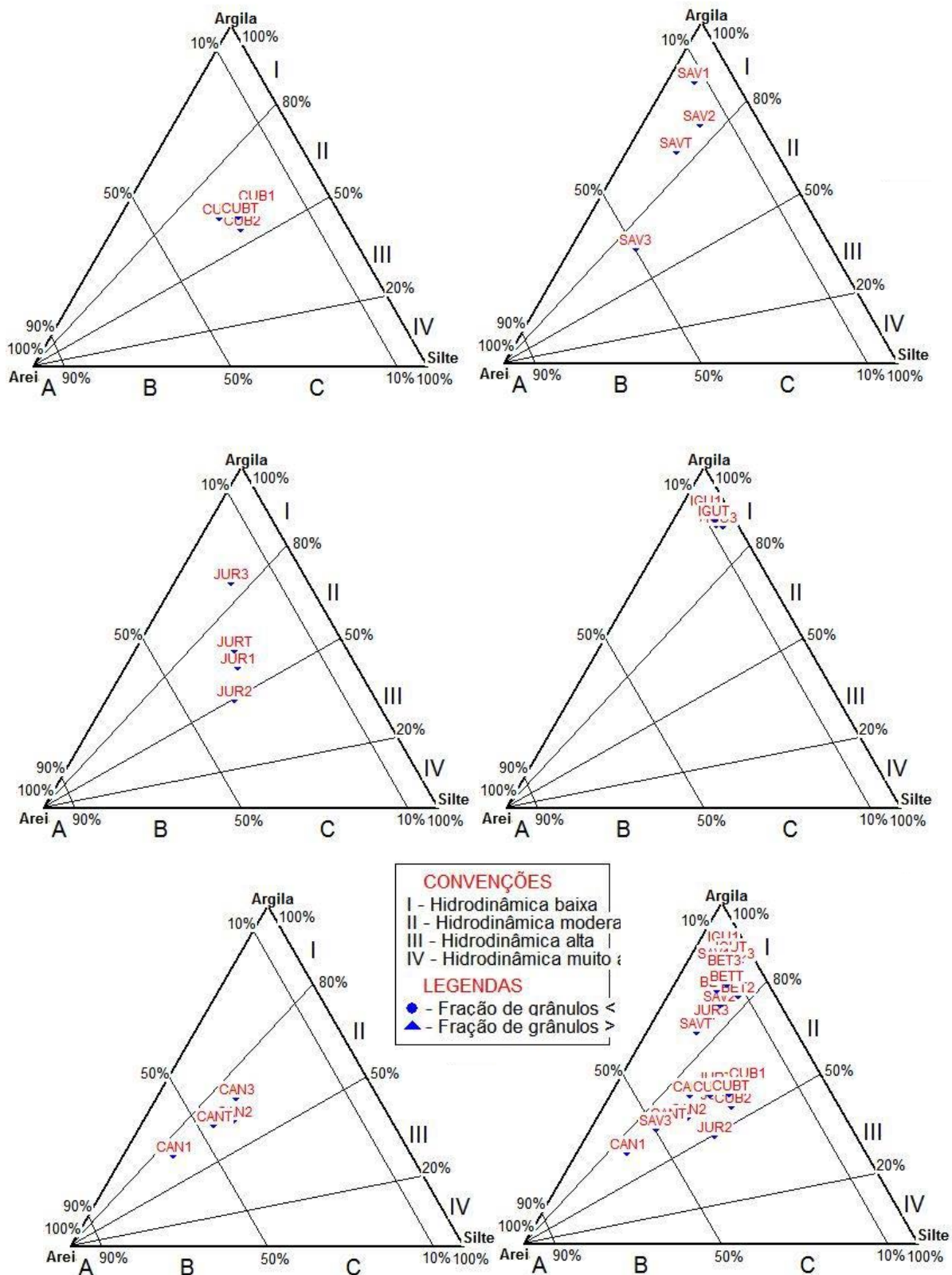


Figura 12 - Diagramas de Pejrup, que exprimem a hidrodinâmica (I, baixa; II, moderada; III, alta; ou IV, muito alta), de cada uma das quinze subáreas e cinco áreas (localidades) de manguezal do litoral centro-sul do Estado de São Paulo, com base em suas características granulométricas. As letras A, B e C indicam a localização em cada categoria de definição.

Tabela VII - Tamanho médio e classificação granulométrica nas quinze subáreas e cinco áreas (localidades) de manguezal no litoral centro-sul do Estado de São Paulo, segundo o modelo de FOLK & WARD (1957).

Área	Subárea	Tamanho médio do grão	
		ϕ	Classificação
Cubatão	CUB 1	5,529	Silte médio
	CUB 2	4,891	Silte grosso
	CUB 3	5,278	Silte médio
	Total	5,216	Silte médio
São Vicente	SAV 1	7,537	Silte muito fino
	SAV 2	6,692	Silte fino
	SAV 3	4,975	Silte grosso
	Total	6,313	Silte fino
Juréia	JUR 1	5,372	Silte médio
	JUR 2	5,042	Silte médio
	JUR 3	6,296	Silte fino
	Total	5,43	Silte médio
Iguape	IGU 1	7,67	Silte muito fino
	IGU 2	7,562	Silte muito fino
	IGU 3	7,415	Silte muito fino
	Total	7,549	Silte muito fino
Cananéia	CAN 1	4,497	Silte grosso
	CAN 2	5,188	Silte médio
	CAN 3	5,397	Silte médio
	Total	5,065	Silte médio

Tabela VIII - Macronutrientes no sedimento dos manguezais do centro-sul paulista. Média e desvio padrão do potencial hidrogeniônico (pH) em CaCl₂, matéria orgânica (MO em g/dm³), macronutrientes (P, fósforo; K, potássio; Ca, cálcio; Mg, magnésio; H+Al, hidrogênio mais alumínio) e respectivos cálculos (SB, soma de bases = K, P, Mg; T, total = H+Al somado à soma de bases; V%, percentual de definição).

Área	Subárea	pH (em CaCl ₂)	MO (g/dm ³)	P (mg/dm ³)	mmolc/dm ³					V (%)	
					K	Ca	Mg	H+Al	SB	T	
Cubatão	CUB 1	5,60 ± 0,30	131,00 ± 14,00	121,67 ± 1,15	7,87 ± 1,12	67,33 ± 32,65	72,33 ± 6,35	46,33 ± 12,01	147,53 ± 27,40	193,87 ± 17,05	75,67 ± 7,64
	CUB 2	5,37 ± 0,32	81,33 ± 13,05	66,00 ± 19,08	6,43 ± 0,67	29,33 ± 2,08	60,67 ± 0,58	42,00 ± 13,45	96,43 ± 3,09	138,43 ± 11,10	70,00 ± 7,21
	CUB 3	5,60 ± 0,0	113,33 ± 3,21	36,67 ± 1,15	7,90 ± 0,52	35,67 ± 2,89	67,33 ± 7,51	35,67 ± 4,04	110,90 ± 10,14	146,57 ± 12,53	75,33 ± 2,08
	Total	5,52 ± 0,25	108,56 ± 23,86	74,78 ± 38,60	7,40 ± 1,01	44,11 ± 24,10	66,78 ± 7,07	41,33 ± 10,34	118,29 ± 27,13	159,62 ± 28,54	73,67 ± 6,02
São Vicente	SAV 1	5,50 ± 0,10	135,67 ± 4,73	49,33 ± 13,32	10,40 ± 0,56	45,33 ± 5,51	73,67 ± 8,39	60,67 ± 8,08	129,40 ± 13,49	180,07 ± 20,99	72,00 ± 1,73
	SAV 2	5,57 ± 0,25	162,00 ± 20,88	16,33 ± 8,14	9,27 ± 0,71	56,67 ± 8,33	74,67 ± 9,24	50,00 ± 20,66	140,60 ± 15,84	190,60 ± 36,26	74,33 ± 6,03
	SAV 3	5,57 ± 0,21	76,33 ± 49,69	24,67 ± 6,66	7,37 ± 2,40	25,00 ± 13,23	54,33 ± 15,89	28,67 ± 14,64	86,70 ± 31,39	115,37 ± 45,60	76,33 ± 4,04
	Total	5,54 ± 0,17	124,67 ± 46,65	30,11 ± 17,11	9,01 ± 1,85	42,33 ± 16,18	67,56 ± 14,16	43,11 ± 17,15	118,90 ± 31,01	162,01 ± 46,94	74,22 ± 4,18
Juréia	JUR 1	5,97 ± 0,15	69,33 ± 13,58	14,33 ± 4,04	7,87 ± 1,07	32,33 ± 4,62	70,00 ± 7,81	20,33 ± 4,51	110,20 ± 13,45	130,53 ± 14,19	84,33 ± 3,21
	JUR 2	5,60 ± 0,17	73,00 ± 11,27	11,33 ± 4,16	6,70 ± 0,72	31,33 ± 3,21	66,00 ± 3,00	32,33 ± 12,70	104,03 ± 5,28	136,37 ± 17,96	76,67 ± 5,77
	JUR 3	5,47 ± 0,35	146,33 ± 13,58	19,33 ± 10,12	8,97 ± 0,67	53,33 ± 6,11	78,00 ± 3,61	56,00 ± 30,20	140,30 ± 9,26	196,30 ± 24,21	72,67 ± 12,06
	Total	5,68 ± 0,31	96,22 ± 39,23	15,00 ± 6,80	7,84 ± 1,22	39,00 ± 11,53	71,33 ± 6,98	36,22 ± 22,81	118,18 ± 18,87	154,40 ± 35,66	77,89 ± 8,58
Iguape	IGU 1	4,80 ± 0,20	118,00 ± 15,52	27,00 ± 24,02	8,43 ± 0,49	39,00 ± 6,56	65,67 ± 10,02	95,67 ± 14,64	113,10 ± 11,23	208,77 ± 3,41	54,33 ± 6,11
	IGU 2	5,40 ± 0,20	57,00 ± 7,94	61,67 ± 12,01	6,63 ± 0,84	30,67 ± 4,62	62,33 ± 3,51	42,67 ± 8,08	99,63 ± 6,27	142,30 ± 10,61	70,33 ± 4,04
	IGU 3	5,03 ± 0,15	53,00 ± 7,21	67,00 ± 6,08	5,00 ± 0,60	25,33 ± 0,58	52,33 ± 4,04	56,00 ± 6,93	82,67 ± 4,35	138,67 ± 8,70	59,67 ± 2,52
	Total	5,08 ± 0,31	76,00 ± 32,93	51,89 ± 23,31	6,69 ± 1,59	31,67 ± 7,19	60,11 ± 8,27	64,78 ± 25,53	98,47 ± 14,85	163,24 ± 34,90	61,44 ± 8,05
Cananéia	CAN 1	5,5 ± 0,0	66 ± 14,18	7,00 ± 1,00	7,2 ± 0,7	24,67 ± 3,51	60,33 ± 1,53	27,33 ± 7,02	92,2 ± 5,27	122,20 ± 8,60	75,67 ± 1,53
	CAN 2	5,13 ± 0,15	77 ± 20,66	7,67 ± 1,15	7,6 ± 2,17	29,67 ± 8,02	63,00 ± 4,00	54,33 ± 12,04	100,27 ± 12,04	154,60 ± 20,40	64,67 ± 1,53
	CAN 3	5,67 ± 0,12	103 ± 19,70	9,33 ± 3,21	8,63 ± 1,11	38,67 ± 5,86	69,67 ± 4,16	33 ± 1,73	116,97 ± 5,99	149,97 ± 6,04	77,67 ± 1,53
	Total	5,43 ± 0,25	82 ± 22,91	8 ± 2,06	7,81 ± 1,42	31 ± 8,09	64,33 ± 5,12	38,22 ± 13,57	103,14 ± 13,11	142,26 ± 19,02	72,67 ± 6,20

Tabela IX - Micronutrientes no sedimento dos manguezais do centro-sul paulista. Média e desvio padrão dos micronutrientes (B, boro; Cu, cobre; Fe, ferro; Mn, manganês; Zn, zinco; S-SO₄, enxofre na forma de sulfato; e Al, alumínio isolado).

Área	Subárea	mg/dm ³					Al (mmol _e /dm ³)
		B	Cu	Fe	Mn	Zn	
Cubatão	CUB 1	9,70 ± 0,00	1,47 ± 0,32	338,67 ± 48,85	12,93 ± 3,06	12,20 ± 8,06	262,33 ± 10,97
	CUB 2	8,01 ± 0,71	0,70 ± 0,17	328,00 ± 67,36	9,60 ± 0,00	7,60 ± 1,83	237,33 ± 3,51
	CUB 3	9,81 ± 0,32	1,20 ± 0,26	295,33 ± 4,16	16,00 ± 10,06	9,20 ± 0,69	241,33 ± 8,39
	Total	9,17 ± 0,96	1,12 ± 0,41	320,67 ± 46,02	12,84 ± 5,94	9,67 ± 4,91	247,00 ± 13,64
São Vicente	SAV 1	10,24 ± 0,21	0,63 ± 0,15	288,00 ± 11,36	9,60 ± 4,33	9,60 ± 4,16	266,00 ± 3,46
	SAV 2	10,24 ± 0,21	0,53 ± 0,25	297,33 ± 5,03	8,80 ± 2,50	9,20 ± 2,77	257,33 ± 17,04
	SAV 3	7,67 ± 3,76	0,33 ± 0,21	251,00 ± 165,45	8,00 ± 3,02	6,33 ± 2,61	209,67 ± 42,45
	Total	9,38 ± 2,28	0,50 ± 0,22	278,78 ± 85,63	8,80 ± 3,00	8,38 ± 3,21	244,33 ± 34,87
Juréia	JUR 1	9,19 ± 1,09	0,47 ± 0,12	186,67 ± 46,29	16,00 ± 4,54	2,97 ± 0,74	223,67 ± 17,01
	JUR 2	8,56 ± 0,38	0,33 ± 0,06	243,33 ± 55,41	10,00 ± 5,00	4,07 ± 0,42	222,33 ± 20,53
	JUR 3	10,24 ± 0,21	0,23 ± 0,15	299,00 ± 7,00	4,00 ± 1,83	2,40 ± 0,50	264,00 ± 6,93
	Total	9,33 ± 0,94	0,34 ± 0,14	243,00 ± 60,68	10,00 ± 6,26	3,14 ± 0,88	236,67 ± 24,70
Iguape	IGU 1	10,02 ± 0,74	0,17 ± 0,06	275,67 ± 38,21	8,40 ± 3,60	4,33 ± 4,74	273,33 ± 4,62
	IGU 2	6,00 ± 0,60	1,97 ± 0,06	236,00 ± 61,61	56,40 ± 9,06	6,40 ± 1,83	185,33 ± 49,92
	IGU 3	3,49 ± 0,30	1,60 ± 0,10	294,00 ± 2,00	45,60 ± 3,60	5,20 ± 0,69	217,67 ± 9,29
	Total	6,50 ± 2,87	1,24 ± 0,83	268,56 ± 44,43	36,80 ± 22,42	5,31 ± 2,72	225,44 ± 46,22
Cananéia	CAN 1	8,74 ± 0,74	0,23 ± 0,06	183,67 ± 25,32	8,40 ± 2,08	3,97 ± 1,50	219,67 ± 8,08
	CAN 2	9,20 ± 1,47	0,17 ± 0,06	377,00 ± 129,05	8,00 ± 2,50	4,73 ± 1,21	240,00 ± 16,52
	CAN 3	9,89 ± 0,17	0,27 ± 0,06	257,33 ± 15,01	5,60 ± 2,50	4,90 ± 0,17	235,67 ± 5,51
	Total	9,28 ± 0,97	0,22 ± 0,07	272,67 ± 107,33	7,33 ± 2,43	4,53 ± 1,06	231,78 ± 13,35

4.1.2. Quadrados de amostragem

Proporção de plântulas = Em todas as subáreas de manguezal as plântulas arbóreas de *R. mangle* nos quadrados amostrais (Tabela X) ocorreram com frequência variando de 69,2% (Jur 1) a 100% (Jur 2). As plântulas arbóreas de *A. schaueriana* estiveram ausentes em Jur 2, Jur 3, Can 1 e Can 3, tendo sua maior participação relativa no Município de Iguape, que apresentou valores máximos em Igu 2 (15,4%) e Igu 3 (11,8%). *Laguncularia racemosa* foi a espécie com maior ausência relativa nas subáreas de manguezal avaliadas (Cub 1, Sav 1, Sav 2, Jur 2 e Can 3), com maior abundância relativa registrada em Jur 1 (23,1%) e Can 1 (14,8%).

Tabela X - Proporção de plântulas por espécie (AS, *A. schaueriana*; LR, *L. racemosa*; RM, *R. mangle*) nos quatro quadrados de amostragem de 5x5m (100m²), em cada subárea de manguezal no litoral Centro-Sul do Estado de São Paulo.

Área	Subárea	Proporção de plântulas por espécie (%)			
		AS	LR	RM	Total
Cubatão	Cub 1	1,69	0,00	98,31	100
	Cub 2	0,18	1,07	98,76	100
	Cub 3	1,95	0,98	97,07	100
	Total	0,79	0,90	98,00	100
São Vicente	Sav 1	2,34	0,00	97,66	100
	Sav 2	8,77	0,00	91,23	100
	Sav 3	1,32	3,52	95,15	100
	Total	3,41	1,71	94,88	100
Juréia	Jur 1	7,69	23,08	69,23	100
	Jur 2	0,00	0,00	100,00	100
	Jur 3	0,00	0,54	99,46	100
	Total	0,24	1,21	98,55	100
Iguape	Igu 1	1,01	0,34	98,66	100
	Igu 2	15,42	4,85	79,74	100
	Igu 3	11,76	9,41	78,82	100
	Total	7,87	3,28	88,85	100
Cananéia	Can 1	0,00	14,81	85,19	100
	Can 2	7,35	4,41	88,24	100
	Can 3	0,00	0,00	100,00	100
	Total	3,97	5,56	90,48	100

Abundância e densidade de plântulas arbóreas = Independente da espécie, a quantidade de plântulas foi mais representativa no Município de Cubatão (886 ind.300m⁻², compreendendo ± 3 plântulas.m⁻²), sendo a maior densidade registrada em Cub 2 (563 ind.100m⁻² = ± 6 plântulas.m⁻²) (Tabela XI). A menor densidade de plântulas arbóreas ocorreu em Cananéia (0,42 ind.m⁻²), contrastando com Cubatão (2,95 ind.m⁻²), que foi sete vezes superior (Tabela VII). As demais áreas de manguezal apresentaram densidades intermediárias às anteriormente citadas, com densidade variando entre 1,56 a 2,03 ind.m⁻².

Tabela XI - Abundância (n) e densidade de plântulas arbóreas (ind.m⁻²), nos quatro quadrados de amostragem de 5x5m (100m²), em cada subárea de manguezal no litoral Centro-Sul do Estado de São Paulo (Min., valor mínimo; Máx., valor máximo; x, média aritmética; s, desvio padrão; CV%, coeficiente de variação).

Área	Subárea	n (100m ²)	Densidade de Plântulas Arbóreas (ind.m ⁻²)			
			Mín.	Máx.	x $\pm$ s	CV (%)
Cubatão	Cub 1	118	0,56	2,52	1,18 $\pm$ 0,90	76,53
	Cub 2	563	2,00	9,84	5,63 $\pm$ 3,26	57,96
	Cub 3	205	0,24	3,68	2,05 $\pm$ 1,76	86,02
	Total	886	0,24	9,84	2,95 $\pm$ 2,83	95,89
São Vicente	Sav 1	128	0,60	2,60	1,28 $\pm$ 0,92	72,26
	Sav 2	114	0,20	2,52	1,14 $\pm$ 1,07	93,74
	Sav 3	227	1,88	2,76	2,27 $\pm$ 0,37	16,43
	Total	469	0,20	2,76	1,56 $\pm$ 0,93	59,27
Juréia	Jur 1	13	0,12	0,16	0,13 $\pm$ 0,02	15,38
	Jur 2	29	0,00	0,84	0,29 $\pm$ 0,37	129,08
	Jur 3	371	2,08	4,40	3,71 $\pm$ 1,10	29,69
	Total	413	0,00	0,40	1,38 $\pm$ 1,83	132,82
Iguape	Igu 1	298	2,56	4,16	2,98 $\pm$ 0,79	26,41
	Igu 2	227	0,52	4,72	2,27 $\pm$ 1,88	82,77
	Igu 3	85	0,44	1,12	0,85 $\pm$ 0,30	34,87
	Total	610	0,44	4,72	2,03 $\pm$ 1,42	69,74
Cananéia	Can 1	27	0,00	0,56	0,27 $\pm$ 0,29	107,77
	Can 2	68	0,04	1,12	0,68 $\pm$ 0,47	69,10
	Can 3	31	0,20	0,40	0,31 $\pm$ 0,08	26,60
	Total	126	0,00	1,12	0,42 $\pm$ 0,35	83,27

Proporção das árvores adultas e espécimes mortos = Houve uma expressiva variação do percentual de proporção arbórea entre as subáreas de manguezal estudadas (Tabela XII), com 93,3% delas apresentando predomínio de *R. mangle* e apenas uma (Cub 2) com predomínio similar entre *A. schaueriana* e *R. mangle*.

Em todas as subáreas avaliadas o percentual de espécimes arbóreos mortos foi inferior a 17%, com um percentual similar entre as áreas analisadas, que variaram de 0% (subáreas da Juréia) a 16,67% (Can 2). Nos manguezais da Juréia todas as árvores medidas nos quadrados estavam vivas, contrastando com Iguape, que apresentou 9,8% de árvores mortas, seguido por Cubatão (7%). Embora a maior predominância de árvores seja de *R. mangle*, sua frequência foi inferior em comparação à densidade das plântulas arbóreas. A abundância relativa dessa espécie nas subáreas de manguezal avaliadas variou entre 39,5% (Cub 2) a 100% (Jur 3).

Tabela XII - Proporção arbórea (%) das espécies de mangue (AS: *A. schaueriana*; LR: *L. racemosa* e RM: *R. mangle*) e percentual de espécimes arbóreos vivos, nos quatro quadrados de amostragem de 5x5m (100m²), em cada uma das 15 subáreas de manguezal em estudo no litoral Centro-Sul do Estado de São Paulo.

Área	Subárea	Proporção Arbórea (%)				
		AS	LR	RM	Total	Mortas
Cubatão	Cub 1	18,18	0,00	81,82	100	9,09
	Cub 2	44,74	15,79	39,47	100	2,63
	Cub 3	45,00	0,00	55,00	100	10,00
	Total	39,00	6,00	55,00	100	7,00
São Vicente	Sav 1	20,00	2,86	77,14	100	8,57
	Sav 2	9,68	25,81	64,52	100	3,23
	Sav 3	42,86	0,00	57,14	100	0
	Total	21,84	10,34	67,82	100	4,60
Juréia	Jur 1	15,79	36,84	47,37	100	0
	Jur 2	16,42	0,00	83,58	100	0
	Jur 3	0,00	0,00	100,00	100	0
	Total	12,84	6,42	80,73	100	0
Iguape	Igu 1	4,55	0,00	95,45	100	4,55
	Igu 2	28,57	7,14	64,29	100	14,29
	Igu 3	5,36	19,64	75,00	100	14,29
	Total	8,70	13,04	78,26	100	9,78
Cananéia	Can 1	0,00	41,3	58,70	100	0
	Can 2	4,17	8,33	87,50	100	16,67
	Can 3	18,75	0,00	81,25	100	0
	Total	20,59	6,86	72,55	100	3,92

Abundância e densidade arbórea = Houve reduzida variação entre as médias de densidade arbórea (ind.m^{-2}) quando as áreas de manguezal em estudo foram confrontadas ($0,30$ a $0,36 \text{ ind.m}^{-2} = 3.000$ a $3.600 \text{ ind.ha}^{-2}$) (Tabela XIII).

Os manguezais da Juréia apresentaram a maior quantidade de árvores ($109 \text{ ind.300m}^{-2}$) quando confrontada aos manguezais de São Vicente (87 ind.300m^{-2}), que foram caracterizados pela menor abundância relativa (Tabela XIII). A densidade de árvores adultas foi muito similar entre as áreas de manguezal analisadas, com registro da maior média para a Juréia ($0,4 \text{ ind.m}^{-2}$) e a menor para Iguape ($0,3 \text{ ind.m}^{-2}$), correspondendo às médias de densidade verificadas para as subáreas de amostragem, que foram de $0,7 \text{ ind.m}^{-2}$ (Jur 2) e $0,2 \text{ ind.m}^{-2}$ (Igu 2), respectivamente. Nos quadrados de amostragem a densidade arbórea variou entre $0,1 \text{ ind.m}^{-2}$ (Cub 1) e $0,3 \text{ ind.m}^{-2}$ (Jur 2 e Can 3).

Tabela XIII - Abundância (n) e densidade de árvores adultas (ind.m^{-2}), nos quatro quadrados de amostragem de $5 \times 5 \text{m}$ (100m^2), em cada subárea de manguezal no litoral Centro-Sul do Estado de São Paulo (Min., valor mínimo; Máx., valor máximo; x, média aritmética; s, desvio padrão; CV%, coeficiente de variação).

Área	Subárea	n (100m^2)	Densidade de Árvores Adultas (ind.m^{-2})			
			Mín.	Máx.	x $\pm$ s	CV (%)
Cubatão	Cub 1	22	0,12	0,40	$0,22 \pm 0,12$	56,53
	Cub 2	38	0,28	0,56	$0,38 \pm 0,13$	34,91
	Cub 3	40	0,24	0,76	$0,40 \pm 0,25$	61,64
	Total	100	0,12	0,76	$0,33 \pm 0,18$	54,23
São Vicente	Sav 1	35	0,20	0,44	$0,35 \pm 0,11$	30,06
	Sav 2	31	0,16	0,44	$0,31 \pm 0,13$	42,63
	Sav 3	21	0,16	0,36	$0,21 \pm 0,10$	47,62
	Total	87	0,16	0,44	$0,31 \pm 0,12$	41,03
Juréia	Jur 1	19	0,16	0,24	$0,19 \pm 0,04$	20,16
	Jur 2	67	0,32	1,00	$0,67 \pm 0,31$	45,83
	Jur 3	23	0,08	0,40	$0,23 \pm 0,13$	57,46
	Total	109	0,08	1,00	$0,36 \pm 0,28$	79,03
Iguape	Igu 1	22	0,20	0,24	$0,22 \pm 0,02$	10,50
	Igu 2	14	0,08	0,28	$0,14 \pm 0,10$	68,01
	Igu 3	56	0,20	0,88	$0,56 \pm 0,30$	53,77
	Total	92	0,08	0,88	$0,30 \pm 0,25$	82,18
Cananéia	Can 1	46	0,28	0,52	$0,46 \pm 0,12$	26,09
	Can 2	24	0,20	0,32	$0,24 \pm 0,06$	23,57
	Can 3	32	0,32	0,32	$0,32 \pm 0,00$	0,00
	Total	102	0,20	0,52	$0,34 \pm 0,11$	34,57

Serapilheira = A quantidade de serapilheira disponível sobre o sedimento (g/m^2) apresentou expressiva variação entre as subáreas e áreas de manguezal estudadas (Tabela XIV). A menor quantidade (produção) ocorreu nos manguezais de Cananéia ($2,1 \text{ g/m}^2$), que foi 10 vezes inferior à maior quantidade registrada em Cubatão ($21,2 \text{ g/m}^2$). Nas demais áreas a serapilheira foi muito similar, apresentando valores intermediários ($8,9$ a $13,7 \text{ g/m}^2$). Entre as subáreas de manguezal, constatou-se para Sav 2 a menor quantidade de serapilheira por quadrado amostral ($0,2 \text{ g/m}^2$), contrastando com Cub 2 ($51,9 \text{ g/m}^2$), que foi 360 vezes superior.

Tabela XIV - Quantidade de serapilheira disponível sobre o sedimento (g/m^2) nos quatro quadrados de amostragem de $5 \times 5 \text{ m}$ (100 m^2), em cada subárea de manguezal no litoral Centro-Sul do Estado de São Paulo (Min., valor mínimo; Máx., valor máximo; x, média aritmética; s, desvio padrão; CV%, coeficiente de variação).

Área	Subárea	Serapilheira (g/m^2)			
		Mín.	Máx.	$\bar{x} \pm s$	CV (%)
Cubatão	Cub 1	3,22	41,34	$20,68 \pm 18,75$	90,64
	Cub 2	10,87	51,86	$31,42 \pm 17,73$	56,43
	Cub 3	3,59	19,62	$11,54 \pm 6,56$	56,80
	Total	3,22	51,86	$21,21 \pm 16,29$	76,78
São Vicente	Sav 1	12,62	18,68	$16,52 \pm 2,70$	16,35
	Sav 2	0,23	20,23	$9,43 \pm 8,22$	87,08
	Sav 3	3,95	22,23	$11,73 \pm 8,91$	75,92
	Total	0,23	22,23	$12,56 \pm 7,18$	57,15
Juréia	Jur 1	1,72	4,83	$3,04 \pm 1,30$	42,79
	Jur 2	0,94	1,64	$1,39 \pm 0,31$	22,36
	Jur 3	6,96	39,55	$22,23 \pm 13,82$	62,16
	Total	0,94	39,55	$8,89 \pm 12,25$	137,76
Iguape	Igu 1	14,18	18,73	$17,03 \pm 2,00$	11,76
	Igu 2	3,76	21,02	$9,94 \pm 7,83$	78,72
	Igu 3	3,58	23,10	$14,05 \pm 9,76$	69,46
	Total	3,58	23,10	$13,67 \pm 7,28$	53,23
Cananéia	Can 1	0,91	2,12	$1,50 \pm 0,56$	37,47
	Can 2	1,03	3,60	$1,98 \pm 1,13$	56,75
	Can 3	1,77	3,98	$2,86 \pm 0,91$	31,57
	Total	0,91	3,98	$2,11 \pm 1,00$	47,36

Resíduos sólidos = A tabela XV resume o impacto das subáreas (e áreas) de manguezal pelo acúmulo de resíduos sólidos (“lixo”) nos quadrados amostrais, a saber: plásticos, panos, isopores, vidros, madeiras, borrachas e papéis. Nos manguezais amostrados na Juréia e Cananéia houve ausência de resíduos sólidos nos quadrados, enquanto em Iguape ocorreu a menor média (0,4 g/m²) quando relacionada aos manguezais de São Vicente (34,4 g/m²) e Cubatão (18,9 g/m²). A abundância de resíduos sólidos nos manguezais de São Vicente somaram 375 unidades distribuídas em cinco itens (328 plásticos; 07 tecidos; 01 vidro; 38 madeiras industrializadas; e 01 borracha), enquanto nos manguezais de Cubatão foram totalizadas 123 unidades distribuídas em sete itens (100 plásticos; 06 panos; 04 isopores; 02 vidros; 06 madeiras industrializadas; 01 borracha; e 04 papéis). A densidade de lixo em São Vicente correspondeu ao dobro daquela registrada em Cubatão e cerca de três vezes sua abundância, apesar da riqueza de itens para Cubatão ser maior.

Tabela XV - Resíduos sólidos (“lixo”), nos quatro quadrados de amostragem de 5x5m (100m²), em cada subárea de manguezal no litoral Centro-Sul do Estado de São Paulo (Min., valor mínimo; Máx., valor máximo; x, média aritmética; s, desvio padrão; CV%, coeficiente de variação).

Área	Subárea	Resíduos Sólidos (g/m ²)			
		Mín.	Máx.	x ± s	CV (%)
Cubatão	Cub 1	0	2,32	0,66 ± 1,10	166,96
	Cub 2	0,31	8,39	3,28 ± 3,58	109,04
	Cub 3	10,41	103,13	52,98 ± 38,12	71,96
	Total	0	103,13	18,97 ± 32,12	169,31
São Vicente	Sav 1	22,41	58,30	39,94 ± 15,98	40,02
	Sav 2	0	67,35	37,40 ± 28,98	77,49
	Sav 3	0	103,12	25,78 ± 51,56	200,00
	Total	0	103,12	34,37 ± 32,63	94,95
Juréia	Jur 1	0	0	0	0
	Jur 2	0	0	0	0
	Jur 3	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0
Iguape	Igu 1	0	0	0	0
	Igu 2	0	3,03	1,13 ± 1,45	128,29
	Igu 3	0	0	0	0
	Total	0	3,03	0,37 ± 0,94	249,43
Cananéia	Can 1	0	0	0	0
	Can 2	0	0	0	0
	Can 3	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0

Densidade do caranguejo-uçá = A densidade do caranguejo-uçá (Tabela XVI) diferiu entre as áreas de manguezal analisadas ($F=2,26$; $p=0,074$), evidenciando a maior densidade para a Juréia ($\pm 2 \text{ ind.m}^{-2}$) e a menor para Cubatão ($\pm 1 \text{ ind.m}^{-2}$), contrastando estatisticamente entre si ($p=0,086$), mas não com as demais áreas analisadas. No caso das subáreas, a densidade nos quadrados de amostragem variou entre 0,2 e 3,4 ind.m^{-2} , com as maiores verificadas para Can 1 e Jur 2 (2,4 a 2,8 ind.m^{-2} , respectivamente) e as menores para Sav 1 e Cub 1 (0,4 e 0,5 ind.m^{-2} , respectivamente).

Na figura 13 verifica-se que o diâmetro da galeria e a largura da carapaça esperada (LC) foram maiores em Cubatão, diferindo significativamente das demais áreas de manguezal avaliadas (Can, $p=0,0005$; Igu, $p=0,0014$; Jur, $p=0,0032$; Sav, $p=0,07$).

Tabela XVI - Densidade de galerias do caranguejo-uçá ($\text{ind.}/\text{m}^2$), assumindo um animal por galeria, em quatro quadrados de amostragem de $5 \times 5 \text{m}$ (25m^2) nas subáreas de manguezal no Centro-Sul do Estado de São Paulo (n, total de galerias; Min., valor mínimo; Máx., valor máximo; x, média aritmética; s, desvio padrão; CV%, coeficiente de variação).

Área	Subárea	n (100m ²)	Densidade do Caranguejo-uçá (ind.m^{-2})			
			Mín.	Máx.	x $\pm$ s	CV (%)
Cubatão	Cub 1	45	0,20	0,72	0,45 $\pm$ 0,29	64,25
	Cub 2	113	0,60	2,32	1,13 $\pm$ 0,80	70,94
	Cub 3	159	1,12	1,96	1,59 $\pm$ 0,35	21,77
	Total	317	0,20	2,32	0,99 $\pm$ 0,68	68,54
São Vicente	Sav 1	36	0,20	0,68	0,36 $\pm$ 0,24	66,05
	Sav 2	126	1,40	2,56	1,26 $\pm$ 1,46	32,29
	Sav 3	164	0,92	2,76	1,64 $\pm$ 0,80	48,58
	Total	326	0,20	2,76	1,32 $\pm$ 0,91	68,63
Juréia	Jur 1	202	0,84	3,16	2,02 $\pm$ 1,11	55,20
	Jur 2	281	2,32	3,36	2,81 $\pm$ 0,43	15,44
	Jur 3	95	0,72	1,48	0,95 $\pm$ 0,36	37,56
	Total	578	0,72	3,36	1,92 $\pm$ 1,03	53,40
Iguape	Igu 1	135	1,08	2,00	1,35 $\pm$ 0,44	32,31
	Igu 2	204	1,56	2,40	2,04 $\pm$ 0,39	19,28
	Igu 3	158	0,40	2,72	1,58 $\pm$ 0,95	60,11
	Total	497	0,40	2,72	1,65 $\pm$ 0,65	39,57
Cananéia	Can 1	248	1,92	3,04	2,48 $\pm$ 0,51	20,61
	Can 2	177	1,20	2,24	1,77 $\pm$ 0,55	31,01
	Can 3	116	0,32	1,96	1,16 $\pm$ 0,71	61,49
	Total	541	0,32	3,04	1,80 $\pm$ 0,78	43,29

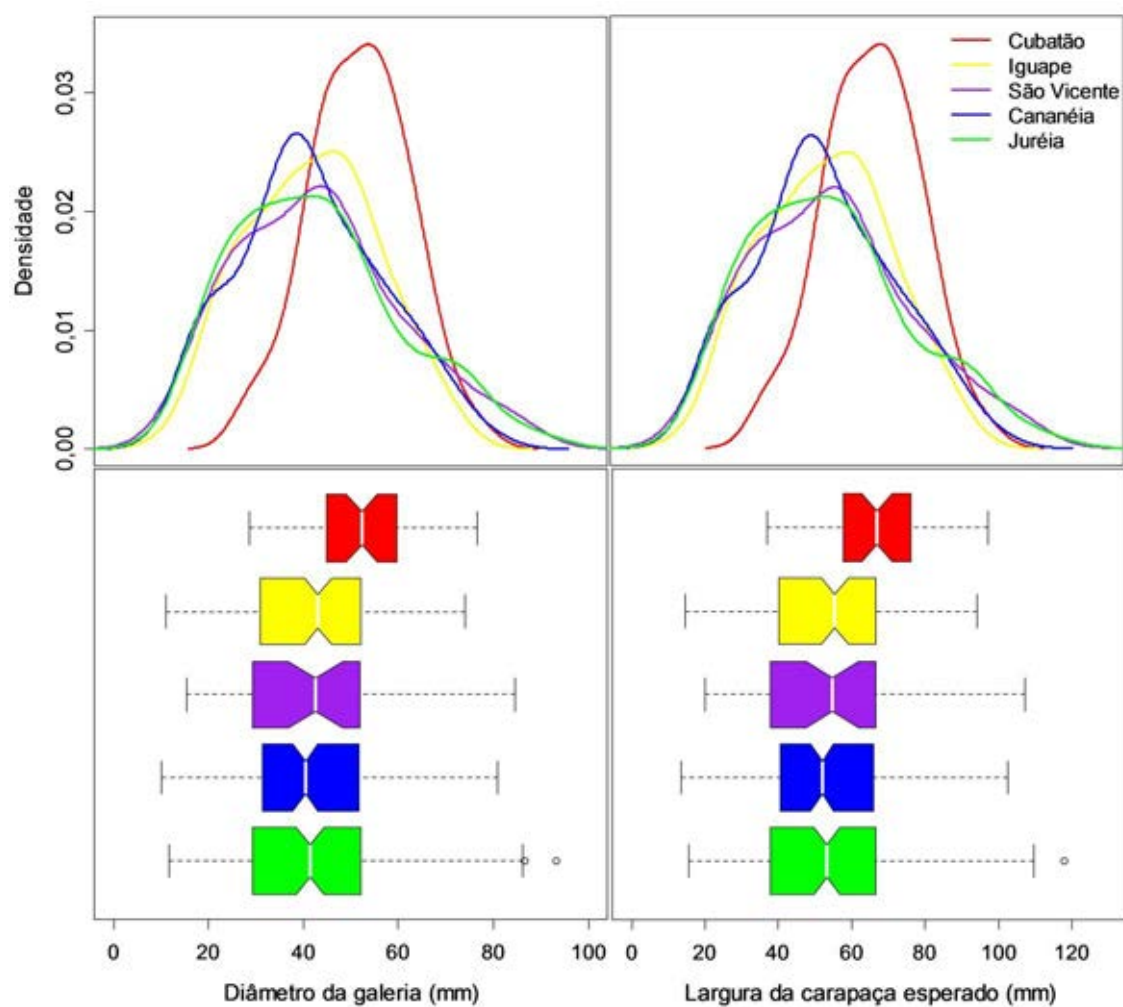


Figura 13 - Curvas de frequência (gráficos superiores) e respectivos gráficos de caixa (inferiores), apresentando as medianas, quartis e amplitude para o diâmetro das galerias (mm) e da largura da carapaça esperada (mm), estes últimos dados obtidos pela interconversão entre o diâmetro da galeria (DG) pela largura cefalotorácica (LC) pela equação $DG=0,716LC^{1,021}$, obtida por HATTORI (2006).

4.2. Contraste de metais entre as áreas de manguezal, dentro dos compartimentos abiótico-bióticos

4.2.1. Cobre

Este metal essencial foi detectado em todos os compartimentos abiótico-bióticos analisados e também encontrado em todas as áreas de manguezal estudadas. A figura 14 ilustra tais resultados entre as áreas de manguezal, por compartimento abiótico-biótico em estudo: **1) Água**: O cobre foi detectado apenas nas águas de Bertioga e Cubatão (33,3% das áreas em estudo), com concentrações variando de 0 a 0,04 µg/g e sem diferença estatística entre as médias obtidas ($p > 0,05$). Nas demais áreas (Sav, Jur, Igu e Can), correspondendo a 66,7% do presente estudo, este metal não foi detectado na água; **2) Sedimento**: A concentração de cobre no sedimento variou significativamente com a área de manguezal ($F=58,27$; $p < 0,0001$). A maior média ocorreu em Iguape ($8,37 \pm 0,78$ µg/g, variando de 6,73 a 9,52 µg/g), diferindo das demais áreas ($p < 0,001$). A segunda área com maior concentração de cobre foi Cubatão, com variação de 3,87 a 7,67 µg/g ($5,76 \pm 1,31$ µg/g), enquanto os menores valores foram registrados na Juréia, com variação de 1,85 a 2,95 µg/g e média de $2,47 \pm 0,29$ µg/g; **3) Folhas Verdes**: A concentração de cobre neste estágio de maturação foliar também variou significativamente com a área de manguezal ($F=12,26$; $p < 0,0001$), apresentando maior média para Cubatão ($2,12 \pm 0,67$ µg/g; CV=31,6%), que contrastou às demais áreas ($p < 0,05$). Menores valores de Cu foram verificados em quatro áreas (São Vicente, Juréia, Iguape e Cananéia), com menor variação (0,47 a 1,17 µg/g), que não diferiram entre si ($p > 0,05$); **4) Folhas Senescentes**: Similarmente às folhas verdes, houve efeito significativo da concentração de cobre neste estágio foliar em função da área ($F= 7,96$; $p < 0,0001$), inclusive apresentando a mesma tendência. Neste caso, no entanto, as maiores concentrações deste metal ocorreram em Bertioga, variando de 0,56 a 2,52 µg/g ($1,10 \pm 0,57$ µg/g), seguido por Cubatão, com variação de 0,85 a 1,21 µg/g ($0,99 \pm 0,13$ µg/g). As menores médias de concentração ocorreram nas mesmas quatro áreas citadas para as folhas verdes, também com ausência de diferença significativa entre eles ($p > 0,05$); **5) Hepatopâncreas**: A maior média de concentração de cobre foi registrada em

São Vicente, com variação de 5,4 a 29,3 $\mu\text{g/g}$ ($9,2 \pm 7,6 \mu\text{g/g}$), seguida daquela de Iguape ($7,9 \pm 2,8 \mu\text{g/g}$, variando de 4,2 a 13,5 $\mu\text{g/g}$). As menores médias foram verificadas na Juréia e Cananéia (1,4 a 4,7 $\mu\text{g/g}$), que não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$); e **6) Musculatura**: A maior média de foi detectada para Iguape ($7,6 \pm 3,03 \mu\text{g/g}$), variando de 4,3 a 11,9 $\mu\text{g/g}$, diferindo das médias registradas nas demais áreas ($p > 0,05$). Novamente, Juréia e Cananéia apresentaram as menores médias para este metal, com variação de 0,9 a 6,7 $\mu\text{g/g}$, sem diferença significativa entre si ($p > 0,05$).

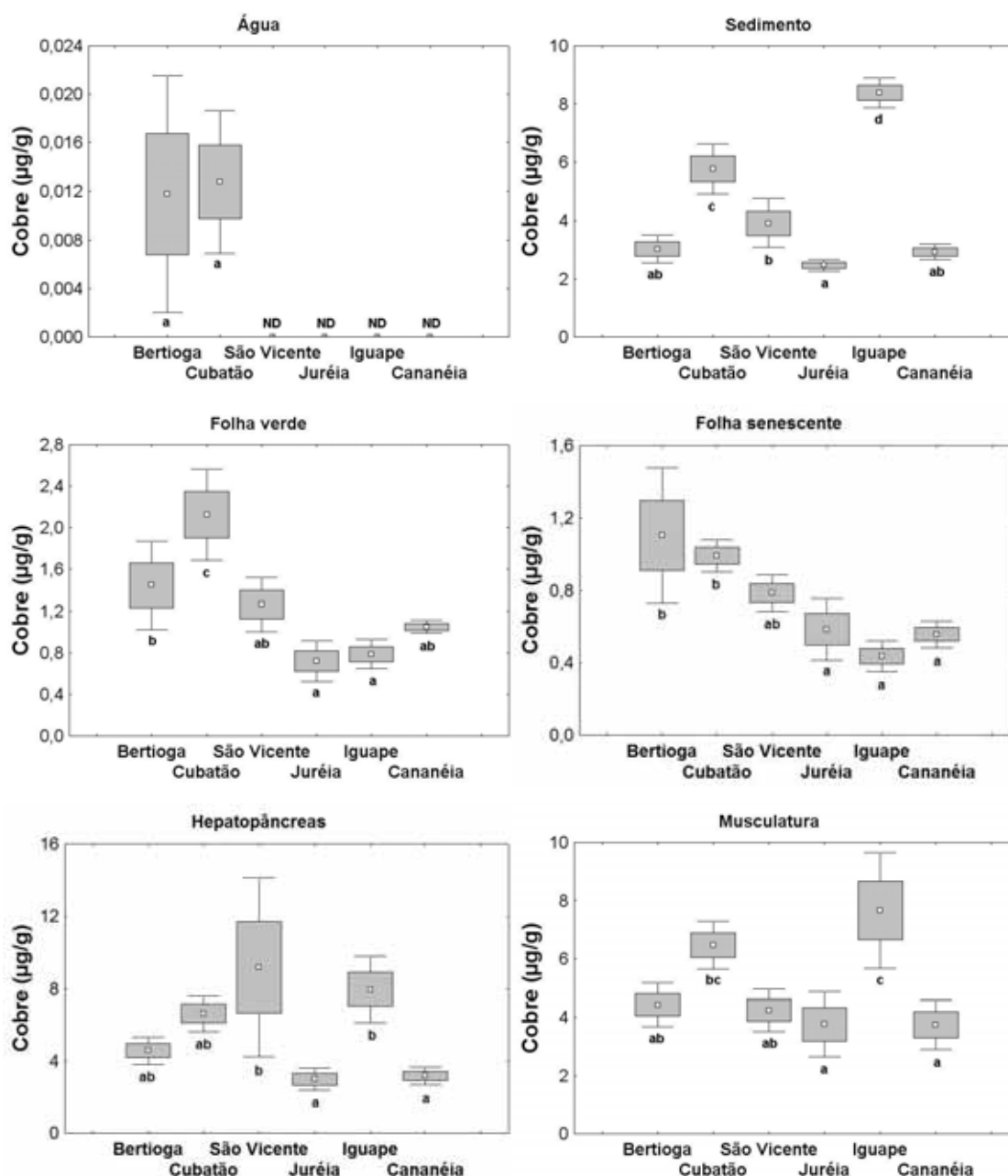


Figura 14 - Concentrações de cobre ($\mu\text{g/g}$) (metal essencial) nas seis áreas de manguezal avaliadas, dentro de cada um dos compartimentos ambiental/bióticos. Onde: ponto interno = média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p > 0,05$); ND = metal não detectado.

4.2.2. Chumbo

As concentrações deste metal não essencial (Figura 15) foram registradas em $\pm 67\%$ dos compartimentos abiótico-bióticos avaliados (água, sedimento e folhas verdes/senescentes). Este contaminante não foi detectado nos tecidos de *U. cordatus* (hepatopâncreas e musculatura) e apenas duas das áreas de manguezal em estudo (Bertioga e Cubatão), conforme segue: **1) Sedimento:** Onde foram registradas as maiores concentrações deste metal (3,45 a 12,30 $\mu\text{g/g}$), com média de concentração diferindo entre Cubatão e Bertioga ($9,74 \pm 1,92 \mu\text{g/g} \neq 6,14 \pm 1,43 \mu\text{g/g}$, respectivamente; $F=169,37$; $p<0,0001$). Para os demais compartimentos não foi verificada diferença significativa na concentração de Pb entre Cubatão e Bertioga ($p>0,05$), com as seguintes variações de concentração ($\mu\text{g/g}$): **2) Água:** 0,08 a 0,20; **3) Folhas Verdes:** 1,15 a 2,70; e **4) Folhas Senescentes:** 1,28 a 2,45.

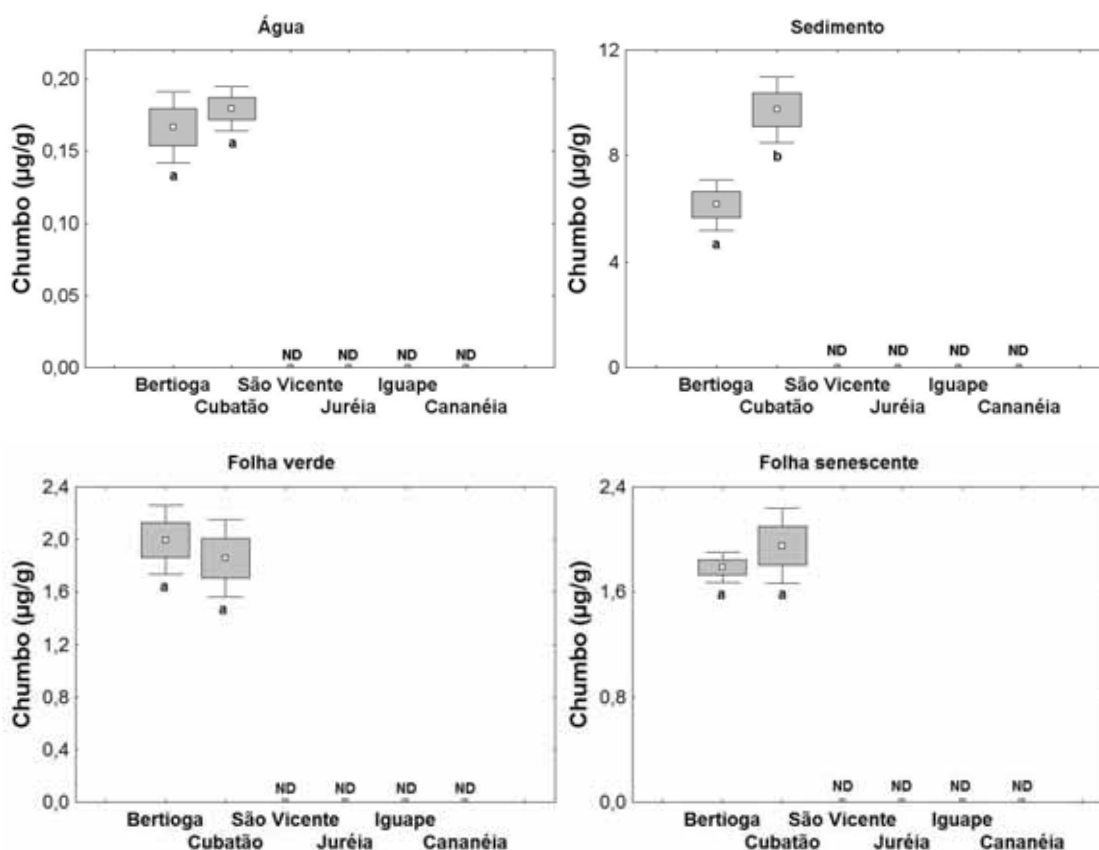


Figura 15 - Concentrações de chumbo ($\mu\text{g/g}$) (metal não essencial) nas seis áreas de manguezal avaliadas, dentro de cada um dos compartimentos ambiental/bióticos. Onde: ponto interno= média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p>0,05$); ND = metal não detectado.

4.2.3. Cádmio

O registro deste metal não essencial foi similar ao do chumbo (Figura 16), sendo detectadas concentrações apenas em Cubatão e Bertioga, sempre com maiores médias para Cubatão. No entanto, além dos tecidos de *U. cordatus*, este metal não foi detectado na água, ocorrendo, portanto, em 50% dos compartimentos abiótico-bióticos analisados. São eles: **1) Sedimento:** Em Cubatão ocorreu a maior média ($p < 0,0001$), com valores variando entre 0,76 e 0,98 $\mu\text{g/g}$ ($0,88 \pm 0,08 \mu\text{g/g}$), seguidos por Bertioga (0,66 a 0,88 $\mu\text{g/g}$, com média de $0,77 \pm 0,07 \mu\text{g/g}$); **2) Folhas Verdes:** As concentrações em Cubatão variaram de 0,14 a 0,23 $\mu\text{g/g}$ ($0,21 \pm 0,02 \mu\text{g/g}$), correspondendo a cerca de duas vezes as concentrações registradas para Bertioga, que chegaram a 0,11 $\mu\text{g/g}$ ($0,08 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$); **3) Folhas Senescentes:** Com padrão similar ao das folhas verdes, com maiores concentrações detectadas para Cubatão, seguida de Bertioga ($p < 0,0001$), com valores entre 0,12 a 0,30 $\mu\text{g/g}$ ($0,23 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$) e de 0 a 0,11 $\mu\text{g/g}$ ($0,08 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$), respectivamente.

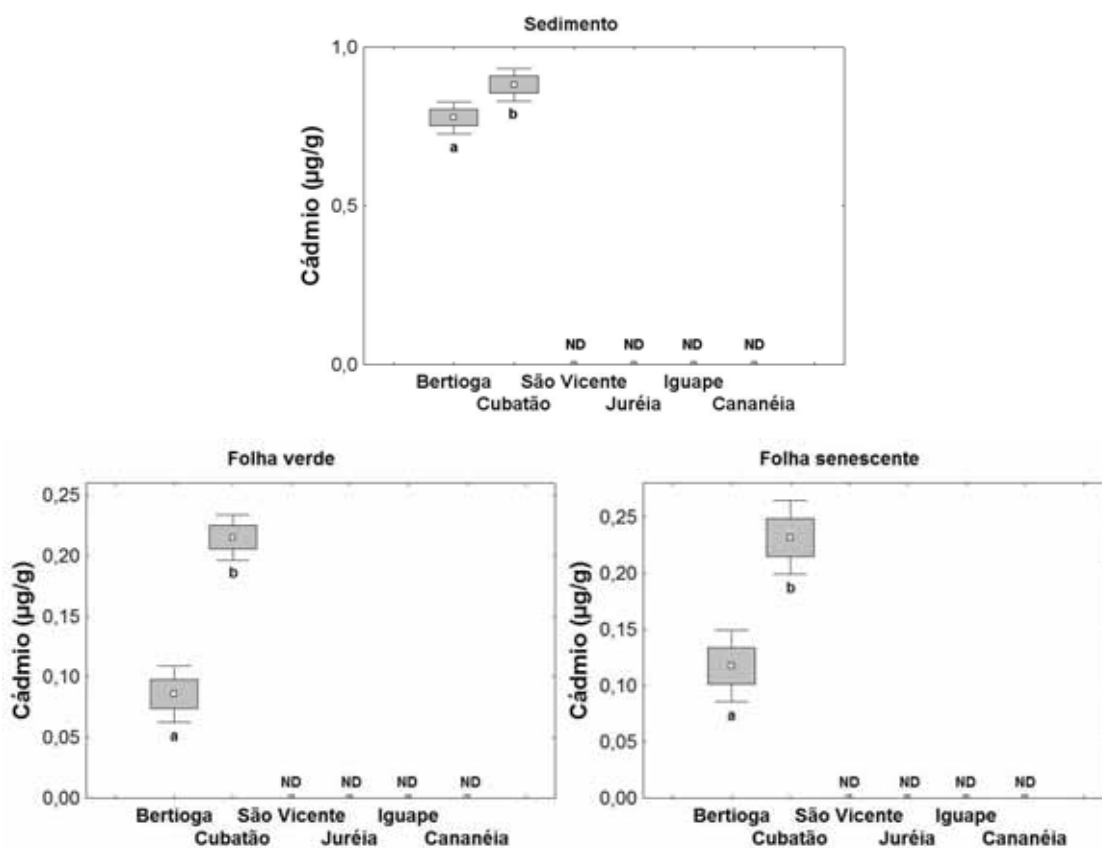


Figura 16 - Concentrações de cádmio ($\mu\text{g/g}$) (metal não essencial) nas seis áreas de manguezal avaliadas, dentro de cada um dos compartimentos ambiental/bióticos. Onde: ponto interno a caixa = média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p > 0,05$); ND = metal não detectado.

4.2.4. Manganês

Similarmente ao cobre, este também metal essencial foi detectado em todos os compartimentos abiótico-bióticos de todas as áreas de manguezal estudadas (Figura 17). No entanto, apresentou um padrão inverso ao descrito para Pb e Cd, a saber: **1) Água:** Detectado apenas nos manguezais de Cubatão, mas em concentrações ínfimas (0,002 a 0,004 µg/g); **2) Sedimento:** Onde houve efeito significativo da concentração de Mn em função da área de manguezal ($F=49,78$; $p<0,0001$), com maior média para Iguape ($161,9\pm61,51$ µg/g) e contrastando da Juréia, São Vicente e Cananéia, onde as concentrações variaram de 6,99 a 263,19 µg/g, não diferindo significativamente entre si ($p>0,05$); **3) Folhas Verdes:** As concentrações de Mn contrastaram significativamente ($F=29,43$; $p<0,0001$), com hierarquia similar à ocorrida para o sedimento [$Igu>(Sav=Can=Jur)>Bet=Cub$]. Em Iguape as concentrações variaram de 131,22 a 454,65 µg/g, com média ($295,27\pm134,99$ µg/g) que diferiu daquelas obtidas para São Vicente, Cananéia e Juréia, que não contrastaram entre si ($p>0,05$). Nessas três áreas a concentração de Mn variou de 77,37 a 230,64 µg/g, com média de $152,00\pm42,08$ µg/g; **4) Folhas Senescentes:** As médias de concentração neste compartimento também diferiram significativamente entre as áreas de manguezal ($F=49,78$; $p<0,0001$), com padrão hierárquico muito similar ao das folhas verdes. A concentração deste metal foi de 181,55 a 383,52 µg/g, com maior média ocorrida em Iguape ($300,62\pm87,18$ µg/g), diferindo significativamente das demais áreas estudadas ($p<0,01$); **5) Hepatopâncreas:** A maior média de concentração ocorreu em Iguape ($9,7\pm5,5$ µg/g), com variação de 4,5 a 21,6 µg/g, diferindo significativamente das médias registradas para todas as demais áreas de manguezal, que não contrastaram entre si ($p>0,05$); e **6) Musculatura:** A variação deste metal para Iguape e São Vicente foi de 0,66 a 2,76 µg/g, repercutindo em maiores médias ($1,14 \pm 0,37$ µg/g e $1,42 \pm 0,26$ µg/g, respectivamente), que não diferiram estatisticamente entre si ($p>0,05$). Em seguida, ocorreram as segundas maiores médias para Bertioga e Cananéia, que corresponderam a metade daquelas verificadas nas áreas anteriores ($0,16\pm0,09$ µg/g e $0,41\pm0,06$ µg/g, respectivamente). Nas áreas de Cubatão e Juréia este metal não foi detectado na musculatura dos caranguejos capturados.

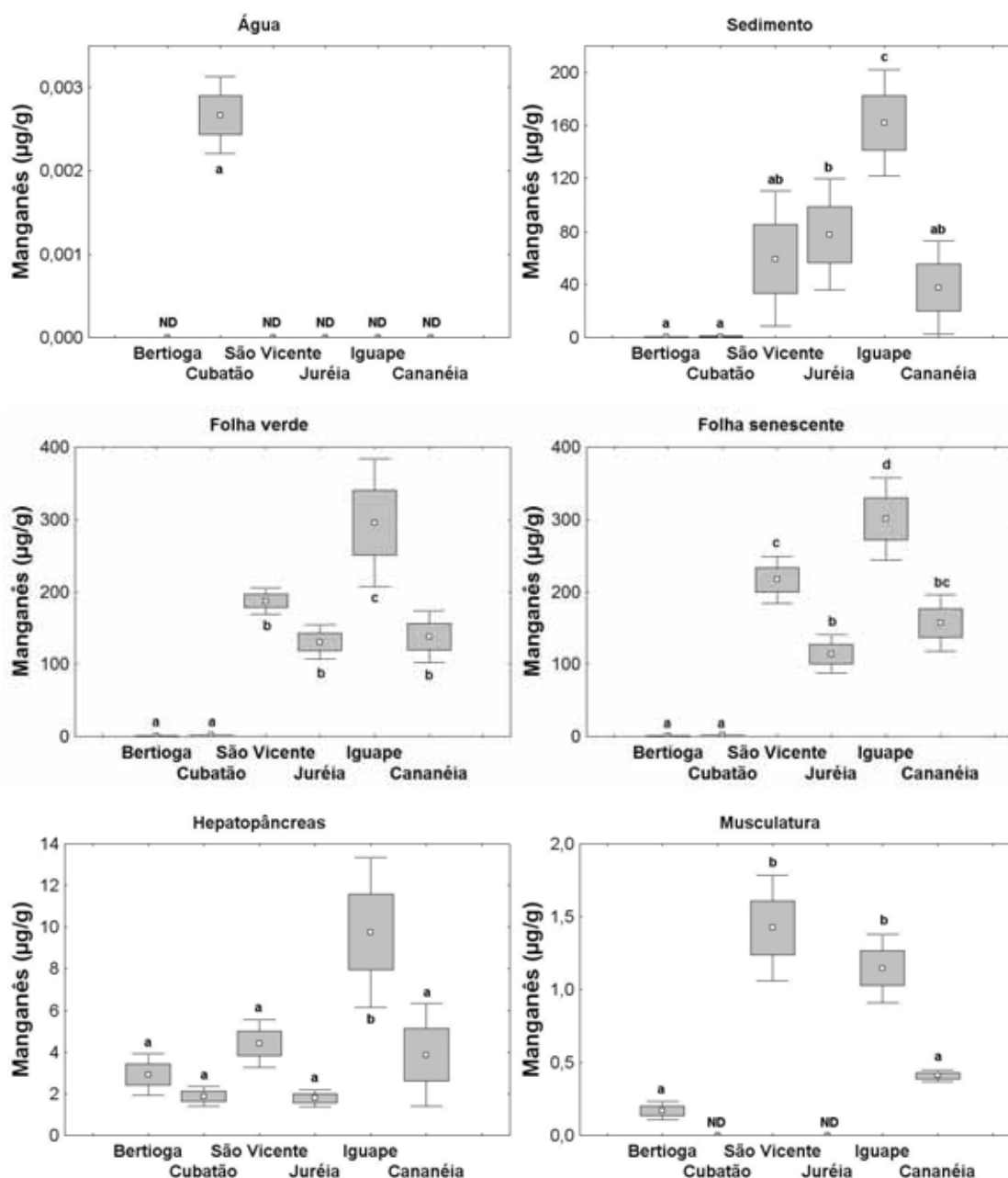


Figura 17 - Concentrações de manganês (µg/g) (metal essencial) nas seis áreas de manguezal avaliadas, dentro de cada um dos compartimentos ambiental/bióticos. Onde: ponto interno a caixa = média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p>0,05$); ND = metal não detectado

4.2.5. Cromo

Este metal essencial foi registrado em 67% dos compartimentos abiótico-bióticos, com ausência somente na água e musculatura do caranguejo (Figura 18). Nos quatro compartimentos em que este metal foi registrado, verificou-se o seguinte padrão: **1) Sedimento:** Apresentou elevadas concentrações, com diferença detectável entre as áreas de manguezal

($F=18,38$; $p<0,0001$), sendo maiores em Iguape ($19,97\pm4,50 \mu\text{g/g}$), Juréia ($18,23\pm1,22 \mu\text{g/g}$) e Cananéia ($14,99\pm3,71 \mu\text{g/g}$) e menores em Cubatão e Bertioga ($7,99\pm1,19 \mu\text{g/g}$; e $6,13\pm1,31 \mu\text{g/g}$, respectivamente). Em São Vicente a média registrada para este metal ($9,91\pm7,79 \mu\text{g/g}$) foi intermediária aos anteriormente citados; **2 e 3) Folhas verdes e Senescentes:** Somentes as folhas de *R. mangle* da Juréia acumularam Cr, com valores variando de 3,1 a 4,7 $\mu\text{g/g}$ ($3,6\pm0,4 \mu\text{g/g}$) para as verdes maduras e de 2,3 a 5,7 $\mu\text{g/g}$ ($3,7\pm1,4 \mu\text{g/g}$) para as senescentes, respectivamente; e **4) Hepatopâncreas:** Foi registrado apenas em Iguape ($0,79\pm0,44 \mu\text{g/g}$) e São Vicente ($0,53\pm0,22 \mu\text{g/g}$), com médias não contrastantes ($p>0,05$).

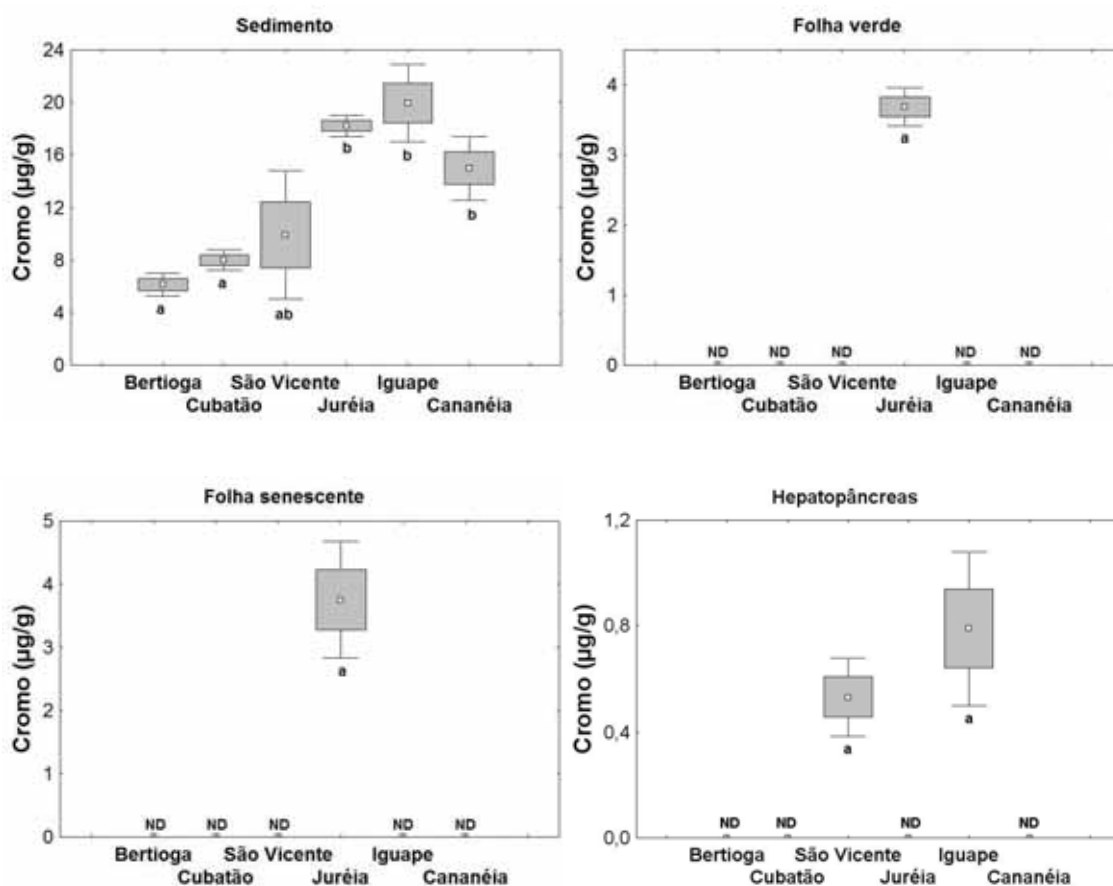


Figura 18 - Concentrações de cromo ($\mu\text{g/g}$) (metal essencial) nas seis áreas de manguezal avaliadas, dentro de cada um dos compartimentos ambiental/bióticos. Onde: ponto interno a caixa = média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p>0,05$); ND = metal não detectado.

4.2.6. Mercúrio

Este metal não essencial esteve associado a metade dos compartimentos abiótico-bióticos avaliados (sedimento, hepatopâncreas e musculatura) (Figura 19), conforme segue: **1) Sedimento:** Onde foi verificada diferença de concentração média para este metal entre as áreas de manguezal ($F=7,70$; $p<0,0001$), sendo maiores nos manguezais de Iguape e São Vicente ($260,2\pm160,8$ ng/g; 117,8 a 468,9 ng/g), contrastando significativamente ($p<0,05$) com as menores médias de concentração registradas para a Juréia, Cananéia e Bertioga ($110,1\pm38,4$ ng/g; 41,5 a 195,4 ng/g) e uma média intermediária para Cubatão ($166,09\pm28,91$ ng/g; 124,71 a 199,21 ng/g); **2) Hepatopâncreas:** As maiores concentrações de mercúrio nesta estrutura foram encontradas nas subáreas de São Vicente ($38,5\pm6,8$ ng/g), seguida por aquelas de Bertioga ($25,5\pm5,1$ ng/g). A localidade de São Vicente diferiu significativamente de todas as regiões, contudo, Bertioga ($25,5\pm5,15$ ng/g), Iguape ($23,39\pm3,94$ ng/g) e Cananéia ($23,15\pm5,18$ ng/g) apresentaram concentrações médias similares estatisticamente; **3) Musculatura:** a maior média de concentração ocorreu para Cananéia ($16,92\pm4,71$ ng/g), estatisticamente similar às de Bertioga ($\pm$ ng/g), São Vicente ($15,99\pm4,21$ ng/g), Juréia ($7,38\pm 16,35$ ng/g) e Iguape ($14,81\pm2,32$ ng/g) ($p>0,05$), mas contratando com Cubatão ($0,97\pm2,16$ ng/g), que correspondeu a menor concentração deste metal.

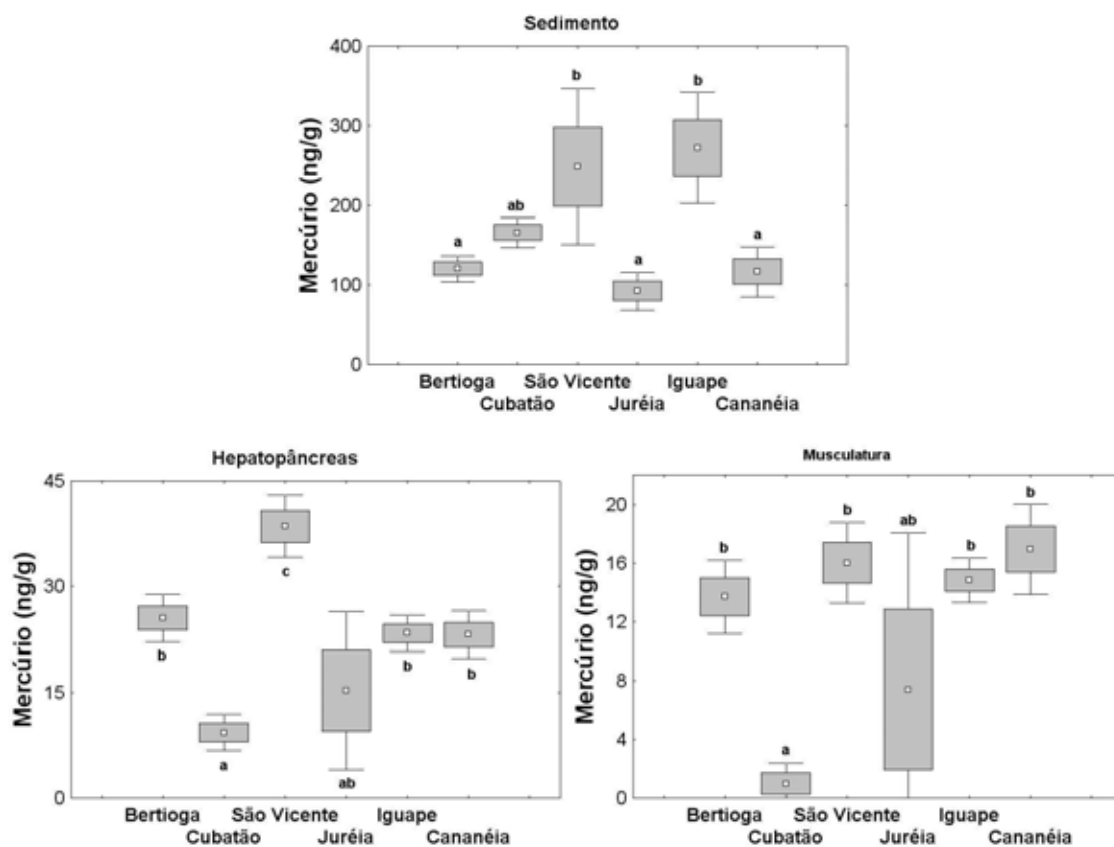


Figura 19 - Concentrações de mercúrio (ng/g) (metal não essencial) nas seis áreas de manguezal avaliadas, dentro de cada um dos compartimentos ambiental/bióticos. Onde: ponto interno a caixa = média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p > 0,05$); ND = metal não detectado.

4.3. Contraste de metais entre os compartimentos, por área de manguezal

Uma análise mais holística dos gráficos que compõem a figura 20 permite constatar dois padrões hierárquicos distintos de acumulação para os metais nos seis compartimentos abiótico-bióticos (S, sedimento; FV, folhas verdes; FS, folhas senescentes; A, água; HE, hepatopâncreas; e MU, musculatura) dos manguezais em estudo. Desconsiderando-se os compartimentos bióticos relacionados ao caranguejo, é possível verificar dois padrões hierárquicos: **1) Hierarquia $S > (FV=FS) > A$** , ocorrida em quatro compartimentos ($S > (FV=FS) > A$: Chumbo e Cobre), em dois deles ($S > (FV=FS)$: Cádmio e Cromo) ou em apenas um único (S: Mercúrio); e **2) Hierarquia $(FV=FS) > S$** , com inversão hierárquica entre as concentrações registradas no sedimento e folhas, detectado apenas para o Manganês.

4.3.1. Cobre

A concentração deste metal essencial diferiu entre os seis compartimentos avaliados, independente da área de manguezal (Figura 21). Em todas as áreas as concentrações deste metal no sedimento (S) estiveram sempre muito próximas às registradas nos compartimentos do caranguejo (H, hepatopâncreas; e M, musculatura). Em São Vicente, a média de concentração de cobre no hepatopâncreas foi superior à da musculatura, o que não foi verificado nas demais áreas ($p > 0,05$).

4.3.2. Chumbo

As concentrações deste metal não essencial estiveram acima do limite de detecção apenas nos manguezais de Bertioga e Cubatão, com diferença significativa entre a água, sedimento e folhas ($F_{\text{Bertioga}}=100,34$; $F_{\text{Cubatão}}=164,55$; $p < 0,0001$) (Figura 22).

Como ocorrido com o cobre, o maior acúmulo de chumbo ocorreu no sedimento ($p < 0,05$), não diferindo entre os estágios foliares ($p > 0,05$), seguindo, portanto, o mesmo padrão hierárquico de concentração: $S > (FV=FS) > A$.

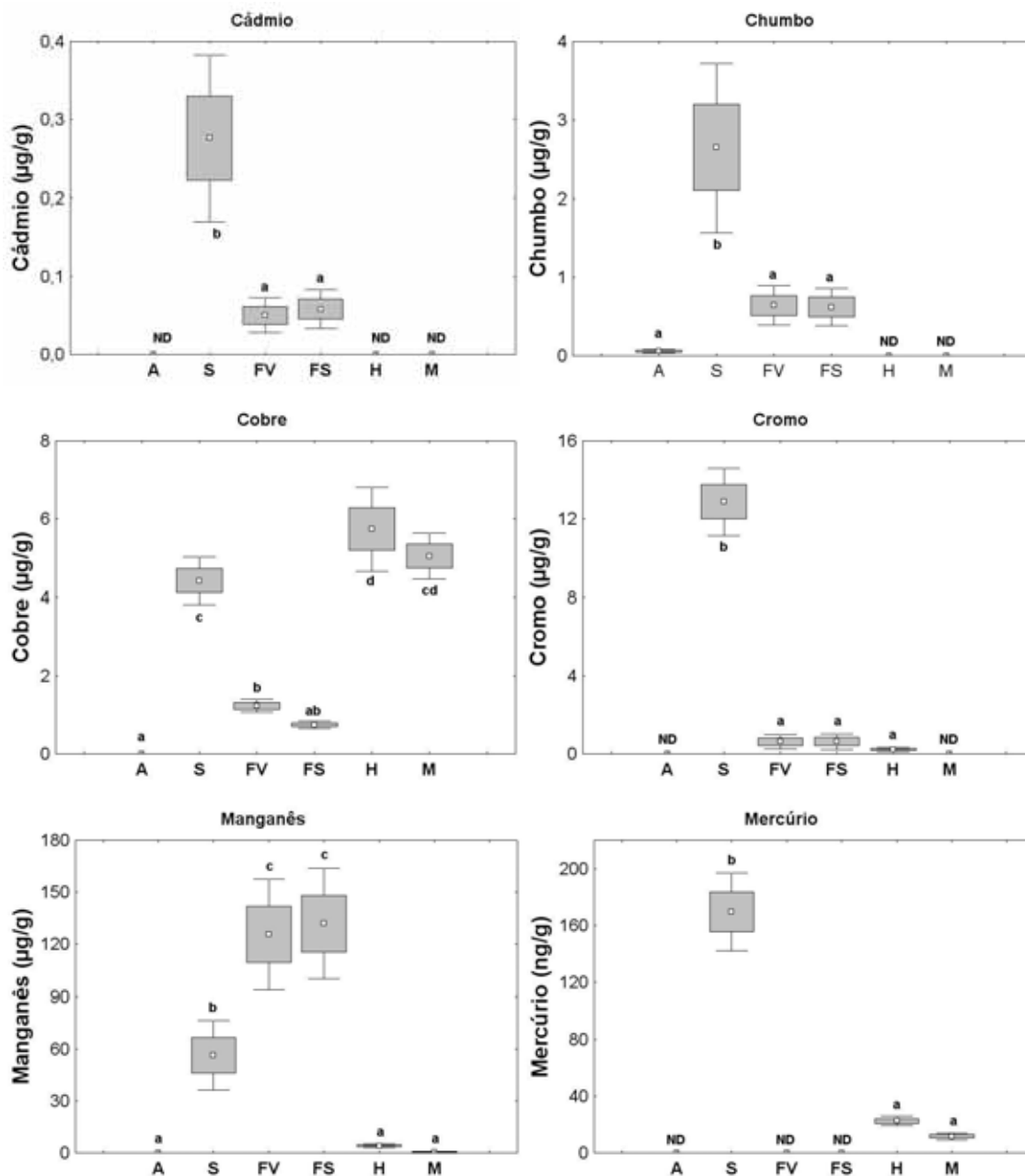


Figura 20 - Concentrações dos seis metais (essenciais = Cu, Cr e Mg e não essenciais = Cd, Pb e Hg) nos seis compartimentos ambiental/bióticos (A, água; S, sedimento; FV, folha verde; FS, folha senescente; H, hepatopâncreas e M, musculatura), independente da área de manguezal do litoral do Estado de São Paulo. Onde: ponto interno a caixa = média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p > 0,05$); ND = metal não detectado.

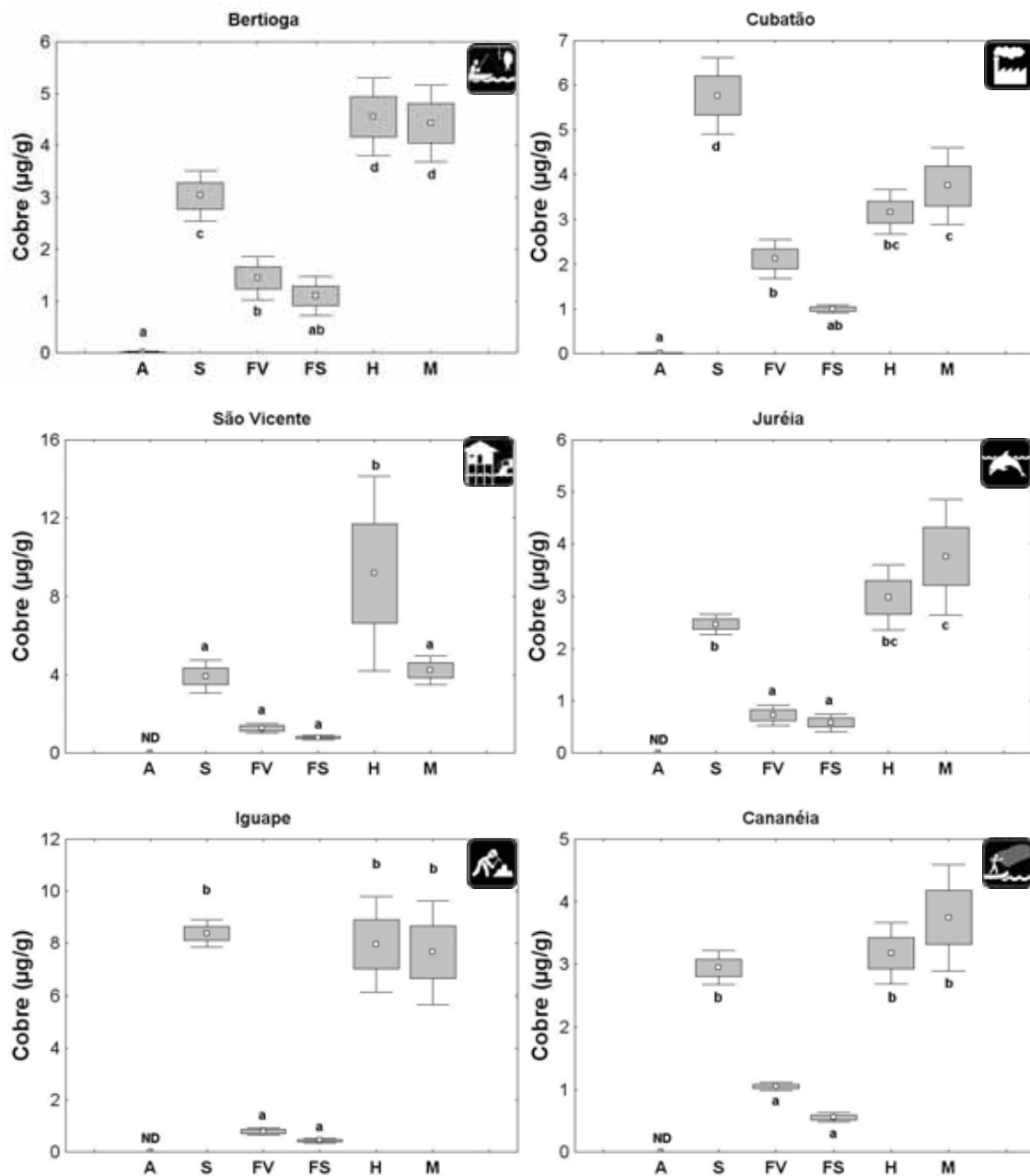


Figura 21 - Concentrações de cobre ($\mu\text{g/g}$) (metal essencial) nos seis compartimentos ambiental/bióticos (A, água; S, sedimento; FV, folha verde; FS, folha senescente, H, hepatopâncreas e M, musculatura), em cada uma das seis áreas de manguezal avaliadas para o litoral do Estado de São Paulo. Onde: ponto interno a caixa = média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p > 0,05$); ND = metal não detectado.

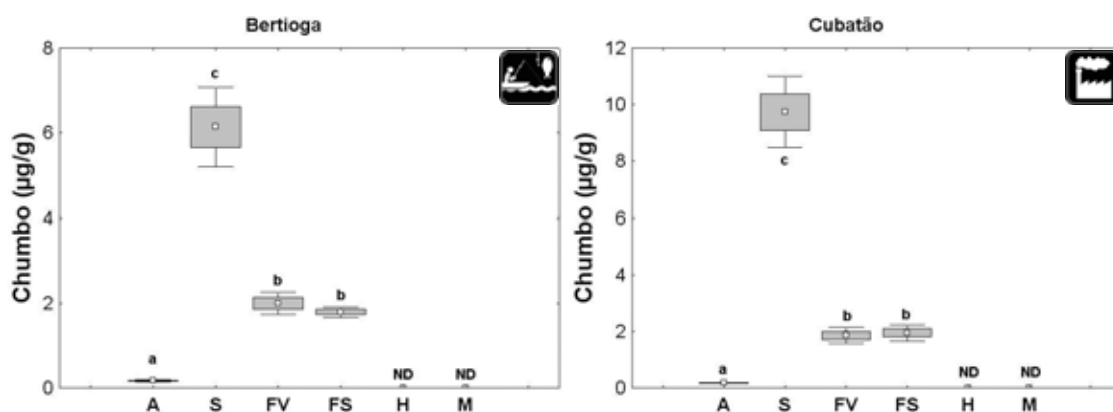


Figura 22 - Concentrações de chumbo ($\mu\text{g/g}$) (metal não essencial) nos seis compartimentos ambiental/bióticos (A, água; S, sedimento; FV, folha verde; FS, folha senescente; H, hepatopâncreas e M, musculatura), em cada uma das seis áreas de manguezal avaliadas para o litoral do Estado de São Paulo. Onde: ponto interno a caixa = média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p>0,05$); ND = metal não detectado.

4.3.3. Cádmio

Similarmente ao verificado para o chumbo, este metal não essencial também foi registrado apenas para Bertioga e Cubatão (Figura 23), com diferentes concentrações entre os compartimentos avaliados ($F_{\text{Bertioga}}=467,03$; $F_{\text{Cubatão}}=505,80$; $p<0,0001$). O cádmio não foi detectado nas amostras de água dessas duas áreas de manguezal, com hierarquia de acúmulo seguindo o mesmo padrão verificado para o Cu, Pb e Cr, respeitado, neste caso, a ausência do metal na água: $S>(FV=FS)$.

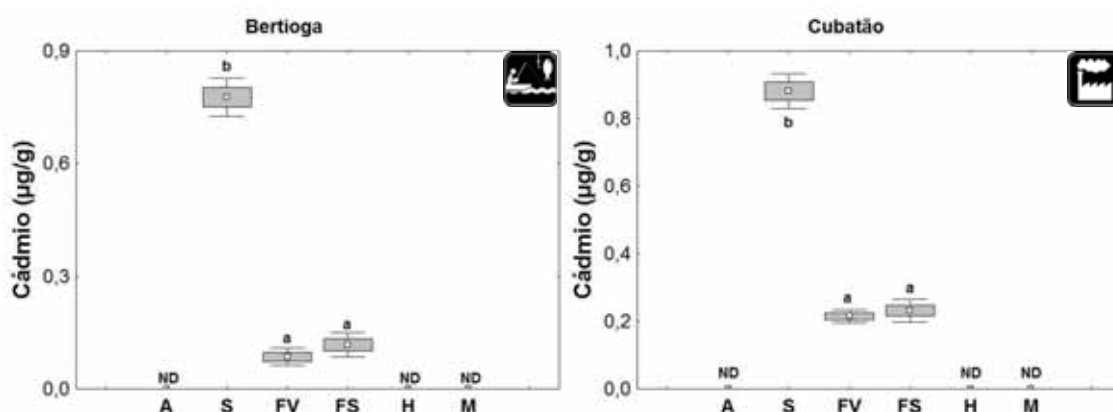


Figura 23 - Concentrações de cádmio ($\mu\text{g/g}$) (metal não essencial) nos quatro compartimentos ambiental/bióticos (A, água; S, sedimento; FV, folha verde; e FS, folha senescente), em cada uma das seis áreas de manguezal avaliadas para o litoral do Estado de São Paulo. Onde: ponto interno a caixa = média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p>0,05$); ND = metal não detectado.

4.3.4. Manganês

Na figura 24 pode-se verificar que as concentrações deste metal essencial diferiram estatisticamente entre os compartimentos avaliados ($32,16 \leq F \leq 97,96$; $p < 0,0001$). O acúmulo do manganês nos compartimentos abiótico-bióticos seguiu a hierarquia (FV=FS)>S>H>M>A, com similaridade estatística apenas entre os estágios foliares ($p > 0,05$).

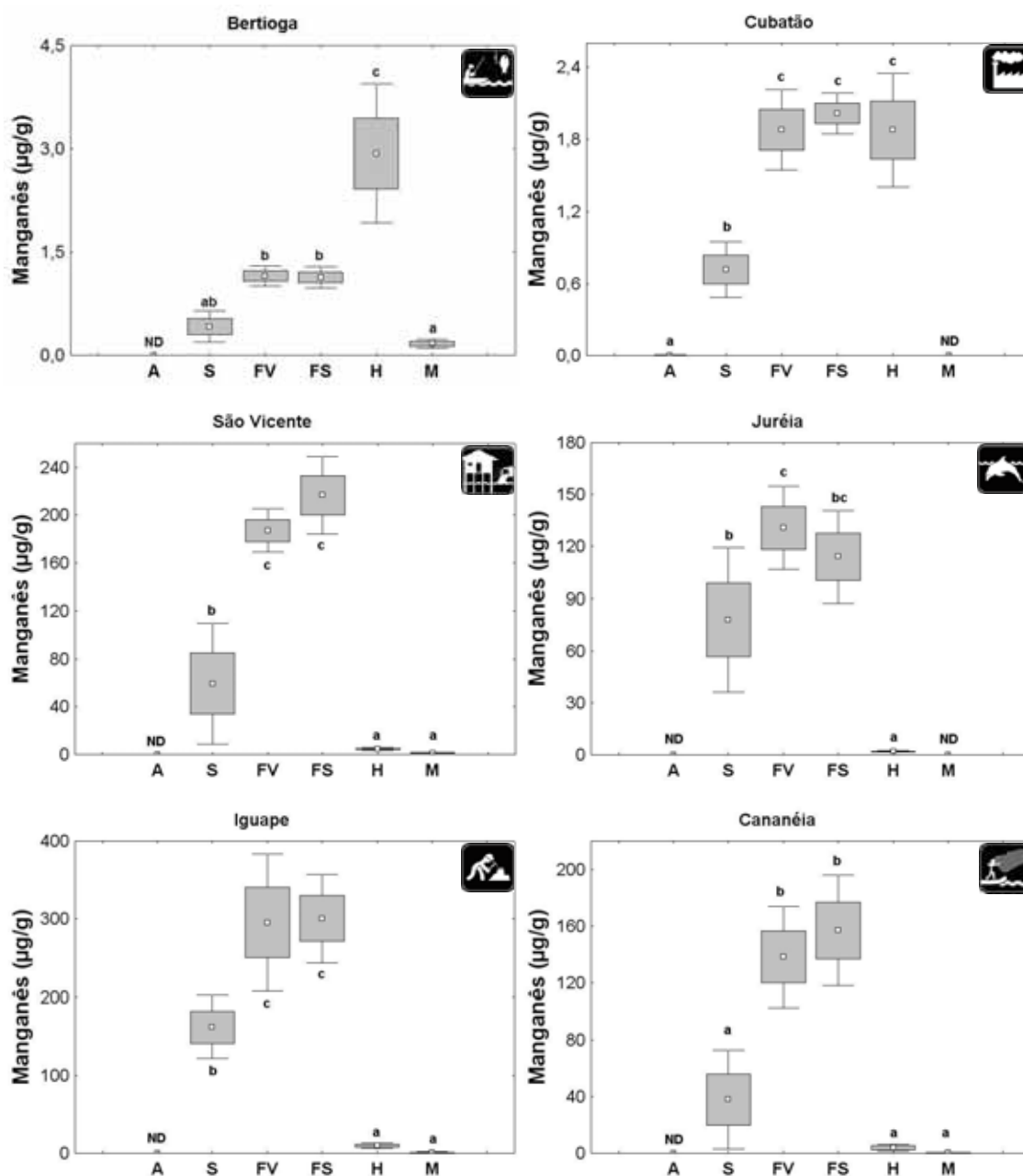


Figura 24 - Concentrações de manganês (µg/g) (metal essencial) nos seis compartimentos ambiental/bióticos (A, água; S, sedimento; FV, folha verde; FS, folha senescente; H, hepatopâncreas e M, musculatura), em cada uma das seis áreas de manguezal avaliadas para o litoral do Estado de São Paulo. Onde: ponto interno a caixa = média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p > 0,05$); ND = metal não detectado.

4.3.5. Cromo

Este metal essencial foi presente no sedimento em todas as áreas de manguezal em estudo, ocorrendo com maiores concentrações na Juréia, Iguape e Cananéia, enquanto em Bertioga, Cubatão e São Vicente as médias obtidas foram cerca de três vezes menores. O cromo não foi detectado na maioria dos compartimentos avaliados ou ocorreram em reduzidas concentrações (folhas - Juréia; e hepatopâncreas - São Vicente e Iguape), diferindo estatisticamente entre eles ($F=718,08$; $p>0,0001$). A hierarquia de acúmulo foi: $S>F>H$ (Figura 25).

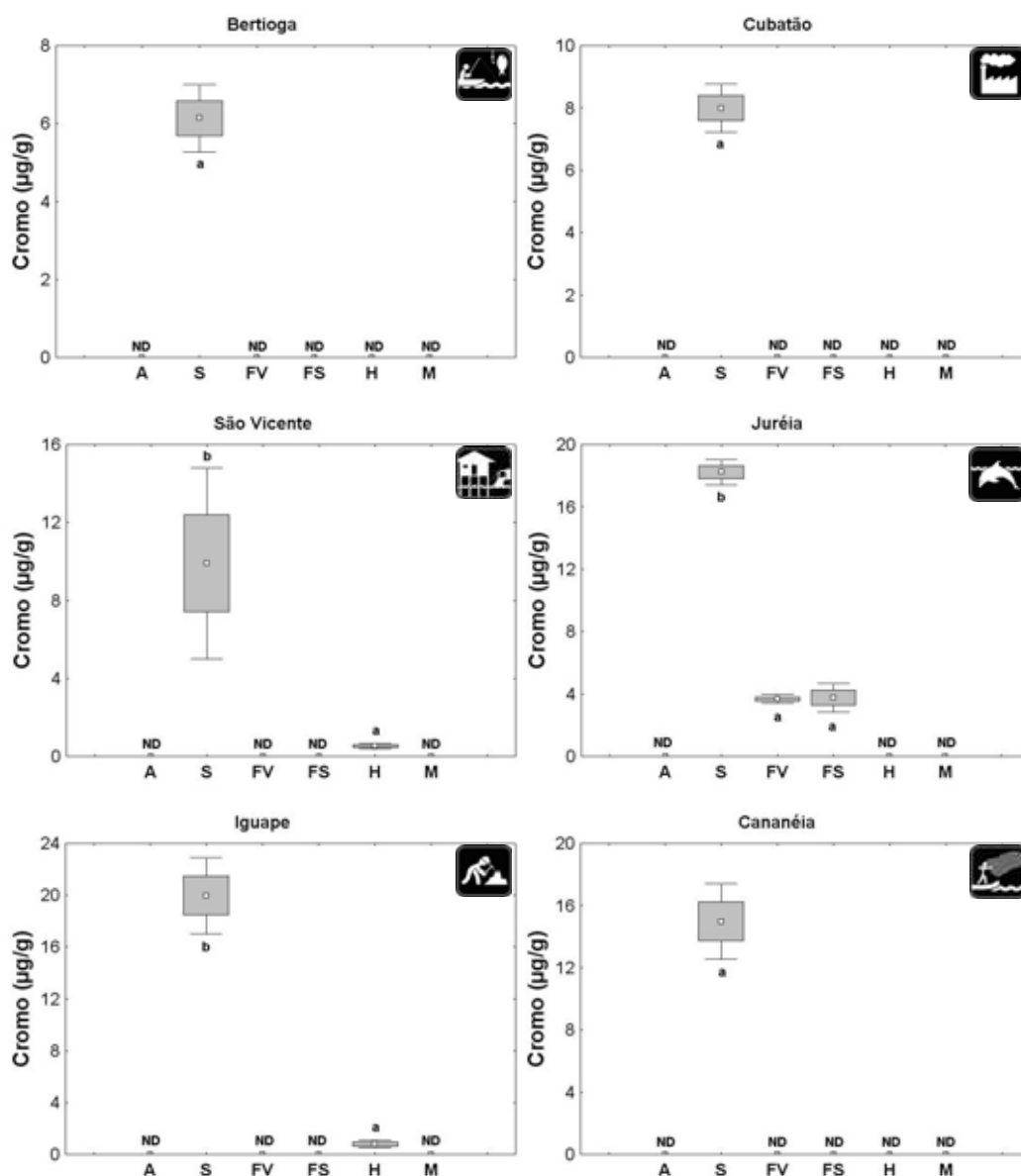


Figura 25 - Concentrações de cromo ($\mu\text{g/g}$) (metal essencial) nos seis compartimentos ambiental/bióticos (A, água; S, sedimento; FV, folha verde; FS, folha senescente; H, hepatopâncreas e M, musculatura), em cada uma das seis áreas de manguezal avaliadas para o litoral do Estado de São Paulo. Onde: ponto interno a caixa = média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p>0,05$); ND = metal não detectado.

4.3.6. Mercúrio

As concentrações deste metal não essencial estiveram acima do limite de detecção no sedimento, ocorrendo acúmulo em menores concentrações no hepatopâncreas e na musculatura do caranguejo em todas as áreas de manguezal estudadas (Figura 26).

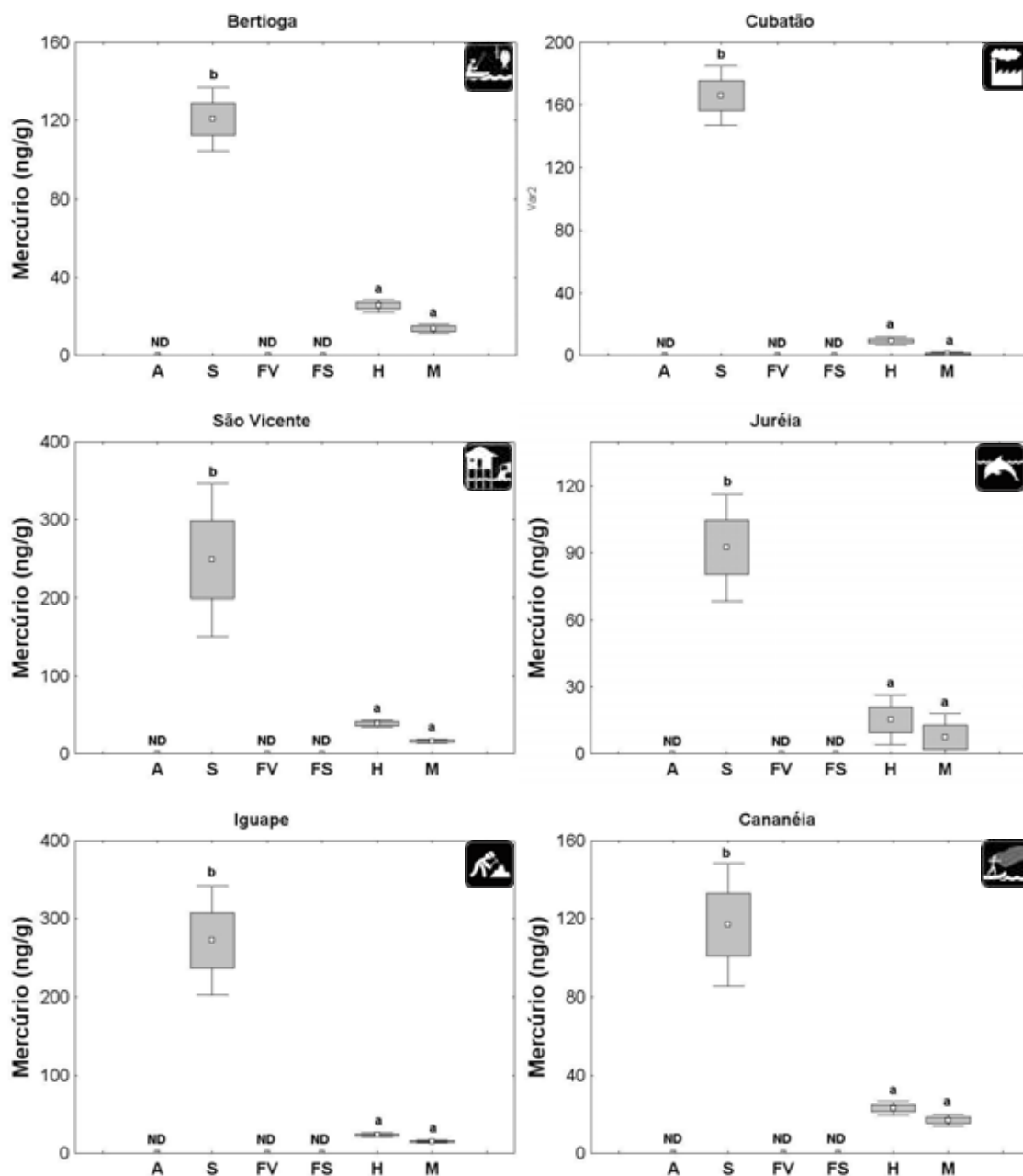


Figura 26 - Concentrações de mercúrio (ng/g) (metal não essencial) nos seis compartimentos ambiental/bióticos (A, água; S, sedimento; FV, folha verde; FS, folha senescente; H, hepatopâncreas e M, musculatura), em cada uma das seis áreas de manguezal avaliadas para o litoral do Estado de São Paulo. Onde: ponto interno a caixa = média; caixa = erro padrão da média; linhas verticais = intervalo de confiança da média a 5%; letras iguais = ausência de diferença estatística significativa entre as médias a 5% ($p > 0,05$); ND = metal não detectado

4.4. Panorama geral sobre o acúmulo de metais

A figura 27 confirma o pressuposto teórico de similaridade no comportamento de acúmulo dos metais, ocorrendo um maior acúmulo de quatro dos metais (Cd, Pb, Cr e Hg) no sedimento, do que nos demais compartimentos abiótico-bióticos analisados. Por outro lado, Cu e Mn foram os metais que mais se acumularam nos elementos bióticos analisados (estruturas de *U.cordatus* e folhas de *R. mangle*, respectivamente).

Para o Cr e Pb ocorreu uma maior associação ao sedimento, sendo o Cr também associado às folhas (Juréia) e hepatopâncreas (São Vicente e Iguape), enquanto para Hg também houve acúmulo nos tecidos do caranguejo (hepatopâncreas e musculatura).

Diferentemente desses quatro metais, Mn e Cu (metais essenciais) foram metais de maior disponibilidade, tanto no ambiente como na biota. Cerca de 80% de Mn esteve associado aos compartimentos bióticos, especialmente nas folhas, também ocorrendo com expressiva concentração no hepatopâncreas, principalmente em Bertioga e Cubatão. Para Cu as maiores concentrações ($\pm 60\%$) também estiveram associadas aos compartimentos bióticos (caranguejo), se cumulando em proporções similares no hepatopâncreas e musculatura.

4.5. Similaridade entre as subáreas

As cinco matrizes empregadas nas análises multivariadas (componentes principais - PCA; agrupamento - *Cluster*; e similaridade) não mostraram alteração no resultado final obtido com o uso do pacote *VeganR*, em ambiente R (OKSANEN *et al.*, 2013), seja por uso dos dados brutos (não transformados) ou sua transformação padronizada (por logaritmização ou *decostand*). Pelo exposto, optou-se por apresentar os resultados obtidos pelo uso das matrizes com os dados brutos (médias de concentração de cada metal por subárea de manguezal). Conforme mencionado no “material e métodos”, os resultados das análises multivariadas são apresentados em maior detalhamento para as matrizes 1 e 5, com o intuito de evitar redundância por interpretação de matrizes intermediárias. Neste sentido, a tabela XVII apresenta as variáveis discriminantes, responsáveis pelas separações/agrupamentos das subáreas

destas matrizes, bem como para demonstrar os valores das correlações positivas e negativas para as primeiras e segundas dimensões.

A figura 28 ilustra o resultado das análises (PCA, Cluster e Similaridade), aplicadas à Matriz 1 (variáveis ambientais nas 18 subáreas de manguezal), evidenciando quatro grupos distintos com base na similaridade da caracterização vegetal (densidade, altura e diâmetro das árvores + serapilheira) e químicas do sedimento (pH, matéria orgânica e macro/micronutrientes).

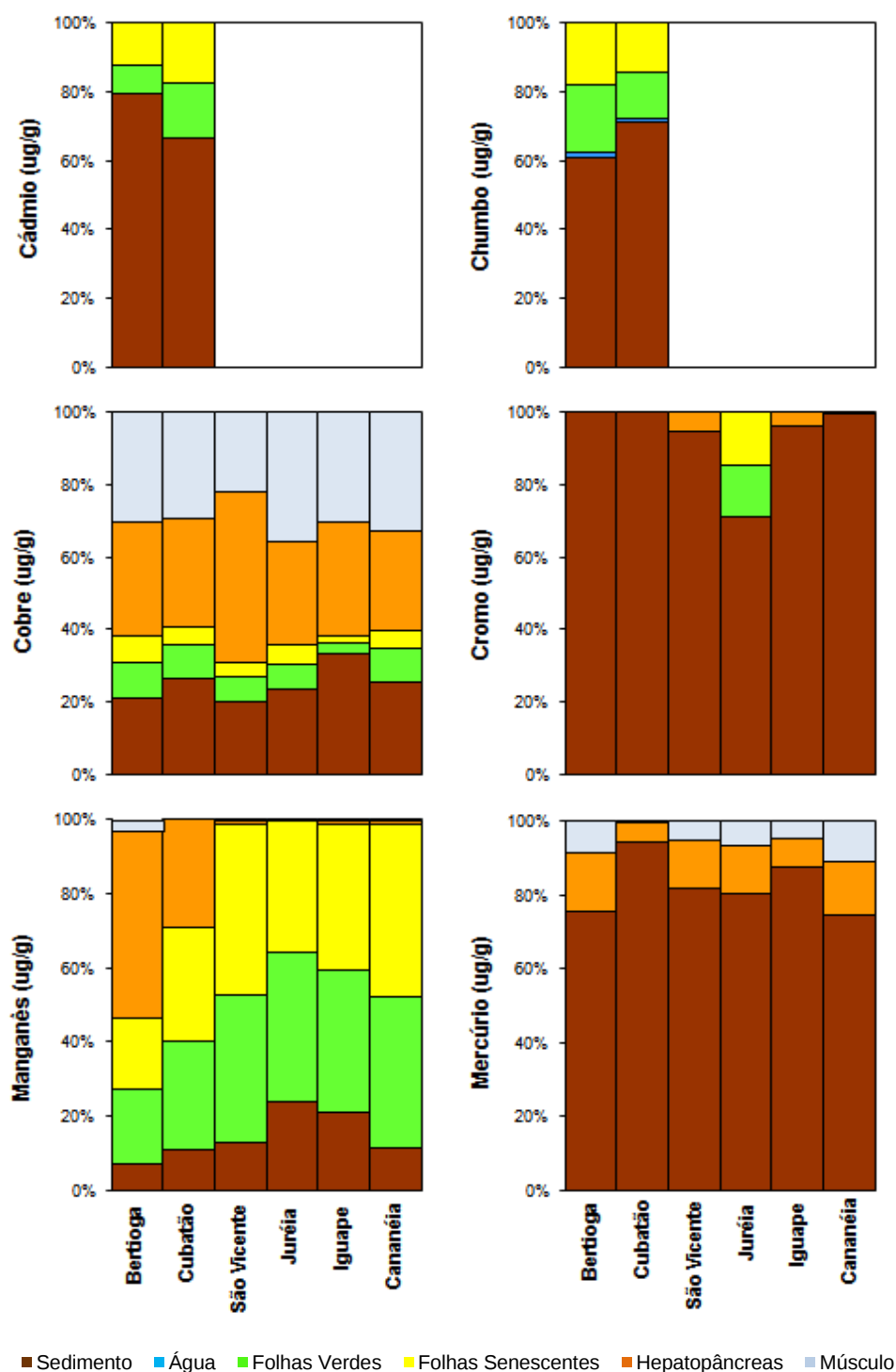


Figura 27 - Panorama geral da proporção das concentrações para cada metal (essenciais = Cu, Cr e Mg e não essenciais = Cd, Pb e Hg), dentro dos seis compartimentos ambiental/bióticos em estudo, considerando os resultados obtidos nas seis áreas de manguezal do Litoral do Estado de São Paulo.

As duas primeiras dimensões explicaram 47,7% da variância dos agrupamentos (Dim 1: 26,9%; e Dim 2: 20,8%) de maneira significativa ($p < 0,01$). A primeira dimensão (Dim 1) foi responsável pela separação das

subáreas de Bertioga (Bet 1 a 3), Cubatão (Cub 1 a 3), São Vicente (1 e 2), Iguape (1) e Juréia (3), nas quais ocorreu correlação positiva significativa ($p < 0,0001$), em ordem crescente de contribuição com as variáveis apresentadas na tabela XXVII. Neste sentido, as subáreas anteriormente citadas apresentaram macro e micronutrientes em maior concentração do que as demais estudadas. A segunda dimensão (Dim 2), foi a principal discriminante na separação das oito subáreas restantes. Neste caso, verificou-se que as subáreas de Iguape (2 e 3), Cananéia (1 a 3), Juréia (1 e 2) e São Vicente (3) apresentaram correlação significativa ($p < 0,05$), em ordem crescente de contribuição com as variáveis apresentadas na tabela XXVII.

A hierarquia de contribuição dos quatro grupos gerados pela análise de agrupamento e distâncias de similaridade foi representada pela seguinte sequência crescente de significância ($p < 0,05$): **Grupo 1, Iguape (2 e 3); Grupo 2, Cananéia (1 a 3) + Juréia (1 e 2) + São Vicente (3); Grupo 3, Cubatão (1 a 3); e Grupo 4, Bertioga (1 a 3) + São Vicente (1 e 2) + Juréia (3) + Iguape (1)** (Figura 28).

As figuras 29 a 32 ilustram os resultados das mesmas análises para as matrizes 2 a 5, relativas à contaminação por metais no ambiente, na flora, na fauna e total de compartimentos avaliados, respectivamente.

A contaminação da água e sedimento (Figura 29) nas 18 subáreas de manguezal (matriz 2), gerou três grupos que explicaram 76,7% da variância dos dados obtidos (Dim 1: 55,9%; Dim 2: 20,8%), a saber: **Grupo 1, Iguape (1 a 3) + São Vicente (1); Grupo 2, Juréia (1 a 3) + São Vicente (2 e 3) + Cananéia (1 a 3); e Grupo 3, Bertioga (1 a 3) + Cubatão (1 a 3)**. A maior similaridade ocorreu entre os grupos 1 e 2, que compreenderam 66,7% das subáreas, contrastando do grupo composto pelas subáreas de Bertioga e Cubatão, onde foram detectadas as maiores contaminações por metais na água e sedimento.

As análises realizadas com a matriz 3 (Figura 30) revelam a relação entre as subáreas de manguezal quanto a contaminação por metais na vegetação (folhas verdes e senescentes), também apontando três grupos distintos. As análises explicaram 83,3% da variância dos dados utilizados (Dim 1: 62,9%; e Dim 2: 20,4%), resultando em três grupos: **Grupo 1, Iguape (1 a 3) + São Vicente (1 a 3) + Cananéia (1 a 3); Grupo 2, Juréia (1 a 3); e Grupo 3, Bertioga (1 a 3) + Cubatão (1 a 3)**. A relação entre os grupos com esta matriz

foi idêntica à da matriz 2, evidenciando uma maior contaminação por metais nas folhas em 37,1% das subáreas (Bertioga e Cubatão).

No caso da contaminação dos tecidos (hepatopâncreas e musculatura) de *U. cordatus* (Figura 31), as análises com a matriz 4 revelaram quatro grupos de subáreas, explicando 78,1% da variância dos dados (Dim 1: 54,5%; e Dim 2: 23,6%), a saber: **Grupo 1, Cubatão (1 a 3) + Juréia (2 e 3); Grupo 2, Bertioga (1 a 3) + Cananéia (1 a 3) + Juréia (1); Grupo 3, São Vicente (1 a 3) + Iguape (1); e Grupo 4, Iguape (2 e 3).** Em suma, uma maior contaminação por metais nas estruturas do caranguejo-uçá foi verificada nas subáreas de São Vicente e Iguape.

A matriz 5, que corresponde aos dados de concentração de metais nos seis compartimentos em estudo, sejam eles ambientais (água e sedimento) ou relativos à vegetação (*R. mangle*) e caranguejo (*U. cordatus*), trata da reunião das três matrizes anteriores (2, 3 e 4). Os resultados evidenciam três grupos distintos, embora linha de corte apresentada na figura 32 apresente seis agrupamentos distintos, que explicam 70,1% da variância dos dados (Dim 1: 49,6%; e Dim 2: 20,5%). A primeira dimensão foi a principal discriminante na separação das subáreas de Bertioga (Bet 1 a 3) e Cubatão (Cub 1 a 3), que apresentaram correlações positivas e negativas com as variáveis encontradas na tabela XVII. A segunda dimensão foi responsável ao agrupamento das demais subáreas, representadas por Iguape (1 a 3), Cananéia (1 a 3), Juréia (1 a 3) e São Vicente (1 a 3), onde ocorreram correlações positivas e negativas com as variáveis observadas na mesma tabela. A hierarquia de contribuição dos três grupos gerados pela análise de agrupamento e distâncias de similaridade também estão apresentadas na tabela XVII.

As subáreas de Bertioga e Cubatão (grupo 3) se agruparam em relação à dimensão 1 por apresentarem maior contaminação de Pb (água) e Cd (sedimento), contrastando das demais áreas (grupos 1 + 2), onde a concentração destes contaminantes foi mais reduzida. Por outro lado, em relação à dimensão 2, houve agrupamento das subáreas de Iguape e São Vicente em função das maiores concentrações de Cu (água), Mn (folhas) e Hg (sedimento), contrastando com Cananéia e Juréia, onde ocorreram as maiores concentrações de Cr (sedimento).

Tabela XXVII – Variáveis discriminantes responsáveis pelos agrupamentos e separações das subáreas obtidas para a **matriz 1** (similaridades da caracterização ambiental = densidade de árvores (DA), densidade de plântulas arbóreas (DB), quantidade de serapilheira disponível (SER), altura de árvore (H), diâmetro da árvore à altura do peito (DAP), limite superior de distribuição vertical de *Bostrychietum* (BOS), potencial hidrogeniônico do sedimento (pH) em CaCl_2 , tamanho médio do grão (GRA) e matéria orgânica do sedimento (MO), com seus macronutrientes (P, fósforo; K, potássio; Ca, cálcio; Mg, magnésio; H+Al, hidrogênio mais alumínio) e micronutrientes (B, boro; Cu, cobre; Fe, ferro; Mn, manganês; Zn, zinco; S-SO₄, enxofre na forma de sulfato; e Al, alumínio isolado) e **matriz 5**, onde é apresentado o metal seguido do compartimento encontrado (similaridades da contaminação total = seis metais, Cu, Cd, Cr, Mn, Pb e Hg, em amostras de água (A), sedimento (S), folhas verdes (FV) e senescentes pré-abscisão (FS) da espécie *R. mangle* e em amostras de musculatura (M) e hepatopâncreas (H) da espécie *U. cordatus*). Os valores das correlações significativas ($p < 0,05$) obtidas para cada dimensão estão apresentados entre os parênteses.

Matrizes	Variáveis discriminantes			
	1º Dimensão		2º Dimensão	
	S-SO ₄ (0,92); MO (0,88); Ca (0,82); K (0,81); Mg (0,78); B (0,70); H-Al (0,54); Fe (0,50); e Mn (-0,52)		P (0,69); Cu (0,62); SER (0,61); H+Al (0,60); GRA (0,55); Mn (0,53); Al (0,51); DB (0,50); B (-0,48); e pH (-0,69).	
Matriz 1	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
	Mn > Cu > Mg > P > S-SO ₄ > B	Fe > MO > Ca > P > H+Al > SER	P > SER > Zn > H	MO > Ca > S-SO ₄ > K > GRA > H+Al > Mg
	1ª Dimensão		2º Dimensão	
	Cd.S (0,95); Pb.FS (0,94); Pb.S (0,94); Pb.A (0,93); Cd.FS (0,92); Pb.FV (0,91); Cd.FV (0,91); Cu.A (0,77); Cu.FS (0,73); Mn.A (0,72); Cu.FV (0,69); Hg.M (-0,54); Mn.H (-0,56); Cr.H (-0,64); Cr.S (-0,65); Mn.M (-0,66); Mn.S (-0,72); Mn.FV (-0,86); e Mn.FS (-0,89).		Cu.S (0,77); Cu.M (0,73); Cu.H (0,66); Mn.H (0,57); Hg.S (0,55); Mn.M (0,52); Cr.FS (-0,75) e Cr.FV (-0,77).	
Matriz 5	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	
	Mn.(M > FS > FV) > Cr.H > Hg.M > Mn.H > Hg.H > Cu.(FS > A) > Cd.(FV > FS) > Pb.(S > FV > A > FS) > Cd.S	Cr.FV > Cr.FS	Cd.S > Pb.(FS > A > FV > S) > Cd.(FS > FV) > Cu.(A > FS > FV) > Mn.(A > M > S) > Cr.S > Mn.(FV > FS)	

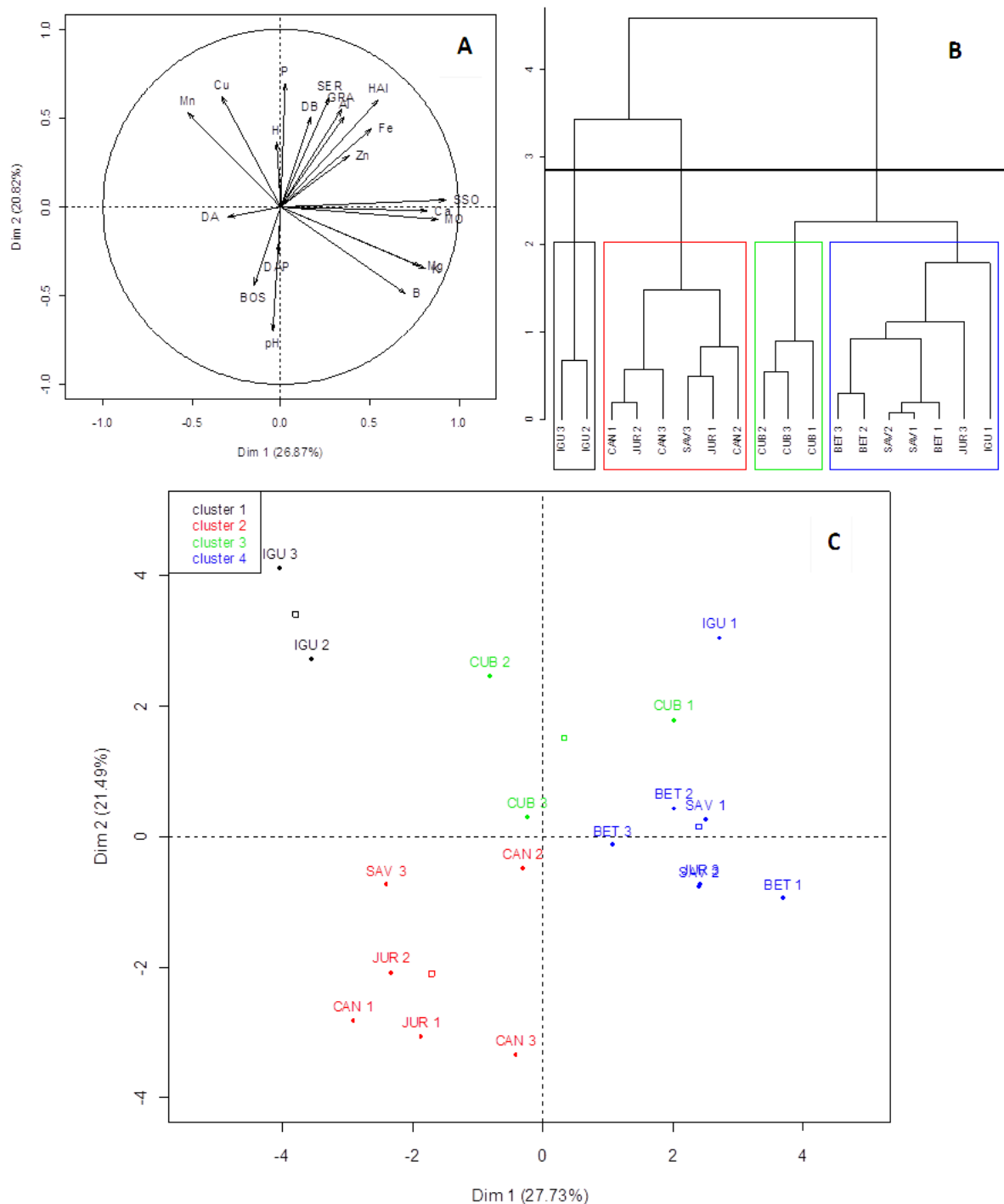


Figura 28 - Análise de Componentes Principais (PCA) realizada com as médias de: densidade de árvores (DA), densidade de plântulas arbóreas (DB), quantidade de serapilheira disponível (SER), altura de árvore (H), diâmetro da árvore à altura do peito (DAP), limite superior de distribuição vertical de *Bostrychietum* (BOS), potencial hidrogeniônico do sedimento (pH) em CaCl_2 , tamanho médio do grão (GRA) e matéria orgânica do sedimento (MO), com seus macronutrientes (P, fósforo; K, potássio; Ca, cálcio; Mg, magnésio; H+Al, hidrogênio mais alumínio) e micronutrientes (B, boro; Cu, cobre; Fe, ferro; Mn, manganês; Zn, zinco; S-SO₄, enxofre na forma de sulfato; e Al, alumínio isolado), com descrição da primeira e segunda dimensão para a PCA (A); dendograma da PCA ilustrando os quatro agrupamentos gerados (B) e suas distâncias de similaridade (C) entre as 18 subáreas de manguezal analisadas no Estado de São Paulo. O quadrado vazado representa a média geral para cada agrupamento.

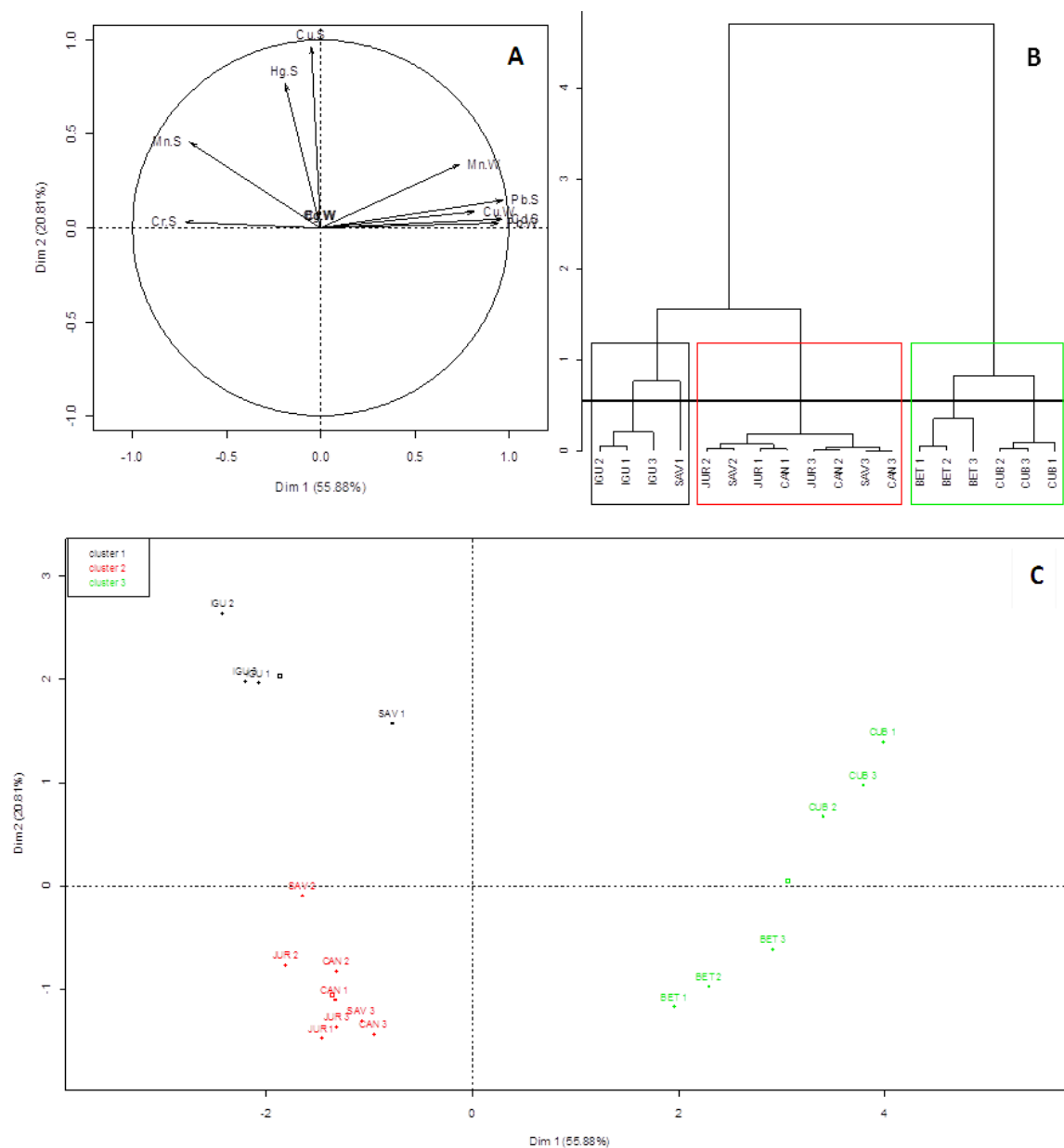


Figura 29 - Análise de Componentes Principais (PCA) realizada com a média das concentrações de seis metais (Cu, Cd, Cr, Mn, Pb e Hg) em amostras de água (W) e sedimento (S), com descrição da primeira e segunda dimensão para a PCA (A); dendrograma da PCA ilustrando os três agrupamentos gerados (B) e suas distâncias de similaridade (C) entre as 18 subáreas de manguezal analisadas no Estado de São Paulo. O quadrado vazado representa a média geral para cada agrupamento.

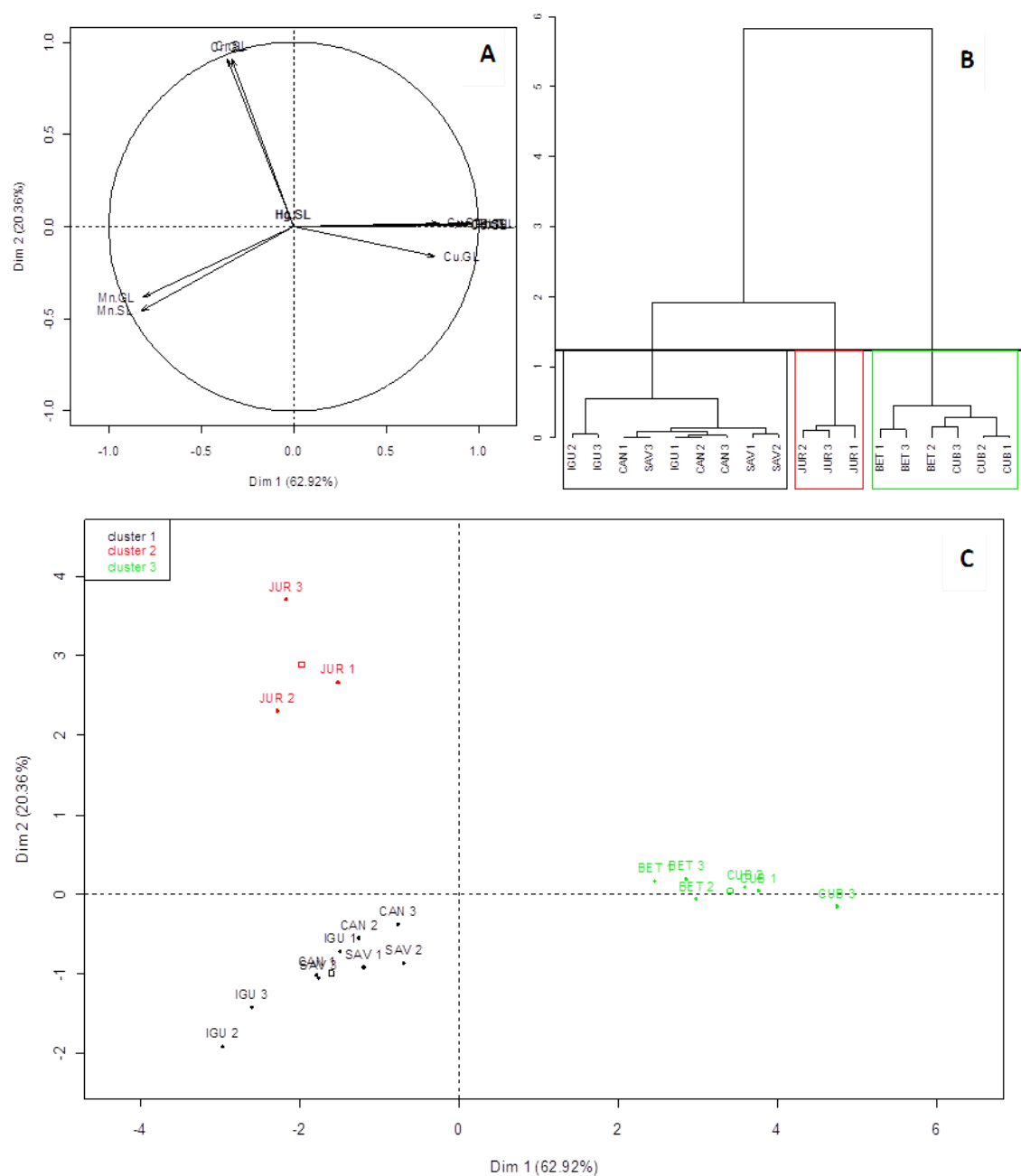


Figura 30 - Análise de Componentes Principais (PCA) realizada com a média das concentrações de seis metais (Cu, Cd, Cr, Mn, Pb e Hg) em amostras de folhas verdes (GL) e senescentes pré-abscisão (SL) da espécie *R. mangle*, com descrição da primeira e segunda dimensão para a PCA (A); dendograma da PCA ilustrando os três agrupamentos gerados (B) e suas distâncias de similaridade (C) entre as 18 subáreas de manguezal analisadas no Estado de São Paulo. O quadrado vazado representa a média geral para cada agrupamento.

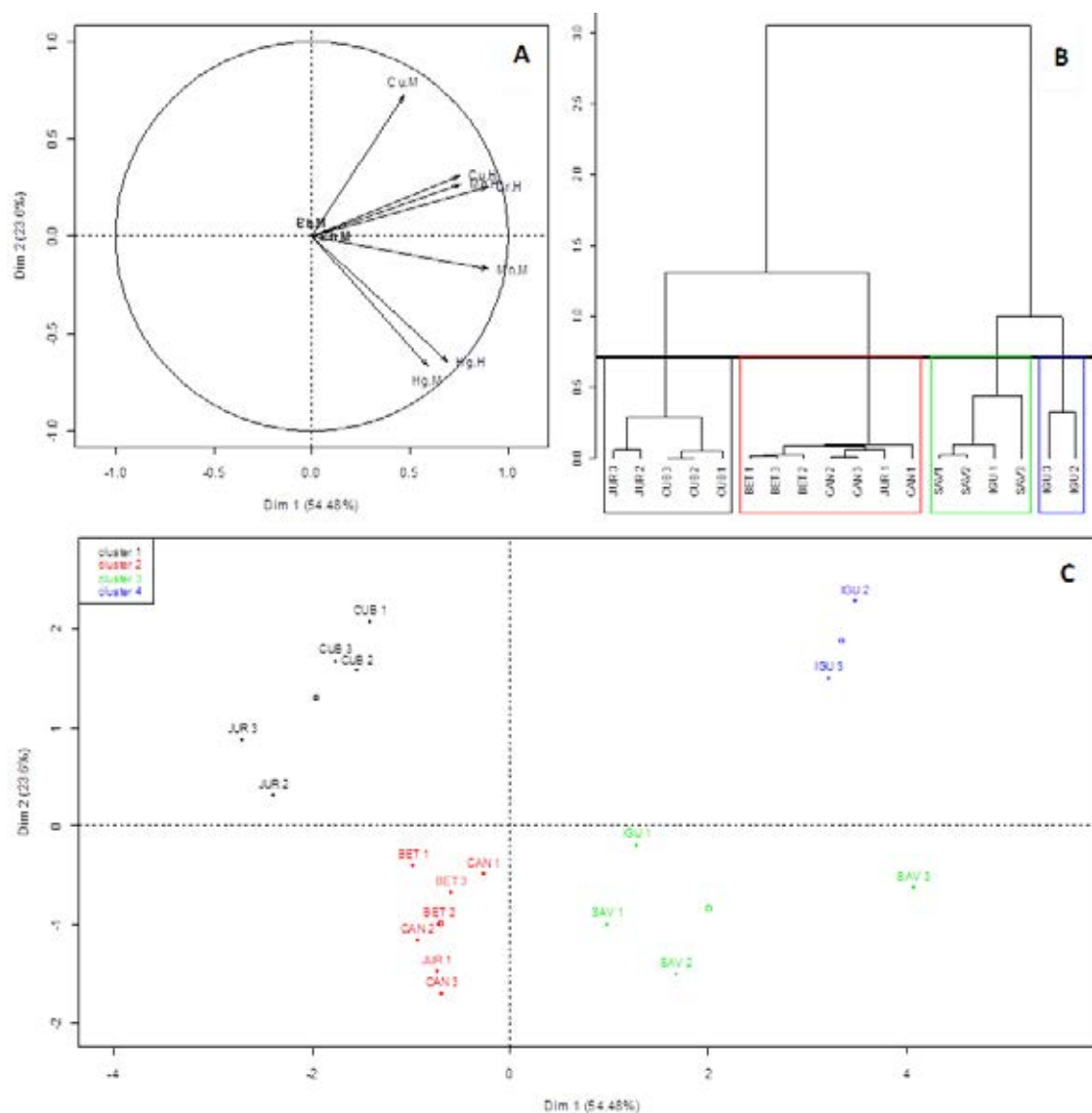


Figura 31 - Análise de Componentes Principais (PCA) realizada com a média das concentrações de seis metais (Cu, Cd, Cr, Mn, Pb e Hg) em amostras de musculatura (M) e hepatopâncreas (H) da espécie *U. cordatus*, com descrição da primeira e segunda dimensão para a PCA (A); dendograma da PCA ilustrando os quatro agrupamentos gerados (B) e suas distâncias de similaridade (C) entre as 18 subáreas de manguezal analisadas no Estado de São Paulo. O quadrado vazado representa a média geral para cada agrupamento.

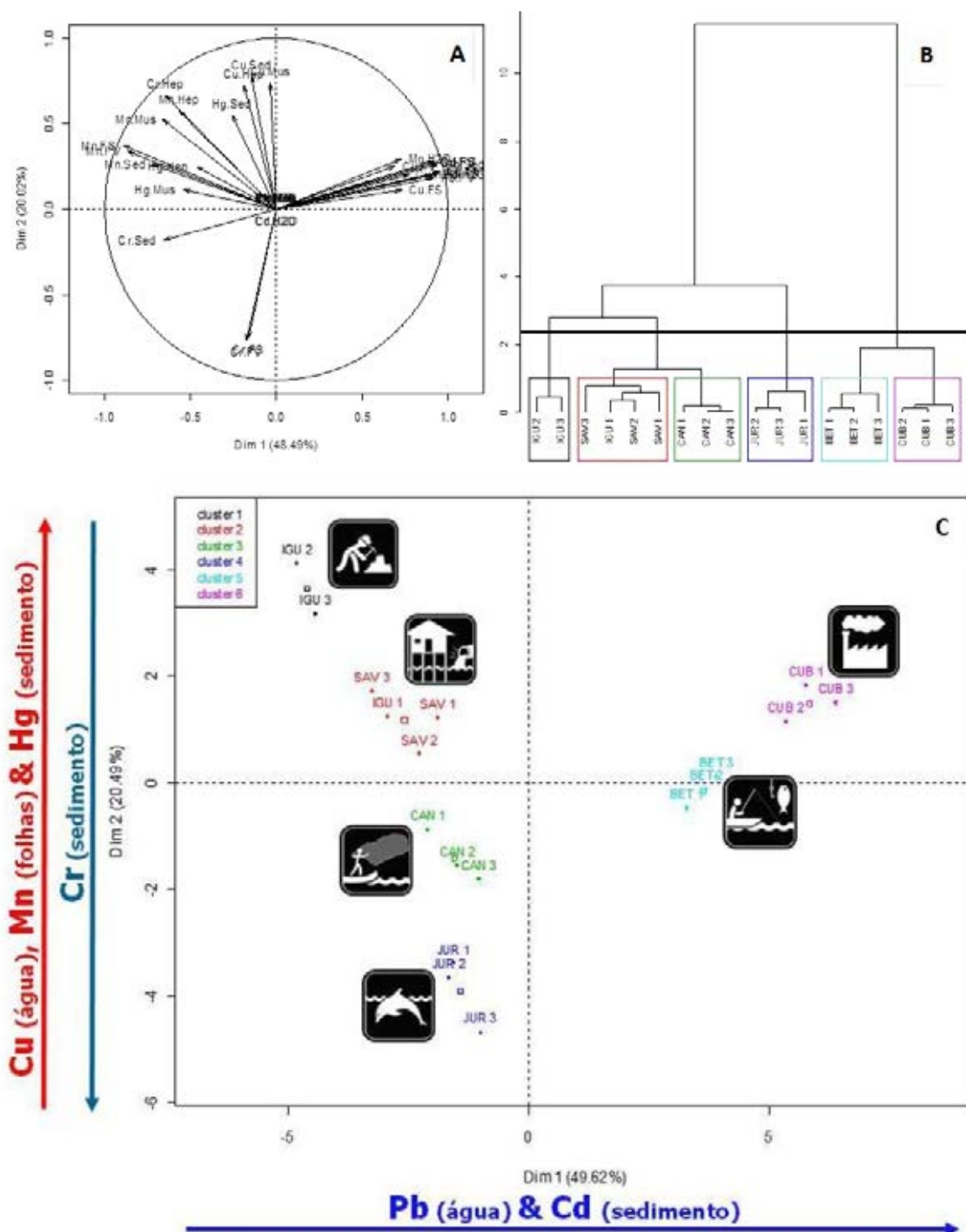


Figura 32 - Análise de Componentes Principais (PCA) realizada com a média das concentrações de seis metais (Cu, Cd, Cr, Mn, Pb e Hg) em amostras de água (W), sedimento (S), folhas verdes (GL) e senescentes pré-abscisão (SL) da espécie *R. mangle* e em amostras de musculatura (M) e hepatopâncreas (H) da espécie *U. cordatus*, com descrição da primeira e segunda dimensão para a PCA (A); dendrograma da PCA ilustrando os seis agrupamentos gerados (B) e suas distâncias de similaridade (C) entre as 18 subáreas de manguezal analisadas no Estado de São Paulo. O quadrado vazado representa a média geral para cada agrupamento.

4.6. Impactos geno e citotóxicos na espécie *U. cordatus* e sua relação com os metais

As figuras 33 a 36 ilustram as correlações significativas constatadas para algumas das relações, que envolveram as concentrações médias para cada metal, nos diferentes compartimentos, com os resultados dos dois biomarcadores para *U. cordatus* (MN‰, frequência de células micronucleadas por mil analisadas; e VN, tempo médio de retenção do vermelho neutro nos lisossomos dos hialinócitos). Das 168 correlações possíveis (28 relações por metal x 06 metais dosados), somente 23 apresentaram coeficientes de correlação de Spearman significativos ($p < 0,05$), referentes ao mercúrio (02 relações), cobre (06 relações), chumbo (05 relações) e manganês (10 relações). Não ocorreram relações envolvendo o cádmio e o cromo.

Para o cobre (Figura 33) as maiores concentrações nas folhas verdes de *R. mangle* foram coincidentes a um aumento da concentração deste metal nas folhas senescentes ($r=0,61$). Verificou-se, também, associação positiva entre a maior concentração de cobre no sedimento do manguezal e aquela do hepatopâncreas do caranguejo ($r=0,62$), repercutindo em consequente impacto genotóxico (MN‰) para *U. cordatus* ($r=0,68$). Além disso, houve uma relação significativa negativa entre VN e as concentrações médias de cobre no hepatopâncreas do caranguejo, bem como nas folhas verdes e senescentes de *R. mangle*, com coeficientes de -0,52, -0,55 e -0,47, respectivamente.

No caso do chumbo (Figura 34), encontrado somente nas subáreas de Cubatão e Bertioga (seis observações), o aumento das concentrações médias deste metal na água foi associado positivamente às dosagens desse metal nas folhas verdes ($r=0,88$). Além disso, o registro deste poluente na água, folhas verdes e senescentes foi relacionado ao aumento do impacto genético (MN‰) em *U. cordatus*, com coeficientes de 0,79, 0,72 e 0,88, respectivamente. Complementarmente, houve uma relação significativa negativa entre VN e a concentração média de chumbo no sedimento das áreas de estudo ($r=-0,81$).

No caso do mercúrio (Figura 35), houve apenas uma única correlação significativa, verificando-se um aumento de suas concentrações no sedimento dos manguezais associado positivamente ao impacto genético (MN‰) do caranguejo-uçá ($r=0,59$).

Finalmente, no caso do manganês (Figura 36), 66,6% das relações possíveis apresentaram correlações significativas, exceto entre as concentrações deste metal nos compartimentos e o impacto genotóxico observado (MN‰). No entanto, todas as relações de concentração deste metal entre os compartimentos apresentaram correlações significativas ($0,49 \leq r \leq 0,84$; $p < 0,05$).

Os testes de Mantel, com base no coeficiente de correção de Spearman (r), não indicou correlação significativa ($r=0,15$; $p>0,05$) entre a contaminação por metais na água (matriz 6) e seu acúmulo nos tecidos de *U. cordatus* (matriz 4), nem tampouco desta última matriz com a contaminação do sedimento (matriz 7) ($r=0,04$; $p>0,05$). No entanto, foi possível confirmar uma associação positiva e significativa ($r=0,29$; $p=0,04$) entre a contaminação das folhas e a acumulação de metais no caranguejo-uçá (matriz 3 x matriz 4). Os dados do teste de Mantel evidenciam que as folhas de *R. mangle* foram a principal via de entrada de metais em *U. cordatus*, sendo a concentração na água e sedimento pouco representativos de forma direta. De modo geral, ao confrontar os dados de contaminação ambiental (matriz 2) aos de contaminação biótica (matriz 8), evidencia-se uma elevada correlação positiva e significativa ($r=0,72$; $p=0,0001$) entre tais matrizes, indicando uma transferência de metais dos compartimentos abióticos aos bióticos.

O resultado do impacto genotóxico para *U. cordatus* (Figura 37), nas seis áreas de manguezal, foi medido pela frequência média de células micronucleadas por 1.000 avaliadas (MN‰). Os danos genéticos registrados seguiram a seguinte ordem: São Vicente ($7,4 \pm 2,6$ MN‰) > Cubatão ($5,2 \pm 1,9$ MN‰) = Bertioga ($5,0 \pm 1,3$ MN‰) = Iguape ($3,8 \pm 2,5$ MN‰) > Juréia ($0,7 \pm 1,0$ MN‰) = Cananéia ($0,4 \pm 0,6$ MN‰).

Já o resultado do impacto citotóxico (Figura 38), observado nas seis áreas de manguezal, foi quantificado pelo tempo médio de retenção do vermelho neutro dentro dos lisossomos dos hialinócitos dos exemplares. A integridade fisiológica registrada nas áreas de estudo seguiu a seguinte ordem: Cubatão ($45 \pm 9,6$ min.) < Bertioga ($71,5 \pm 25,1$ min.) < São Vicente ($90 \pm 13,6$ min.) < Iguape ($101 \pm 14,7$ min.) < Cananéia ($192,0 \pm 61,8$ min.) < Juréia ($320,0 \pm 42,7$ min.).

A figura 39 ilustra a correlação significativa ($r=0,78$; $p<0,01$) entre os biomarcadores utilizados (VN e MN‰), evidenciando que ambos os ensaios

ecotoxicológicos apontam praticamente para uma mesma sequência de conservação.

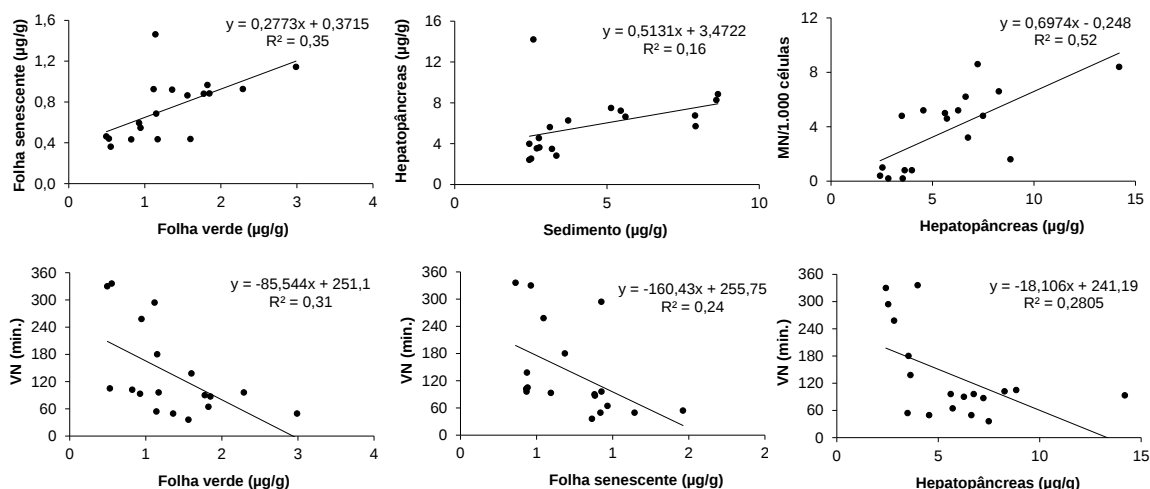


Figura 33 - Correlações de Spearman (r) significativas ($p < 0,05$) para as médias de concentração de cobre (Cu) na água, sedimento, mangue-vermelho (folhas verdes ou senescentes) ou caranguejo-uçá (hepatopâncreas e musculatura), frequência de células micronucleadas (MN/1.000 células) e o tempo médio de retenção do vermelho neutro nos hialinócitos, evidenciando, também, o ajuste dos dados por uma função linear (R^2).

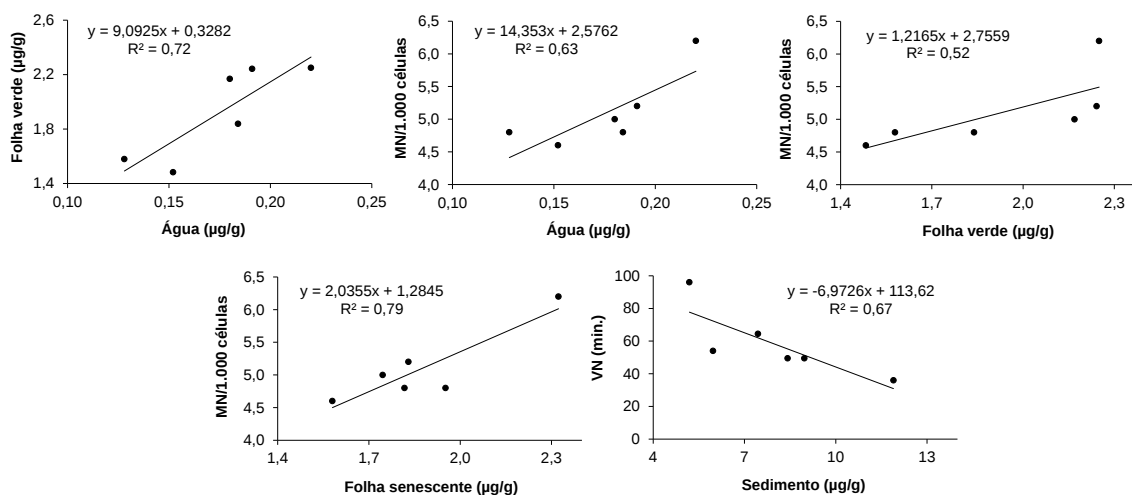


Figura 34 - Correlações de Spearman (r) significativas ($p < 0,05$) para as médias de concentração de chumbo (Pb) na água, sedimento, mangue-vermelho (folhas verdes ou senescentes) ou caranguejo-uçá (hepatopâncreas e musculatura), frequência de células micronucleadas (MN/1.000 células) e o tempo médio de retenção do vermelho neutro nos hialinócitos, evidenciando, também, o ajuste dos dados por uma função linear (R^2).

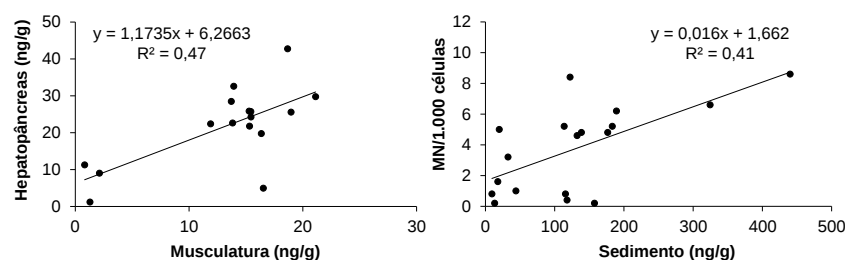


Figura 35 - Correlações de Spearman (r) significativas ($p < 0,05$) para as médias de concentração de mercúrio (Hg) na água, sedimento, mangue-vermelho (folhas verdes ou senescentes) ou caranguejo-uçá (hepatopâncreas e musculatura), frequência de células micronucleadas (MN/1.000 células) e o tempo médio de retenção do vermelho neutro nos hialinócitos, evidenciando, também, o ajuste dos dados por uma função linear (R^2).

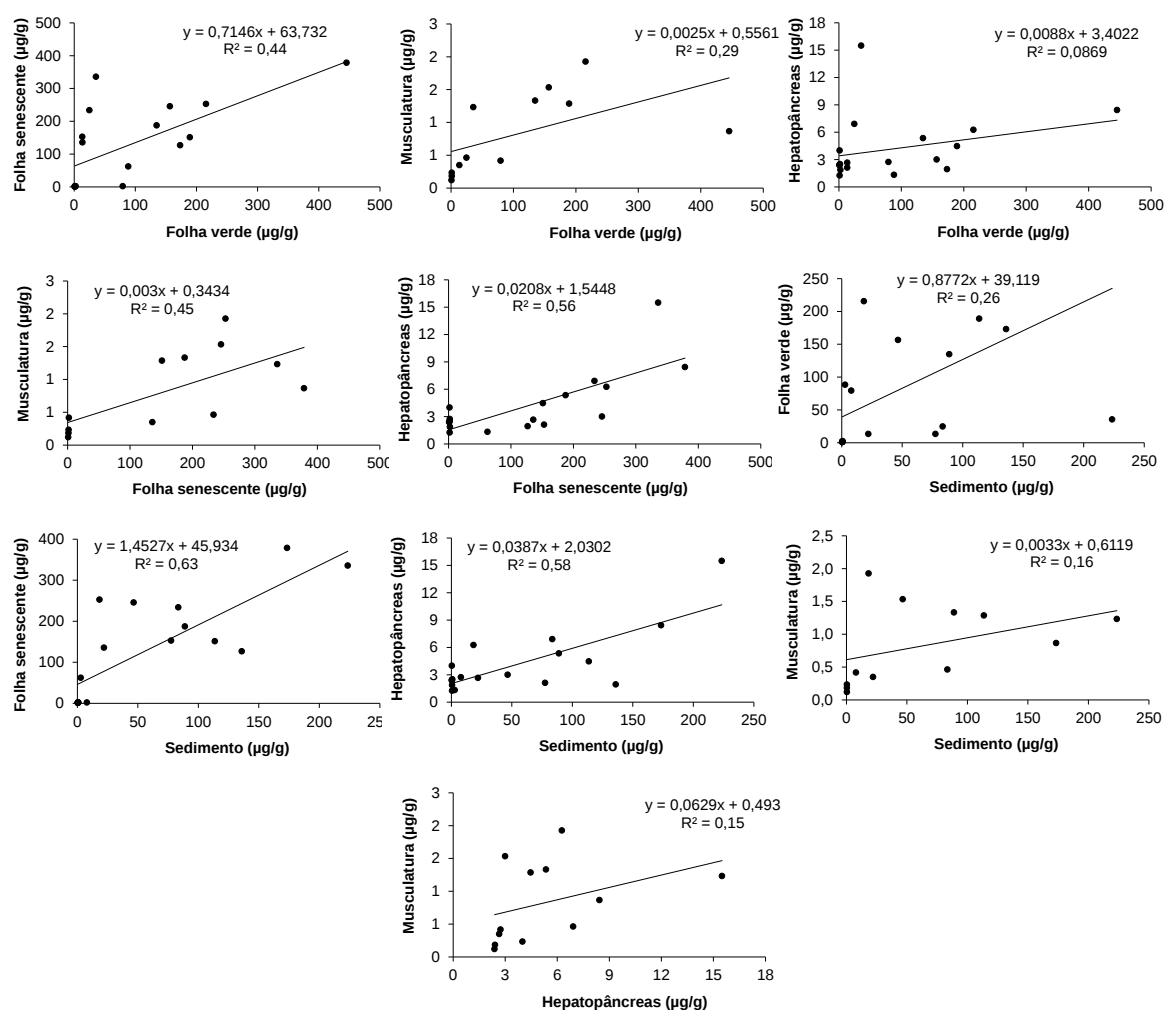


Figura 36 - Correlações de Spearman (r) significativas ($p < 0,05$) para as médias de concentração de manganês (Mn) na água, sedimento, mangue-vermelho (folhas verdes ou senescentes) ou caranguejo-uçá (hepatopâncreas e musculatura), frequência de células micronucleadas (MN/1.000 células) e o tempo médio de retenção do vermelho neutro nos hialinócitos, evidenciando, também, o ajuste dos dados por uma função linear (R^2).

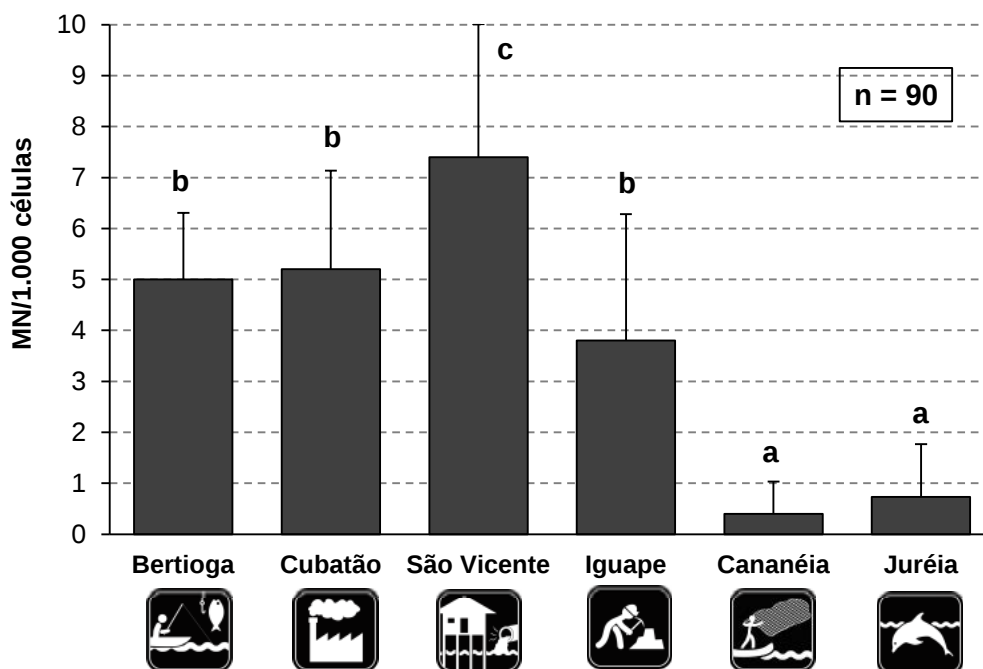


Figura 37 - Frequência de células (hialinócitos) micronucleadas em 1.000 analisadas (MN‰) em exemplares de *U. cordatus* capturados em cada área (n=15), nas seis áreas de manguezal estudadas no Estado de São Paulo. As barras indicam as médias e as linhas verticais os desvios-padrão. Médias acompanhadas de uma mesma letra não mostram diferença estatística a 5% pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

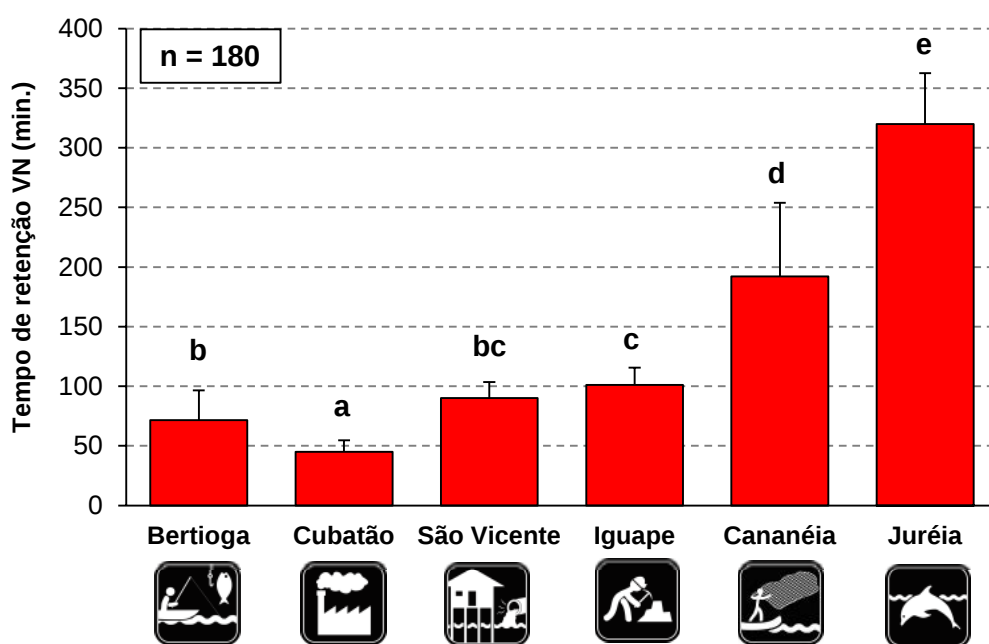


Figura 38 - Tempo médio de retenção do vermelho neutro em células (hialinócitos) de exemplares de *U. cordatus* capturados em cada área (n=30), nas seis áreas de manguezal estudadas no Estado de São Paulo. As barras indicam as médias e as linhas verticais os desvios-padrão. Médias acompanhadas de uma mesma letra não mostram diferença estatística a 5% pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

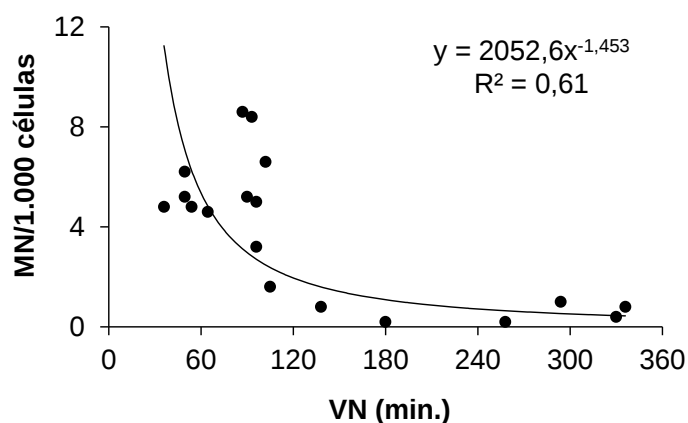


Figura 39 - Correlação de Spearman (r) significativa ($p < 0,05$) com ajuste a potencia para as médias de células micronucleadas (MN/1.000 células) e o tempo médio de retenção do vermelho neutro para os exemplares de caranguejo-uçá analisados nas áreas de manguezal do Estado de São Paulo.

As figuras 40 a 42 apresentam as estimativas de probabilidade dos impactos geno e citotóxicos esperados, em relação às concentrações dos metais nos compartimentos abióticos (água e sedimento), que apresentaram correlação significativa com os biomarcadores utilizados (MN‰ e VN). Assim, dentre os metais presentes nos compartimentos abióticos, as estimativas foram realizadas somente para o chumbo (na água e no sedimento) e mercúrio (sedimento). Todas as estimativas da inclinação da curva (r), bem como das probabilidades em 50% (CC e CG) foram significativas ($p < 0,05$). A figura ilustra e relaciona também os valores orientadores (INP, BIP e AIP, vide detalhes da elaboração destas categorias no item discussão), bem como o TEL (*Threshold Effect Level*) do metal mercúrio.

Os resultados indicaram que as concentrações dos metais onde as probabilidades de impacto são de 50%, se sobrepuseram ao *Baixo Impacto Provável (BIP)* (genotoxicidade apresentada do mercúrio no sedimento) e *Alto Impacto Provável (AIP)* (genotoxicidade apresentada do chumbo na água e citotoxicidade do chumbo no sedimento) sugerido, enquanto as probabilidades de impactos acima de 70% se associaram ao *Alto Impacto Provável (AIP)* em todos os casos.

Para o chumbo a probabilidade de impacto em 50% ocorreu com uma concentração de 0,171 µg/g na água e 6,49 µg/g para o sedimento, enquanto para o mercúrio o valor de probabilidade de impacto em 50% ocorreu numa concentração de 162,8 ng/g no sedimento.

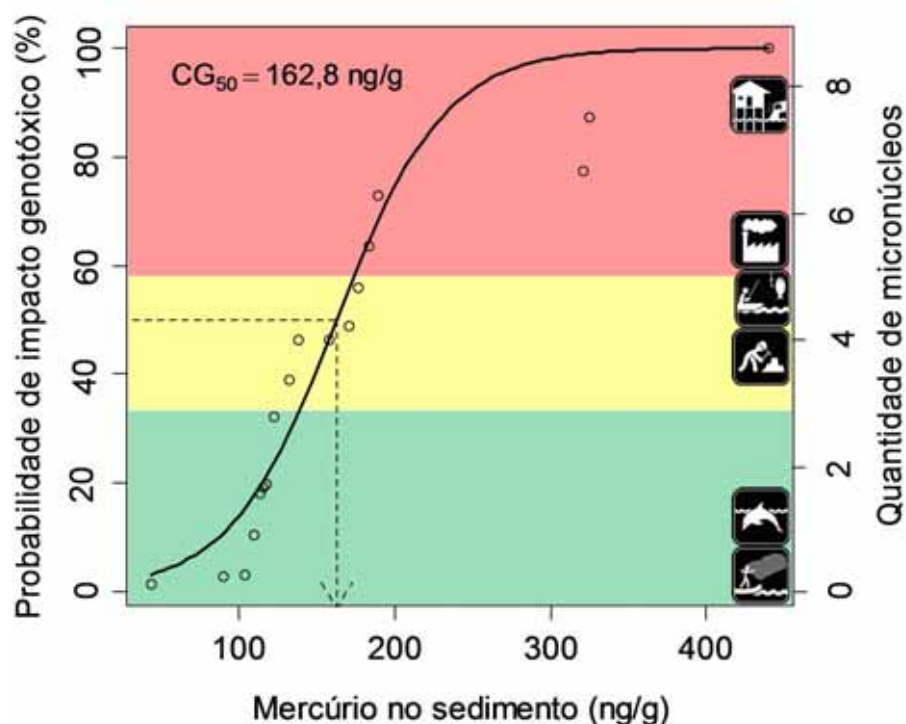


Figura 40 - Estimativa da probabilidade de impacto genotóxico esperada em *U. cordatus* relação às concentrações de mercúrio no sedimento. A quantidade de micronúcleos encontrada também é ilustrada. A seta tracejada preta indica a concentração na qual a probabilidade de impacto foi de 50% (CG₅₀, concentração genotóxica), enquanto a seta vermelha aponta o valor de 130 ng/g referente ao TEL (*Threshold Effect Level*, que indica o nível abaixo do qual supostamente não ocorre efeito adverso à comunidade biológica), segundo a agência canadense. As cores dentro da área de plotagem indicam os valores orientadores assumidos a respeito da quantidade de micronúcleos, onde: verde = Impacto nulo provável (INP); amarela = Baixo Impacto Provável (BIP); e a vermelha = Alto Impacto Provável (AIP). Os símbolos referentes a cada área indicam, verticalmente no “eixo y”, a quantidade de micronúcleos encontrada.

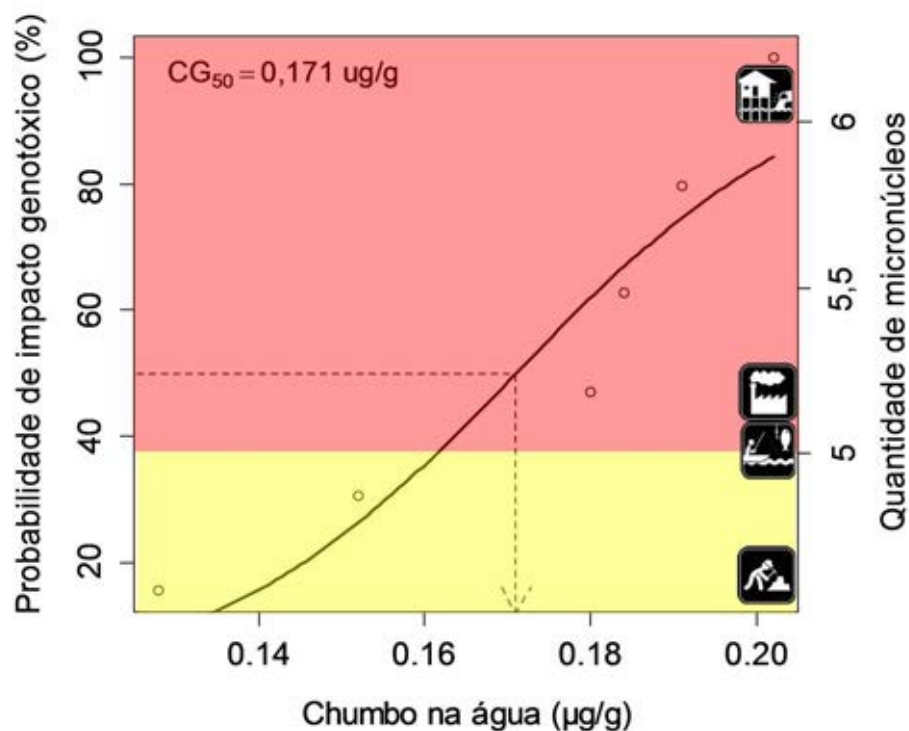


Figura 41 - Estimativa da probabilidade de impacto genotóxico esperada *U. cordatus* em relação às concentrações de chumbo na água. A quantidade de micronúcleos encontrada também é ilustrada. A seta tracejada preta indica a concentração na qual a probabilidade de impacto foi de 50% (CG₅₀, concentração genotóxica). As cores dentro da área de plotagem indicam os valores orientadores assumidos a respeito da quantidade de micronúcleos, onde: amarelo = Baixo Impacto Provável (BIP); e a vermelha = Alto Impacto Provável (AIP). Os símbolos referentes a cada área indicam, verticalmente no “eixo y”, a quantidade de micronúcleos encontrada.

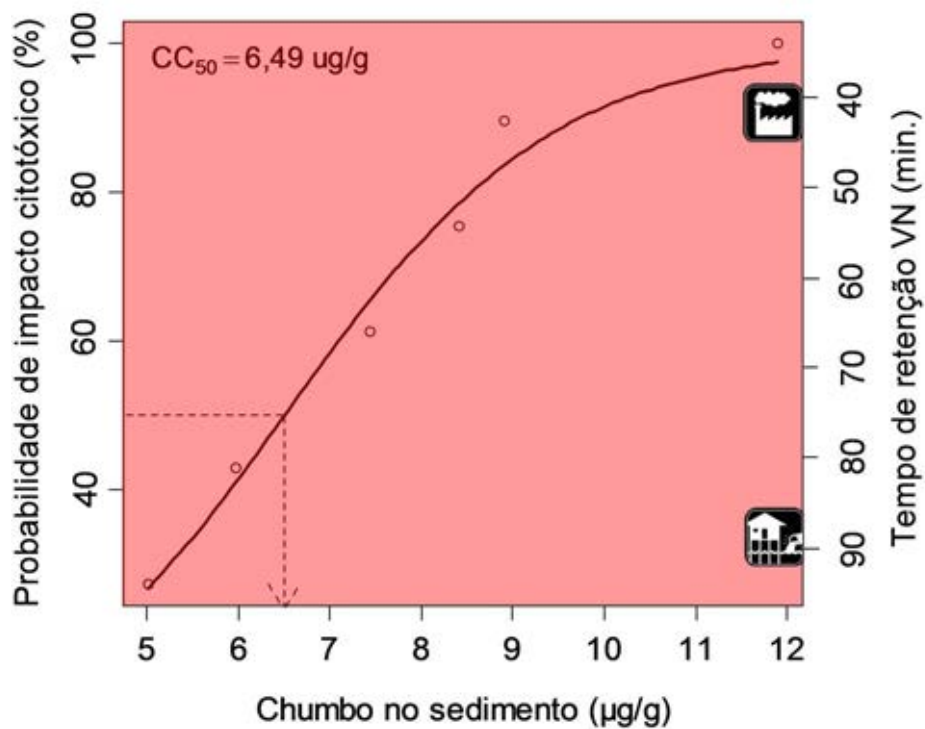


Figura 42 - Estimativa da probabilidade de impacto citotóxico esperado em *U. cordatus* relação às concentrações de chumbo no sedimento. O tempo de retenção do vermelho neutro (VN) também é ilustrado. A seta tracejada preta indica a concentração na qual a probabilidade de impacto foi de 50% (CC_{50} , concentração citotóxica). A cor vermelha dentro da área de plotagem indica o valor orientador assumido (Alto Impacto Provável, AIP) a respeito do tempo de retenção do corante. Os símbolos referentes a cada área indicam, verticalmente no "eixo y", o tempo de retenção do veremelho neutro.

4.7. Transferência dos elementos químicos (Fator de Transferência) e biodisponibilidade dos metais esperada

Para avaliar a biodisponibilidade aproximada dos metais analisados, foram selecionados dois compartimentos – “Folhas” de *R. mangle* (verdes e senescentes) e “Sedimento” – visando estipular quais deles e em quais áreas se encontram em maior ou menor biodisponibilidade.

A figura 43 apresenta os resultados dos fatores de transferência (FT) para o Cobre, com base nas relações entre os compartimentos para este metal. Em todas as áreas de manguezal avaliadas o FT do Cobre entre Folhas e Sedimento foi inferior à unidade, indicando maiores concentrações relativas para este último compartimento ambiental. De qualquer forma, em Bertioga parece ocorrer uma maior biodisponibilidade relativa deste metal em comparação às demais áreas avaliadas (FT: $0,4 \pm 0,2$ µg/g; $p < 0,05$), enquanto para Iguape foi verificada a menor (FT: $0,07 \pm 0,01$ µg/g; $p < 0,05$). Entretanto, uma inversão deste padrão ocorre quando se avalia o fator de transferência entre os tecidos dos Caranguejos e as Folhas. Neste caso, Iguape apresenta uma maior concentração significativa de Cobre nos caranguejos em relação às folhas (FT: $13,2 \pm 4,6$ µg/g; $p < 0,05$), ao passo que Bertioga ela foi menor (FT: $3,7 \pm 1,1$ µg/g; $p < 0,05$). Contudo, para os manguezais paulistas os tecidos dos caranguejos de todas as áreas analisadas apresentaram uma maior concentração relativa deste metal do que nas folhas de *R. mangle*, indicando a existência de uma biomagnificação expressiva na região. Já o fator de transferência entre as Folhas Senescentes e Verdes foi muito similar entre os diferentes manguezais ($p > 0,05$). De forma geral, este metal esteve em concentrações mais elevadas nas folhas verdes, porém com diferenças muito sutis, uma vez que os valores de FT obtidos ficaram próximos a unidade. Já em relação aos fatores de transferência entre os tecidos do caranguejo demonstraram que somente para São Vicente ocorreu uma menor quantidade relativa de Cobre na musculatura em relação ao hepatopâncreas (FT: $0,5 \pm 0,2$ µg/g; $p < 0,05$).

A figura 44 apresenta os resultados de FT para as relações entre compartimentos para o Chumbo. Este metal esteve acima do limite de detecção do equipamento somente nas folhas e no sedimento de Bertioga e Cubatão. Assim, como constatado para o Cobre, o FT do Chumbo entre Folhas

e Sedimento foi inferior a 1, indicando maiores concentrações relativas para este último compartimento ambiental. A biodisponibilidade relativa em Bertioga parece ser superior a de Cubatão, pois apresentou maior significativamente de FT (Bertioga: $0,3 \pm 0,1 \mu\text{g/g}$; Cubatão: $0,2 \pm 0,6 \mu\text{g/g}$; $p < 0,05$). Já o FT entre as Folhas Senescentes e Verdes foi similar entre Bertioga e Cubatão ($p > 0,05$), embora em Bertioga tenha ocorrido um acúmulo de Chumbo ligeiramente maior nas folhas verdes (FT: $0,9 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$), enquanto em Cubatão este acúmulo ocorreu nas folhas senescentes (FT: $1,09 \pm 0,3 \mu\text{g/g}$).

A figura 45 apresenta os resultados de FT para as relações entre os compartimentos para o Cádmio. Este metal também esteve acima do limite de detecção do equipamento somente nas folhas e no sedimento, em Bertioga e Cubatão. Assim como visto para o Cobre e o Chumbo, o FT do Cádmio entre Folhas e Sedimento foi inferior a unidade, indicando maiores concentrações relativas para este último compartimento ambiental. Contudo, Cubatão possui uma maior biodisponibilidade relativa do que Bertioga, já que apresentou um maior fator de transferência (Cubatão: $0,2 \pm 0,05 \mu\text{g/g}$; Bertioga: $0,1 \pm 0,05 \mu\text{g/g}$; $p < 0,05$). Já o fator de transferência entre as Folhas Senescentes e Verdes foi similar entre Bertioga e Cubatão ($p > 0,05$), onde ocorreram FTs próximos a unidade, indicando concentrações similares entre os estágios de maturidade foliar de *R. mangle*.

A figura 46 apresenta os resultados de FT para as relações entre os compartimentos para o Manganês. Este foi o único metal que apresentou uma maior concentração relativa nas folhas de *R. mangle* do que no sedimento das áreas de manguezal, indicando, supostamente, expressiva biomagnificação nos manguezais avaliados. Assim, todos os valores de FT foram superiores a unidade, atungindo $7,6 (\pm 3,8 \mu\text{g/g})$ em Cananéia, que foi significativamente superior às demais áreas ($p < 0,05$). Por outro lado, Iguape apresentou o menor FT ($1,8 \pm 0,4 \mu\text{g/g}$) e, portanto, a menor bioacumulação proporcional para o Manganês. Somente os tecidos dos caranguejos de Bertioga possuíram uma maior concentração relativa deste metal quando confrontado às folhas de *R. mangle* (FT: $1,3 \pm 0,6 \mu\text{g/g}$; $p < 0,05$), indicando, provavelmente, uma maior biomagnificação nesta área. Já os valores de FT para a relação folha senescente e folha verde, foram similares entre os diferentes manguezais ($p > 0,05$). Em algumas áreas, a bioacumulação foi maior nas folhas senescentes (Cubatão, São Vicente, Iguape e Cananéia), enquanto que em

outras (Bertioga e Juréia) a bioacumulação foi maior nas folhas verdes, embora com FTs muito próximos a unidade. Já os valores de FT entre a musculatura e o hepatopâncreas dos caranguejos demonstraram que nas áreas com registro nestes dois tecidos, houve uma menor quantidade relativa do metal na musculatura, com destaque a Bertioga (FT: $0,05 \pm 0,07 \mu\text{g/g}$; $p < 0,05$).

As análises de transferência não foram passíveis de realização para o Cromo, já que a presença desse metal, na maioria dos casos, ocorreu em concentrações inferiores às do limite de detecção do equipamento.

A figura 47 apresenta os resultados de FT para as relações entre os compartimentos para o Mercúrio. Para efeito de biodisponibilidade deste metal, foram escolhidos os compartimentos “Tecidos de *U. cordatus* (Uçá)” e “Sedimento”, pois não houve registro deste metal nas folhas de *R. mangle*. Portanto, esta relação supostamente poderia fornecer informação sobre as áreas em que este metal se encontra proporcionalmente mais biodisponível, seguindo o mesmo já constatado para a relação “Folhas” e “Sedimento”, anteriormente explorada para os outros metais. Contudo, os valores de FT foram inferiores a unidade em todas as áreas, que não diferiram entre si ($p > 0,05$), indicando uma maior quantidade de Mercúrio no sedimento em relação ao encontrado nos tecidos do caranguejo-Uçá. Já em relação aos valores de FT verificados entre a musculatura e hepatopâncreas dos caranguejos, demonstraram para todas as áreas um registro em ambos os tecidos, com menor quantidade relativa do metal na musculatura, particularmente em Cubatão (FT: $0,03 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$; $p < 0,05$).

A figura 48 apresenta os resultados percentuais do que foi supostamente transferido da matriz abiótica (Matriz “Sed” em todos os casos) para a matriz biótica (a “Crab” serviu como base para a matriz biótica somente para o metal mercúrio e “Fs” serviu como a matriz biótica para todos os outros metais), por área. A biodisponibilidade suposta dos metais nas diferentes áreas de estudo são muito similares, exceto para os metais não essenciais: Chumbo (supostamente mais biodisponível em Bertioga em relação à Cubatão); e Cádmio (supostamente mais biodisponível em Cubatão em relação a Bertioga).

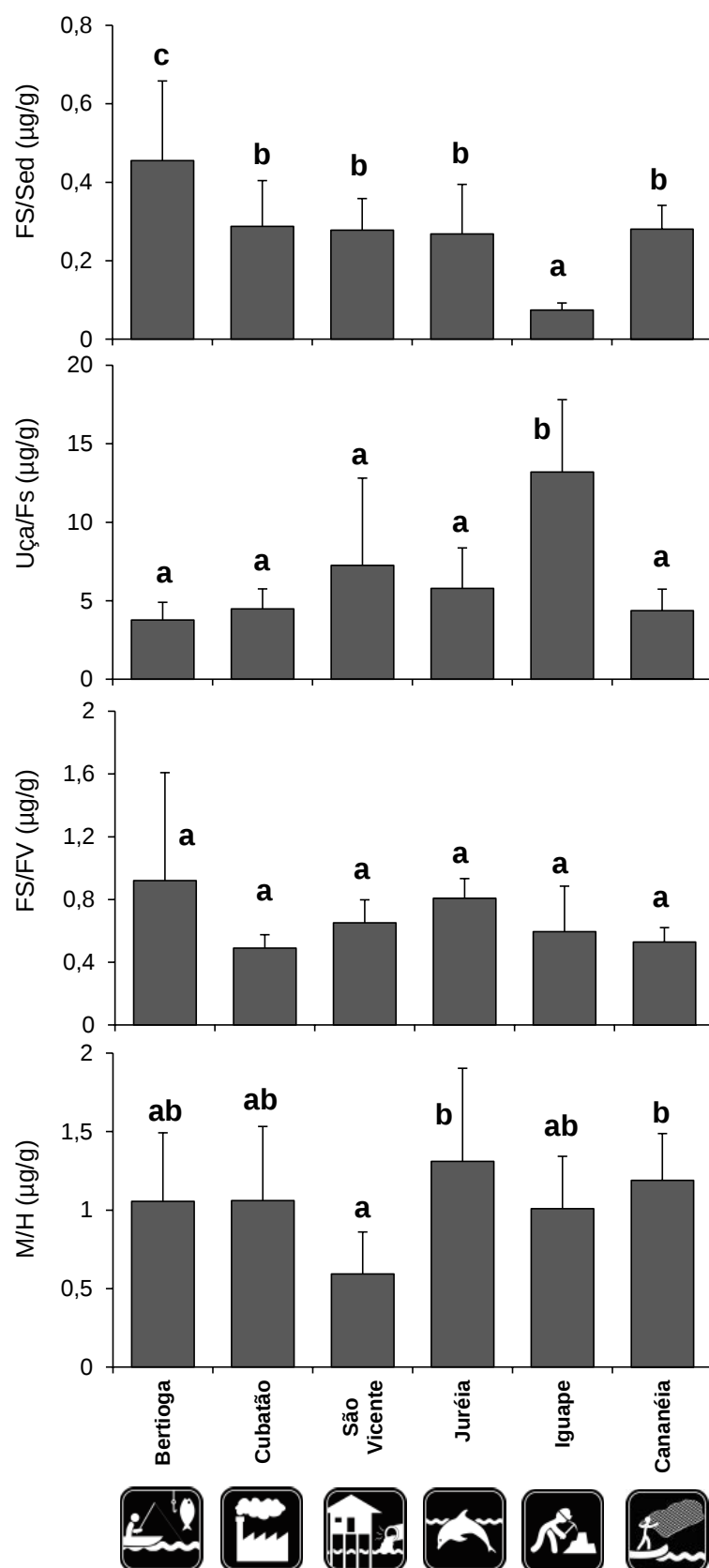


Figura 43 - Fator de transferência (FT) para o cobre (µg/g) entre as médias das concentrações obtidas (de cima para baixo) em: folhas do mangue-vermelho (folhas verdes + senescentes = Fs) e no sedimento (Sed); exemplares de caranguejo-uçá (musculatura + hepatopâncreas = Uçá) e nas folhas (Fs); folhas senescentes (FS) e verdes (FV); e musculatura (M) e hepatopâncreas (H) dos caranguejos analisados nas áreas de manguezal do Estado de São Paulo.

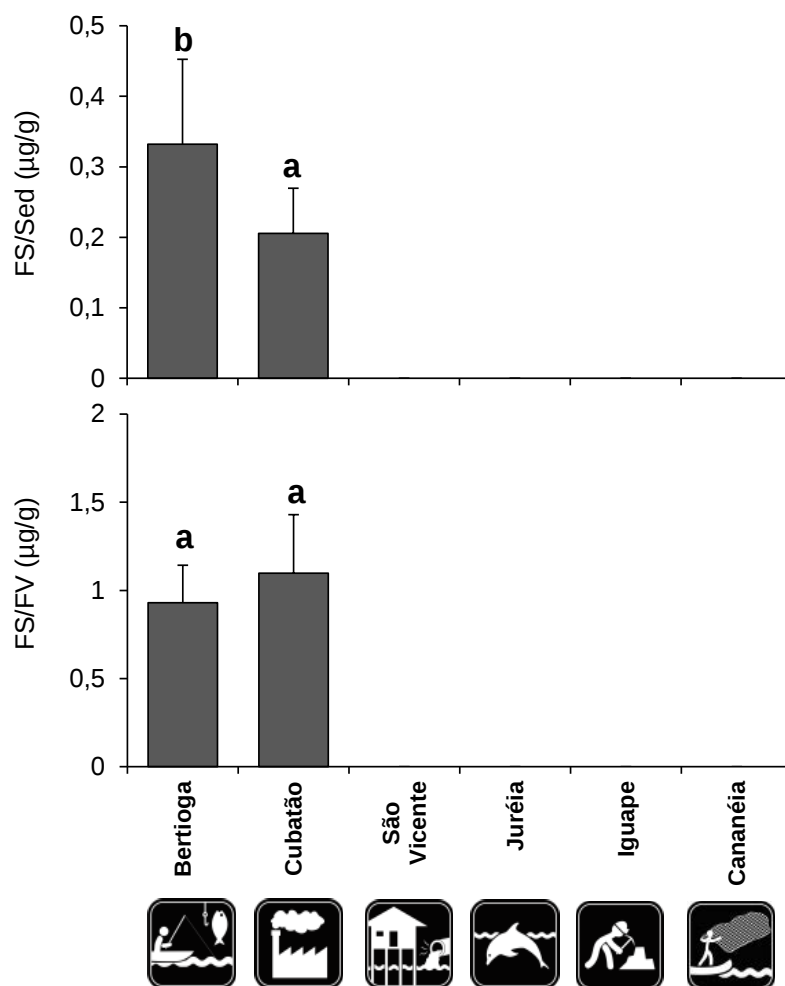


Figura 44 - Fator de transferência (FT) para o metal Chumbo (ug/g) entre as médias das concentrações obtidas (de cima para baixo) em: folhas do mangue-vermelho (folhas verdes + senescentes = Fs) e no sedimento (Sed); e folhas senescentes (FS) e verdes (FV) nas áreas de manguezal do Estado de São Paulo.

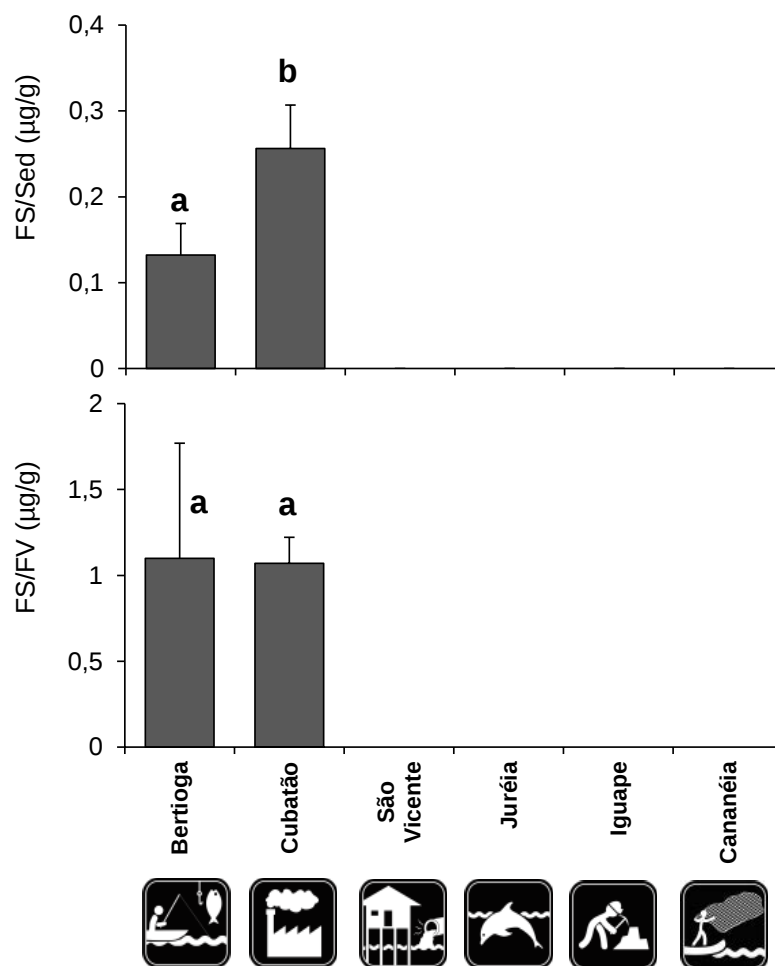


Figura 45 - Fator de transferência (FT) para o metal Cádmio (ug/g) entre as médias das concentrações obtidas (de cima para baixo) em: folhas do mangue-vermelho (folhas verdes + senescentes = Fs) e no sedimento (Sed); e folhas senescentes (FS) e verdes (FV) nas áreas de manguezal do Estado de São Paulo.

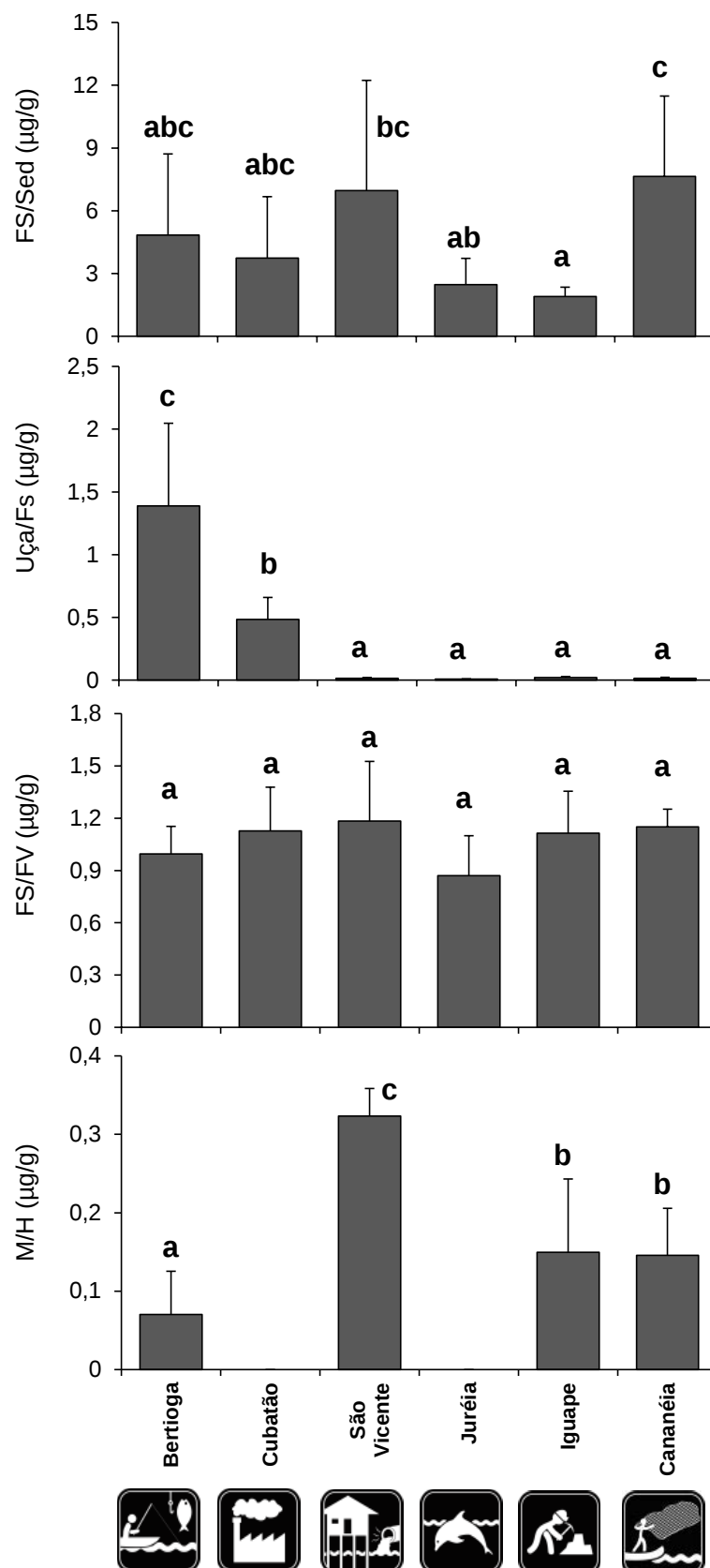


Figura 46 - Fator de transferência (FT) para o metal Manganês (ug/g) entre as médias das concentrações obtidas (de cima para baixo) em: folhas do mangue-vermelho (folhas verdes + senescentes = Fs) e no sedimento (Sed); exemplares de caranguejo-uçá (musculatura + hepatopâncreas = Uçá) e nas folhas (Fs); folhas senescentes (FS) e verdes (FV); e musculatura (M) e hepatopâncreas (H) dos caranguejos analisados nas áreas de manguezal do Estado de São Paulo.

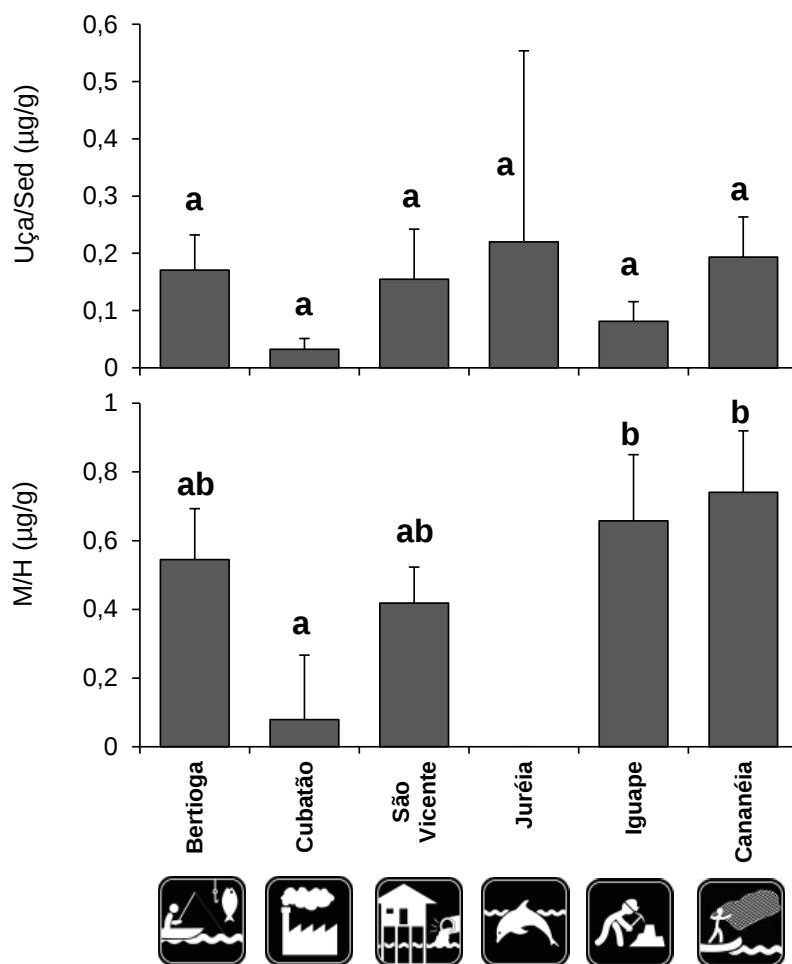


Figura 47 - Fator de transferência (FT) para o metal Mercúrio (ng/g) entre as médias das concentrações obtidas (de cima para baixo) em: exemplares de caranguejo-uçá (musculatura + hepatopâncreas = Uçá) e sedimento (Sed); e musculatura (M) e hepatopâncreas (H) dos caranguejos analisados nas áreas de manguezal do Estado de São Paulo.

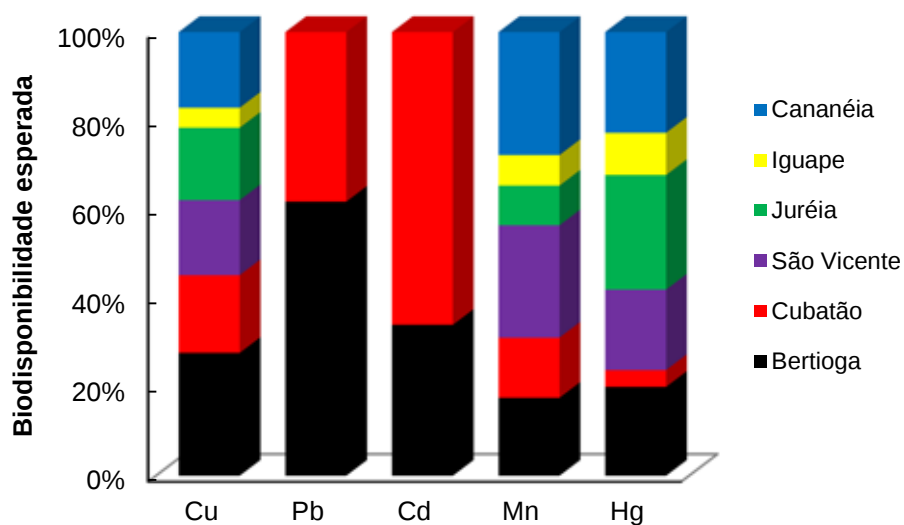


Figura 48 - Biodisponibilidade esperada (aproximada) dos metais nas diferentes áreas de manguezal do Estado de São Paulo. Resultados percentuais do que foi supostamente transferido da matriz abiótica (Matriz “Sed” em todos os casos) para a matriz biótica (a “Crab” serviu como base para a matriz biótica somente para o metal mercúrio e “Fs” serviu como a matriz biótica para todos os outros metais), por área.

5. DISCUSSÃO

5.1. Caracterização das subáreas de manguezal

A distribuição dos manguezais e seu desenvolvimento estão associados aos substratos lamosos de ambientes costeiros abrigados, submetidos ao regime das marés, temperatura média mensal mais fria $> 20^{\circ}\text{C}$ e em amplitude térmica anual $< 5^{\circ}\text{C}$ (WALSH, 1974). Apesar da ocorrência das áreas de manguezal ser reflexo de fatores regidos em escala global, seus atributos estruturais e funcionais são modulados pela interação de fatores que variam em escala regional (p. ex., energia solar, aporte de água doce / nutrientes e energia das marés) ou local (p. ex., frequência / alcance da inundação pelas marés) (SOARES, 1999; SOARES *et al.*, 2003). Além dos fatores ambientais (naturais), a distribuição e conservação dos manguezais também sofre influência de vários tensores antrópicos. Dessa forma, era esperado que a composição e estrutura dos bosques fossem reflexos da intensidade das diferentes interações desses tensores, o que de fato ocorreu.

Inicialmente, a proposta do estudo foi encontrar subáreas de manguezal com predomínio de *R. mangle* ($> 80\%$). No entanto, houve dificuldade da equipe em localizar bosques com tal característica, particularmente em Cubatão e São Vicente, que apresentaram predominância dessa espécie variando de 49,3 a 68% (nas transecções) e de 55 a 67,8% (nos quadrados amostrais). SMITH III (1992) revela que os bosques de manguezal com maiores distúrbios antrópicos detêm menor representatividade das espécies de Rhizophoraceae. Assim, considerando-se o histórico de contaminação, poluição e ocupação irregular dos manguezais de Cubatão e São Vicente, comparativamente às demais áreas de manguezal estudadas, seria esperado que bosques monoespecíficos de *R. mangle* fossem pouco evidentes ou de menor ocorrência. Contudo, a predominância de jovens (plântulas) dessa espécie foi notória nos quadrados de amostragem, especulando-se que apesar da constatação de alta densidade nas subáreas de Cubatão e São Vicente, poucos espécimes alcançam a idade adulta, possivelmente devido à maior ação antrópica.

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que a densidade de

U. cordatus nos manguezais da Juréia superou em cerca de duas vezes aquela registrada para Cubatão. A hipótese de que a menor densidade para Cubatão seja decorrente de um maior esforço pelos catadores foi descartada, já que na região de Cananéia, onde ocorre a exploração mais elevada deste recurso pesqueiro no estado (DUARTE *et al.*, no prelo), a densidade deste crustáceo constitua, também, quase o dobro da verificada em Cubatão. Além disso, na captura ocorre destruição parcial ou total das galerias do caranguejo pelos pescadores artesanais, fato este não verificado nas diversas expedições realizadas às áreas avaliadas. Outros dados comprovam tal afirmação, como a maior média de diâmetro das galerias em Cubatão quando comparada às aquelas registradas nas demais áreas de manguezal em estudo, exceto para São Vicente, embora faça parte do mesmo complexo estuarino. Como na captura desse caranguejo os catadores selecionam as maiores galerias para a retirada dos exemplares, a menor densidade e o maior porte destes animais em Cubatão indicam que outros fatores antrópicos, possivelmente a contaminação histórica da região, tenham ao longo prazo, influenciado negativamente as populações do caranguejo-uçá. Tal fato poderia ser corroborado por resultados dos maiores danos subletais observados nos animais da região, o que poderia ter direcionado, no passado, a problemas populacionais, já que as técnicas utilizadas possuem supostamente esta capacidade de prever problemas ecológicos futuros (BONASSI *et al.*, 2000; NERI *et al.*, 2003; SVENDSEN *et al.*, 2004).

5.2. Padrões de acúmulo dos metais nos compartimentos abiótico-bióticos

REWS *et al.* (2003) e LUOMA & RAINBOW (2008) mencionam que alguns elementos químicos podem se especiar em dois ou mais produtos, permitindo conhecer e prever sua distribuição geoquímica, biodisponibilidade e toxicidade à biota. O conhecimento do estado em que o metal se encontra no ambiente, bem como as reações oriundas de sua transformação, são extremamente relevantes à elucidação dos padrões de acúmulo nos compartimentos abiótico-bióticos dos sistemas naturais (NETO *et al.*, 2008). A ausência de informações sobre a especiação dos seis metais no presente estudo, que não foram objeto de avaliação, impede maiores discussões sobre

as interações ocorrentes em cada subárea de manguezal avaliada, como também em sua composição enquanto áreas de amostragem, embora uma abordagem matemática seja explorada mais adiante. Contudo, avaliando as correlações entre os compartimentos abiótico-bióticos para cada metal em separado, evidencia-se a instabilidade e maior disponibilidade do manganês em relação aos outros metais (BADEN *et al.*, 1995; BADEN & ERIKSSON, 2006), considerando que houve correlações estatisticamente significativas em 10 relações entre os compartimentos avaliados. No entanto, este elemento químico não aparece na classificação de LUOMA & RAINBOW (2008), que resume os nove metais mais tóxicos aos organismos de ambientes aquáticos, provavelmente por participarem de inúmeros processos vitais (RAINBOW, 1997; AHEARN *et al.*, 2004; EISLER, 2010; KABATA-PENDIAS, 2011).

Em relação à espécie *R. mangle*, esta é uma espécie arbórea halófito, que segundo RODRIGUES & ROQUETTI-HUMAYTÁ (1988) acumula menos metais do que outras árvores de manguezal mais adaptadas à eliminação de sais (p. ex., *Avicennia schaueriana*, segundo SCHOLANDER *et al.*, 1962), independente do nível de contaminação por metais no sedimento. Tal fato, portanto, independe do bloqueio biogeoquímico pelo sedimento, mas da fisiologia da espécie arbórea, que é mais adaptada à vida neste ambiente. Por ser uma espécie sal excludente, vários metais são impedidos de entrada no sistema vegetal através das raízes (LACERDA *et al.*, 1985; BERNINI *et al.*, 2006). Contudo, de maneira contrária, MACFARLANE *et al.* (2007), demonstraram que não há diferença na acumulação de alguns metais quando espécies vegetais secretoras são comparadas àquelas não secretoras de sais.

O sedimento de manguezal é conhecido por ser o principal reservatório de metais (LUOMA & RAINBOW 2008; PINHEIRO *et al.*, 2012, 2013), agindo como eficiente barreira biogeoquímica ao transporte desses poluentes para áreas adjacentes (SILVA *et al.*, 1990). Tal fato decorre da característica peculiar ao sedimento dos manguezais, em função de seu elevado teor de matéria orgânica e capacidade de troca catiônica (CTC), sendo, por isso, promotor da adsorção de metais. No entanto, no presente estudo não foram observadas quaisquer relações entre o teor de matéria orgânica e as concentrações de metais neste compartimento abiótico. De acordo com LACERDA (1997), os metais são precipitados como sulfetos junto ao sedimento dos manguezais, implicando em seu aprisionamento, quando ficam

bioindisponíveis às plantas e animais. A avaliação deste elemento poderia auxiliar no entendimento de fatores que favorecem a acumulação de metais nos sedimentos dos manguezais do Estado de São Paulo.

Contudo, os dados obtidos no presente estudo se coadunam com a literatura, pela tendência de acumulação de quatro dos metais em análise (Pb, Cd, Cr e Hg), obedecendo a hierarquia: sedimento > [tecidos (folhas > caranguejo)] > água. No entanto, os dois metais essenciais (Manganês e Cobre) não seguiram este padrão.

O manganês é um metal essencial requerido em reduzidas concentrações pelo metabolismo vegetal, participando da composição de algumas enzimas (p. ex., arginase e fosfotransferase), associadas a dois sistemas relacionados à fotossíntese (HORST, 1976; EISLER, 2010; KABATA-PENDIAS, 2011). Este metal é facilmente translocado das raízes para as folhas pelo xilema (HORST, 1976), onde é imobilizado até a abscisão foliar (WOOD *et al.*, 1986). Além disso, o manganês não forma sulfetos estáveis, estando mais disponível à vegetação (BERNINI *et al.*, 2006), concentrando-se principalmente nas folhas (SILVA *et al.*, 1990), que são o principal item alimentar de *U. cordatus* (CHRISTOFOLETTI *et al.*, 2013). Tal fato explica a elevada concentração de Mn nos estágios foliares, seguido pelo sedimento, tecidos do caranguejo e água.

BRYAN & WARD (1965) afirmam que a maior parte do manganês encontrado nos crustáceos é de origem alimentar, corroborando os resultados obtidos no presente estudo. Segundo estes autores, 98% do manganês na lagosta *Homarus vulgaris* esteve associado ao exoesqueleto, que é o principal sítio de armazenamento deste metal, podendo ser usado como reserva e transferido para a hemolinfa e outros tecidos, conforme haja necessidade.

O cobre, por outro lado, seguiu a hierarquia tecidos (caranguejo) > sedimento > tecido (folhas) > água. Possivelmente, o maior acúmulo deste metal no hepatopâncreas e musculatura do caranguejo-uçá esteja relacionado ao seu uso na composição da hemocianina, pigmento respiratório dos crustáceos (JESUS *et al.*, 2003). Acredita-se que parte do metal absorvido pelas brânquias seja translocado aos demais órgãos, principalmente ao hepatopâncreas, que é o principal órgão armazenador e depurador de metais nos crustáceos (EISLER, 2010). Supõe-se que quando o limite biológico desse

órgão é ultrapassado, o excesso deste poluente seria repassado a outros tecidos, como é o caso da musculatura desses animais.

5.3. Contaminação por metais nos compartimentos abióticos (água e sedimento) e nas folhas de *R. mangle*.

Os resultados da PCA pela aplicação das matrizes evidenciaram diferentes graus de similaridade entre as subáreas de manguezal, explicados pelas relações entre os metais e os compartimentos em análise. Assim, cada área de manguezal (localidade) pôde ser caracterizada ou agrupada segundo um ou mais metais avaliados, com um diagnóstico diferencial, a saber: Cubatão e Bertioga (Pb e Cd), São Vicente (Hg), Juréia (Cr), Iguape (Cu, Mn and Hg) e Cananéia (Mn). No entanto, foram constatadas algumas tendências de acúmulo de metais nas folhas para essas áreas em estudo, a saber: Cr (Juréia); Mn (Iguape); Cu, Pb e Cd (Cubatão e Bertioga); e ausência de valores detectáveis para Hg.

Na tabela XVIII são apresentadas concentrações de alguns metais nas diferentes espécies vegetais de manguezal em vários sistemas estuarinos no mundo. Apesar da inexistência de valores guia para a qualidade ambiental para as folhas, os dados disponibilizados nessa tabela evidenciam que as dosagens de cádmio num cenário global estiveram muito próximas daquelas registradas no presente estudo. No caso do cobre, 14% dos artigos nessa tabela apresentaram concentrações superiores às registradas no presente estudo, chegando a maiores percentuais no caso do chumbo (40,8%), cromo (46,6%) e manganês (62,5%). Diante disso, pode-se afirmar que a acumulação por metais em *R. mangle* nos manguezais paulistas apresenta valores que podem ser considerados intermediários em confronto com outros sistemas estuarinos ao redor do mundo, o que nos leva a crer que o Sistema Estuarino do Estado de São Paulo se encontra em patamares médios de contaminação.

A Tabela XIX apresenta uma revisão sobre a concentração dos seis metais estudados em associação ao sedimento de manguezal em sistemas estuarinos de vários países. Comparando as dosagens de cobre dessa tabela com aquelas registradas no presente estudo, pode-se constatar que as maiores concentrações ocorreram em somente 2,5% dos trabalhos citados. No caso do chumbo e cromo, ocorreram concentrações mais elevadas (6,6% e

9,0% dos estudos, respectivamente). As concentrações de manganês estiveram abaixo de todos os estudos apresentados nessa tabela, enquanto para o cádmio e mercúrio as concentrações nos sedimentos de manguezal estiveram com dosagens superiores em 42,8% e 66,6% dos trabalhos levantados, respectivamente. Já o Cobre, apresentou concentrações superiores em apenas 10,81% em relação aos trabalhos revisados. Igualmente ao constatado para folhas, a contaminação dos sedimentos nos manguezais paulistas no presente estudo se encontra em níveis médios, sendo muito similar a outros estuários já estudados ao redor do mundo.

Tabela XVIII - Revisão da contaminação por metais em folhas de espécies arbóreas de manguezal, representada pela média e/ou variação (mínimo - máximo).

Família	Espécie	País	Localidade	Concentração de Metais					Autores (Ano)
				Cd	Cu	Pb (µg/g)	Cr	Mn	
Acanthaceae	<i>Acanthus ilicifolius</i>	China	Ilha Hainan	-	2,1	0,03	-	-	Lian <i>et al.</i> (1999)
		China	Mai Po	-	0,82	0,15	-	-	Ong Che (1999)
Acanthaceae	<i>Avicennia germinans</i>	Brasil	Estuário do Rio São Mateus (ES)	-	0,03-0,06	-	-	0,29-1,51	Bernini <i>et al.</i> (2006)
		China	Ilha Hainan	-	6,3	0,02	-	-	Lian <i>et al.</i> (1999)
		China	Baía Shenzhen	0,136	38,3	28,7	7,97	537,0	Zheng & Lin (1996 a,b)
		Austrália	Newington North	-	0,11	0,025	-	-	MacFarlane & Burchett (2002)
		China	Dongzhaigang	-	-	-	-	-	Ding <i>et al.</i> (2011)
		China	Daguanasha	-	-	-	-	-	Ding <i>et al.</i> (2011)
		Arábia Saudita	Costa Saudita	-	4,4	6,9	-	-	Sadiq & Zaidi (1994)
		China	Ting Kok	-	16,0	-	-	-	Chen <i>et al.</i> (2003)
		Austrália	Costa Oeste	-	7,3	1,1-4,7	-	-	Alongi <i>et al.</i> (2005)
		China	Baía Shenzhen	-	5,2	1,9	-	-	Peng <i>et al.</i> (1997)
		Paquistão	Karachi	-	3,2-14,0	11,0-23,0	-	-	Zahir <i>et al.</i> (2004)
		Austrália	Costa Sudeste	-	3,0-20,0	0,1-2,9	-	-	MacFarlane & Burchett (2002)
		Austrália	Costa Sudeste	-	9,0	5,0	-	-	MacFarlane <i>et al.</i> (2003)
		Austrália	Costa Norte	-	9,8-26,0	-	-	-	Saenger <i>et al.</i> (1990)
		Índia	Orissa	-	2,9	-	-	-	Saranghi <i>et al.</i> (2002)
Acanthaceae	<i>Avicennia officinalis</i>	Índia	Kerala	-	102	168	-	-	Thomas & Fernandez (1997)
		Brasil	Rio Cubatão (SP)	0,14-0,46	0,925-2,52	0,86-7,26	0,695-4,825	-	Ramos (2005)
		Brasil	Rio Cubatão (SP)	0,138-0,464	0,925-3,35	0,865-7,265	0,695-4,825	-	Ramos <i>et al.</i> (2007)
		Brasil	Estuário do Rio São Mateus (ES)	-	0,01-0,03	-	-	0,63-1,83	Bernini <i>et al.</i> (2006)
		Brasil	Cubatão (SP)	0,349 (0,029-1,01)	2,135 (0,10-6,18)	3,715 0,52-9,1	3,260 (0,29-7,91)	-	Ramos & Geraldo (2007)
		Brasil	Baía da Guanabara (RJ)	-	1,7-8,0	2,3	-	5,0-69-5	Machado <i>et al.</i> (2002)
		Brasil	Baía da Guanabara (RJ)	-	3,2-7,7	0,6-1,3	-	10,6-28,0	Machado <i>et al.</i> (2002)
		Brasil	Baía da Guanabara (RJ)	-	1,7-10,0	<0,01-1,0	-	39,3-54,7	Machado <i>et al.</i> (2002)
		Brasil	Baía da Guanabara (RJ)	-	2,6-7,0	1,2-8,9	-	27,7-49,3	Machado <i>et al.</i> (2002)
		Brasil	Rio Cubatão (SP)	0,112-0,4	0,735-2,55	1,8-8,7	0,16-2,935	-	Ramos (2005)
		Brasil	Rio Cubatão (SP)	0,112-0,4	0,735-2,55	1,8-8,7	0,16-2,935	-	Ramos <i>et al.</i> (2007)
		Brasil	Estuário do Rio São Mateus (ES)	-	0,01-0,03	-	-	0,28-0,745	Bernini <i>et al.</i> (2006)
		Brasil	Cubatão (SP)	0,261 (0,019-0,759)	1,382 (0,13-3,71)	5,25 (1,8-8,7)	1,955 (0,22-4,95)	-	Ramos & Geraldo (2007)
		Panamá	Baía Punta Mala	-	3,7	6,1	-	-	Defew <i>et al.</i> (2005)
Meliaceae	<i>Xylocarpus granatum</i>	Índia	Orissa	-	2,1	-	-	-	Saranghi <i>et al.</i> (2002)
Myrsinaceae	<i>Aegiceras corniculatum</i>	China	Ting Kok	-	17,0	7,9	-	-	Chen <i>et al.</i> (2003)
		Austrália	Costa Norte	-	9,6	1,6	-	-	Saenger <i>et al.</i> (1990)
		China	Baía Shenzhen	-	4,1	-	-	-	Peng <i>et al.</i> (1997)
		China	Mai Po, Hong Kong	-	0,71	0,14	-	-	Ong Che (1999)
		China	Ilha Hainan	-	7,7	-	-	-	Lian <i>et al.</i> (1999)

Tabela XVIII - Continuação da página anterior

Família	Espécie	País	Localidade	Concentração de Metais					Autores (Ano)
				Cd	Cu	Pb (µg/g)	Cr	Mn	Hg (ng/g)
Rhizophoraceae	<i>Bruguiera cylindrica</i>	Índia	Orissa	-	1,9	-	-	-	Saranghi et al. (2002)
	<i>Bruguiera gymnorhiza</i>	China	Ilha Hainan	-	7,8	0,02	-	-	Lian et al. (1999)
	<i>Bruguiera sexangula</i>	China	Ilha Hainan	-	7,8	0,03	-	-	Lian et al. (1999)
	<i>Ceriops decandra</i>	Índia	Orissa	-	1,2	-	-	-	Saranghi et al. (2002)
	<i>Ceriops tagal</i>	China	Ilha Hainan	-	5,4	0,03	-	-	Lian et al. (1999)
		Austrália	Costa Norte	-	7,4-17,0	1,6-6,1	-	-	Saenger et al. (1990)
		China	Ting Kok	-	11,0	11,0	-	-	Chen et al. (2003)
		China	Baía Shenzhen	-	4,1	4,8	-	-	Peng et al. (1997)
		China	Mal Po	-	0,58	0,25	-	-	Ong Che (1999)
	<i>Kandelia candel</i>	China	Ilha Hainan	-	3,1	0,04	-	-	Lian et al. (1999)
		China	Estuário Tamshui	-	3,1-10,0	1,0-5,0	-	-	Chiu & Chou (1991)
		China	Fujian	-	0,07	0,04	-	-	Zheng & Lin (1996 a,b)
		China	Guangzhou	-	-	2,4	-	-	Miao & Chen (1998)
		China	Estuário Jiulong	0,094	29,7	18,3	4,73	583,0	Zheng et al. (1996 a, b)
	<i>Rhizophora apiculata</i>	China	Sanya	-	-	-	-	-	Ding et al. (2011)
		Brasil	Cubatão (SP)	0,463 (0,330-0,59)	2,06 (1,18-4,05)	4,705 (2,91-6,50)	3,5 (2,05 - 8,2)	-	Ramos & Geraldo (2007)
		Brasil	Conceição da Barra (ES)	-	0,01-0,02	-	-	1,27-2,60	Bernini et al. (2006)
		Brasil	Estuário de Potengi (RN)	1,26	2,68	-	-	332,0	Silva et al. (2006)
		Brasil	Baía de Sepitiba (RJ)	-	< 0,05	-	< 0,06	39,0-101,0	Silva et al. (1990)
Rhizophora mangrove		Brasil	Rio Mucuri (BA)	-	0,14	-	-	594,0	Cuzzuol & Rocha (2012)
		Brasil	Estuário do Rio Paraíba do Sul (RJ)	-	1,6-3,0	-	-	13,9-152-4	Ribas et al. (2006)
		Brasil	Rio Cubatão (SP)	0,076-0,46	0,73-2,05	0,53-6,04	0,73-2,905	-	Ramos (2005)
		Brasil	Rio Cubatão (SP)	0,076-0,459	0,73-2,055	0,535-6,045	0,73-2,905	-	Ramos et al. (2007)
		Brasil	Estuário do Rio São Mateus (ES)	-	0,01-0,02	-	-	1,005-2,965	Bernini et al. (2006)
		Brasil	Fortaleza (CE)	5,37 (4,71-6,03)	18,49 (8,67-28,31)	-	1,77 (1,07-2,46)	-	Gonçalves et al. (2007)
		Brasil	Cubatão (SP)	0,274 (0,038-0,59)	1,437 (0,12-4,05)	3,525 (0,55-6,50)	2,965 (0,21-8,2)	-	Ramos & Geraldo (2007)
		China	Fugong	-	-	-	-	-	Ding et al. (2011)
	<i>Rhizophora stylosa</i>	China	Baía Yingluo	0,077	18,9	10,0	9,27	89,5	Wen-Jiaol et al. (1997)
		China	Ilha Hainan	-	2,4	0,04	-	-	Lian et al. (1999)
		China	Baía Yingluo	-	0,6	0,8	-	-	Zheng et al. (1997)
Sonneratiaceae	<i>Sonneratia caseolaris</i>	Austrália	North Coast	-	16,0	2,2	-	-	Saenger et al. (1990)
	<i>Sonneratia ovata</i>	China	Ilha Hainan	-	6,8	0,03	-	-	Lian et al. (1999)
		China	Ilha Hainan	-	7,4	0,02	-	-	Lian et al. (1999)

Tabela XIX - Revisão da contaminação do sedimento de manguezal, representada pela média e/ou variação (mínimo - máximo).

País	Localidade	Cd (µg/g)	Cu (µg/g)	Pb (µg/g)	Cr (µg/g)	Mn (µg/g)	Hg (ng/g)	Autor (Ano)
Austrália	Baía Moreton	0,4 ± 0,4	< 0,5-13,0	-	2,0-24,0	4,0-397,0	-	Preda & Cox (2002)
	Pará	-	-	-	-	-	0,03 (0,026-0,035)	Vilhena <i>et al.</i> (2003)
	Delta do Rio São Francisco (SE)	-	0,2-23,2	-	-	-	-	Semensatto-Jr (2006)
Brasil	Baía de Canamu (BA)	0,454 (0,11-1,0)	3,49 (0,14-5,82)	59,26 (0,39-314,82)	10,44 (0,17-33,54)	45,42 (8,24-90,07)	-	Oliveira <i>et al.</i> (2009)
	Estuário do Rio Maragolipe (BA)	0,06	15,0	9,6	73,2	-	-	Queiroz (1992)
	Estuário do Rio Santo Amaro (BA)	9,4	56,8	95,0	142,1	-	-	Paredes <i>et al.</i> (1995)
	Estuário do Rio Joanes (BA)	0,59	11,8	18,72	15,73	-	-	Santos (1997)
	Estuário do Rio Itanhém (BA)	-	8,73	29,16	69,2	70,0	-	Araújo (2000)
	Baía Sepetiba (RJ)	0,164 (0,1-0,6) 9233 (0,03-45,65)	0,923 (0,5-3,3) 0,499 (< 0,01-2,04)	3,98 (1,1-12,0) 11,013 (0,73-42,07)	5,50 (4,3-17,2) 13,683 (0,34-44,17)	24,5 (1,1-90,0)	17-197	Marins <i>et al.</i> (1999)
	Porto de Niterói (RJ)	-	35,0-145,0	-	75,0-230,0	-	-	Vilela <i>et al.</i> (2004)
	Enseada Jurujuba (RJ)	-	5,0-213,0	-	10,0-223,0	10,0-414,0	-	Baptista-Neto <i>et al.</i> (2000)
	Rio São João do Meriti (RJ)	-	-	-	-	-	32,0-338,0	Barrocas <i>et al.</i> (1998)
	Estuário Santos - São Vicente (SP)	< 0,01-1,6	-	13,0-109,0	-	-	575,0 285,0	UNEP (2000)
	Rio Cubatão e Mogi (SP)	0,13-3,50 0,966 (1,92-2,91)	- 5,312 (1,98 ± 11,89)	10,2-153,0 39,195 (27,78-50,61)	-	15,776 (6,79-30,76)	-	Luiz-Silva <i>et al.</i> (2002)
	Rio Ribeira de Iguape (SP)	-	59,97 (< 0,01-79,95)	129,95 (< 0,01-278,48)	572,99 (342,98-684,17)	-	-	Oliveira <i>et al.</i> (2009)
	Cananéia (SP)	0,078 (0,11-0,27)	-	7,399 (2,42-30,85)	-	-	-	Hortellani <i>et al.</i> (2008)
	Ilha do Cardoso (SP)	0,01-30,9	0,01-27,2	-	0,01-88,0	11,2-320,0	-	Fortunato <i>et al.</i> (2008)
	Ilha do Cardoso (SP)	-	-	-	-	-	0,3 (0,05-0,56)	Ferrer (2001)
	Lagoa dos Patos (RS)	-	-	-	-	-	20-178,4	Sousa (2011)
								Amorim <i>et al.</i> (2008)
								Semensatto-Jr. <i>et al.</i> (2007)
								Amorim <i>et al.</i> (2008)

Tabela XIX - Continuação da página anterior

País	Localidade	Cd (µg/g)	Cu (µg/g)	Pb (µg/g)	Cr (µg/g)	Mn (µg/g)	Hg (ng/g)	Autor (Ano)
China	Mai Po, Hong Kong	1,1-1,4	49,65-79,25	63,9-188,95	14,9-62,8	-	-	Ong Che (1999)
	Hong Kong	6,99 (0,22-37,67)	23,57 (0,86-75,5)	30,09 (1,38-85,4)	15,97 (0,37-129,0)	-	-	Tam <i>et al.</i> (2000)
	Sai Keng, Hong Kong	-	12,36 (1,1-41,2)	58,23 (7,6-240,9)	-	97,93 (34,0-262,6)	-	Tam <i>et al.</i> (1995)
	Sai Keng, Hong Kong	0,462 (0,55-1,30)	3,067 (1,49-4,22)	-	4,92 (0,63-9,94)	-	-	Yim <i>et al.</i> (1999)
	Estuário do Rio Pearl	4,21 (3,52-5,82)	64,5 (49,6-86,8)	35,3 (20,6-65,0)	85,0 (47,5-117,0)	-	-	QuSheng Li <i>et al.</i> (2007)
	Estuário do Rio Pearl	-	18,5-50,2	-	-	-	-	Li <i>et al.</i> (2001)
Colômbia	Hong Kong	-	1,1-41,2	-	-	34,0-223,0	-	Tam & Wong (1995)
	Rio Sevilla	0,2-3,2	-	4,9-74,7	-	-	-	Parra & Espinosa (2008)
Cuba	Baía de Manzanillo	-	0,624	0,674	-	-	-	Infante <i>et al.</i> (2002)
Emirados Árabes	Abu-Dhabi	5,17 (3,64-6,94)	8,32 (6,33-20,1)	37,3 (23,0-43,9)	10,2 (8,28-14,0)	39,9 (28,8-119,0)	-	Darwish <i>et al.</i> (2005)
	Umm al-Quwain	4,49 (3,12-6,60)	6,31 (7,57-19,8)	26,1 (20,8-34,1)	11,7 (8,50-16,3)	95,20 (43,1-138,0)	-	
	Ras al-Khaimah	4,93 (3,48-5,74)	9,14 (5,31-21,4)	28,6 (20,6-34,8)	14,1 (9,36-18,9)	111,0 (55,4-169,0)	-	
	Khor Khuwair	4,68 (3,32-5,32)	9,16 (5,33-29,4)	20,4 (13,2-29,8)	11,7 (8,82-18,6)	83,14 (55,2-112,0)	-	
Espanha	Enseada de San Simón	1,0-1,4	2,0-58,0	-	2,0-61,0	39,0-270,0	-	Evans <i>et al.</i> (2003)
Estados Unidos	Laguna Madre	< 0,01-2,7	< 0,60-18,5	-	< 1,5-35,4	9,7-150,0	-	Sharma <i>et al.</i> (1999)
	Laguna Indian River	< 0,01-0,75	0,6-206	-	5,1-104,0	30,0-446,0	-	Trocine & Trefry (1996)
Grécia	Porto de Rodas	0,03-0,10	38,3-101,0	-	19,4-118,0	138,0-208,0	-	Angelidis & Aloupi (1995)
	Porto de Mitilini	0,05-0,50	9,4-67,9	-	44,6-154,0	201,0-360,0	-	Aloupi & Angelidis (2001)
Guiana Francesa	Rio Kaw	-	-	0,13 (0,08-0,27)	1,07 (0,76-1,29)	9,63 (4,36-16,4)	0,27 (0,23-0,33)	Marchand <i>et al.</i> (2006)
	Rio Sinnamary	-	-	0,13 (0,08-0,18)	1,15 (0,61-1,40)	9,82 (21,8-45,4)	0,41 (0,15-2,57)	
Índia	Godavari	6,01-8,50	26,5-39,0	0,52-5,50	-	17,50-143,0	-	Ray <i>et al.</i> (2005)
Inglaterra	Estuário Tees	2,6-9,8	25,0-262,0	-	577 ± 36	-	-	Jones & Turki (1997)
Irã	Província Hormozgan	0,03-0,834	0,08-10,06	0,22-8,04	-	-	-	Parvaresh <i>et al.</i> (2010)
	Sirik Azini Creek	0,48 (0,02-1,3)	5,43 (0,33-13,0)	4,13 (0,03-8,8)	-	-	-	Parvaresh <i>et al.</i> (2010)
Itália	Laguna Veneza	0,5-70,2	-	-	-	-	-	Bellucci <i>et al.</i> (2002)
México	Laguna La Paz	1,96-5,73	2,5-30,4	-	-	-	-	Shumilin <i>et al.</i> (2001)
Nova Caledônia	Nova Caledônia (micromol/grama)	-	-	-	31,91 (20,18-40,22)	8,81 (2,21-20,99)	-	Marchand <i>et al.</i> (2006)
Quênia	Enseada de Port-Reitz	< 0,01-9,3	2,3-156,0	-	-	-	-	Kamau (2002)
Venezuela	Golfo de Cariaco	53,45 (53,38-53,56)	116,26 (115,40-117,42)	85,10 (84,28-86,25)	84,72 (84,31-85,26)	-	-	Martínez & Stern (2002)

Apesar do exposto anteriormente, especula-se sobre o potencial impacto poluente dos seis metais estudados nos compartimentos abióticos dos sistemas estuarinos avaliados para o Estado de São Paulo. O Quadro 3 sumariza a qualidade ambiental dos compartimentos abióticos (água e sedimento) nas áreas (localidades) e subáreas de manguezal, com base nas concentrações máximas observadas para os metais no sedimento (PEL e TEL, segundo a ENVIRONMENTAL CANADA, 1999) e na água (BRASIL, 2005).

As amostras de água obtidas em Bertioga e Cubatão evidenciaram concentrações de cobre que superam em até duas vezes o valor estabelecido pelo BRASIL (2005) para este metal para águas salobras. No entanto, tal fato não foi verificado para a subárea 1 de Bertioga, que por estar localizada próximo a foz estuarina (3km do mar), pode ter sofrido influência da entrada da cunha salina, não repercutindo em valores que ultrapassassem o limite de qualidade de água para este metal. Por se tratar de um metal de amplo emprego industrial e doméstico, inclusive como fungicida/algicida em piscinas (p. ex., sulfato de cobre) ou mesmo na forma metálica (tubulações, utensílios e fiação), este contaminante também costuma estar presente no lixo doméstico e em esgotos (LAMPARELLI *et al.*, 2001). Na indústria este metal é encontrado habitualmente em refinarias, siderúrgicas e indústrias de papel e celulose. Em Cubatão, o cobre é detectado em efluentes da Companhia Santista de Papel, RPBC-PETROBRÁS, USIMINAS, Dow Química e provenientes de alguns terminais portuários de granéis líquidos. No entanto, ainda não foi possível esclarecer o motivo das altas concentrações do cobre em Bertioga, já que este município carece de indústrias poluidoras, a exemplo do que ainda ocorre em Cubatão. No entanto, a presença de metais no chorume (fase líquida resultante da decomposição do lixo orgânico), oriundo de lixões e aterros sanitários (CASTILHOS-JÚNIOR, 1988), bem como de esgotos lançados diretamente nos rios, estuários ou no próprio sem o devido tratamento (LAMPARELLI *et al.*, 2001), podem ser fontes representativas desses poluentes. O depósito inadequado desses resíduos sólidos promove liberação do chorume, que percolando no sedimento local pode alcançar as águas subterrâneas e corpos d'água adjacentes, como lagos, rios e estuários (HAMADA, 1999; OLIVEIRA & JUCÁ, 2004; CELERE *et al.*, 2007). Neste sentido, avaliando os resultados obtidos e as informações disponíveis em artigos e documentos, acredita-se que em Cubatão a fonte deste metal (e de outros) tenha origem industrial, enquanto

em Bertioga existem indícios plausíveis de que a origem seja doméstica, proveniente de esgotos e do chorume de lixões, mesmo que atualmente desativados (Figura 49).

Quadro 3 - Qualidade das áreas e subáreas de estudo com base nas concentrações máximas observadas para os metais dosados que ultrapassaram (vermelho) ou não (verde) os limites estabelecidos por Hortellani *et al.* (2008) (PEL e TEL) para sedimento e para água pela Resolução CONAMA nº 357/05 (Classe 1). *** Ausência de valores de referência.

Metal	Compartimento	Máx.	Bertioga	Cubatão	São Vicente	Juréia	Iguape	Cananéia
Cu	Água	0,046	2+3	1+2+3				
	Sedimento	9,529						
Pb	Água	0,209	1+2+3	1+2+3				
	Sedimento	12,341						
Cd	Água	0						
	Sedimento	0,98	1+2+3	1+2+3				
Mn	Água	0,004						
	Sedimento	263,193	***					
Cr	Água	0						
	Sedimento	25,417						
Hg	Água	0						
	Sedimento	468,983	2+3	1+2+3	1+2		1+2+3	2+3

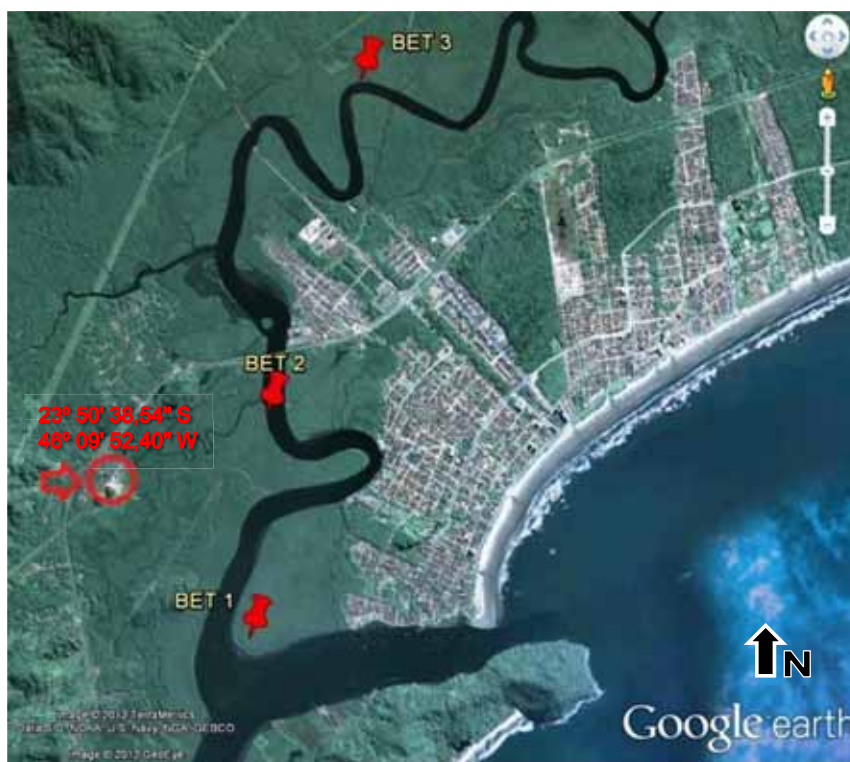


Figura 49 - Subáreas do presente estudo em Bertioga (SP) e sua localização em relação ao antigo lixão de Bertioga (círculo com seta à esquerda, 23° 50' 38,54" S e 46° 09' 52,40" W), que está desativado desde 1999 (modificado de Google Earth).

O chumbo foi outro metal registrado em concentrações acima daquelas permitidas pelo BRASIL (2005) para amostras de água salobra em Cubatão e Bertioga, para todas as subáreas de coleta. Como este metal tem elevada massa molar (207,19) e, portanto, não apresenta grande dispersão ambiental, sua concentração tende a ficar mais próxima à fonte de descarga, diminuindo gradativamente a partir dela (WHO, 1989). No caso específico de Cubatão, uma das possíveis fontes de chumbo seriam as emissões atmosféricas, particularmente quando o chumbo era adicionado como antidetonante à gasolina, podendo acrescer este metal ao solo e águas superficiais da região e, conseqüentemente, nos estuários e oceanos (KENNISH, 1997). Outra atividade antrópica que traria contaminação por chumbo são os procedimentos associados ao empilhamento e encaixe de placas / solda de terminais, quando ocorre a liberação de pós contendo este metal sob a forma de óxidos ou metálicos (QUITERIO, 2000). Assim, a contaminação de Pb em Bertioga pode ter a mesma origem já citada para o cobre, sendo resultante do chorume, cuja composição química varia em função da idade do aterro e de eventos pré-amostragem (HAMADA, 1999). CASTILHOS-JÚNIOR (1988) registrou elevados níveis de chumbo associados à matéria orgânica (fonte principal) e a resíduos plásticos. Em suma, a presença de Cu e Pb acima dos limites de concentração estabelecidos para a água (BRASIL, 2005), indica que a(s) fonte(s) poluentes ainda esteja(m) ativa(s), com lançamento bruto e sem tratamento no sistema estuarino de Cubatão e Bertioga. Segundo SCHROPP *et al.* (1990), geralmente a presença de metais na água está associada a contaminação atual, considerando o curto período de residência que estes metais possuem.

Para os outros metais (Cd, Cr, Mn e Hg) as concentrações foram pouco expressivas e abaixo dos limites estabelecidos pelo BRASIL (2005) nas amostras de água de Cubatão e São Vicente, mesmo quando suas águas são referenciadas como salobras (Classe 1), diferindo do conhecido histórico de contaminação para estas áreas (CETESB, 2001).

Em relação à qualidade dos sedimentos dos manguezais estudados, 33% das subáreas apresentaram valores de cádmio acima do TEL (Cubatão e Bertioga), demonstrando valores supostamente inferiores aos esperados como causadores de efeitos adversos sobre organismos aquáticos (ENVIRONMENTAL CANADÁ, 1999). Portanto, ainda que as dosagens

estejam acima do TEL, os sedimentos nestas duas localidades de manguezal poderiam, ainda, ser qualificados como adequados para este metal, segundo a legislação estrangeira (ENVIRONMENTAL CANADA, 1999).

Para o manganês não existem valores orientadores de TEL e PEL, impedindo conjecturas sobre a toxicidade das concentrações registradas nas áreas de manguezal em avaliação. No entanto, destacam-se as elevadas concentrações de Mn registradas nos sedimentos de Iguape (88,8 a 223,5 µg/g), seguido daqueles da Juréia, São Vicente e Cananéia (7,9 a 135,9 µg/g), contrastando com os valores reduzidos registrados em Cubatão e Bertioga (0,37 a 0,89 µg/g). É conhecido o efeito sinérgico entre alguns metais, que pode potencializar um efeito, o que iria requer uma avaliação mais pormenorizada para esclarecer o fato dessas duas áreas, caracterizadas por maior poluição por metais, apresentarem menores dosagens de manganês.

Para o mercúrio foi verificada uma hierarquia crescente de suas concentrações em três áreas (Cubatão > São Vicente > Iguape), com valores médios que superando o de TEL. Como verificado para o cádmio, essas áreas seriam classificadas como de boa qualidade, segundo os critérios estabelecidos pela ENVIRONMENTAL CANADA (1999). Contudo, segundo CHOUERI *et al.* (2009), os valores do TEL canadense, equivalem ao PEL do Atlântico Sul, evidenciando que as concentrações de cádmio e mercúrio registradas no presente estudo causem efeito adverso à comunidade biológica dos sistemas estuarinos paulistas.

5.4. Contaminação por metais na espécie *U. cordatus* e qualidade da carne para consumo humano

No presente estudo os testes de Mantel revelaram indiretamente que a contaminação abiótica (água e sedimento) por metais determinaram seu acúmulo nos compartimentos bióticos (folhas e caranguejo), que também foram alvo do presente estudo. Tal fato confirma bases científicas da ecotoxicologia, que trata dos processos de transferência desses elementos químicos do ambiente para os organismos (LUOMA & RAINBOW, 2008). No mesmo sentido, o presente estudo também confirmou que as concentrações de metais em *U. cordatus* são melhor explicadas pelas dosagens desses poluentes nas folhas de *R. mangle*, do que nas amostras de água e sedimento. Assim, o uso

deste item alimentar pelo caranguejo determina grande parte da acumulação de metais nos exemplares analisados. Esta informação é concorde aos resultados obtidos por CHRISTOFOLETTI *et al.* (2013), que encontrou nas folhas das árvores de manguezal o principal item alimentar de *U. cordatus*. Obviamente, não se pode deixar de se considerar que tal realidade relaciona-se com os metais e tecidos do caranguejo escolhidos para as análises, uma vez que se fossem dosados outros metais (como por exemplo, o Zinco e o Arsênio) e também quantificadas outras estruturas (como por exemplo, as brânquias e a carapaça), as principais vias de entrada poderiam ser diferentes, conforme alertado por LUOMA & RAINBOW (2008).

Para *U. cordatus*, o conhecimento da concentração de metais e outros contaminantes em sua carne (musculatura), vísceras (principalmente hepatopâncreas e gônadas) e até mesmo em seu exosqueleto, são informações extremamente relevantes à melhor avaliação da qualidade dos produtos gerados de seu processamento. Importante ressaltar que o caranguejo-uçá é utilizado como alimento humano, principalmente pelas comunidades tradicionais litorâneas, muitas vezes consistindo em sua principal fonte protéica de subsistência (COSTA-NETO & GORDIANO-LIMA, 2000; JORGE *et al.*, 2002; ALVES & NISHIDA, 2003; BEZERRA-SOUTO, 2007). Além deste crustáceo, várias espécies de peixes, siris e bivalves representam atividade econômica para 46% das famílias em seis bairros próximos aos manguezais de Cubatão, que deles retiram seu sustento. Tal população humana é caracterizada por seu menor poder aquisitivo (SANTOS-FILHO *et al.*, 1991; GUTBERLET, 1996), utilizando recursos pesqueiros oriundos de sua própria região de moradia, seja como fonte de renda ou alimento, que podem ser passíveis de contaminação. No caso do caranguejo-uçá, o principal produto de consumo seria sua carne, embora em algumas localidades brasileiras (p. ex., sul do Estado de São Paulo) também se registre o consumo humano de suas vísceras previamente cozidas, diretamente na casca, com a adição de farinha de mandioca (Marcelo Pinheiro, *obs. pess.*). Portanto, a contaminação do hepatopâncreas, glândula do intestino médio que compreende o maior percentual de preenchimento da cavidade caelotorácica, pode ser uma das fontes de acumulação de metais e outros poluentes ao consumidor direto.

A tabela XX resume as concentrações obtidas em “screening” realizado em três estruturas corpóreas de *U. cordatus* por PINHEIRO *et al.* (2012), para

Cubatão (SP), assim como no presente estudo, em confronto aos limites permissíveis pela legislação brasileira para alimentos. Desde 1965 o Brasil vem regulamentado as concentrações máximas de metais, através do Decreto nº 55.871-65, de 27/03/1965, que figuram para Cd, Cr, Cu e Pb ($\mu\text{g/g} = \text{ppm} = \text{mg/Kg} = \text{mg/L}$) e Hg (ng/g), mas não para o manganês (BRASIL, 1965). Mais recentemente, a Portaria ANVISA nº 685 também estabelece níveis máximos de contaminantes (Cu, Cd, Pb e Hg) em alimentos (BRASIL, 1998).

As amostras do caranguejo-uçá sugerem contaminação por cromo, encontrado em concentração três vezes superior à permitida na carne e quase seis vezes no hepatopâncreas (PINHEIRO *et al.*, 2012). No presente estudo, considerando seis áreas de manguezal paulistas, foi verificado que a concentração média de Cr supera o dobro da concentração aceitável no hepatopâncreas. Neste sentido, espera-se que o consumo excessivo destes animais possa causar problemas à saúde humana (SILVA & PEDROZO, 2001). De acordo com SHRIVASTAVA *et al.* (2002) e SANTONEN *et al.* (2009) o Cr(III) é essencial ao organismo humano por potencializar a ação da insulina, impactando o metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas. No entanto, estes autores também mencionam o efeito genotóxico do cromo (III ou VI) sobre a saúde humana, sendo carcinogênico, particularmente àqueles que trabalham em curtumes, minas de cromita, laboratórios dentários ou que vivam próximo a lixões. Este último caso foi registrado em algumas áreas de manguezal, como Bertioga, o que denota importante fonte de preocupação à saúde pública. A alta acumulação de cromo pelos caranguejos é um fato interessante, possivelmente decorrente de sua ineficácia fisiológica à excreção deste metal. CORRÊA *et al.* (2005) verificaram que *U. cordatus* expostos por cromo em um experimento agudo mostraram absorção seguindo o seguinte padrão hierárquico: brânquia > hepatopâncreas > musculatura. PEREIRA *et al.* (2012) encontraram concentrações de cromo que também ultrapassaram os limites estabelecidos na espécie de mexilhão *Perna perna* em ambientes marinhos considerados conservados, como por exemplo em Ubatuba (SP). Talvez as concentrações deste metal essencial possuam uma origem natural na região, entretanto, para uma afirmação seriam necessários estudos a respeito do *background*, como aqueles que vêm sendo conduzidos recentemente no Estado de São Paulo pela Dra. Alethéa Martins, pesquisadora do Instituto Geológico, com previsão para término em 2020.

Embora o manganês tenha apresentado valores expressivos nos tecidos analisados pelo *screening* para Cubatão (SP) ou no presente estudo, não é possível fazer menção sobre sua contaminação, pois não existem limites estabelecidos pela legislação brasileira para este metal em pescados.

Segundo ONDER & DURSUN (2006), alguns metais são considerados contaminantes perigosos devido a sua meia-vida relativamente longa, como para o cádmio, que tem meia-vida de 10 anos (SALT *et al.*, 1995). A carcinogênese humana por efeito de concentrações de Cd, Cr e Cu acima do normal tem sido citada por alguns autores, entre eles DAS *et al.* (1997). PINHEIRO *et al.* (2012) encontraram estes metais acima dos limites estabelecidos no Decreto nº 55.871/1965 e na Portaria ANVISA nº 685/1998 (BRASIL, 1965; 1998) nas brânquias (cobre), musculatura (cádmio) e hepatopâncreas (cromo) nos manguezais de Cubatão.

Tabela XX - Médias (amplitude entre parênteses) para a concentração de seis metais em estruturas corpóreas do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*), obtidas em Cubatão (SP) por PINHEIRO *et al.* (2012), confrontadas aos resultados do presente estudo e com os limites de concentração máxima permitidos pelas legislações em vigor (Decreto nº 55.871/1965 e Portaria ANVISA nº 685/1998, conforme BRASIL, 1965; 1998).

Origem	Estruturas Corpóreas	Concentração (µg/g)					Hg (ng/g)
		Cu	Pb	Cd	Cr	Mn	
PINHEIRO <i>et al.</i> (2012) (Cubatão, SP)	Brânquias	23,11 (11,43-40,49)	<0,05	0,12 (0,06-0,33)	0,44 (0-0,94)	7,26 (2,83-12,85)	<0,001
	Musculatura	5,4 (3,77-7,34)	<0,05	0,09 (0-0,16)	0,31 (0-0,59)	4,37 (0,92-8,92)	<0,001
	Hepatopâncreas	6,48 (3,83-8,93)	<0,05	0,14 (0,07-0,29)	0,58 (0-1,99)	7,72 (1,99-18,65)	<0,001
Áreas no presente estudo	Musculatura	5,05 (0,95-11,97)	<0,05	<0,05	<0,05	0,52 (0-2,76)	0,011 (0-0,049)
	Hepatopâncreas	5,74 (1,37-29,27)	<0,05	<0,05	0,22 (0-1,68)	4,11 (1,15-21,59)	0,022 (0-0,055)
Legislação		30	2	1	0,1	*	0,5

* Ausência de informação segundo a legislação em vigor (Decreto nº 55.871/1965 e Portaria ANVISA nº 685/1998)

5.5. Geno e citotoxicidade na espécie *U. cordatus*, sua relação com as concentrações de metais e transferência esperada/aproximada nos compartimentos ambientais

O uso de biomarcadores é uma ferramenta promissora à detecção de efeitos adversos causados por poluentes aos organismos (AMIARD-TRIQUET *et al.*, 2011, 2013; AMIARD-TRIQUET & AMIARD, 2013). Os efeitos iniciais dos xenobióticos ocorrem inicialmente em processos bioquímicos e moleculares da célula, podendo alterar funções metabólicas dos organismos expostos (RAINBOW, 2007; PINHEIRO, *et al.*, 2013). A ideia dos biomarcadores é detectar precocemente tais perturbações subletais, que podem direcionar a impactos populacionais ou, até mesmo, em comunidades inteiras (AMIARD-TRIQUET *et al.*, 2012).

No entanto, após a entrada dos metais nas células dos caranguejos, seja por contato, absorção ou ingestão (RAINBOW, 1997; AHEARN *et al.*, 2004), as concentrações que superam a capacidade fisiológica de uso/excreção pelo animal (metais essenciais) ou tóxicos (metais não essenciais), podem ser imobilizadas por processos de detoxificação, evitando-se, assim, danos subletais. Concentrações elevadas de Cu, Zn, Cd e Hg podem sensibilizar as células a sintetizarem proteínas de baixo peso molecular, conhecidas como metalotioneínas (ENGEL & ROESIJADI, 1987; BAYNE *et al.*, 1988; VIARENGO, 1989), que se ligam a esses metais e inviabilizam suas propriedades tóxico-deletérias ao animal (ROESIJADI, 1992; VIAREGO & NOTT, 1993; HAMER, 1996). Tal fato é potencializado pela eliminação dos níveis metálicos excedentes por ação dos lisossomos, com sequestro por vacúolos específicos (AHEARN *et al.*, 2004). Outros metais podem, ainda, ser transportados para áreas de detoxificação específicas (p. ex., hepatopâncreas nos crustáceos decápodos), onde podem formar grânulos metálicos (como ocorre com o ferro, segundo CORRÊA-JÚNIOR *et al.*, 2000), com minimização de seus efeitos tóxicos, ali permanecendo temporária ou permanentemente (RAINBOW, 2007). De acordo com este autor, a toxicidade orgânica de um metal é diretamente relacionada à concentração metabolicamente disponível, que ocorre quando a taxa de absorção excede a de sua excreção e/ou detoxificação. Contudo, existem custos biológicos associados a tais tentativas de excreção e/ou detoxificação (AHEARN *et al.*, 2004; AMIARD-TRIQUET *et*

al., 2013). Alguns exemplos indiretos já estão disponíveis na literatura, como a diminuição de locomoção, elevação do consumo de oxigênio/energia, maior acesso às reservas energéticas (glicogênio), aumento da intensidade alimentar e alterações no crescimento (MCGEER *et al.*, 2000). Uma redução do sucesso reprodutivo (p. ex., fecundidade, fertilidade, viabilidade larval) também tem sido registrada, assim como maior sensibilidade e suscetibilidade ao estresse térmico e luminoso (XIE & KLEKS, 2004), crucial em tempos de diminuição da camada de ozônio e aquecimento global (HARTMANN *et al.*, 2000). Em outros casos, são formados metabólitos cancerígenos e de estresse oxidativo, que podem ser até mais tóxicos do que o próprio metal (AMIARD-TRIQUET *et al.*, 2011). Neste sentido, a menor densidade de caranguejos no manguezal de Cubatão, quando confrontado àquelas de Juréia-Itatins e Cananéia, no presente estudo, poderia refletir a contaminação histórica do sistema estuarino de Santos consorciado ao custo biológico de defesa desses animais, atuando negativamente sobre a população neste estuário contaminado (AHEARN *et al.*, 2004; AMIARD-TRIQUET *et al.*, 2013).

Já os danos subletais, como os genômicos, podem levar à erosão genética e, sobretudo, comprometer a capacidade de resiliência da espécie às pressões seletivas do ambiente (BIJLSMA & LOESCHCKE, 2012). No caso do ensaio vermelho neutro, os danos fisiológicos são quantificados por avaliação do tempo de viabilidade da membrana lisossômica dos hialinócitos (LOWE *et al.*, 1995). Tais danos ocorrem por peroxidação lipídica (lipoperoxidação) por radicais livres às membranas celulares, acarretando em alterações estruturais e de permeabilidade, resultando em apoptose celular. A peroxidação lipídica está associada ao envelhecimento e câncer, como também podem ter relação à toxicidade promovida por poluentes (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

A escolha dos biomarcadores para avaliar danos subletais na espécie *U. cordatus* foi estratégica, pois segundo BONASSI *et al.* (2000), NERI *et al.* (2003) e SVENDSEN *et al.* (2004), a citotoxicidade e genotoxicidade podem levar a morte celular, direcionando um impacto em cascata, causando danos aos tecidos, órgãos, ao próprio indivíduo e, conseqüentemente, à população e comunidades. Diante da relevância ecológica dos biomarcadores utilizados, se faz aqui uma menção à conservação das áreas de manguezal com base nas respostas biológicas observadas. Assim, a citotoxicidade para *U. cordatus* (ensaio vermelho neutro) apresentou uma hierarquia decrescente de

conservação entre as áreas de manguezal (Cubatão>Bertioga>São Vicente>Iguape>Cananéia>Juréia), com situação similar quanto à genotoxicidade (teste de micronúcleo), expressa pela hierarquia: São Vicente>(Cubatão=Bertioga=Iguape)>(Juréia=Cananéia). Os resultados se coadunam com o histórico de contaminação de cada área de manguezal, sendo inclusive evidenciada uma correlação negativa significativa entre estes biomarcadores, além de mostrar resultados similares quanto a indicação de áreas mais degradadas ou conservadas.

Sabe-se da plasticidade do ensaio vermelho neutro em responder efetivamente a impactos citotóxicos frente à contaminações de diversas origens (orgânicas ou inorgânicas) (SVENDSEN *et al.*, 2004). No entanto, é ainda questionável a possível relação da genotoxicidade e uma contaminação específica por metais, o que poderia ter sido confirmada por outro biomarcador mais específico aos metais (metalotioneínas). Contudo, a literatura aponta essa associação por meio de diversos estudos com diferentes organismos e concentrações, seja para o chumbo (ÇELIK *et al.*, 2005; PIAO *et al.*, 2007; ALGHAZAL *et al.*, 2008; TAPISSO *et al.*, 2009; GARCÍA-LESTÓN *et al.*, 2010), cobre (FRANKE *et al.*, 2006; SERMENT-GUERRERO *et al.*, 2011), cromo (PAPAGEORGIOU *et al.*, 2007; PAPAGEORGIOU *et al.*, 2008), cádmio (SEOANE & DULOUT, 2001; BERTIN & AVERBECK, 2006; AHMED *et al.*, 2010; OTOMO & REINECKE, 2010), manganês (GAUTHIER *et al.*, 2004; ERBE *et al.*, 2011) e mercúrio (AL-SABITI & METCALFE, 1995; PORTO *et al.*, 2005; CAVAS, 2008). Segundo LUOMA & RAINBOW (2008), a típica ordem decrescente de toxicidade promovida por metais em organismos aquáticos é a seguinte: Hg > Ag > Cu > Cd > Zn > Ni > Pb > Cr > Sn. Tal hierarquia explicaria em parte o motivo pelo qual os animais pertencentes à área de São Vicente apresentaram um impacto genético maior do que as demais áreas.

No presente estudo foi possível constatar correlações positivas e significativas entre a quantidade de micronúcleos (MN‰) e as concentrações de Hg (sedimento), Pb (água e folhas verdes) e Cu (hepatopâncreas), como também correlações negativas significativas entre o tempo médio de retenção do vermelho neutro (VN) e as concentrações de Cu (sedimento e folhas - verdes e senescentes) e Pb (sedimento). Embora a correlação entre duas variáveis independentes não implique em causalidade (ZAR, 1999), esses resultados argumentam em favor de uma possível associação entre dano

genômico, integridade fisiológica e o aumento das concentrações desses metais nos compartimentos citados. Nota-se, também, que representantes de todos os compartimentos estiveram associados a geno e citotoxicidade da espécie. Portanto, a depleção genética e a integridade da membrana lisossômica podem estar relacionadas à contaminação por várias fontes, requerendo uma visão mais holística sobre a questão da poluição ambiental.

As concentrações de chumbo na água, acima dos limites estabelecidos pelo BRASIL (2005), podem estar relacionadas ao impacto genético, bem como à concentração deste metal no sedimento aos maiores danos fisiológicos registrados nessa espécie. A mesma ideia se aplica às dosagens excessivas deste metal nas folhas de *R. mangue*, embora não hajam parâmetros direcionadores de contaminação vegetal. No mesmo sentido, embora a boa qualidade dos manguezais possa ser assegurada pelas concentrações de Hg nas folhas (sem valores orientadores) ou no sedimento (abaixo dos limites permissíveis), o mesmo para o cobre no hepatopâncreas, estas concentrações podem ser determinantes da geno e citotoxicidade do caranguejo nos manguezais paulistas.

Destaca-se, também, que testes de genotoxicidade são altamente sensíveis a danos genômicos, mesmo quando os poluentes estão presentes em concentrações menores (MONSERRAT *et al.*, 2007). Por exemplo, as experiências conduzidas por SPONCHIADO *et al.* (2011) detectaram efeitos genotóxicos no peixe *Oreochromis niloticus*, mesmo quando submetidos a baixas concentrações de 17 β -estradiol (6 ng/L), após 24 horas de exposição. Diante deste cenário, acredita-se que embora as concentrações de metais sejam reduzidas, possivelmente tenha potencial para causar genotoxicidade nos organismos nessas áreas em estudo. No mesmo sentido, conforme já descrito anteriormente, a avaliação da integridade da membrana lisossomal (ensaio vermelho neutro) é um marcador fisiológico muito sensível, com maior capacidade de resposta quando o animal foi previamente exposto a uma maior gama de produtos químicos (LOWE *et al.*, 1995; SVENDSEN *et al.*, 2004). De qualquer forma, ambos os ensaios foram eficazes na indicação do impacto de toxicidade, sendo excelente procedimento ao reconhecimento de áreas de manguezal conservadas e contaminadas. Permite apontar, ainda, a espécie *U. cordatus* como excelente bioindicadora da conservação de manguezais.

Mais uma vez é importante ressaltar que os danos genéticos e menor integridade fisiológica podem ser resultantes do efeito sinérgico com outros poluentes presentes nas áreas de manguezal em estudo, haja vista o histórico de contaminação intrínseco à cada região (GUTBERLET, 1996). Entre outros poluentes destacam-se os óxidos de enxofre e nitrogênio, monóxido/dióxido de carbono, metano, hidrocarbonetos, organoclorados, fenóis clorados, fluoretos, aldeídos, ácidos e material particulado (CETESB, 2001, 2007). Portanto, é plausível considerar que tais compostos, não quantificados no presente estudo, possam também ter influenciado sinergicamente os impactos geno citotóxicos (MARCHAND *et al.*, 2013). FOSSI (2000) evidenciou, por exemplo, resposta positiva na formação de micronúcleos no caranguejo *Carcinus aestuarii*, quando contaminado por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), enquanto YAO *et al.* (2008) demonstraram uma significativa resposta ao tempo médio de retenção do vermelho neutro no camarão *Fenneropenaeus chinensis*, quando intoxicado com laminarin (polissacarídeo de glicose).

Com base na hierarquia de contaminação por metais por área de estudo (Cubatão = São Vicente > Bertioga > Iguape > Cananéia > Juréia), aliada à contaminação histórica por outros xenobióticos (p. ex., origem orgânica), o presente estudo recomenda valores orientadores para MN‰ e VN. Portanto, tal ação pressupõe categorias de danos genéticos e fisiológicos aos quais a espécie possa estar submetida, indicando, assim, áreas mais ou menos conservadas. Os dados obtidos puderam gerar uma tabela sinóptica (tabela XXI), que apresenta uma sugestão de valores orientadores para cada biomarcador avaliado no presente estudo (MN‰ e VN) para *U. cordatus*. Segundo os valores sugeridos e as categorias de conservação, os animais provenientes da Juréia e Cananéia caracterizam um impacto geno e citotóxico reduzido (ou nulo) e, portanto, os resultados dos biomarcadores para a espécie podem ser considerados de normalidade. No caso dos animais advindos de Iguape, por sua vez, os dados obtidos revelaram um dano subletal baixo provável, diferentemente do observado para os espécimes de Cubatão, Bertioga e São Vicente que apresentaram um alto impacto subletal provável, segundo as categorias estabelecidas neste estudo.

Tabela XXI - Sugestão de categorias de danos subletais (INP, impacto nulo provável; BIP, baixo impacto provável; e AIP, alto impacto provável) e os valores orientadores para micronúcleos (MN‰) e o tempo de retenção do vermelho neutro (VN, em min.) para *U. cordatus*, com base na contaminação por metais, seja ela observada (presente estudo) ou histórica (contaminantes orgânicos), nas áreas de manguezais do Estado de São Paulo (AOM, área de ocorrência média dos resultados dos biomarcadores).

Categorias de danos subletais	Genotoxicidade		Citotoxicidade	
	MN/1000	AOM	VN (min)	AOM
INP	< 3	JUR e CAN	> 150	JUR e CAN
BIP	3 a 5	IGU	100 - 150	IGU
AIP	> 5	CUB, SAV e BET	< 100	CUB, SAV e BET

No que se refere à genotoxicidade, SCARPATO *et al.* (1990) descrevem um valor de 4 MN‰ para a espécie de bivalve *Mytilus galloprovincialis* que não foi afetada por substâncias tóxicas (INP), sendo esperado que varie entre os diferentes grupos taxonômicos. Posteriormente, FOSSI *et al.* (2000) indicam que a frequência média basal de micronúcleos para o bivalve *Mytilus galloprovincialis* e para o caranguejo *Carcinus aestuarii* foi inferior a 4 MN‰. Já NUDI *et al.* (2010) apontaram *U. cordatus* como uma espécie de maior sensibilidade genética, fato confirmado no presente estudo, considerando que as frequências registradas nos manguezais de Cananéia e Juréia, que foram caracterizadas por menores quantidades de metais, foram inferiores a 2 MN‰. Portanto, assume-se esse valor como basal para *U. cordatus*, permitindo categorizar os exemplares oriundos dos manguezais de Cubatão e Bertioga com impacto genético quase três vezes superior à normalidade, enquanto para São Vicente este valor supera em quase quatro vezes tal limite. Como evidência alternativa, também para São Vicente (SP), PINHEIRO & TOLEDO (2010) apontaram uma frequência de 11,5 MN‰ para um único exemplar com malformação do quelípodo, superando em mais de cinco vezes o valor basal para excelência de qualidade ambiental.

No caso da integridade da membrana lisossômica, foi possível constatar um valor basal muito superior ao de outros estudos, sobre espécies de distintos grupos taxonômicos (PEREIRA, 2003; SVENDSEN *et al.*, 2004; BURATTI *et al.*, 2012). O siri *Carcinus maenas*, por exemplo, apresentou um tempo médio de 70 minutos para o tratamento controle (BURATTI *et al.*, 2012; AGUIRRE-MARTÍNEZ *et al.*, 2013). Excepcionalmente, YAO *et al.* (2008) chegaram a

encontrar um tempo médio de 205 minutos para o camarão *Fenneropenaeus chinensis*. Os manguezais da Juréia indicaram um tempo médio de retenção do corante de $320 \pm 42,7$ minutos. Durante o experimento, somente as lâminas da Juréia e Cananéia apresentaram extravasamento do corante do lisossomo para o citosol depois após cerca de três horas de exposição. Na ocasião, o encontro visual dos hialinócitos foi difícil, o que provavelmente pode ter ocorrido por dois motivos: 1) morte celular pela toxicidade do corante vermelho neutro, quando em contato novamente com o citosol; ou 2) o hialinócito promove expulsão do corante do líquido intra-celular para o meio externo, indicando uma maior resistência do caranguejo-uçá em áreas mais conservadas. Portanto, especula-se que os animais provenientes destas áreas possuam provavelmente uma membrana lisossômica mais íntegra, mantendo suas características físico-químicas e/ou biológicas normais. No entanto, estudos precisariam ser conduzidos a fim de corroborar tal suposição.

Complementarmente, além dos valores orientadores sugeridos para categorizar os níveis de impactos cito genéticos (*INP*, *BIP* e *AIP*) discutidos anteriormente, foram também associadas com as probabilidades esperadas/aproximadas de impactos genéticos e fisiológicos para concentrações de metais nos compartimentos abióticos caracterizados por correlação significativa com os danos subletais em *U. cordatus*. As probabilidades de impactos esperados acima de 70% se relacionaram com o *Alto Impacto Provável (AIP)* em todos os casos, reforçando os valores orientadores aqui sugeridos para a categorização.

O mercúrio apresentou uma probabilidade de impacto genético a 50% relacionado a uma concentração de 162,8 $\eta\text{g/g}$ no sedimento. O valor do TEL para este metal (130 $\eta\text{g/g}$) coincidiu exatamente com o início da categoria de Baixo Impacto Provável (*BIP*). Neste sentido, é muito provável que para *U. cordatus* o TEL e PEL reflitam um critério ideal ao acúmulo deste contaminante em manguezais. Os resultados obtidos no presente estudo ($\text{CG}_{50}=162,8 \eta\text{g/g}$) se relacionam também com os encontrados por CHOUERI *et al.* (2009). De acordo com estes autores, concentrações deste metal não essencial no sedimento, entre 80 e 320 $\eta\text{g/g}$, indicariam uma “contaminação moderada” e acima disto, uma “alta contaminação”. Contudo, a biodisponibilidade acaba

sendo tão importante quanto à dosagem deste contaminante (LUOMA & RAINBOW, 2008).

Devido à presença do chumbo ocorrer justamente em áreas consideradas de maior contaminação (Cubatão e Bertioga), não foi possível observar o comportamento das probabilidades em situações de *INP* (concentrações na água) e *INP* e *BIP* (concentrações no sedimento). Neste caso, as probabilidades de impacto geno e citotóxicas em 50% já se iniciaram em *AIP*, tanto na água como também no sedimento. A concentração obtida para tal probabilidade média foi bem acima de 0,01 µg/g, estabelecida pela resolução CONAMA nº 357/2005 como de qualidade para água salobra, além de bem abaixo dos valores de *TEL* e *PEL* (30 e 110 µg/g no sedimento, respectivamente). Contudo, os resultados obtidos no presente estudo ($CC_{50}=6,49$ µg/g) se coadunam ainda mais aos encontrados por CHOUERI *et al.* (2009), que revelam uma “contaminação moderada” deste metal não essencial relacionada às concentrações no sedimento variando entre 10,3 e 22,1 µg/g e, acima disto, indicando uma “alta contaminação”.

Portanto, em suma, os valores estabelecidos pela agência canadense para o metal chumbo estaria supostamente subestimados, pois com uma concentração quase que três vezes inferior ao *TEL*, a espécie *U. cordatus* já se encontraria sob situação de alto impacto fisiológico. Obviamente, como estes resultados são fruto de correlações e projeções, tal fato precisaria ser devidamente averiguado em experimentos laboratoriais controlados.

De certa forma, o modelo sigmóide aplicado para a determinação das probabilidades é limitado, pois assume o maior dano subletal observado na presente tese como 100% e também uma associação direta (dose-resposta) entre as variáveis (metal-biomarcador). Contudo, deve-se levar em conta que o Sistema Estuarino de Santos já foi considerado o mais poluído do mundo (SILVA *et al.*, 2002), bem como que aqui se pretende apenas realizar conjecturas entre as variáveis que tiveram relação significativa. Acredita-se, assim, que as estimativas de probabilidades encontradas reflitam, em grande parte, a realidade para a espécie frente aos metais nos compartimentos abióticos em suas diversas concentrações.

Além disso, existem também diferenças intraespecíficas para tais respostas biológicas subletais (AMIARD-TRIQUET *et al.*, 2013), para um mesmo metal analisado e em mesma concentração. Isso ocorre por conta da

resistência a que as espécies podem desenvolver quando submetidas a um ou mais contaminantes em concentrações tóxicas, por determinado período (AHEARN, *et al.*, 2004; RAINBOW, 2007). Esta tolerância biológica pode ser definida como a habilidade dos organismos em lidar com o estresse, seja ele natural (p. ex., por variações térmicas, de salinidade e oxigênio) ou antropogênico (p. ex., resultado de despejos de efluentes químicos de diversas naturezas em ambientes naturais) (AMIARD-TRIQUET *et al.*, 2013). Esta possível maior resistência aos metais é resultado da aclimação fisiológica durante a ontogenia do organismo, sendo mais evidente quando a contaminação é de curto prazo (p. ex., acidente ou despejo ocasional). Pode ser, também, resultado de uma adaptação genética da população em resposta à pressões seletivas nos indivíduos expostos aos metais, que por ser de longo prazo (anos, décadas ou até séculos) é transmitida à prole, sendo a tolerância biológica a estes contaminantes mais eficaz e duradoura (MARCHAND *et al.*, 2013). Portanto, ecossistemas que apresentam uma contaminação crônica por um metal pode causar a mortalidade de indivíduos mais sensíveis (TERLIZZI *et al.*, 2005; ESPINOSA *et al.* 2007; RAINBOW, 2007), possibilitando a reestruturação dos indivíduos residentes a serem mais resistente e geneticamente adaptada do que outra que nunca esteve exposta ao mesmo contaminante (MARCHAND *et al.*, 2013). De forma geral, comunidades mais resistentes a metais geralmente detêm um desempenho biológico inferior, devido aos custos que tal processo de tolerância impõe (AMIARD-TRIQUET *et al.*, 2013). Uma maior variabilidade intraespecífica de tolerância ocorre devido à poluição determinar indivíduos mais resistentes (BÉRARDA & BENNINGHOFF, 2001). Embora este conceito seja conhecido há mais de 20 anos por BLANCK *et al.* (1988), cuja a sigla proposta em inglês é PICT (*Pollution Induced Community Tolerance*), o foco neste assunto tem sido alvo de estudos e discussões recentes (OGILVIE & GRANT, 2008; RUTGERS *et al.*, 2009; FERNÁNDEZ-CALVIÑO *et al.*, 2010; PESCE *et al.*, 2010; NOLSAEEN *et al.*, 2011; TLILI *et al.* 2011; AMIARD-TRIQUET *et al.*, 2013; MARCHAND *et al.*, 2013).

Neste sentido, o presente estudo revela resultados sobre uma suposta transferência (aproximada) dos metais entre os compartimentos abióticos e bióticos levantando a possibilidade de tolerâncias biológicas diferenciais entre os animais das diferentes áreas de manguezal. Isso ocorre apesar dos

indivíduos de *U. cordatus* pertencerem a uma população única e, portanto, existindo troca genética entre os indivíduos dos diferentes manguezais por conta da dispersão larval (OLIVEIRA-NETO *et al.*, 2007). Na região de Iguape, por exemplo, o metal cobre está presente em maiores concentrações relativas nos tecidos do caranguejo-uçá em relação às folhas de *R. mangle*. A mesma situação se aplica para o manganês em Bertioga. A pergunta que surge diante desses resultados seria: *Os caranguejos de Iguape e Bertioga são menos tolerantes e, conseqüentemente, bioacumulam mais cobre e manganês, respectivamente?*

Já em relação aos tecidos corpóreos, o fator de transferência indicou que o cobre foi encontrado em maiores concentrações na musculatura do que no hepatopâncreas dos animais nas áreas de manguezal mais conservadas (Juréia e Cananéia). Já os animais de São Vicente apresentaram mais cobre e menos manganês no hepatopâncreas em relação à musculatura. Os caranguejos de Bertioga, por sua vez, bioacumularam mais manganês no hepatopâncreas, enquanto que os de Cubatão apresentaram mais mercúrio nesta última estrutura, proporcionalmente. Como já dito, o hepatopâncreas é o principal órgão armazenador e responsável pela depuração/excreção de xenobióticos, assim, as diferenças encontradas entre o balanço hepatopâncreas-musculatura nos diferentes manguezais, supõem tolerâncias biológicas diferenciais aos metais avaliados, considerando que quando o limite biológico do hepatopâncreas é ultrapassado, o excesso dos poluentes passaria também à musculatura dos animais (EISLER, 2010). Estudos em laboratório deveriam ser conduzidos a fim de responder à essas questões.

No caso da transferência de metais entre as folhas verdes e senescentes, não foi verificada diferença estatística entre as áreas, o que implicaria em que *R. mangle* não possua processos fisiológicos e expressiva tolerância aos diferentes metais avaliados. Contudo, além desta hipótese de tolerância diferenciada, é importante lembrar que outros fatores podem ser explicativos dos resultados obtidos no presente estudo quanto aos fatores de transferência. LUOMA & RAIBOW (2008) complementam que além dos requerimentos específicos aos metais, a acumulação é um processo de maior complexidade, sendo resultante da combinação de características químicas do metal, processos associados à sua especiação, influências ambientais (p. ex.,

salinidade, pH, matéria orgânica, sulfetos, temperatura, etc.), juntamente com as rotas de exposição.

No que se refere aos processos de especiação química dos metais, os fatores de transferências evidenciaram que para os manguezais do Estado de São Paulo, isto ocorre provavelmente de forma muito similar, uma vez que as biodisponibilidades estimadas/aproximadas foram parecidas. Possivelmente, isto se deve ao fato de que as características ambientais (bióticas e abióticas) locais serem similares (NETO *et al.*, 2008), algumas delas evidenciadas também na presente tese.

Contudo, no presente estudo pode-se afirmar que foram levantados impactos genéticos e danos fisiológicos para o caranguejo-uçá em 66,6% dos manguezais estudados no Estado de São Paulo. Tal situação poderia ser evitada com base no monitoramento ambiental (THEODORE & DUPONT, 2012), associado ou não a quantificação da acumulação de poluentes, haja vista que ficou aqui comprovada a eficácia de uso do caranguejo-uçá como espécie indicadora do estado de conservação de áreas de manguezal. Segundo PINHEIRO *et al.* (2012), trata-se de uma espécie com características biológicas interessantes a este fim, como sua baixa taxa de crescimento, reduzida vagilidade e distribuição por todos os manguezais brasileiros. O uso dos biomarcadores também se confirma, dada a sua relativa facilidade de aplicação, rapidez e baixo custo, especialmente o caso do teste do micronúcleo. NUDI *et al.* (2010) mencionam que este teste para *U. cordatus* não foi eficaz para evidenciar contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). No entanto, os resultados obtidos no presente estudo evidenciam o sucesso de aplicação dessa técnica, em consorciação (ou não) ao ensaio vermelho neutro, como excelente na indicação de áreas sob maior (ou menor) contaminação por metais, podendo ser utilizados como ferramenta adicional em estudos sobre o estado de conservação deste ecossistema. Tal reforço promoveria informação adicional sobre o nível de ameaça ou conservação de áreas de manguezal brasileiras, orientando os órgãos fiscalizadores e gestores na priorização de medidas efetivas de manejo e conservação desse ambiente e sua biota.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo a contaminação por metais nas áreas de manguezal do Estado de São Paulo foi inferior ao esperado, principalmente no litoral-centro (Cubatão e São Vicente), tendo em vista o histórico de contaminação no Sistema Estuarino de Santos, devido ao pólo industrial, porto e fontes difusas provenientes de lixões e esgotos (domésticos e industriais). Por outro lado, esperava-se que os manguezais de Bertioga, embora próximos das duas áreas previamente citadas, possuísem um menor grau de contaminação por metais, o que de fato não ocorreu para alguns dos metais nos compartimentos avaliados. Por este motivo, recomenda-se continuidade do monitoramento desta área, para a identificação de suas principais fontes de contaminação, que não são tão óbvias, já que nas proximidades não existem indústrias poluentes. A possibilidade de contaminação oriunda de lixão desativado, mesmo que após muitos anos, ainda pode ser fonte de poluentes, requerendo um estudo mais minucioso dado à importância desse na contaminação do estuário e manguezais adjacentes.

Os critérios assumidos para avaliação da qualidade ambiental pelo nível de contaminação dos sedimentos (PEL e TEL – ENVIRONMENTAL CANADA, 1999), como da água estuarina (BRASIL, 2005), não parecem apontar com exatidão o estresse genético exibido pelo caranguejo-uçá, uma vez que somente algumas correlações positivas foram significativas entre determinados metais e o impacto geno e citotóxico. Recomenda-se, portanto, que os resultados obtidos para *U. cordatus* sejam complementados pela aplicação consorciada de outros biomarcadores, como a dosagem de metalotioneínas e da lipoperoxidação, integridade do DNA (teste cometa) e da membrana lisossomal (ensaio do vermelho neutro) e diversidade genética (teste de micronúcleos), visando um melhor esclarecimento sobre o nível de estresse aos quais estes animais estão submetidos. Além disso, análises experimentais em laboratório (“*ex situ*”), com o isolamento dos metais estudados, deveriam ser conduzidas para um melhor conhecimento sobre o impacto citológico e genético em *U. cordatus*, corroborando, assim, à casualidade desses poluentes para danos nas membranas lisossômicas e geração de micronúcleos (AMIARD-TRIQUET & AMIARD, 2013).

Considerando os resultados obtidos no presente estudo, particularmente os de geno e citotoxicidade, torna-se de fundamental importância a continuidade de monitoramentos similares nos manguezais paulistas quanto a qualidade da água, sedimento e integridade biológica da biota. Somente com ações deste tipo é possível se estabelecer programas de despoluição por identificação e supressão das principais fontes poluentes ainda existentes nos ecossistemas costeiros e, em especial, nos manguezais paulistas.

7. CONCLUSÕES

- Com exceção da Juréia-Itatins, os manguezais do Estado de São Paulo estão contaminados com os metais avaliados (exceto manganês, que não possui valores orientadores), sendo motivo de maior preocupação ambiental a acumulação dos metais: 1) cobre e chumbo na água; 2) cádmio e mercúrio no sedimento; e 3) cromo nos tecidos do caranguejo-uçá.
- O grau de contaminação por metais nos manguezais paulistas pode ser dividido em quatro categorias relativas: 1) isento de contaminação (Juréia-Itatins); 2) contaminação baixa (Cananéia); 3) contaminação intermediária (Iguape); e 4) alta contaminação (Cubatão, São Vicente e Bertioga). Este gradiente se coadunou com o impacto genotóxico (São Vicente > Cubatão = Bertioga = Iguape > Juréia = Cananéia) e citotóxico (Cubatão > Bertioga > São Vicente > Iguape > Cananéia > Juréia) observado no caranguejo-uçá.
- As concentrações de mercúrio (sedimento), cobre (hepatopâncreas) e de chumbo (água e folhas verdes) possivelmente influenciaram o impacto genotóxico. Já as concentrações de cobre (folhas verdes, senescentes e hepatopâncreas) e chumbo (sedimento) parecem influenciar danos às membranas lisossômicas. Portanto, representantes de todos os compartimentos bióticos e abióticos estiveram associados à genotoxicidade da espécie;
- A hemolinfa do caranguejo-uçá pode ser utilizada com sucesso na execução da técnica do micronúcleo (MN‰), que foi validada como indicadora do nível de contaminação por metais em áreas de manguezal e seu estado de conservação, que pode ser classificado segundo três categorias: 1) *INP*, impacto nulo provável (0 a 3 MN‰); 2) *BIP*, baixo impacto provável (3 a 5 MN‰); e 3) *AIP*, alto impacto provável (> 5 MN‰);
- O ensaio do vermelho neutro também se mostrou como um ótimo biomarcador para determinação do nível de contaminação por metais

em áreas de manguezal e seu estado de conservação, que pode ser classificado segundo três categorias: 1) *INP*, impacto nulo provável (VN > 150 min.); 2) *BIP*, baixo impacto provável (VN: 100 a 150 min.); e 3) *AIP*, alto impacto provável (VN < 100 min.);

- O caranguejo-uçá foi confirmado como espécie bioindicadora do estado de conservação de áreas de manguezal, pelo uso isolado ou conjunto de dois biomarcadores (frequência de células micronucleadas e tempo de integridade da membrana lisossomal), utilizados como parâmetros fidedignos à categorização dos manguezais por seu nível de contaminação.

8. BIBLIOGRAFIA

- ABESSA, D.M.S. & AMBROZEVICIUS, A.P. 2008. Poluição aquática e tratamento de esgotos, Cap. 04, 41-54p. In: Oliveira, A.J.F.C.; Pinheiro, M.A.A.; Fontes, R.F.C. (Orgs.). **Panorama Ambiental da Baixada Santista**. Universidade Estadual Paulista - Campus Experimental do Litoral Paulista, 1ª Edição, ISBN 978-85-61498-02-3, São Vicente (SP), 127p.
- ABESSA, D.M.S. 2002. **Avaliação da qualidade de sedimentos do Sistema Estuarino de Santos, SP, Brasil**. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IO/USP), São Paulo (SP), 295p. (Tese de doutorado)
- AGUIRRE-MARTÍNEZ, G.V.; BURATTI, S.; FABBRI, E.; DEL VALLS, T.A. & MARTÍN-DÍAZ, M.L. 2013. *Environ. Monit. Assess.* 185: 3783-3793.
- AHEARN, G.A.; MANADAL, P.K. & MANDAL, A. 2004. Mechanisms of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: a review. *Journal of Comparative Physiology B*, New York, 174: 439-452.
- AHMED, M.K.; PARVIN, E.; ARIF, M.; AKTER, M.S.; KHAN, M.S. & ISLAM, M.M. 2010. Measurements of genotoxic potential of cadmium in different tissues of fresh water climbing perch *Anabas testudineus* (Bloch), using the comet assay. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30: 80-84.
- ALGHAZAL, M.; SUTIAKOVA, I.; KOVALKOVICOVA, N.; LEGATH, J.; FALIS, M. & PISTL, J. 2008. Induction of micronuclei in rat bone marrow after chronic exposure to lead acetate trihydrate. *Toxicology and Industrial Health*, 30: 587-593.
- AL-MOHANNA, S.Y. & SUBRAHMANYAM, M.N.V. 2001. Flux of heavy metal accumulation in various organs of the intertidal marine blue crab *Portunus pelagicus* (L.) from the Kuwait coast after the Gulf War. *Environment International*, 27: 321-326.
- ALONGI, D.M.; CLOUGH, B.F.; DIXON, P. & TIRENDI, F. 2005. Nutrient partitioning and storage in arid-zone forests of the mangroves *Rhizophora stylosa* and *Avicennia marina*. *Trees*. 17:51-60.
- ALLOUPI, M. & ANGELIDIS, M.O. 2001. Geochemistry of natural and anthropogenic metals in the coastal sediments of the Island of Lesbos, Aegean Sea. *Environmental Pollution*, 113: 211-219.
- AL-SABTI, K. & METCALFE, C.D. 1995. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutation Research*, 343:121-135.
- ALVES, R.M.N. & NISHIDA, A.K. 2003. Aspectos socioeconômicos e percepção ambiental dos catadores de caranguejo-uçá *Ucides cordatus* (L. 1763) (Decapoda, Brachyura) do estuário do Rio Mamanguape, nordeste do Brasil. *Interciência*, 28(1): 36-43.
- AMIARD-TRIQUET, C. & AMIARD, J.C. 2013. **Behavioral Ecotoxicology**. In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J.C. & RAINBOW, P.S. (ed.). *Ecological Biomarkers*. CRC Press / Taylor & Francis Group, 450p.
- AMIARD-TRIQUET, C.; COSSU-LEGUILLE, C. & MOUNEYRAC, C. 2013. **Biomarkers of defense, tolerance and ecological consequences**. In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J.C. & RAINBOW, P.S. (ed.). *Ecological Biomarkers*. CRC Press / Taylor & Francis Group, 450p.
- AMIARD-TRIQUET, C.; RAINBOW, P.S. & ROMÉO, M. 2011. (eds.). **Tolerance to Environmental Contaminants**. Boca Raton, FL: CRC Press.
- AMORIM, E. P., FAVARO, D. I. T., BERBEL, G. B. B., BRAGA, E. S. 2008. Assessment of metal and trace element concentrations in the Cananéia estuary, Brazil, by neutron activation and atomic absorption techniques. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 278(2):485-489.

- ANDERSON, J.L. & DEPLEDGE, M.H. 1997. A survey of total mercury and methylmercury in edible fish and invertebrates from Azorean waters. *Marine Environmental Research*, 44(3):331-350.
- ANDERSON, M.J., ELLINGSEN, K.E. & MCARDLE, B.H. 2006. Multivariate dispersion as a measure of beta diversity. *Ecology Letters*, 9: 683-693.
- ANGELIDIS, M.O. & ALOUPI, M. 1995. Metals in sediments of Rhodes Harbour, Greece. *Marine Pollution Bulletin*, 31(4-12): 273-276.
- ARAÚJO, B.R.N. 2000. **Diagnóstico geoambiental de zonas de manguezal do estuário do rio Itanhém, município de Alcobaça - região extremo sul do estado da Bahia**. Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia (BA), 159p. (Dissertação de mestrado)
- ASENSIO, V.; KILLE, P.; MORGAN, A.J.; SOTO, M. & MARIGOMEZ, I. 2007. Metallothionein expression and Neutral Red uptake as biomarkers of metal exposure and effect in *Eisenia fetida* and *Lumbricus terrestris* exposed to Cd. *European Journal of Soil Biology* 43:233-238.
- ATHANASOPOULOS, N. 1994. **Flame methods manual GBC for atomic absorption**. GBC Scientific Equipment PTY Ltda., Victoria, Australia, 1-11.
- AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L. & SANTOS, A.A. 2007. **BioEstat - Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biomédicas**. Ong Mamiraua. Belém, PA.
- BADEN, S.P. & ERIKSSON, S.P. 2006. Role, Routes and Effects of Manganese in Crustaceans. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 44: 61-83.
- BADEN, S.P.; ERIKSSON, S.P. & WEEKS, J.M. 1995. Uptake, accumulation and regulation of manganese during experimental hypoxia and anoxia in the decapod *Nephrops norvegicus* (L.). *Marine Pollution Bulletin*, 31: 93-102.
- BALKAS, T.I.; TUGRUL, S. & SALIHOGLU, I. 1982. Trace metal levels in fish and crustacean from northeastern Mediterranean coastal waters. *Marine Environmental Research*, 6:281-289.
- BAPTISTA-NETO, J.A.; SMITH, B.J. & MCALLISTER, J.J. 2000. Heavy metal concentrations in surface sediments in a nearshore environment, Jurujuba Sound, Southeast Brazil. *Environmental Pollution*, 109: 1-9.
- BARROCAS, P.R.G. & WASSERMAN, J.C. 1998. **Environmental Geochemistry in the Tropics**, Springer: Berlim, p. 57.
- BARSIENE, J. 2002. Genotoxic impacts in Klaipeda Marine port and Butinge oil terminal areas (Baltic Sea). *Marine Environmental Research*, 54(3-5): 475-479.
- BASSET, J., DENNEY, R.C., JEFFERY, G.H. & MENDHAN, J. 1981. **Vogel: Análise Inorgânica Quantitativa**. Editora Guanabara S.A., 4ª edição, Rio de Janeiro. 690p.
- BAYNE, B.L., CLARKE, K.R. & GRAY, J.S. 1988. Biological effects of pollutants. *Marine Ecology Progress Series (MEPS Special)*, 46: 1-278.
- BELLUCCI, L.G.; FRIGNANI, M.; PAOLUCCI, D. & RAVANELLI, M. 2002. Distribution of heavy metal in sediments of the Venice Lagoon: the role of the industrial area. *The Science of the Total Environment*, 295: 35-49.
- BELTRAME, M.O.; DE MARCO, S.G. & MARCOVECCHIO, J.E. 2010. 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*, 58(3):746-756.
- BELTRAME, M.O.; DE MARCO, S.G. & MARCOVECCHIO, J.E. 2011. The burrowing crab *Neohelice granulata* as potential bioindicator of heavy metals in estuarine systems of the Atlantic coast of Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment*, 172: 379-389.

- BÉRARD, A. & BENNINGHOFF, C. 2001. Pollution-induced community tolerance (PICT) and seasonal variations in the sensitivity of phytoplankton to atrazine in nanocosms. *Chemosphere*, 45(4-5) 427-437.
- BERNINI, E.; SILVA, M.A.B. & CARMO, T.M.S. 2006. Composição química do sedimento e de folhas das espécies do manguezal do estuário do Rio São Mateus, Espírito Santo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 29(4): 689-699.
- BERTIN, G. & AVERBECK, D. 2006 Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review). *Biochimie*, 88: 1549-1559.
- BEZERRA-SOUTO, F.J. 2007. Uma abordagem etnoecológica da pesca do caranguejo, *Ucides cordatus*, Linnaeus, 1763 (Decapoda: Brachyura), no manguezal do Distrito de Acupe (Santo Amaro-BA). *Biotemas*, 20(1): 69-80.
- BJERREGAARD, P. & DEPLEDGE, M.H. 2002. Trace metal concentrations and contents in the tissue of the shore crab *Carcinus maenas*: effects of size and tissue hydration. *Marine Biology*, 141: 741-752.
- BONASSI, S.; HAGMAR, L.; STROMBERT, U.; MONTAGUD, A.H.; TINNERBERT, H.; FORNI, A.; HEIKKILA, P.; WANDERS, S.; WILHARDT, P.; HANSTEEN, I.L.; KNUDSEN, L.E. & NORPPA, H. 2000. European study group on cytogenetic biomarkers and health chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer independently of exposure to carcinogens. *Cancer Res.* 60:1619-1625.
- BORDON, I.C.A.; SARKIS, J.E.S.; TOMÁS, A.R.G.; SOUZA, M.R.; SCALCO, A.; LIMA, M. & HORTELLAMI, M.A. 2012. A preliminary assessment of metal bioaccumulation in the Blue Crab, *Callinectes danae* S., from the Sao Vicente Channel, São Paulo State, Brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88: 577-581.
- BRASIL. 1965. Ministério do Meio Ambiente. Decreto nº 55.871. Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos que podem ser encontrados em pescados. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 26 mar. 1965.
- BRASIL. 1998. 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. 2004. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº 5, de 21 de maio de 2004. Diário Oficial da União - Seção 1. Brasília, DF, 28 mai. 2004.
- BRASIL. 2005. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução Nº 357, de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF.
- BRIGITTE, B. 2013. Sentinel Species. In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J.C. & RAINBOW, P.S. (Eds.). **Ecological Biomarkers**. CRC Press / Taylor & Francis Group, 450p.
- BRUNER, A.G.; GULLISON, R.E.; RICE, R.E. & FONSECA, G.A.B. 2001. Effectiveness of parks in protecting tropical biodiversity. *Science*, 291: 125-128.
- BRUNETTI, R.; MAJONE, F.; GOLA, I. & BELTRAME, C. 1988. The micronucleus test: Examples of application to marine ecology. *Marine Ecology and Progress Series*, 44: 65-68.
- BRYAN, G.W. & WARD, E. 1965. The absorption and loss of radioactive and non-radioactive manganese by the lobster, *Homarus vulgaris*. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, 65-95.
- BIJLSMA, R. & LOESCHKE, V. 2012. Genetic erosion impedes adaptive responses to stressful environments. *Evolutionary Applications*, 5(2): 117-129.

- BU-OLAYAN, A. & SUBRAHMANYAM, M.N.V. 1998. Trace metal concentrations in the crab *Macrophthalmus depressus* and sediments on the Kuwait coast. *Environmental Monitoring and Assessment*, 53:297- 304.
- BURATTI, S.; RAMOS-GÓMEZ, J.; FABBRINI, E.; DELVALLS, T.A. 2012. Application of neutral red retention assay to caged clams (*Ruditapes decussatus*) and crabs (*Carcinus maenas*) in the assessment of dredged material. *Ecotoxicology*. 21:75-86.
- BURGEOT, T.; HIS, E. & GALGANI, F. 1995. The micronucleus assay in *Crassostrea gigas* for the detection of seawater genotoxicity. *Mutation Research*, 342: 125-140.
- BUSS, D.F.; BAPTISTA, D.F. & NESSIMIAN, J.L. 2003. Bases conceituais para aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. *Caderno Saúde Pública*, 19: 473-495.
- CALDWELL, R.S. & BUHLER, D.R. 1983. Heavy metals in estuarine shellfish from Oregon. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 12:15 -23.
- CALLISTO, M. 2000. Macroinvertebrados bentônicos, 139-152. In: Bozelli, R.L.; Esteves, F.A. & Roland, F. **Lago Batata: impacto e recuperação de um ecossistema amazônico**. Eds. IB-UFRJ/SBL, Rio de Janeiro.
- CAMARGO, M. G. 2006. Sysgran: Um sistema de código aberto para análises granulométricas do sedimento. *Revista Brasileira de Geociências*. 36(2): 371-378.
- JUNQUEIRA, L. & CARNEIRO, J. 2012. **Biologia Celular e Molecular**. 9ª Ed. 488p.
- CARRASCO, K.R.; TILBURY, K.L. & MYERS, M.S. 1990. Assessment of the piscine micronucleus test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. *Canadian Journal of Fishery and Aquatic Science*, 47: 2123-2136.
- CASTILHOS JR., A.B. 1988. Estimativa da distribuição e dos teores dos metais pesados nas diversas frações dos resíduos urbanos no Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrária e Ambiental*, 1: 57-60.
- CAVAS, T. 2008. In vivo genotoxicity of mercury chloride and lead acetate: micronucleus test on acridine orange stained fish cells. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 352-358.
- CELERE, M.S.; OLIVEIRA A.S.; TREVILATO, T.M.B. & SEGURA-MUÑOZ, S.I. 2007. Metais presentes no chorume coletado no aterro sanitário de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, e sua relevância para saúde pública. *Caderno de Saúde Pública*, 23(4):939-947.
- ÇELIK, A.; OGENLER, O. & COMELEKOGLU, U. 2005. The evaluation of micronucleus frequency by acridine orange fluorescent staining in peripheral blood of rats treated with lead acetate. *Mutagenesis*, 20: 411-5.
- CESAR, A.; CHOUERI, R.B.; GUSSO-CHOUERI, P.K. & PEREIRA, C.D.S. 2012. Integrative approach for the environmental quality assessment of aquatic ecosystems: A critical review. *Global Journal of Environmental Science and Technology*. 1:2-9.
- CETESB. 2000. **Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Avaliação da qualidade do Rio Ribeira de Iguape e afluentes**, São Paulo, 33p.
- CETESB. 2001. **Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Sistema Estuarino de Santos e São Vicente**. Relatório do Programa de Controle de Poluição. São Paulo (SP), 137p + 46 pranchas.
- CETESB. 2007. **Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Relação de áreas contaminadas - Novembro de 2007 - Relação por municípios**. Disponível em http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas_contaminadas/texto_areas_cont_nov_08.pdf. Acessado em 2 ago. 2009.

- CHEN, X.Y.; TSANG, E.P.K. & CHAN, A.L.W. 2003. Heavy metal contents in sediments, mangroves and bivalves from Ting Kok, Hong Kong. *China Environ. Sci.* 23:480–484.
- CHIU, C.Y. & CHOU, C.H. 1991. The distribution and influence of heavy metals in mangrove forests of the Tamshui estuary in Taiwan. *Soil Sci. Plant Nutr.* 37:659–669.
- CHOU, C.L. & UTHE, J.F. 1978. Heavy metal relationship in lobster (*Homarus americanus*) and rock crab (*Cancer irroratus*) digestive glands. CM 1978/E: 15^o International Council for exploration of the sea marine environmental quality committee.
- CHOU, C.L.; PAON, L.A. & MOFFATT, J.D. 2002. Cadmium, copper, manganese, silver, and zinc in Rock Crab (*Cancer irroratus*) from highly copper contaminated sites in the Inner Bay of Fundy, Atlantic Canada. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 68: 885-892.
- CHOUERI, R.B.; CESAR, A.; ABESSA, D.M.S.; TORRES, R.J.; MORAIS, R.D.; RIBA, I.; PEREIRA, C.D.S.; NASCIMENTO, M.R.L.; MOZETO, A.A. & DELVALLS, T.A. 2009. Development of site-specific sediment quality guidelines for North and South Atlantic littoral zones: Comparison against national and international sediment quality benchmarks. *Journal of Hazardous Materials* 170: 320-331.
- CHRISTOFOLETTI, R.A.; HATTORI, G.Y. & PINHEIRO, M.A.A. 2013. Food selection by a mangrove crab: temporal changes in fasted animals. *Hydrobiologia*, 702:63-72 (DOI: 10.1007/s10750-012-1307-6).
- COLLIER, T.K.; CHIANG, M.W.L.; AU, D.W.T. & RAINBOW, P.S. 2013. **Biomarkers currently used in environmental monitoring.** In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J.C. & RAINBOW, P.S. (ed.). Ecological Biomarkers. CRC Press / Taylor & Francis Group, 450p.
- CORRÊA-JR., J.D.; SILVA, M.R.; SILVA, A.C.B.; LIMA, S.M.A.; MALM, O. & ALLODI, S. 2005. Tissue distribution, subcellular localization and endocrine disruption patterns induced by Cr and Mn in the crab *Ucides cordatus*. *Aquatic Toxicology*, 73:139-154.
- COSTA-NETO, E.M. & GORDIANO-LIMA, K.L. 2000. Contribuição ao estudo da interação entre pescadores e caranguejos (Crustacea, Decapoda, Brachyura): considerações etnobiológicas em uma comunidade pesqueira do estado da Bahia, Brasil. *Atualidades Biológicas*, 22(73): 195-202.
- COUNTRYMAN, P.I. & HEDDLE, J.A. 1976. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research*, 41: 321-332.
- CREWS, H.; CARUSO, J. & HEUMANN, K. 2003. **Handbook of elemental speciation: techniques and methodology.** John Wiley & Sons Ltd., ISBN:0-471-49214-0, 657p.
- CUZZUOL, G.R.F. & ROCHA, A.C. 2012. Interação do regime hídrico com as relações nutricionais em ecossistema manguezal. *Acta Botanica Brasilica*. 26(1):11-19.
- DAS, P.; SAMANTARAY, S. & ROUT, G.R. 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution*, 98: 29-36.
- DARWISH, H.A.A.; EL-GAWAD, E.A.A.; MOHAMMED, F.H. & LOTFY, M.M. 2005. Assessment of organic pollutants in the offshore sediments of Dubai, United Arab Emirates. *Environmental Geology*. 48(4-5):531-542.
- DEFEW, L.H.; MAIR, J.M. & GUZMAN, H.M. 2005. An assessment of metal contamination in mangrove sediments and leaves from Punta Mala Bay, Pacific Panama. *Mar. Pollut. Bull.* 50:547–552.
- DEPLEDGE, M.H.; FORBES, T.L. & FORBES, V.E. 1993. Evaluation of cadmium, copper, zinc, and iron concentrations and tissue distributions in the benthic crab, *Dorippe granulata* (De Haan, 1841) from Tolo Harbour, Hong Kong. *Environmental Pollution*, 81(1):15-19.

- DEVESCOVI, M. & LUCU, C. 1995. Seasonal changes of the copper level in shore crabs *Carcinus mediterraneus*. *Marine Ecology Progress Series*, 120:169-174.
- DEVI, R.R.P. & YOGAMOORTHY, S. 1997. Concentration of heavy metals in the selected tissues of the crab *Clibanarius clibanarius* of Pondicherry marine environment. *Ecotoxicology and Environmental Monitoring*, 7(2):131-134.
- DIAS, J.A. 2004. Análise Granulométrica, 28-42. In: DIAS, J.A. (Ed.). **A Análise sedimentar e o conhecimento dos sistemas marinhos**. Universidade de Algarve, Portugal, 84p.
- DING, Z.; WUA, H.; FENG, X.; LIU, J.; LIU, Y.; YUAN, Y.; ZHANG, L.; LIN, Z. & JIAYONG, P. 2011. Distribution of Hg in mangrove trees and its implication for Hg enrichment in the mangrove ecosystem. *Applied Geochemistry*, 26(2):205-212.
- DOMINGOS, M.; KLUMPP, A. & KLUMPP, G. 1998. Air pollution impact on the Atlantic Forest at the Cubatão region, Brazil. *Ciência e Cultura*, 50: 230-236.
- DUARTE, L.F.A.; DURAN, R.S.; MENDONÇA, J.T. & PINHEIRO, M.A.A. The fishery for the 'uçá'- crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) in a mangrove area in Cananéia, State of São Paulo, Brazil. I. Fishery performance, exploitation patterns and factors affecting the catches. *Brazilian Journal of Oceanography*. (no prelo).
- EISENBERG, M. & TOPPING, J.J. 1984. Trace metal residues in shellfish from Maryland waters, 1976-1980. *Journal of Environmental Science and Health*, 19(7):649-671.
- EISLER, R. 1984. **Chromium hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review**. U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report, 85 (1.6), 60 pp.
- EISLER, R. 2010. Crustaceans, p. 399-516. In: EISLER, R. (ed.). **Compendium of Trace Metals and Marine Biota**. Elsevier, 610p.
- ENGEL, D.W. & ROESIADI, G. 1987. Metallothioneins: a monitoring tool, 421-438. In: Vernberg, W.B., Calabreze, A., Thurberg, F.P. & Vernberg, F.J. (eds). **Pollution Physiology of Estuarine Organism**. University of South Carolina Press, Columbia, Belle W. Baruch Library in Marine Science.
- ERBE, M.C.; RAMSDORF, W.A.; VICARI, T. & CESTARI, M.M. 2011. Toxicity evaluation of water samples collected near a hospital waste landfill through bioassays of genotoxicity piscine micronucleus test and comet assay in fish *Astyanax* and ecotoxicity *Vibrio fischeri* and *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, 20 (2): 320-328.
- ESPINOSA, F.; GUERRA-GARCÍA, J.M. & GARCÍA-GÓMEZ, J.C. 2007. Sewage pollution and extinction risk: an endangered limpet as a bioindicator? *Biodiversity and Conservation*, 16(2): 377-397.
- EUSTACE, I.J. 1974 Zinc, copper, cadmium and manganese in species of finfish and shellfish caught in the Derwent Estuary, Tasmania. *Australian Journal of Marine Freshwater Science*, 25:209- 20.
- EVANS, G.; HOWARTH, R.J. & NOMBELA, M.A. 2003. Metals in sediments of the Ensenada de San Simón (inner Ría de Vigo), Galicia, NW Spain. *Applied Geochemistry*, 18: 973-996.
- EYSINK, G.G.J.; PÁDUA, H.B.; PIVA-BERTELETTI, A.E.; MARTINS, M.C. & PEREIRA, D.N. 1988. Metais pesados no Vale do Ribeira e Iguape-Cananéia. *Ambiente: Revista CETESB de Tecnologia*, 2(1): 6-13.
- FALCONER, C.R.; DAVIES, I.M. & TOPPING, G. 1986. Cadmium in edible crabs (*Cancer pagurus* L.) from Scottish coastal waters. *Science of Total Environment*, 54: 173-183.
- FELDMAN, R.S. & CONNOR, E.F. 1992. The relationship between pH and community structure of invertebrates in streams of the Shenandoah National Park, Virginia, USA. *Freshwater Biology*, 27: 261-276.

- FERNÁNDEZ-CALVIÑO, D.; ESTÉVEZ, M.A.; DÍAZ-RAVIÑA, M. & BÅÅTHC, E. 2010. Bacterial pollution induced community tolerance (PICT) to Cu and interactions with pH in long-term polluted vineyard soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 43(11):2324-2331.
- FERREIRA, A.L.A. & MATSUBARA, L.S. 1997. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Brasil*, 43(1): 61-8.
- FERREIRA, A.P.; HORTA, M.A.P. & CYNARA, L.N.C. 2010. Avaliação das concentrações de metais pesados no sedimento, na água e nos órgãos de *Nycticorax nycticorax* (Garça-da-noite) na Baía de Sepetiba, RJ, Brasil. *Revista de Gestão Costeira Integrada*. 10(2):229-241.
- FERRER, LD 2001. Estudio de los diversos metales pesados en sedimentos del estuario de Bahía Blanca y sus efectos toxicos sobre el cangrejo *Chasmagnathus granulata*. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires. (Doctoral thesis)
- FIGUEIREDO, B.R.; De CAPITANI, E.M. & GITAHY, L.M.C. 2004. Exposição humana à contaminação por chumbo e arsênio no Vale do Ribeira (SP-PR). CD-ROM do II Encontro da ANPPAS, Indaiatuba, SP.
- FIRAT, Ö.; GÖK, G.; ÇOĞUN, H.Y.; YÜZEREROĞLU, T.A. & KARGIN, F. 2008. Concentrations of Cr, Cd, Cu, Zn and Fe in crab *Charybdis longicollis* and shrimp *Penaeus semisulcatus* from the Iskenderun Bay, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 147:117-123.
- FISCARELLI, A.G. & PINHEIRO, M.A.A. 2002. Perfil sócio-econômico e conhecimento etnobiológico do catador do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), nos manguezais de Iguape (24°41'S), SP, Brasil. *Actualidades Biológicas*, 24(77): 129-142.
- FOLK, R.L. & WARD, W.C. 1957. Brazos river bar: a study in the significance of grain-size parameters. *Journal of Sedimentary Research*, 27(1): 3-26.
- FORTUNATO, A.B.; CLÍMACO, M.; OLIVEIRA, F.; OLIVEIRA, A.; SANCHO, F. & FREIRE, P. 2008. Dinâmica Fisiográfica da Orla Costeira: Estudos de Reabilitação e Proteção. *Revista da Gestão Costeira Integrada*. 8(1):45-63.
- FOSSI, M.C.; CASINI, S.; SAVELLI, C.; CORBELL, C.; FRANCHI, E.; MATTEI, N.; SANCHEZ-HERNANDEZ, J.C.; CORSI, I.; BAMBER, S. & DEPLEDGE, H.M. 2000. Biomarker responses at different levels of biological organization in crabs (*Carcinus aestuarii*) experimentally exposed to benzo[a]pyrene. *Chemosphere*, 40: 861-874.
- FRANKE, S.I.R.; PRÁ, D.; GIULIAN, R.; DIAS, J.F.; YONEAMA, M.L.; SILVA, J.; ERDTMANN, B. & HENRIQUES, J.A.P. 2006 Influence of orange juice in the levels and in the genotoxicity of iron and copper. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 425-435.
- GAGNETEN, A.M.; TUMINI, G.; IMHOF, A. & GERVASIO, S. 2012. Comparative study of lead accumulation in different organs of the freshwater crab *Zilchiopsis oronensis*. *Water, Air & Soil Pollution*, 223(2):617-624.
- GARCÍA-LESTÓN, J.; MÉNDEZ, J.; PÁSARO, P. & LAFFON, B. 2010. Genotoxic effects of lead: An updated review. *Environment International*, 36:623-636.
- GAUTHIER, L.; TARDY, E.; MOUCHET, F. & MARTY, J. 2004. Biomonitoring of the genotoxic potential (micronucleus assay) and detoxifying activity (EROD induction) in the River Dadou (France), using the amphibian *Xenopus laevis*. *Science of the total environment*, 323: 47-61.
- GHAZALY, K.S. 1988. The bioaccumulation of potential heavy metals in the tissues of the Egyptian edible marine animals: part 1. Crustaceans. *Bulletin of the National Institute of Oceanography and Fisheries*, 14(2):71-77.
- GIL, M.; HARVEY, M.A.; BELDOMENICO, H.; GARCIA, S.; COMMENDATORE, M.; GANDINI, P.; FRERE, E.; YORIO, P.; CRESPO, E. & ESTEVES, J.L. 1996. Contaminación por metales y plaguicidas organoclorados en organismos marinos de la zona costera

- Patagonica. *Informes Tecnicos del Plan de Manejo Integrado de la Zona Costera Patagonica* (Puerto Madryn, Argentina), 32(8):241-254.
- GILLER, G., SINGLER, K. 1995. Oxidative stress and living cells. *Folia. Microbiol.* 40(2):131-152.
- GOMIERO, A.; ROS, L.; NASCI, C.; MENEGHETTI, F.; SPAGNOLO, A. & FABÍ, G. 2011. Integrated use of biomarkers in the mussel *Mytilus galloprovincialis* for assessing off-shore gas platforms in the Adriatic Sea: Results of a two-year biomonitoring program. *Marine Pollution Bulletin.* 62(11):2483-2495.
- GONÇALVES, R.S.L.; FREIRE, G.S.S. & NETO, V.A.N. 2007. Determinação das concentrações de cádmio, cobre, cromo e zinco, na ostra *Crassostrea rhizophorae* dos estuários dos rios Cocó e Ceará. *Revista de Geologia*, 20(1): 57-63.
- GOULART, M.D. & CALLISTO, M. 2003. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Revista da FAPAM*, 2(2): 153-164.
- GREIG, R.A.; SAWYER, T.K.; LEWIS, E.J. & GALASSO, M.E. 1982. A study of metal concentrations in relation to gill color and pathology in the Rock Crab. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*; 11:539-545.
- GREIG, R.A.; WENZLOFF, D.R.; ADAMS, A.; NELSON, B. & SHELPUK, C. 1977. Trace metals in organisms from ocean disposal sites of the middle eastern United States. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 6:395 - 409.
- GUNS, M.; VAN HOEYWEGHEN, P.; VYNCKE, W. & HILLEWAERT, H. 1999. Trace metals in selected benthic invertebrates from Belgian coastal waters (1981 - 1996). *Marine Pollution Bulletin*, 38(12):1184-93.
- GUTBERLET, J. 1996. *Cubatão: Desenvolvimento, Exclusão Social e Degradação Ambiental*. Editora da Universidade de São Paulo, FAPESP. 244p.
- HAMADA, J. 1999. Estimativas de geração e caracterização do chorume em aterros sanitários. Tema III-055. *Anais do 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 10p.
- HAMER, D.H. 1996. Methallothionein. *Annual Review of Biochemistry*, 55: 913-951.
- HARTMANN, D.L.; WALLACE, J.M.; LIMPASUVAN, V.; THOMPSON, D.W.J. & HOLTON, J.R. 2000. Can ozone depletion and global warming interact to produce rapid climate change? *PNAS*. 97(4):1412-1417.
- HATTORI, G.Y. 2006. **Densidade populacional do caranguejo-uçá *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae) na região de Iguape (SP).** Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal (SP), 143p. (Tese de doutorado)
- HATTORI, G.Y.; CHRISTOFOLETTI, R.A.; SANT'ANNA, B.S. & PINHEIRO, M.A.A. 2008. Influência de três espécies de mangue sobre a densidade do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Brachyura, Ocypodidae), na região de Iguape (SP). *Resumos do V Congresso Brasileiro sobre Crustáceos, Gramado, RS*: 74.
- HORST, W. 1976. **Einfluss von Silizium auf die Mangan-Toleranz von Buschbohnen (*Phaseolus vulgaris* L.).** Technische Universität Berlin, Berlin. (Dissertação de mestrado).
- HOSE, J.E.; MARTIN, G.G. & GERARD, A.S. 1990. A decapod hemocyte classification scheme integrating morphology, cytochemistry, and function. *Biol. Bull.* 178: 33-45.
- HOVGÅRD, H., LASSEN, H., 2000. Manual on estimation of selectivity for gillnet and longline gears in abundance surveys. **FAO Fisheries. Technical Paper nº 397.** Rome, FAO. 84p.

- HORTELLANI, M.A.; SARKIS, J.E.S.; ABESSA, D.M.S. & SOUSA, E.C.P.M. 2008. Avaliação da contaminação por elementos metálicos dos sedimentos do estuário Santos – São Vicente. *Quim. Nova*, 31(1):10-19.
- HURLBERT, S.H. 1984. Pseudoreplication and design of ecological field experiments. *Ecological Monographs*, 54(2): 187-211.
- HUSSON, F.; JOSSE, J; LE, S. & MAZET, J. 2012. FactoMineR: Multivariate Exploratory Data Analysis and Data Mining with R. R package version 1.18. <http://CRAN.R-project.org/package=FactoMineR>
- IHAKA, R. & GENTLEMAN, R. 1996. R: A language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 5(3): 299-314.
- INFANTE, P.D.A.; CONDE, A.P.; BLET, I.C. & ABELLA, D.V. 2002. Estudio de la contaminación por metales pesados em sedimentos y ostiones de la Bahía de manzanillo, Cuba. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 46(4): 357-361.
- JAYLET, A.; DEPARIS, P.; FERRIER, V.; GRINFELD, S. & SIBOULET, R. 1986. A new micronucleus test using peripheral blood erythrocytes of the newt *Pleurodeles waltl* to detect mutagens in fresh water pollution. *Mutation Research*, 164: 245-257.
- JESUS, H.C.; FERNANDES, L.F.L; ZANDONADE, E.; ANJOS J.R., E.E.; GONÇALVES, R.F.; MARQUES, F.C.; REIS, L.A.; ROMANO, C.T.; TEIXEIRA, R.D. & SANTOS SAD, C.M. 2003. **Avaliação da contaminação por metais pesados em caranguejos e sedimentos de áreas de manguezal do sistema estuarino de Vitória - ES.** Relatório Técnico - Projeto Facitec/PMV-ES, 40 pp.
- JEWETT, S.C. & NAIDU, A.S. 2000. Assessment of heavy metals in red king crabs following offshore placer gold mining. *Marine Pollution Bulletin*, 40(6):478-490.
- JONES, B. & TURKI, A. 1997. Distribution and speciation of heavy metals in surficial sediments from Tees Estuary, North-East England. *Marine Pollution Bulletin*, 34(10): 768-779.
- JOP, K.M.; BIEVER, R.C.; HOBERG, J.R. & SHEPHERD, S.P. 1997. Analysis of metals in Blue Crabs, *Callinectes sapidus*, from two Connecticut estuaries. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 58: 311-317.
- JORGE, L.C.; GARCIA, L.M.; MARTINS, V.B.; KOSAWA, A. & PAULS, E. 2002. Interações dos processos sócio-ambientais nas bacias das Enseadas de Icaraí e São Francisco, Niterói (RJ). 2. Organismos aquáticos como bioindicadores da qualidade ambiental com enfoque no mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1798), em Niterói-RJ. *Mundo & Vida*, 3(2):108-116.
- JUNQUEIRA, M.V.; AMARANTE, M.C.; FRANÇA E.S. & DIAS, C.F.S. 2000. Biomonitoramento da qualidade das águas da bacia do Alto Rio das Velhas (MG/Brasil) através de macroinvertebrados. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 12: 73-87.
- KABATA-PENDIAS, A. 2011. **Trace elements in soils and plants**. 4th Edition. New York: CRC Press / Taylor & Francis Group, 548p.
- KAMAU, J.N. 2002. Heavy metal distribution and enrichment at Port-Reitz Creek, Mombassa. *Western Indian Ocean Journal of Marine Science*, 1(1): 65-70.
- KAUFMAN, L. & ROUSSEEUW, P.J. 1990. **Finding groups in data: an introduction to cluster analysis**. Wiley, New York.
- KENNISH, M.J. 1997. **Pollution impacts on marine biotic communities**. CRC Press LLC, Boca Raton, FL.
- KRAMER, R; van SCHAIK, C. & JOHNSON, J. 1997. **Last Stand: Protected areas and the defense of tropical biodiversity**. Oxford, Oxford University Press, 242p.

- KURA, Y.; REVENGA, C.; HOSHINO, E.; MOCK, G. 2004. Why care about fish? In: KURA, Y.; REVENGA, C.; HOSHINO, E.; MOCK, G. (Eds.). **Fishing for Answers, Making Sense of Global Fish Crisis**. World Resources Institute, Washington, DC. 152p.
- LACERDA, L.D. 1997. Trace metals in mangrove plantas: why such low concentrations?, 171-178. In: Kjerfve, B.; Lacerda, L.D.; Diop, H.S. **Mangrove ecosystem studies in Latin America and Africa**. Unesco, Paris.
- LACERDA, L.D.; RESENDE, C.E.; JOSE, D.V.; WASSERMAN, J.C. & FRANCISCO, M.C. 1985. Mineral concentrations in leaves of mangrove trees. *Biotropica*, 17(3): 260-262.
- LAMPARELLI, M.L.; COSTA, M.P.; PRÓSPERI, V.A.; BEVILÁCQUA, J.E.; ARAÚJO, R.P.A. & EYSINK, G.G.L.; POMPEIA, S. 2001. **Sistema estuarino de Santos e São Vicente**. Relatório Técnico da CETESB/SP. 178p.
- LE, S.; JOSSE, J. & HUSSON, F. 2008. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*. 25(1):1-18.
- LEGENDRE, P. & GALLAGHER, E.D. 2001. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia*, 129: 271-280.
- LEGENDRE, P. & LEGENDRE, L. 1998. **Numerical ecology**. 2nd English Edition. Elsevier.
- LI, X.; SHEN, Z.; WAI, O.W.H. & LI, Y.S. 2001. Chemical forms of Pb, Zn and Cu in the sediment profiles of the Pearl River Estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 42(3): 215-223.
- LIAN, Y.; XU, J.; LIN, P.; MEGURO, S. & KAWACHI, S. 1999. Five heavy metals in propagules of ten mangrove species of China. *Journal of Wood Science*. 45(4):343-347.
- LIMA, J.S. 2000. **Bioindicação e biomonitoramento: aspectos bioquímicos e morfológicos**. Techoje. Instituto de Educação Tecnológica - IETEC, Belo Horizonte / MG, 11p.
- LIMA, E.S. & ABDALLA, D.S.P. 2001. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 37(3): 293-303.
- LODGE, D.M.; STEIN, R.A.; BROWN, K.M.; COVICH, A.P.; BRÖNMARK, C.; GARVEY, J.E. & KLOSIEWSKI, S.P. 2006. Predicting impact of freshwater exotic species on native biodiversity: Challenges in spatial scaling. *Aust. J. Ecol.* 23(1):53-57.
- LUÍZ-SILVA, W., MATOS, R. H. R., KRISTOCH, G. C. 2002. Geoquímica e índice de geoacumulação de mercúrio em sedimentos de superfície do estuário de Santos-Cubatão (SP). *Química Nova*. 25:753-756.
- LUOMA, S.M. & RAINBOW, P.S. 2008. **Metal contamination in aquatic environments: science and lateral management**. Cambridge. 573p.
- MACDONALD, D.; CARR, R.S.; CALDER, F.D.; LONG, E.R. & INGERSOLL, C.G. 1996. Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. *Ecotoxicology*, 5(4):253-278.
- MACFARLANE, G.R. & BURCHETT, M.D. 2002. Toxicity, growth and accumulation relationships of copper, lead and zinc in the grey mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Marine Environmental Research*. 54(1):65-84.
- MACFARLANE, G.R.; PULKOWNIK, A. & BURCHETT, M.D. 2003. Accumulation and distribution of heavy metals in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.: biological indication potential. *Environmental Pollution*, 123: 139-151.
- MACFARLANE, G.R.; KOLLER, C.E. & BLOMBERG, S.P. 2007. Accumulation and partitioning of heavy metals in mangroves: A synthesis of field-based studies. *Chemosphere*, 69: 1454-1464.

- MACHADO, W.; SILVA-FILHO, E.V.; OLIVEIRA, R.R. & LACERDA, L.D. 2002. Trace metal retention in mangrove ecosystems in Guanabara Bay, SE, Brazil. *Mar. Pollut. Bull.* 44:1277–1280.
- MARCHAND, J.; DENIS, F. & LAROCHE, J.. 2013. **Evolutionary forces that change genetic variability.** In: AMIARD-TRIQUET, C.; AMIARD, J.C. & RAINBOW, P.S. (ed.). *Ecological Biomarkers*. CRC Press / Taylor & Francis Group, 450p.
- MARCHAND, C.; LALLIER-VERGES, E.; BALTZER, F.; ALBERIC, P.; COSSA, D. & BAILLIF, P. 2006. Heavy metals distribution in mangrove sediments along the mobile coastline of French Guiana. *Mar. Chem.* 98:1–17.
- MARINS, R.V.; LACERDA, L. & VILLAS BOAS, R.C. 1999 **Mercury Contamination Sites: Characterization, Risk Assessment and Remediation.** Ebinghaus, R.; Turner, R. R.; Lacerda, L. D.; Vasiliev, O.; Salomons, W., eds.; Springer Verlag: Berlin.
- MARINS, R.V.; FILHO, F.J.P. & MAIA, S.R.R. 2004. Distribuição de mercúrio total com indicador de poluição urbana e industrial na costa brasileira. *Química Nova*, 27(5):763-770.
- MARQUES, O.A.V. & DULEBA, W. 2004. **Estação Ecológica Juréia-Itatins - Ambiente Físico, Flora e Fauna.** Holos, Editora Ltda-ME, Ribeirão Preto, SP, 384p.
- MARTIN, J.L.M. 1974. Metals in *Cancer irroratus* (Crustacea: Decapoda): concentrations, concentration factors, discrimination factors, correlations. *Marine Biology*, 28: 245-251.
- MARTIN, J.L.M. 1975. Étude comparée du métabolisme et des facteurs de concentration de Fe, Cu, Zn, Mn, Co et Mg dans l'ovaire de *Carcinus maenas* et *Cancer irroratus* durant l'ovogenèse. *Cahiers de Biologie Marine*, 16: 149-157.
- MARTIN, J.L.M. 1976. Le métabolisme du manganèse chez *Cancer irroratus* Say, 1817, Crustacé, Décapode. *Cahiers de Biologie Marine*, 17: 359-373.
- MARTIN, J.L.M. & CECCALDI, H.J. 1976. Métabolisme de Fe, Cu, Zn, Mg, Mn et Co dans les oeufs de *Cancer irroratus* Crustacé Décapode. *Comptes Rendus des Seances de la Societe Biologie et de ses Filiales*, 170: 157-162.
- MARTINS, L.K.P.; NASCIMENTO, I.A.; FILLMANN, G.; KING, R.; EVANGELISTA, A.J.A.; READMAN, J.W. & DEPLEDGE, M.H. 2005. Lysosomal responses as a diagnostic tool for the detection of chronic petroleum pollution at Todos os Santos Bay, Brazil. *Environmental Research*, 99:387–396.
- MARTINEZ, C.B.R.; ALVARES, E.P.; HARRIS, R.R. & SANTOS, M.C.F. 1999. A morphological study on posterior gills of the mangrove crab *Ucides cordatus*. *Tissue & Cell*, 31(3): 380-389.
- MARTINEZ, S. & STERN, I. 2002. Thermodynamic characterization of metal dissolution and inhibitor adsorption processes in the low carbon steel/mimosa tannin/sulfuric acid system. *Applied Surface Science*. 199(1–4):83-89.
- MATOZZO, V. & MARIN, M.G. 2010. First cytochemical study of haemocytes from the crab *Carcinus aestuarii* (Crustacea, Decapoda). *European Journal of Histochemistry*, 54: 44-49.
- MCGEER, J.C.; SZEDEDINSZKY, C.; MCDONALD, D.G. & WOOD, C.M. 2000. Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout: 1. Iono-regulatory disturbance and metabolic costs. *Aquat. Toxicol.* 50: 231-243.
- MENDONÇA, J.T. & MIRANDA, L.V. de 2008. Estatística pesqueira do litoral sul do estado de São Paulo: subsídios para gestão compartilhada. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3(3): 152-173.
- MIAO, S.Y. & CHEN, G.Z. 1998. Allocation and migration of lead in simulated wetland system of *Kandelia candel*. *China Environ. Sci.* 18:48–51.

- MONSERRAT, J.M., MARTÍNEZ, P.E., GERACITANO, L.A., AMADO, L.L., MARTINS, C.M.G., PINHO, G.L.L., CHAVES, I.S., FERREIRA-CRAVO, M., VENTURA-LIMA, J. & BIANCHINI, A. 2007. Pollution biomarkers in estuarine animals: Critical review and new perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 146: 221-234.
- MORAES, R.P. 1997. **Transporte de chumbo e metais associados no Rio Ribeira de Iguape, São Paulo, Brasil**. Instituto de Geociências, Unicamp, Campinas (SP), 94p. (Dissertação de mestrado).
- MORTIMER, M. & COX, M. 1999. Contaminants in mud crabs and sediments from the Maroochy River. State of Queen Island. *Environmental Protection Agency*, 1-19.
- NASCIMENTO, S.C.; HYPOLITO, R. & RIBEIRO, A.A. 2006. Disponibilidade de metais pesados em aterro de indústria siderúrgica. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 11(3):196-202.
- NERI, M.; FUCIC, A. KNUDSEN, L.E.; LANDO, C.; MERLO, F. & BONASSI, S. 2003. Micronuclei frequency in children exposed to environmental mutagens: a review. *Mutation Research*. 544:243-254.
- NEWMAN, M.C. 2013. **Bioaccumulation**. In: NEWMAN, M.C. (ed.). Quantitative Ecotoxicology. 2^o Edition. CRC Press / Taylor & Francis Group, 570p.
- NIENCHESKI, L.F.; MILANI, M.R. & MILANI, I. 2008. Metais traço: Água, 7-15. In: Baptista-Neto, J.A.; Wallner-Kersanach, M. & Patchineelam, S.M. (org.) **Poluição Marinha. Rio de Janeiro: Interciência**, 440p.
- NIGRO, M.; FALLEN, A.; DEL BARGA, I.; SCARCELLI, V.; LUCCHESI, P.; REGOLI, F. & FRENZILLI, G. 2006. Cellular biomarkers for monitoring estuarine environments: transplanted versus native mussels. *Aquatic Toxicology*, 77: 339-347.
- NOLSAAEN, K.; HOLM, P.E.; PRIEMÉ, A.; HUNG, N.N. & BRANDT, K.K. 2011. Comparison of aerobic and anaerobic [3H]leucine incorporation assays for determining pollution-induced bacterial community tolerance in copper-polluted, irrigated soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 30(3):588-595.
- NOTTEN, M. J. M.; OOSTHOEKL, A. J. P.; ROZEMA, J. & AERTS, R. 2005. Heavy metal concentrations in a soil-plant-snail food chain along a terrestrial soil pollution gradient. *Environmental Pollution*, 138: 178-190.
- NUDI, A.H.; WAGENER, A.L.R.; FRANCIONI, E.; SETTE, C.B.; SARTORI, A.V. & SCOFIELD, A.L. 2010. Biomarkers of PAH exposure in crabs *Ucides cordatus*: laboratory assay and field study. *Environmental Research*, 110: 137-145.
- OGILVIE, L.A. & GRANT, A. 2008. Linking pollution induced community tolerance (PICT) and microbial community structure in chronically metal polluted estuarine sediments. *Marine Environmental Research*. 65: 187-198.
- OLIVEIRA, F.S.J & JUCÁ, F.T.J. 2004. Acúmulo de metais pesados e capacidade de impermeabilização do solo imediatamente abaixo de uma célula de um aterro de resíduos sólidos. *Revista de Engenharia e Sanitária Ambiental*, 9: 211-217.
- OLIVEIRA, O.M.C.; CRUZ, M.J.M. & QUEIROZ, A.F.S. 2009. Metals geochemistry behavior in mangrove sediments of the Camamu Bay-Bahia. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 13(2):1-8.
- ONDER, S. & DURSUN, S. 2006. Air borne heavy metal pollution of *Cedrus libani* (A. Rich.) in the city centre of Konya (Turkey). *Atmospheric Environment*, 40:1122-1133.
- ONG CHE, R.G. 1999. Concentration of 7 heavy metals in sediments and mangrove root samples from Mai Po, Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin*, 39: 269-279.
- OXSANEN, J; BLANCHET, F.G.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MINCHIN, P.R.; O'HARA, R.B.; STIMPSON, G.L.; SOLYMOS, P.; HENRY, M.; STEVENS, H. & WAGNER, H. 2013. Vegan:

- Community Ecology Package. R package version 2.0-7. <http://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>.
- OTOMO, P V. & REINECKE, S.A. 2010. Increased cytotoxic and genotoxic tolerance of *Eisenia fetida* (Oligochaeta) to cadmium after long-term exposure. *Ecotoxicology*, 19:362-368.
- PAPAGEORGIOU, I.; SHADRICK, V.; DAVIS, S.; HAILS, L.; SCHINS, R.; NEWSON, R.; FISHER, J.; INGHAM, E. & CASE, C.P. 2008. Macrophages detoxify the genotoxic and cytotoxic effects of surgical cobalt chrome alloy particles but not quartz particles on human cells in vitro. *Mutation Research*, 643:11-19.
- PAREDES, J.F.; QUEIROZ, A.F. DE S.; CARVALHO, I.G.; RAMOS, M.A.S.B.; SANTOS, A.L.F. & MOSSER, C. 1995. **Heavy Metals in sediments: mangrove swamps of the Subaé and Paraguaçu tributary rivers of Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil**. Série Tecnologia Ambiental, nº 9, Centro de Tecnologia Mineral (RJ), 15p.
- PARK, J. & PRESLEY, B.J. 1997. Trace metal contamination of sediments and organisms from the Swan Lake area of Galveston Bay. *Environmental Pollution*, 98(2):209-221.
- PARRA, J.P. & ESPINOSA, L.F. 2008. Distribución de metales pesados (Pb, Cd y Zn) en perfiles de sedimento asociado a *Rhizophora mangle* en el Río Sevilla - Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*. 37(1):95-110.
- PENG, L.; ZHENG, W. & LI, Z., 1997. Distribution and accumulation of heavy metals in *Avicennia marina* community in Shenzhen, China. *J. Environ. Sci. (China)*. 9:427-429.
- PEREIRA, C.D.S. 2003. **Utilização de biomarcadores como indicadores de efeito e exposição a contaminantes em mexilhões da espécie *Perna perna* (Linnaeus,1758) provenientes do Canal de São Sebastião, SP**. Universidade de São Paulo - Instituto Oceanográfico São Paulo (SP), 72p. (Dissertação de Mestrado).
- PEREIRA, C.D.S.; ABESSA, D.M.S.; CHOUERI, R.B.; ALMAGRO-PASTOR, V.; AUGUSTO, C.; MARANHO, L.A.; DÍAZ, M.; LAURA, M.; TORRES, R.J.; GUSSO-CHOUERI, P.K.; ALMEIDA, J.E.; CORTEZ, F.S.; MOZETO, A.A.; SILBIGER, H.L.N.; SOUSA, E.C.P.M.; DEL VALLS, T.A. & BAINY, A.C.D. 2014. Ecological relevance of Sentinels' biomarker responses: A multi-level approach. *Mar. Environ. Res.* 96:118-126.
- PEREIRA, P.; DE PABLO, H.; SUBIDA, M.D., VALE, C. & PACHECO, M. 2009. Biochemical responses of the shore crab (*Carcinus maenas*) in a eutrophic and metal-contaminated coastal system (Obidos lagoon, Portugal). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72:1471-1480.
- PEREIRA, C.D.S.; MARTÍN-DÍAZ, M.L.; CATHARINO, M.G.M.; CESAR, A.; CHOUERI, R.B.; TANIGUCHI, S.; ABESSA, D.M.S.; BÍCEGO, M.C.; VASCONCELLOS, M.B.A.; BAINY, A.C.D.; SOUSA, E.C.P.M. & DELVALLS, T.A. 2012. Chronic contamination assessment integrating biomarkers' responses in transplanted mussels-A seasonal monitoring. *Environmental Toxicology*. 27:257-267.
- PESCE, S.; LISSALDE, S.; LAVIEILLE, D.; MARGOUM, C.; MAZZELLA, N.; ROUBEIX, V. & MONTUELLE, B. 2010. Evaluation of single and joint toxic effects of diuron and its main metabolites on natural phototrophic biofilms using a pollution-induced community tolerance (PICT) approach. *Aquatic Toxicology*. 99(4):492-499.
- PETTS, J. 1999. Introduction to environmental impact assessment in practice: fulfilled potential or wasted opportunity? In: PETTS, J. (ed.). **Handbook of Environmental Impact Assessment: Impact and Limitations**. Blackwell Science Ltd. 450p.
- PIAO, F.; CHENG, F.; CHEN, H.; LI, G.; SUN, X. & LIU, S. 2007. Effects of zinc coadministration on lead toxicities in rats. *Industrial Health*, 45: 546-551.

- PINHEIRO, M.A.A. 2006. **Biologia e manejo do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763 (Crustacea, Decapoda, Brachyura))**. Relatório Final do Projeto Uçá II, UNESP/CLP - FAPESP, São Vicente, SP, 409p.
- PINHEIRO, M.A.A. & FISCARELLI, A.G. 2001. **Manual de apoio à fiscalização do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*)**. UNESP/CEPSUL/IBAMA, 43p.
- PINHEIRO, M.A.A.; FISCARELLI, A.G. & HATTORI, G.Y. 2005. Growth of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Brachyura, Ocypodidae). *Journal of Crustacean Biology*, 25(2): 293-301.
- PINHEIRO, M.A.A. & FISCARELLI, A.G. 2009. Length-weight relationship of the carapace and condition factor of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ucididae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(2): 397-406.
- PINHEIRO, M.A.A.; OLIVEIRA, A.J.F.C. & FONTES, R.F.C. 2008. Introdução ao panorama ambiental da Baixada Santista, Cap. 01, 1-4. In: Oliveira, A.J.F.C.; Pinheiro, M.A.A.; Fontes, R.F.C. (Orgs.). **Panorama ambiental da Baixada Santista**. Universidade Estadual Paulista - Campus Experimental do Litoral Paulista, 1ª Edição, ISBN 978-85-61498-02-3, São Vicente, SP, 127p.
- PINHEIRO, M.A.A.; SILVA, P.P.G.; DUARTE, L.F.A.; ALMEIDA, A.A. & ZANOTO, F.F. 2012a. Accumulation of six metals in the mangrove crab *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae) and its food source, the red mangrove *Rhizophora mangle* (Angiosperma: Rhizophoraceae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 81: 114-121.
- PINHEIRO, M.A.A.; DUARTE, L.F.A. & SOUZA, M.R. 2012b. Mangroves as a biogeochemistry barrier to metals and its accumulation pattern in abiotic/biotic compartments in State of São Paulo, Brazil. CD-ROM of 50th ECSA (Estuarine, Coastal and Shelf Science Association) Conference: Today's science for tomorrow's Management Estuarine, Coastal and Shelf Science Conference, Veneza (Itália).
- PINHEIRO, M.A.A.; DUARTE, L.F.A.; TOLEDO, T.R.; ADAMS, M.A. & TORRES, R.A. 2013. Habitat monitoring and genotoxicity in *Ucides cordatus* (Crustacea: Ucididae), as tools to manage a mangrove reserve in southeastern Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(10): 8273-8285 (DOI: 10.1007/s10661-013-3172-9).
- PINHEIRO, M.A.A. & TOLEDO, T.R. 2010. Malformation in the crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae), in São Vicente (SP), Brazil. *Revista CEPSUL - Biodiversidade e Conservação Marinha*, 1(1): 1-5.
- POMPEU, P.S. & ALVES, C.B.M. 2003. Local fish extinction in a small tropical lake in Brazil. *Neotrop. ichthyol.* 1(2):133-135. ISSN 1679-6225.
- PREDA, M. & COX, M.E. 2002. Trace metal occurrence and distribution in sediments and mangroves, Pumicestone region, southeast Queensland, Austrália. *Environmental International*, 28: 433-449.
- PROVETTO ANALÍTICA. 2000. **Manual operation: System for Microwave Digestion of Samples - Model DGT 100 Plus**. Jundiaí, SP, 78p.
- QUEIROZ, A.F. de S. 1992. **Mangroves de la baia de Todos os Santos . Salvador . Bahia . Brésil: sés caractéristiques et influence anthropique sur as géochimie**. Université Louis Pasteur de Strasbourg, França. 148p. (Tese de Doutorado)
- QUITERIO, S. L. 2000. **Levantamento dos níveis de chumbo nas circunvizinhanças de uma fonte estacionária de emissão**. Departamento de Físico-Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro (RJ), 28p. (Dissertação de mestrado).
- QUSHENG, L.; ZHIFENG, W.; BEI, C.; NA, Z.; SHASHA, C. & JIANHONG, F. 2007. Heavy metals in coastal wetland sediments of the Pearl River Estuary, China. *Environmental Pollution*. 149(2):158-164.

- RAINBOW, P.S. 1985. Accumulation of Zn, Cu and Cd by crabs and barnacles. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 21: 669-686.
- RAINBOW, P.S. 1995. Physiology, physicochemistry and metal uptake - a crustacean perspective. *Marine Pollution Bulletin*, 31(1-3): 55-59.
- RAINBOW, P.S. 1997. Ecophysiology of trace metal uptake in crustaceans. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 44:169-175.
- RAINBOW, P.S. 2007. Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. *Environment International*, 33:576-582.
- RAINBOW, P.S. & BLACK, W.H. 2005. Cadmium, zinc and uptake of calcium by two crabs, *Carcinus maenas* and *eriocheir sinensis*. *Aquatic Toxicology*, 72: 45-65.
- RAMOS, M.G.M. 2005. **Determinação dos teores de metais pesados em plantas típicas dos mangues do Rio Cubatão**. Universidade Católica de Santos, 39p. (*Dissertação de mestrado*).
- RAMOS, M.G.M. & GERALDO, L.P. 2007. Avaliação das espécies de plantas *Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle* como bioindicadoras de poluição por metais pesados em ambientes de mangues. *Engenharia sanitária e ambiental*, 12: 440-445.
- RAY, A.K.; TRIPATHY, S.C.; PATRA, S. & SARMA, M.M. 2006. Assessment of Godavari estuarine mangrove ecosystem through trace metal studies. *Environment International*, 32. 219-223.
- RIBAS, L.M.; BERNINI, E. & REZENDE, C.E. 2006. Concentração de metais pesados na serapilheira de *Rhizophora mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul, Rio de Janeiro, Brasil. *Resumos Expandidos do IV Congresso de Geoquímica*. 3p.
- RODRIGUES, F.O. & ROQUETTI-HUMAYTÁ, M.H. 1988. **Estudo dos Manguezais da Baixada Santista**. Relatório final. São Paulo, CETESB. 70 p. + Anexos.
- ROESIJADI, G. 1992. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, 22: 81-113.
- RUSANOWSKI, P.C.; GARDNER, L.A.; JEWETT, S.C. & KING, C.A. 1989. Trace metal concentrations in Red King Crab from Norton Sound. Proceedings of the international symposium on king and tanner crabs, Alaska Sea Grant College Program, University of Alaska, Fairbanks, Alaska,. pp. 345-64.
- RUTGERS, M.; VERLAAT, I.M.V.; WIND, B.; POSTHUMA, L. & BREURE, A.M. 2009. Rapid method for assessing pollution-induced community tolerance in contaminated soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 17(11):2210-2213.
- SADIQ, M. & ZAIDI, T.H. 1994. Sediment composition and metal concentrations in mangrove leaves from the Saudi coast of the Arabian Gulf. *Science of The Total Environment*. 155(1):1-8.
- SAENGER, P.; MCCONCHIE, D. & CLARK, M.W. 1990. **Mangrove forests as a buffer zone between anthropologically polluted areas and the sea**. In: Saenger, P. (Ed.), Proceedings of the 1990 CZM Workshop, Yeppoon, Qld, pp. 280-297.
- SAIFULLAH, S.M.; KHAN, S.H. & ISMAIL, S. 2002. Distribution of nickel in a polluted mangrove habitat of the Indus Delta. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 570-576.
- SALT, D.E.; PRINCE, R.C.; PICKERING, I.J. & RASKIN, I. 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiology*, 109: 1427-1433.

- SANDERS, M.J.; DUPREEZ, H.H. & VANVUREN, J.H.J. 1998. The freshwater river crab, *Potamonautes warreni*, as a bioaccumulative indicator of iron and manganese pollution in two aquatic systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 41: 203-214.
- SANTONEN, T.; ZITTING, A.; RIIHIMÄKI, V. & HOWE, P.D. 2009. Inorganic chromium(iii) compounds. *Concise International Chemical Assessment Document* 76, World Health Organization, 91p.
- SANTOS, A.L.F. 1997. **Manguezais do estuário do Rio Joanes. Lauro de Freitas - Bahia - Estudos de caracterização geoquímica como subsídios para um gerenciamento ambiental adequado.** Geoquímica e Meio Ambiente. Instituto de Geociências, UFBA (BA), 226p. (Dissertação de Mestrado)
- SANTOS-FILHO, E.; SOUZA E SILVA, R.; SAKUMA, A.M.; SCORSFAVA, M.A.; BARRETO, H.H.C.; INOMATA, O.N.K. & LEMES, V.R.R. 1991. **Concentrações de metais pesados e pesticidas organoclorados em crianças residentes em bairros situados as margens dos rios do município de Cubatão (SP).** Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Sanitária. Programa de Saúde e Meio Ambiente. Instituto Adolfo Lutz.
- SARANGI, R.K.; KATHIRESAN, K. & SUBRAMANIAN, A.N., 2002. Metal concentrations in five mangrove species of the Bhitarkanika, Orissa, east coast of India. *Indian J. Mar. Sci.* 31:251-253.
- SASTRE, M.P.; REYES, P.; RAMOS, H.; ROMERO, R. & RIVERA, J. 1999. Heavy metal bioaccumulation in Puerto Rican Blue Crabs (*Callinectes spp.*). *Bulletin of Marine Science*, 64(2): 209-217.
- SCARPATO, R.; MIGLIORE, L.; ALFINITO-COGNETTI, G. & BARALE, R. 1990. Induction of micronucleus in gill tissue of *Mytillus galloprovincialis* exposed to polluted marine waters. *Marine Pollution Bulletin*, 21(2): 74-80.
- SCHAEFFER-NOVELLI, Y. & CINTRÓN, G. 1986. **Guia para estudo de áreas de manguezal: Estrutura, Função e Flora.** São Paulo, Caribbean Ecological Research, 150p.
- SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; HEMMING-SEN, E. & GAREY, W. 1962. Salt balance in mangroves. *Plant Physiology*, 37: 722-729.
- SCHROPP, S. J.; LEWIS, G. F.; WINDOM, H. L.; RYAN, J. D.; CALDER, F. D.; BURNEY, L. C. 1990. Interpretation of metal concentrations estuarine sediments of Florida using aluminum as a reference element. *Estuaries*, 13(3): 227- 235.
- SEMENSATTO-JR., D.L. 2006. **O sistema estuarino do delta do Rio São Francisco-SE: análise ambiental com base no estudo de foraminíferos e tecamebas.** Instituto de Geociências e Meio Ambiente, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro (SP), 205p. (Tese de Doutorado)
- SEMENSATTO-JR, D.L.; ARAÚJO, G.C.L.; FUNO, R.H.F.; SANTA-CRUZ, J. & DIAS-BRITO, D. 2007. Metais e Não-Metais em Sedimentos de um Manguezal Não-Poluído, Ilha do Cardoso, Cananéia (SP). *Revista Pesquisas em Geociências*, 34(2): 25-31.
- SEOANE, A.I. & DULOUT, F.N. 2001. Genotoxic ability of cadmium, chromium and nickel salts studied by kinetochore staining in the cytokinesis-blocked micronucleus assay. *Mutation Research*, 490: 99-106.
- SERMENT-GUERRERO, J.; CANO-SANCHEZ, P.; REYES-PEREZ, E.; VELAZQUEZ-GARCIA, F.; BRAVO-GOMEZ, M.E. & RUIZ-AZUARA, L. 2011. Genotoxicity of the copper antineoplastic coordination complexes casiopeinas. *Toxicology in Vitro*, 7:1376-1384.
- SHARMA, V.R.; RHUDY, K.B.; KOENING, R. & VAZQUEZ, G.F. 1999. Metals in sediments of the upper Laguna Madre. *Marine Pollution Bulletin*, 38(12): 1221-1226.

- SHIMADA, H.; SUZUKI, H.; ITOH, S.; HATTORI, C.; MATSURA, Y.; TADA, S. & WATANABE, C. 1992. The micronucleus test of benzo[a]pyrene with mouse and rat peripheral blood reticulocytes. *Mutation Research*, 278: 165-168.
- SHIRIVASTAVA, R.; UPRETI, R.K.; SETH, P.K. & CHATURVEDI, U.C. 2002. Effects of chromium on the immune system. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 34: 1-7.
- SHUMILIN, E.; PÁEZ-OSUNA, F.; GREEN-RUIZ, C.; SAPOZHNIKOV, D.; RODRÍGUEZ-MEZA, G. & GODÍNEZ-ORTA, L. 2001. Arsenic, antimony, selenium and other trace elements in sediments of the La Paz Lagoon, Peninsula of Baja California, Mexico. *Marine Pollution Bulletin*, 42(3): 174-178.
- SILVA, P.P.G. 2010. **Bioacumulação de metais pesados em estruturas corpóreas do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ucididae) e em estágios foliares do mangue-vermelho, *Rhizophora mangle* Linnaeus (Angiosperma: Rhizophoraceae).** Campus Experimental do Litoral Paulista, Universidade Estadual de São Paulo, São Vicente (SP), 57p. (*Trabalho de Conclusão de Curso de Bacharel em Ciências Biológicas*).
- SILVA, J.S.V.; FERNANDES, F.C.; SOUZA, R.C.C.L.; LARSEN, K.T.S. & DANELON, O.M. 2004. Água de Lastro e Bioinvasão. In: **Água de Lastro e Bioinvasão**. SILVA, J.S.V. & SOUZA, R.C.L. (Eds.). Interciência.
- SILVA, C.A.R.; LACERDA, L.D. & REZENDE C.E. 1990. Metals reservoir in a red mangrove. *Biotropica*, 22(4): 339-345.
- SILVA, W.L.; MATOS, R.H.R. & KRISTOSCH, G.C. 2002. Geoquímica e índice de geoacumulação de mercúrio em sedimentos de superfície do estuário de Santos - Cubatão (SP). *Química Nova*, 25(5):753-756.
- SILVA, C.S. & PEDROZO, M.F.M. 2001. **Ecotoxicologia do cromo e seus compostos.** Cadernos de referência ambiental, v.5.
- SILVA, C.A.R.; DA SILVA, A.P. & DE OLIVEIRA, S.R. 2006. Concentration, stock and transport rate of heavy metals in a tropical red mangrove, Natal, Brazil. *Mar. Chem.* 99:2–11.
- SIMONETTI, P.; BOTTÉ, S.E.; FIORI, S.M. & MARCOVECCHIO, J.E. 2012. Heavy-metal concentrations in soft tissues of the burrowing crab *Neohelice granulata* in Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 62:243-253.
- SMITH III, T.J. 1992. Forest structure, 101-136. In: Robertson, A. I. & Alongi, D.M. (Eds.). **Tropical mangrove ecosystems**. American Geophysical Union, Washington.
- SOARES, M.L.G. 1999. Estrutura vegetal e grau de perturbação dos manguezais da Lagoa da Tijuca, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Revista Brasileira de Bioogia.*, 59(3): 503-515.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. 2003. **Biometry: The principles and practice of statistics in biological research**. 3rd Ed., W.H. Freeman, New York, 887p.
- SOUSA, K.V.C. 2011. **Avaliação da concentração de metais tóxicos no sedimento de fundo e em suspensão do Rio Ribeira de Iguape.** Campus Experimental do Litoral Paulista, Universidade Estadual de São Paulo, São Vicente (SP), 71p. (*Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização em Gestão Ambiental*).
- SPONCHIADO, G.; REYNALDO, E.M.F.L.; ANDRADE, A.C.B.; VASCONCELOS, E.C.; ADAM, M.L. & OLIVEIRA, C.M.R. 2011. Genotoxic Effects in erythrocytes of *Oreochromis niloticus* exposed to nanograms-per-liter concentration of 17 β -Estradiol (E2): an assessment using micronucleus test and comet assay. *Water, Air & Soil Pollution*, 218:353-360.
- STEENKAMP, V.E., DU PREEZ, H.H., SCHOONBEE, H.J. & VAN EEDEN, P.H. 1994. Bioaccumulation of manganese in selected tissues of the freshwater crab, *Potamonautes*

- warreni* (Calman), from industrial and minepolluted freshwater ecosystems. *Hydrobiologia*, 288: 137-150.
- SVENDSEN, C.; SPURGEON, D.J.; HANKARD, P.K. & WEEKS, J.M. 2004. A review of lysosomal membrane stability measured by neutral red retention: is it a workable earthworm biomarker? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57:20-29
- TALBOT, V. & CHEGWIDDEN, A. 1982. Cadmium and other heavy metal concentrations in selected biota from Cockburn Sound, Western Australia. *Australian Journal of Marine Freshwater Research*, 33:779-788.
- TAM, N.F.Y. & WONG, Y.S. 1995. Spatial and temporal variations of heavy metal contamination in sediments of a mangrove swamp in Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin*, 31(4-12): 254-261.
- TAM, N.F.Y. & WONG, Y.S. 2000. Spatial variation of heavy metals in surface sediments of Hong Kong mangrove swamps. *Environmental Pollution*, 110: 195-205.
- TAPISSO, J.T.; MARQUES, C.C.; MATHIAS, M.L. & RAMALHINHO, M.G. 2009 Induction of micronuclei and sister chromatid exchange in bone-marrow cells and abnormalities in sperm of Algerian mice (*Mus spretus*) exposed to cadmium, lead and zinc. *Mutation Research*, 678: 59-64.
- TERLIZZI, A.; SCUDERI, D.; FRASCHETTI, S. & ANDERSON, M.J. 2005. Quantifying effects of pollution on biodiversity: a case study of highly diverse molluscan assemblages in the Mediterranean. *Marine Biology*, 148: 293-305.
- THEODORE, L. & DUPONT, R.R. 2012 **Environmental Health and Hazard Risk Assessment: Principles and Calculations**. ISBN 978-1-43-986887-4. 636p.
- TERLIZZI, A.; SCUDERI, D.; FRASCHETTI, S. & ANDERSON, M.J. 2005. Quantifying effects of pollution on biodiversity: a case study of highly diverse molluscan assemblages in the Mediterranean. *Marine Biology*, 148: 293-305.
- TESSLER, G.M.; SUGUIO, K. & ROBILOTTA, P.R. 1987. Teores de alguns elementos traço metálicos em sedimentos pelíticos da superfície de fundo da região Lagunar Cananéia-Iguape. *Anais do Simpósio sobre Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileira, Cananéia - SP*, 2: 255-263.
- THE R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2002. The R Environment for Statistical Computing and Graphics - Reference Index, Version 1.5.0. ISBN 3-901167-50-1 <<http://www.r-project.org>>. 1092p.
- TLILI, A.; CORCOLL, N.; BONET, B.; MORIN, S.; MONTUELLE, B.; BÉRARD, A. & GUASCH, H. 2011. In situ spatio-temporal changes in pollution-induced community tolerance to zinc in autotrophic and heterotrophic biofilm communities. *Ecotoxicology*. 20(8):1823-1839.
- THOMAS, G. & FERNANDEZ, T.V. 1997. Incidence of heavy metals in the mangrove flora and sediments in Kerala, India. *Hydrobiologia* 352:77–87.
- TROCINE, R.P. & TREFRY, J.H. 1996. Metal concentrations in sediment, water and clams from the Indian River Lagoon, Florida. *Marine Pollution Bulletin*, 32(10): 754-759.
- VIARENGO, A. 1989. Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. *CRC Critical Reviews in Aquatic Sciences*, 1: 295-317.
- VILELA, C.G.; BATISTA, D.S.; BAPTISTA-NETO, J.A.; CAPREZ, M. & MCALLISTER, J.J. 2004. Benthic foraminifera distribution in high polluted sediments from Niterói Harbor (Guanabara Bay), Rio de Janeiro, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 76(1): 161-171.
- VILHENA, M.S.P.; COSTA, M.L. & BERREDO, J.F. 2012. 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). *Environ Geochem Health*. DOI 10.1007/s10653-013-9509-z.
- VILHENA, M.S.P.; COSTA, M.L.; BERREDO, J.F.; SÁ, G.C.; COSTA, A.M.; SANTOS, E.O. & BRABO, E.S. 2003. Mercúrio em sedimentos de mangues, caranguejos (*Ucides cordatus*) e cabelos humanos em torno dos manguezais do nordeste do Pará. *Geochim. Brasil*. 17(2):121-129.
- VIRGA, R.H.P. 2006. **Análise quantitativa de metais pesados (Cd, Cr, Cu, Pb, E Zn) em siris-azuis do gênero *Callinectes* sp. (Crustacea, Portunidae) provenientes do Rio Cubatão, Cubatão, São Paulo, Brasil.** Universidade Católica de Santos, Santos (SP), 105p. (Dissertação de mestrado).
- VIRGA, R.H.P.; GERALDO, L.P. 2008. Investigação dos teores de metais pesados em espécies de siris azuis do gênero *Callinectes* sp. *Ciência e Tecnologia Alimentícia*, 28(4): 943-948.
- WALSH, G.E. 1974. Mangroves: a review, 51-174. In: Reimold, R. J. & Queen, W. H. (Eds). **Ecology of Halophytes**. Academic Press, New York.
- WEINSTEIN, J.E., WEST, T.L. & BRAY, J.T. 1992. Shell disease and metal content of blue crabs, *Callinectes sapidus*, from the Albemarle-Pamlico estuarine system, North Carolina. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 23: 355-362.
- WEN-JIAOL, Z.; XIAO-YONG, C. & PENG, L. 1997. Accumulation and biological cycling of heavy metal elements in *Rhizophora stylosa* mangroves in Yingluo Bay, China. *Marine Ecology Progress Series*. 159:293-301.
- WHO, 1989. **Environmental Health Criteria - 85: Lead - Environmental Aspects**. Geneva.
- WILLIAMS, R.C. & METCALFE, C.D. 1992. Development of an *in vivo* hepatic micronucleus assay with rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, 23: 193-202.
- WOOD, L.J.; MURRAY, B.J.; OKATAN, Y.; NOODÉN, L.D. 1986. Effect of petiole phloem distribution on starch and mineral distribution in senescing soybean leaves. *American Journal of Botany*, 73: 1377-1383.
- WOODWELL, G. M.; HOBBIE, J.E.; HOUGHTON, R.A.; MELILLO, J.M.; MOORE, B.; PETERSON, B.J. & SHAVER, G.R. 1983. Global Deforestation: Contribution to Atmospheric Carbon Dioxide. 222(4628):1081-1086. *Science*. DOI: 10.1126/science.222.4628.1081
- WORM, B.; HILBORN, R.; BAUM, J.K.; BRANCH, T.A.; COLLIE, J.S.; COSTELLO, C.; FOGARTY, M.J.; FULTON, E.A.; HUTCHINGS, J.A.; JENNINGS, S.; JENSEN, O.P.; LOTZE, H.K.; MACE, P.M.; MCCLANAHAN, T.R.; MINTO, C.; PALUMBI, S.R.; PARMA, A.M.; RICARD, D.; ROSENBERG, A.A.; WATSON, R. & ZELLER, D. 2009. Rebuilding Global Fisheries. *Science*. 325:578-585.
- WRISBERG, M.N.; BILBO, C.M. & SPLIID, H. 1992. Induction of micronuclei in hemocytes of *Mytilus edulis* and statistical analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 23: 191-205.
- WUNDERLICH, A.C.; PINHEIRO, M.A.A. & RODRIGUES, A.M.T. 2008. Biologia do Caranguejo-Uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus) (Crustacea, Decapoda, Brachyura), na Baía da Babitonga, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 25(2): 188-198.
- XIE, L. & KLEKS, P.L. 2004. Fitness cost of resistance to cadmium in the least killifish (*Heterandria formosa*). *Environ. Toxicol. Chem*. 23:1499-1503.
- YAO, C.L.; WU, C.G.; XIANG, J.H.; LI, F.; WANG, Z.Y. & HAN, X. 2008. The lysosome and lysozyme response in Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis* to *Vibrio anguillarum* and laminarin stimulation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 363:124-129.
- YIM, M.W.; TAM, N.F.Y. 1999. Effects of wastewater-borne heavy metals on mangrove plants and soil microbial activities. *Marine Pollution Bulletin*, 39:179-86.

- ZAHIR, E.; NAQVI, I.I. & ZEHRA, I. 2004. Spatial and temporal variation of heavy metals in mangrove and sediment along Karachi coastal areas, Pakistan. *J. Saudi Chem. Soc.* 8:197–202.
- ZAR, J.H. 1999. **Biostatistical Analysis**. 4th Ed. Prentice Hall. 663p.
- ZHENG, W.J.; CHEN, X.-Y & LIN, P. 1997. Accumulation and biological cycling of heavy metal elements in *Rhizophora stylosa* mangroves in Yingluo Bay, China. *Marine Ecology Progress Series*, 159: 293-301.
- ZHENG, W.J. & LIN, P. 1996a. Accumulation and distribution of Cu, Pb, Zn and Cd in *Avicennia marina* mangrove community of Futian in Shenzhen. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 27: 386-393.
- ZHENG, W.J. & LIN, P. 1996b Accumulation and distribution of Cr, Ni and Mn in *Avicennia marina* mangrove community of Futian in Shenzhen. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 7:139-144.
- ZHENG, W.J.; ZHENG F.Z.; LIAN, Y.W. & LIN, P. 1996a. Accumulation and dynamics of Cu, Pb, Zn and Mn elements in *Kandella candel* (L.) Druce mangrove community of Jiulong river estuary of Fujian. *Acta Botanica Sinica*, 38: 227-233.
- ZHENG, W.J.; ZHENG F.Z.; LIAN, Y.W. & LIN, P. 1996b. Accumulation and dynamics of cadmium, chromium and nickel in *Kandella candel* (L.) Druce mangrove community of Jiulong river estuary of Fujian. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 16:232-237.

9. ANEXO FOTOGRÁFICO



Prancha 1 - Fotos de algumas expedições do Projeto Uçá III. A) Organização dos sacos plásticos para a coleta de sedimento nas subáreas de manguezal, bem como dos demais materiais e equipamentos para as expedições de campo; B) Caixa térmica contendo materiais e equipamentos a serem utilizados nas expedições em campo; C) Alunos descarregando os materiais e equipamentos da camionete, para uso em uma das expedições de campo; D) Acadêmicos sendo transportados até uma das subáreas de manguezal; E) Acadêmicos fazendo a leitura de informações essenciais para sua participação em uma das expedições de campo, logo depois de explicações feitas pelo Prof. Marcelo Pinheiro; F) Prof. Marcelo Pinheiro explicando o uso do GPS ao Doutorando/Bolsista Luis Felipe de Almeida Duarte, para traçar o perímetro e cálculo das subáreas de manguezal.



Prancha 2 - Fotos de algumas expedições do Projeto Uçá III. G) Doutorando Luis Felipe Duarte utilizando o GPS para a marcação dos pontos de coleta; H) Acadêmico Leonardo Mendes coletando serapilheira em um dos quadrados de amostragem; I) Acadêmicos coletando serapilheira e medindo o diâmetro das galerias em um dos quadrados de 5x5m; J) Acadêmicos coletando serapilheira; K) Prof. Marcelo Pinheiro identificando a espécie de um das plântulas arbóreas; L) Doutorando/Bolsista Luis Felipe de Almeida Duarte marcando uma das árvores com fita biodegradável.



Prancha 3 - Fotos de algumas expedições do Projeto Uçá III. M) Toca do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*); N) Pneumatóforos de *Avicennia schaueriana*; O) Raízes escora de *Rhizophora mangle*; P) Vista panorâmica de uma franja de manguezal com intensa dinâmica hídrica (foco no exemplar de *Rhizophora mangle* derrubado pela força das marés no local); Q e R) Prof. Marcelo Pinheiro e parte de sua equipe, pertencente ao Grupo de Estudos em Biologia de Crustáceos (CRUSTA).