
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

(ÁREA: MICROBIOLOGIA APLICADA)

VANESSA DA COSTA ANDRADE

**ESTRUTURA E FUNCIONAMENTO DA ALÇA MICROBIANA
NOS SEDIMENTOS DA BAÍA DO ARAÇÁ, SÃO SEBASTIÃO – SP**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Área: Microbiologia Aplicada).

Rio Claro - SP
2015

VANESSA DA COSTA ANDRADE

**ESTRUTURA E FUNCIONAMENTO DA ALÇA MICROBIANA
NOS SEDIMENTOS DA BAÍA DO ARAÇÁ, SÃO SEBASTIÃO – SP**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Área: Microbiologia Aplicada).

Orientadora: Profa. Dra. Ana Júlia Fernandes Cardoso de Oliveira

**Rio Claro - SP
2015**

Dedico o presente trabalho à minha família, ao meu noivo e amigos queridos: pela dedicação, amor, carinho, apoio, confiança e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Muitas vezes, para alcançarmos nossos objetivos, temos que ultrapassar barreiras que nos parecem intransponíveis. Algumas destas barreiras nos derrubam e achamos que não podemos mais prosseguir, desacreditando em nós mesmos. Mas os amigos verdadeiros te estendem a mão e mostram do que você é capaz, acreditando em você até mesmo quando você não acredita em si mesmo.

Pelo dicionário, *amizade* significa afeto que liga as pessoas, reciprocidade de afeto. Para mim, *amizade* vai muito além disso! Amigos são a família que você escolhe, e te acompanham na caminhada. Acredito que a Vida coloca certas pessoas em sua vida para te ensinar algo, e colocou cada um de vocês em minha vida com um motivo.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq).

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Área: Microbiologia Aplicada), a todos os docentes, colegas e profissionais envolvidos no programa.

Ao Departamento de Bioquímica e Microbiologia e todos os funcionários.

À Profa. Dra. Ana Júlia pela oportunidade de ter trabalhado durante todos esses anos no MicroMar e fazer parte dessa família desde a Iniciação Científica. Agradeço pela orientação, mas acima de tudo agradeço a amizade, paciência, ombro amigo, conselhos, conversas, discussões, puxões de orelha, por ter acreditado em mim até mesmo quando eu não acreditava, e por nunca deixado eu desistir. Agradeço acima de tudo por ela não ter sido apenas uma orientadora, e sim uma segunda mãe. Sem nenhuma sombra de dúvidas, todo seu esforço faz parte da minha formação acadêmica, profissional e pessoal.

Agradeço ao Laboratório de Microbiologia Marinha (MicroMar) da UNESP de São Vicente e a todos integrantes e ex-integrantes, mas especialmente agradeço à Bruna (Bru), Aline (Castanha), Thaís, Raphaela (Pico), Renata (Topanga), pelas risadas, companheirismo, amizade e cumplicidade durante todos esses anos.

Agradeço a Profa Dra. Cecília Amaral, por participar do Projeto BIOTA Araçá. Também agradeço ao apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por financiar o presente projeto.

Agradeço a Profa. Dra. Ceci e sua equipe do Laboratório de Ecotoxicologia e Ecologia de Microfitobentos – Instituto Oceanográfico USP.

Aos amigos da Pós, especialmente Mariana (Mari), Viviane (Bivis), Fabiane (Fabi), Thais (Caçula), Tássio, Weilan (Paixão), Paola, Danilo. Agradeço pelas risadas, companhia e aprendizados.

Aos meus amigos de república Rafael (Finha), Gustavo (Gu), Daiana (Dai) e Ana. Obrigado pelas risadas, cumplicidade, amizade, gordices, colos, cervejas, conversas, abraços, desabafos e segredos. Vocês se tornaram parte importante da minha vida, amo todos vocês!

Aos meus amigos. Em especial agradeço à Gabriela Tortorelli (Tchuca), minha amiga de infância, por toda a amizade sincera, cumplicidade, conselhos, risadas e amor, mesmo quando estamos fisicamente distantes. À Daniela Baldin (Dani) por nossa amizade, companheirismo, conselhos e cumplicidade. À Deborah Sidou (Deh), por nossa amizade sincera desde os tempos da faculdade e pelo companheirismo de sempre.

Ao meu pai. À minha irmã Larissa. Aos meus avós. À Bisa (*in memoriam*).

Ao meu noivo, Marcos, por todo amor, paciência, companheirismo, dedicação, risadas e acima de tudo: amizade.

Para finalizar gostaria de agradecer principalmente a minha mãe Lucinda, meu exemplo, meu porto seguro. Obrigada por sempre me apoiar e incentivar alcançar meus sonhos, estar sempre ao meu lado nas minhas decisões, sejam elas quais fossem. Obrigada pelo amor, carinho, determinação, pelas cobranças desde pequena, pelo incentivo aos estudos, por me fazer gostar de ler. Você é meu exemplo de força e determinação. Obrigada, mãe, pelo amor, amizade e cumplicidade.

Não teria conseguido sem vocês, por isso dedico à todos de coração!

“(...) e me ocorreu que a ambição voraz dos seres humanos
nunca é a saciada quando os sonhos são realizados,
porque há a sensação de que tudo poderia ter
sido feito melhor e ser feito outra vez.”
(John Green)

RESUMO

É sabido que grande parte da produção primária global ocorre nos oceanos, e que um problema fundamental é entender como os organismos usam este carbono e quais são os padrões das variações espaço-temporais do carbono e do fluxo de energia. Deste modo, o interesse no ciclo do carbono vem aumentando nos últimos anos devido ao aumento recente de problemas mundiais, tais como mudanças climáticas e antropização de zonas costeiras. A alça microbiana conduz energia e carbono por meio das bactérias, para os níveis tróficos superiores, além de promover a assimilação de elementos inorgânicos biologicamente importantes, como nitrogênio e fósforo, em matéria orgânica na coluna d'água, elementos estes que são de extrema importância biológica. O presente estudo teve por objetivo estudar a estrutura e o funcionamento da alça microbiana nos sedimentos da Baía do Araçá, quantificar seus elementos, verificar as flutuações nas densidades e correlacionar com outros fatores analisados, tais como contaminantes metálicos, matéria orgânica e hidrocarbonetos. Foram coletadas amostras de sedimento em 37 pontos, divididos em duas regiões (entremarés e sublitoral), durante o período de um ano. As amostras foram analisadas quanto a granulometria, conteúdo de matéria orgânica, carbonos orgânicos totais, hidrocarbonetos, além da análise dos componentes microbiológicos. Foi observado que as maiores densidades de microrganismos foram observadas na região do sublitoral. Houve uma correlação negativa entre as densidades de bactérias heterotróficas e nano flagelados, podendo indicar bacterivoria. As variações de matéria orgânica ao longo do estudo afetaram diretamente as populações de bactérias heterotróficas.

PALAVRAS-CHAVE: alça microbiana; sedimento, cianobactérias; bactérias heterotróficas; nanoflagelados;

ABSTRACT

It is known that great part of the global primary occurs in the oceans, and a problem is to understand how the organisms use this carbon, what are the patterns of the spatial-temporal variations of carbon and of the energy flow. Thus, the interest in the carbon cycle is increasing in recent years due to the increase of global problems, such as climate change and the increase of population in coastal areas. The microbial loop leads energy and carbon, by bacteria, to the other trophic levels, and it also promotes the assimilation of inorganic elements biologically relevant, such as nitrogen and phosphorus, in organic matter in the water column, which are extremely biologically important. This study aims to analyze the structure and the functioning of the microbial loop, quantifying its elements, check the densities variations and correlate with other analyzed factors, such as metal contaminants, organic matter and hydrocarbons. Sediment samples were collected at 37 points, divided into two regions (intertidal and subcoastal), during the period of one year. The samples were processed for granulometric analysis, organic matter, total organic carbons, hydrocarbons, and microbiological components. It was observed that the highest densities of microorganisms were at the subcoastal region. There was a negative correlation between the densities of heterotrophic bacteria and nanoflagellates, which may indicate bacterivory. Variations of organic matter throughout the study directly affected the heterotrophic bacteria populations.

KEYWORDS: microbial loop, sediment, cyanobacteria; heterotrophic bacteria; nanoflagellates

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Alça microbiana descrita por Azam <i>et al.</i> (1983), demonstrada com as setas pretas, e suas posteriores adições (setas pontilhadas em vermelho). MOP: matéria orgânica particulada; MOD: matéria orgânica dissolvida. Adaptado de Fenchel, 2008.....	19
Figura 2 - Mapa da área de estudo, com os pontos de coletas indicados pelos números.	22
Figura 3 - Localização da Baía do Araçá e do Terminal Portuário de São Sebastião. Fonte: Google Maps	23
Figura 4 – Densidades de cianobactérias nas diferentes zonas estudadas.	33
Figura 5 – Médias obtidas para cianobactérias ao longo do período de estudo.	33
Figura 6 – Densidades de bactérias heterotróficas nas zonas estudadas na Baía do Araçá.....	35
Figura 7 - Médias obtidas para bactérias heterotróficas ao longo do período de estudo.....	36
Figura 8 - Densidades de nanoflagelados nas zonas estudadas na Baía do Araçá.	37
Figura 9 - Médias obtidas para nanoflagelados ao longo do período de estudo.....	38
Figura 10 - Variação das médias das densidades de microrganismos na região do entremarés. Cianobactérias ($\times 10^4$), bactérias heterotróficas ($\times 10^5$) e nanoflagelados ($\times 10^3$), nas coletas de março, julho e outubro de 2013.....	39
Figura 11 - Variação das médias das densidades de microrganismos na região do sublitoral. Cianobactérias ($\times 10^4$), bactérias heterotróficas ($\times 10^5$) e nanoflagelados ($\times 10^3$), nas coletas de março, julho e outubro de 2013 e março de 2014.	40
Figura 12 – Correlação de Pearson entre as densidades de bactérias heterotróficas e nanoflagelados	41
Figura 13 - Cianobactéria em cadeia, observada nas amostras da coleta de março de 2013, no sedimento da Baía do Araçá, São Sebastião (SP).	42
Figura 14 – Cianobactérias em cadeia (seta), observada nas amostras da coleta de março de 2014 no sedimento da Baía do Araçá, São Sebastião (SP).	42
Figura 15 – Bactérias heterotróficas (seta), observada na amostra de outubro de 2013, no sedimento da Baía do Araçá, São Sebastião (SP).....	43
Figura 16 – Concentração de matéria orgânica (MO) encontrada nos sedimentos da Baía do Araçá.	45
Figura 17 – Concentrações de (a) Arsênio, (b) Cádmio, (c) Cromo e (d) Chumbo presentes nos sedimentos da Baía do Araçá.	46

Figura 18 - Comparativo das médias das porcentagens de matéria orgânica e das densidades de bactérias heterotróficas nos sedimentos da região entremáres.	47
Figura 19 - Comparativo das médias das porcentagens de matéria orgânica e das densidades de bactérias heterotróficas nos sedimentos da região do sublitoral.	48
Figura 20 - Alquilbenzeno lineares (LABs) em amostras de sedimentos coletados na Baía do Araçá.	49
Figura 21 - Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em amostras de sedimento coletados na Baía do Araçá.	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Porcentagem de matéria orgânica presente nas amostras de sedimento nas regiões entre marés (pontos 1 a 25) e sub litoral (pontos 26 a 37) da Baía do Araçá, São Sebastião (SP). 44

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Cálculo de abundância de microrganismos.	31
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	20
2.1. <i>Objetivos gerais</i>	20
2.2. <i>Objetivos específicos</i>	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1. <i>Área de estudo</i>	21
3.2. <i>Coleta das amostras e processamento</i>	24
3.3. <i>Análise do sedimento</i>	25
3.3.1. <i>Granulometria</i>	25
3.3.2. <i>Matéria Orgânica</i>	26
3.3.3. <i>Metais pesados</i>	26
3.3.4. <i>Contaminantes orgânicos</i>	27
3.4. <i>Contagem de Microrganismos</i>	28
3.4.1. <i>Contagem Direta de Bactérias Heterotróficas e Cianobactérias</i>	29
3.4.2. <i>Contagem de Nanoflagelados Heterótrofos</i>	30
3.4.3. <i>Cálculo da densidade</i>	30
3.5. <i>Análise estatística</i>	31
4. RESULTADOS	32
4.1. <i>Análises Microbiológicas</i>	32
4.2. <i>Análises do sedimento</i>	43
5. DISCUSSÃO	51
6. CONCLUSÃO	57
7. REFERÊNCIAS	58

1. INTRODUÇÃO

Ecossistemas costeiros são complexos e de extrema importância para a produção primária e ciclagem de matéria orgânica, além de funcionar como berçários para diversas espécies por apresentar elevada oferta de nutrientes e, devido à geomorfologia fornecem local abrigado para os mais diversos organismos. Devido à dinâmica das correntes, estes ambientes podem exportar e importar matéria orgânicas e energia para outros ambientes, podendo ser tanto na forma de compostos orgânicos, como nutrientes contidos na água, influenciando os ambientes adjacentes (ODUM, 1980; DAME *et al.*, 1986; SCHAEFFER-NOVELLI, 1995; NAGELKERKEN *et al.*, 2000; BARBIER *et al.*, 2011).

É sabido que grande parte da produção primária global ocorre nos oceanos, e um problema fundamental é entender como os organismos utilizam o carbono e quais são seus padrões das variações espaço-temporais e do fluxo de energia. Sendo assim, o interesse no ciclo do carbono vem aumentando nos últimos anos devido ao aumento recente de problemas ambientais mundiais, tais como alterações antrópicas climáticas, antorpização de zonas costeiras, eutrofização costeira e sobrepesca (JACKSON *et al.*, 2001; PAULY *et al.*, 2003; AZAM & MALFATTI, 2007).

Historicamente, os microrganismos foram excluídos dos estudos sobre a dinâmica da matéria orgânica nos ambientes marinhos (AZAM & MALFATTI, *op cit.*), sendo também desconsiderados nos trabalhos sobre biogeoquímica e sobre a produtividade nos oceanos (STEELE, 1974), pois acreditava-se que as bactérias possuíam apenas o papel de decompositoras, remineralizando e disponibilizando nutrientes para os produtores primários (MACFAYDEN, 1964; AZAM *et al.*, 1983; TRANVIK, 1992; OLIVEIRA, 2000, ZOHARY *et al.*, 2014).

A identificação e a quantificação das bactérias presentes na coluna de água têm sido estudadas por várias décadas (FENCHEL, 2008), porém o desenvolvimento da idéia de uma cadeia

alimentar microbiana começou a ser moldada em meados da década de 70 com os estudos de Steele (1974), os quais demonstraram, mesmo que de forma rudimentar e incompleta, a estrutura e dinâmica da cadeia alimentar microbiana.

Anteriormente ao surgimento do conceito da alça microbiana, as bactérias eram desconsideradas nos estudos sobre a dinâmica do carbono nos oceanos devido ao fato de que as técnicas tradicionais de enumeração de bactérias marinhas eram baseadas em contagens em placa, métodos de diluição e microscopia de contraste de fase, os quais forneciam uma estimativa errônea sobre as densidades bacterianas mostrando resultados aproximadamente 10% do número obtido com técnicas atualmente utilizadas (AZAM *et al.*, 1983). Com o desenvolvimento de técnicas de contagem direta por microscopia de epifluorescência, utilizando laranja de acridina (HOBBIE *et al.*, 1977) e posteriormente 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (PORTER & FEIG, 1980), foi possível obter valores mais precisos das densidades bacterianas, (KRAMBECK *et al.*, 1981) o que possibilitou, então, melhor entendimento das relações tróficas entre os microrganismos da alça microbiana.

Após estudos realizados por Pomeroy (1974), verificou-se que a maior parte da dinâmica de matéria orgânica dissolvida no ambiente marinho é controlada por microrganismos presentes na comunidade planctônica, principalmente bactérias heterotróficas, cianobactérias e nanoflagelados heterotróficos (ANDERSON & DUCKLOW, 2001). Baseado no conceito de que os organismos tenderiam a se alimentar de partículas de uma ordem de magnitude inferior a deles próprios (SHELDON, 1972), o termo “alça microbiana” foi criado por Azam *et al.* (1983), sendo aceito pela comunidade científica o conceito de que as bactérias em ecossistemas aquáticos são de suma importância não só na decomposição de matéria orgânica e na remineralização de nutrientes inorgânicos (POMEROY *et al.*, 2007), mas também por servir de alimento aos organismos de níveis tróficos superiores. De acordo com o modelo apresentado por Azam *et al.* (1983), a matéria

orgânica dissolvida, principalmente fitoplanctônica, seria utilizada para o crescimento bacteriano (OLIVEIRA, 2000), sendo assim, a matéria orgânica dissolvida não seria um limitante e a densidade populacional de bactérias seria controlada por meio da bacterivoria de nanoflagelados heterotróficos, cujo tamanho varia entre 3.0 e 10.0 μm (FENCHEL, 1982b).

A importância ecológica da “alça microbiana” foi reforçada quando as algas azuis, antiga denominação para as cianobactérias, grandes produtoras de oxigênio nos oceanos, foram reconhecidas como bactérias (POMEROY *et al.*, 2007). As cianobactérias são consideradas uma porção significativa da biomassa fitoplanctônica, sendo responsáveis por uma parte significativa da produção primária em ecossistemas aquáticos, além de ser uma fonte de alimento para nanoflagelados heterótrofos (CARON *et al.*, 1991; OLIVEIRA, 2000). O desenvolvimento de métodos para medir as taxas de produção microbianas, corroborou que uma grande porção da produção primária nos oceanos provém da matéria orgânica dissolvida, sendo acessível quase exclusivamente ao bactérioplancton, incluindo principalmente as bactérias heterotróficas e Archaea (AZAM & MALFATTI, 2007; HAGSTRÖM, 1988).

Sherr & Sherr (1988) desenvolveram um conceito mais complexo sobre a estrutura trófica pelagial, não sendo apenas um apêndice da estrutura trófica tradicional (STEELE, 1974), mas sim parte de um sistema, onde microrganismos interagem de forma a constituir uma estrutura, a qual foi denominada “rede microbiana” (OLIVEIRA, 2000). Este conceito afirma que a matéria orgânica dissolvida é “reembalada” por nanoflagelados, tornando-se acessível ao mesoplâncton, e não perdida como era até então considerada (SIEBURTH & SMETACEK, 1978), retornando à cadeia alimentar.

Os vírus somente foram incorporados aos modelos de alça microbiana posteriormente, embora a presença de partículas virais nos ecossistemas aquáticos fosse conhecida há algum tempo

(SPENCER, 1955; TORELLA & MORITA, 1979). Seu significado ecológico nos ambientes aquáticos foi subestimado até Bergh *et al.* (1989) revelarem altas concentrações de vírus, a maioria classificada como bacteriófagos.

A partir do trabalho de Bergh *op cit.*, os resultados de várias pesquisas concluíram que os vírus são parte integrante e importante do ecossistema marinho, pois infectam e lisam uma variedade de bactérias, de produtores primários e de protozoários, influenciando a abundância, a distribuição e a composição de espécies da comunidade microbiana, contribuindo para a alteração do fluxo de matéria e de energia na alça microbiana (PROCTOR & FUHRMAN, 1992; BRATBAK & HELDAL, 1993; FUHRMAN & NOBEL, 1995; FUHRMAN, 1999; OLIVEIRA, 2000; THINGSTAD, 2000).

Resumidamente, a alça microbiana transfere energia e carbono por meio das bactérias e das cianobactérias presentes no plâncton (POMEROY, 1974), para os demais níveis tróficos, além de promover a transformação de elementos inorgânicos biologicamente importantes, como nitrogênio e fósforo, em matéria orgânica na coluna d'água, elementos estes que são de extrema importância biológica (FENCHEL, 2008; POMEROY *et al.*, 2007). Também é importante, pois é responsável pela remineralização de carbono, nitrogênio e fósforo, usados como nutrientes pelo fitoplâncton (FENCHEL, 2008; POMEROY, 1974). Cianobactérias encontradas nos oceanos dominam a produção primária de matéria orgânica, a qual é posteriormente disponibilizada para os demais consumidores da teia trófica (ROBINSON & WILLIAMS, 2005; DUCKLOW *et al.*, 1986), além de serem responsáveis pela produção de grande parte do oxigênio consumido por organismos terrestres (POMEROY *et al.*, 2007).

A alça microbiana é considerada a base para todos os organismos, principalmente marinhos, devido à grande variedade metabólica da comunidade bacteriana, podendo usar diversas fontes de nutrientes e apresentar uma resposta rápida a novos recursos disponíveis, além de ser capaz de criar

um ciclo sustentável de produção e decomposição de matéria orgânica, requerendo apenas o “input” de luz solar ou de compostos químicos provenientes dos rios (POMEROY *et al.*, 2007). A degradação de diversos compostos ocorre devido a presença de enzimas ligadas à superfície bacteriana, quebrando compostos complexos (ex.: lignina, celulose, petróleo) em moléculas menores e mais simples, que podem ser absorvidas e utilizadas pelas bactérias.

Estes microrganismos podem ser limitados por fatores abióticos, como temperatura, concentração de nutrientes (fósforo e nitrogênio) (THOMAZ, 1999), contaminantes de vários tipos e fatores bióticos, como a bacterivoria por micro e nanoflagelados presentes na coluna d’água e competição (FENCHEL, 2008; FERNANDES & MESQUITA, 1999). A Figura 1 apresenta a dinâmica trófica delineada primeiramente por Azam *et al.* (1983), e posteriormente incrementada com outros estudos, demonstrando a conversão de matéria orgânica particulada (MOP) e dissolvida (MOD) pelas bactérias heterotróficas e seu fluxo pelos diferentes níveis tróficos.

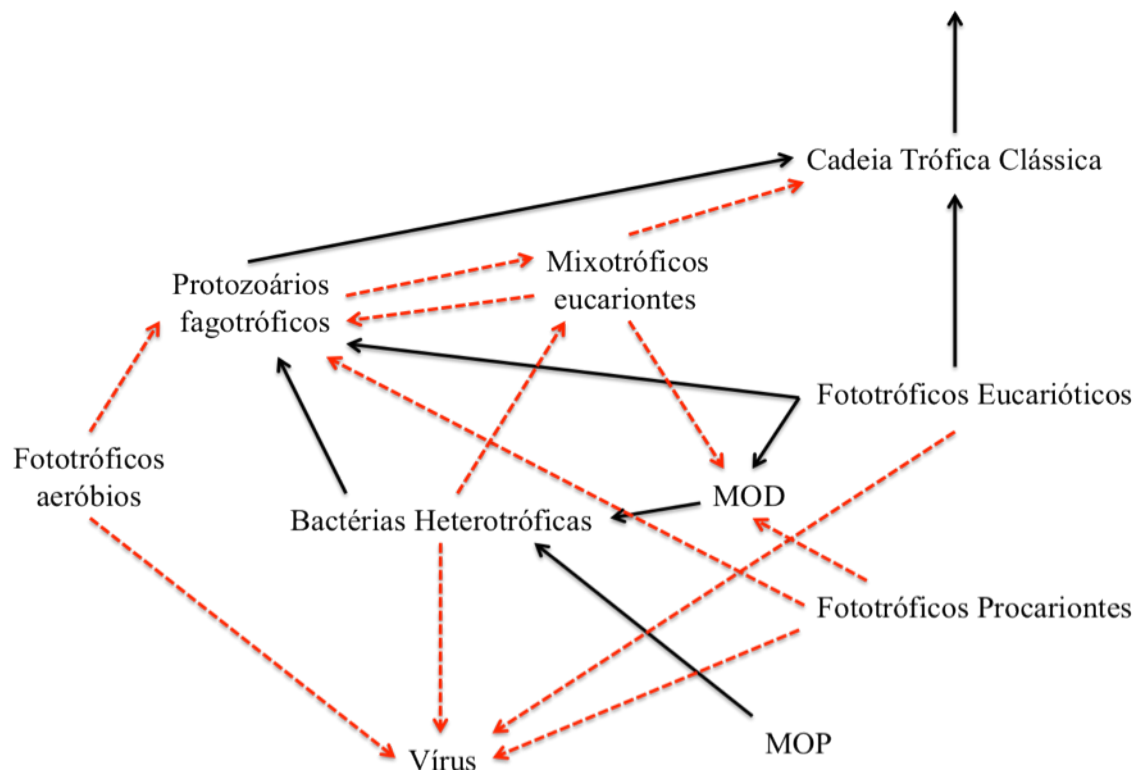


Figura 1 - Alça microbiana descrita por Azam *et al.* (1983), demonstrada com as setas pretas, e suas posteriores adições (setas pontilhadas em vermelho). MOP: matéria orgânica particulada; MOD: matéria orgânica dissolvida. Adaptado de Fenchel, 2008.

Em virtude de sua descoberta relativamente recente, e principalmente a recente consolidação deste conceito, estudos a respeito da alça microbiana em diferentes ecossistemas costeiros, como por exemplo, nos sedimentos, ainda são escassos e pontuais, principalmente no Brasil

Devido à importância dos microrganismos nos ambientes marinhos (OLIVEIRA, 2000; FENCHEL, 2008), estudos sobre a estrutura e funcionamento da dinâmica da alça microbiana são de suma importância para o entendimento da cadeia trófica marinha e o fluxo de nutrientes tanto na coluna de água quanto nos sedimentos.

2. OBJETIVOS

2.1. *Objetivos Gerais*

O presente estudo teve por objetivo estudar a estrutura e o funcionamento da alça microbiana nos sedimentos da Baía do Araçá, município de São Sebastião (SP).

2.2. *Objetivos específicos*

- Quantificar os componentes microbiológicos e abióticos;
- Verificar possíveis variações nas densidades populacionais ao longo do período estudado
- Verificar a relação entre densidades populacionais com variáveis ambientais, tais como matéria orgânica e granulometria, e com possíveis contaminantes, tais como metais pesados e hidrocarbonetos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de Estudo

O presente estudo foi conduzido na baía do Araçá, localizada no município de São Sebastião, no litoral norte do estado de São Paulo (Figura 2), e é parte do projeto temático Biota Araçá - FAPESP. Trata-se de uma área de elevada complexidade, constituindo o último testemunho existente preservado das áreas de manguezal no trecho entre Bertioga e Ubatuba (SP). Caracteriza-se por ser uma pequena enseada, formada artificialmente durante a construção do Porto de São Sebastião (GUBITOSO *et al.*, 2008), limitada por flancos rochosos que abrangem quatro praias (Deodato, Pernambuco, Germano e Topo), duas ilhotas (Pernambuco e Pedroso), uma extensa planície de fundo mole, inteiramente descoberta em períodos de maré baixa de sizígia, sendo que essa configuração impede que a região seja afetada diretamente pelos fatores hidrodinâmicos oriundos do Canal de São Sebastião (AMARAL *et al.*, 2010). O Canal de São Sebastião estende-se ao longo da costa, separando a Ilha de São Sebastião do continente, e possui uma extensão aproximada de 25 km, com duas entradas de larguras aproximadas de 6 km ao norte e 7 km ao sul, além de apresentar um estreitamento na região central do canal (2 km) (TESSLER *et al.*, 2014).

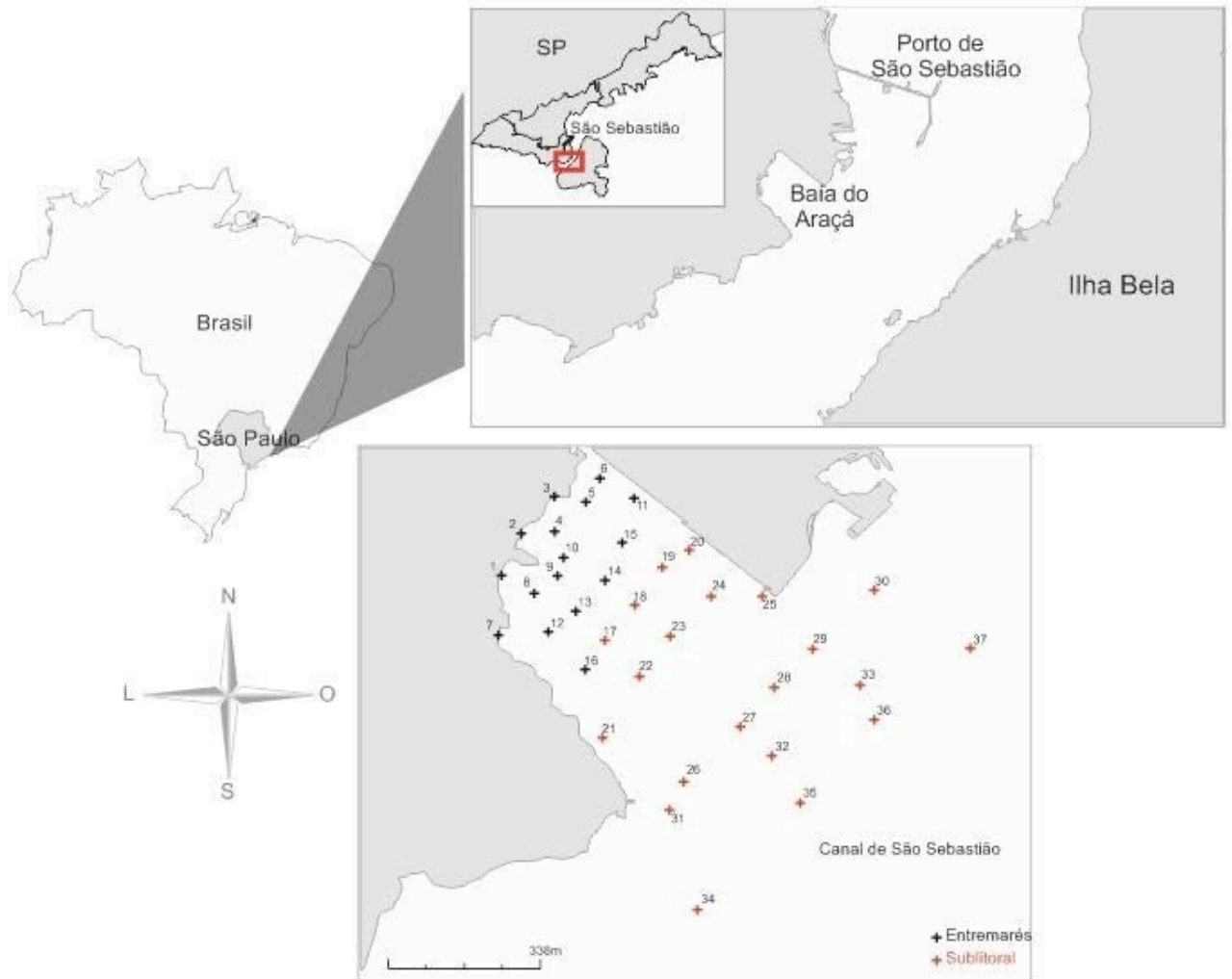


Figura 2 - Mapa da área de estudo, com os pontos de coletas indicados pelos números.

Ainda segundo AMARAL *et al.* (2010), devido à proximidade da malha urbana, há muitos anos a região está exposta a diferentes tipos de ação antrópica (*e.g.*, ocupações irregulares, efluentes domésticos, flutuações populacionais devido ao veraneio), além da ausência de infra-estrutura, especialmente sanitária, dos centros urbanos na área, da proximidade com o Porto de São Sebastião (Figura 3) e da presença do maior terminal petrolífero do país, Dutos e Terminais do Centro Sul (DTCS) conhecido antigamente como Terminal Almirante Barroso, os quais contribuem com uma introdução crônica de hidrocarbonetos na região (TOMINAGA *et al.*, 2006).



Figura 3 - Localização da Baía do Araçá e do Terminal Portuário de São Sebastião.
Fonte: Google Maps

A Baía do Araçá conserva um dos últimos remanescentes de manguezal do litoral de São Sebastião, porém vem sofrendo alterações em suas características originais especialmente em consequência das obras do Porto de São Sebastião, iniciadas em 1936 e intensificada nas décadas de 1970 e 1980, que promoveram uma descontinuidade na orla da cidade, isolando a Baía do Araçá e alterando a circulação natural das águas (AMARAL *et al.*, 2010). Também é na baía que localiza-se o emissário submarino para disposição de esgotos domésticos, que entrou em operação em 1990 (GUBITOSO *et al.*, 2008), e durante sua construção acabou ressuspensando o sedimento, gerando uma área deposicional rica em carbonatos de cálcio. Em meados da década de 80, foram realizados esforços no sentido de aterrar a Baía do Araçá para a expansão do porto e da área de retroporto, porém esta obra vem sendo protelada em virtude dos esforços de cientistas e ambientalistas, especialmente devido à importância que a baía representa. Sua importância pode ser mensurada através das dezenas de trabalhos científicos publicados em 50 anos de pesquisas, comprovando a presença de novas espécies e outras ameaçadas de extinção, além de ser uma fonte de recursos

alimentares para a população local (AMARAL *et al.*, 2010), sendo irrefutável a necessidade de proteger este local.

3.2. Coleta das amostras e processamento

As coletas foram realizadas nos meses de março, julho e outubro de 2013, e em março 2014, em cerca de 37 pontos (Figura 2) localizados dentro e fora da baía do Araçá. As regiões foram divididas em entremarés, dos pontos 1 ao 25, e região do sublitoral, dos pontos 26 ao 37. A coleta das amostras de sedimento deu-se no fundo da baía, na parte mais superficial do sedimento, em áreas abrigadas (1 ao 25) e mais desabrigadas (pontos 26 ao 37), e foram analisados parâmetros como granulometria, conteúdo de matéria orgânica, de contaminantes orgânicos e metais pesados presentes, além da avaliação das densidades dos microrganismos presentes nestes sedimentos.

Como primeira caracterização, foi realizado um levantamento batimétrico de semi detalhe, com um ecobatímetro acoplado a um sistema de posicionamento de precisão (DGPS), associado a um levantamento sonográfico com um sonar de varredura lateral, obtendo-se a morfologia do fundo marinho e visualização preliminar do padrão de distribuição dos sedimentos. Ambos foram realizados em malha perpendicular a linha da costa, com radiais espaçadas de 20 a 25 m. As coletas de sedimentos na região do entremarés foram distribuídas em forma de grade, as quais foram amostradas sazonalmente, utilizando um amostrador de 10 cm de diâmetro (“corer”) para que houvesse uma padronização da amostragem em toda a baía, incluindo o sublitoral. As coletas no sublitoral foram realizadas utilizando-se o barco de pesquisa Veliger II, do IOUSP, nas isóbatas entre 3-20 m, utilizando o pegador “Multicorer” com cilindros de 10 cm de diâmetro.

Amostras de sedimento da baía foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis e mantidas sob refrigeração até seu processamento no Laboratório de Microbiologia Marinha (MicroMar) – UNESP CLP, para as análises microbiológicas.

As análises granulométricas foram realizadas no laboratório de sedimentologia do Grupo de Oceanografia – Instituto Oceanográfico (IO) USP, além das análises químicas e físicas dos sedimentos coletados na área de estudo.

3.3. Análise do sedimento

As análises físico-químicas foram realizadas nos laboratórios de sedimentologia do Grupo de Oceanografia Geológica do IO/USP, objetivando determinar a composição textural (granulometria), os teores de carbonato biodetrítico e de matéria orgânica contidos nos sedimentos de fundo, além da caracterização da variabilidade temporal de elementos metálicos e orgânicos contidos nos sedimentos objetivando avaliar a influência antrópica, na sequência sedimentar que preenche a enseada.

3.3.1. Granulometria

A análise granulométrica foi realizada mediante a aplicação do método tradicional de peneiramento e pipetagem descrito por Suguio (1973).

As amostras foram pesadas, secas em estufa de secagem à 60°C, e sofreram quarteamento manual. Posteriormente a fração do sedimento foi colocada em um jogo de peneiras com aberturas variando de 2 a 0,062mm para o peneiramento mecânico auxiliado por um agitador de peneiras (rot up) aproximadamente 10 minutos. Baseado na massa obtida em cada peneira, foi feito o cálculo de porcentagem para identificação granulométrica.

3.3.2. *Matéria Orgânica*

As amostras de sedimento foram primeiramente secadas em estufa de secagem à 60°C. Posteriormente, as amostras foram submetidas à combustão da amostra em mufla à 550°C, por 24 horas, em cadinhos previamente calcinados. O teor de matéria orgânica foi determinado pela diferença de massa antes e depois da combustão da amostra.

3.3.3. *Metais pesados*

Para as análises dos elementos metálicos as amostras de sedimento superficial foram congeladas e liofilizadas, procedendo-se então a determinação de diferentes elementos químicos por meio da abertura das amostras mediante lixiviação ácida sob ação de microondas, seguindo a metodologia SW 846 US EPA 3051 (USEPA, 1994), ou seja, a partir de uma digestão parcial da amostra, no qual foi possível quantificar os elementos ambientalmente disponíveis. O método consiste em uma digestão ácida capaz de dissolver a maior parte dos elementos de origem antrópica. Os elementos ligados a estruturas silicáticas não são dissolvidos por este procedimento.

Em aproximadamente 300 mg de sedimento seco adicionou-se 10mL de HNO₃, essa solução foi submetida a ação de microondas por 30 minutos em diferentes potências, de 250W a 890W por 30 minutos, em seguida esfriou-se a amostra e a mesma foi filtrada em papel de filtro Whatman 41 e a solução resultante teve o seu volume elevado para 45 mL. Os elementos As, Cd, Cr e Pb foram quantificados por ICP-OES segundo o método SW-846 US EPA 6010c (USEPA, 2007).

Para verificação da metodologia analítica foram utilizados materiais de referência certificados (CRMs), EnviroMAT SS-1 e EnviroMAT SS-2 da SCP Science.

3.3.4. Contaminantes orgânicos

Para as análises de contaminantes orgânicos as amostras de sedimento foram liofilizadas durante 72 horas em liofilizador Thermo Savant – módulo D. Em seguida, foram maceradas e homogeneizadas em almofariz com pistilo e armazenadas em frascos de vidro previamente calcinados a 450°C.

Foram extraídas 20g em sistema Soxhlet para análise dos hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos (HPAs), alquilbenzeno lineares (LABs) e esteroides com n-hexano/diclorometano 50% (v/v) segundo método descrito em UNEP (1992) com algumas modificações. Antes da extração foram adicionados os padrões surrogate naftaleno-d₈, acenafteno-d₁₀, fenantreno-d₁₀, criseno-d₁₂ e perileno-d₁₂, dodecil alquilbenzeno (1C₁₂LAB), hexadeceno, eicoseno e androstanol em todas as amostras, brancos e materiais de referência certificados (SRM). O SRM 1941b utilizado foi proveniente da National Institute of Standards and Technology (NIST) dos EUA.

O extrato foi eluído em coluna com alumina sobre sílica, também 5% desativadas, onde o extrato foi purificado e separado para análise de hidrocarbonetos alifáticos (AHs) e LABs (F1), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs, F2) e esteroides (OLs, F3).

A derivatização dos esteróides (F3), com o objetivo de transformá-los em compostos com menor ponto de ebulição, foi feita com BSTFA (bis (trimetilsilil)trifluoroacetamida) + 1% TMCS (trimetilclorosilano) em banho maria por 90 minutos a 65°C.

Uma alíquota do eluato F1 e F3 foi injetada no cromatógrafo a gás 6890 da Agilent Technologies detector de ionização de chama (GC-FID) 6890 para análise de AHs e esteróides. Os demais grupos de compostos (HPAs e LABs) foram analisados no cromatógrafo a gás equipado

com espectrômetro de massas (GC-MS) 6890/5973N também da Agilent Technologies. A aquisição dos dados foi feita em SIM (single ion monitoring).

As temperaturas do GC-MS foram de 280, 280 e 300°C no injetor e na interface e na fonte de íons, respectivamente. A coluna cromatográfica utilizada foi da J&W Scientific com 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme de 5%fenilmetilsiloxana. A rampa para os AHs (no GC-FID), HPAs e LABs teve início em 40°C com aumento a taxa de 20°C até 60°C e a 5°C min⁻¹ até 290°C onde permaneceu por 5 minutos e aumento a 10°C até 300°C onde permaneceu constante durante 10 minutos. Para os esteróides, a rampa de temperatura foi programada de 40 a 240°C a 10°C min⁻¹, subindo até 245°C a 0,25°C min⁻¹ (isotérmico por 5 min), e até 300°C a 10°C min⁻¹ (constante por 5 min).

A identificação dos AHs, HPAs, LABs e esteróides foi feita por comparação dos tempos de retenção com padrões de referência da Accustandard e Supelco (EUA), Fluka (Suíça) e Sigma-Aldrich (Alemanha). Os compostos analisados no GC/MS também foram identificados através do íon de quantificação (m/z) e confirmação de cada composto. A quantificação foi feita por razões entre os surrogates e os compostos de interesse, baseada nas curvas analíticas montadas com pelo menos 05 concentrações diferentes de cada grupo de compostos.

3.4. Contagem de Microrganismos

Foram pesadas alíquotas de 20g de sedimento, as quais foram acondicionadas em erlenmeyers estéreis e acrescidas de água deionizada e purificada (água Milli-Q). As amostras foram submetidas ao processo de agitação (agitador tipo vortex), por cinco minutos, para a remoção

dos microrganismos aderidos aos grãos de areia, e depois deixadas em repouso por 10 minutos. Posteriormente, 100mL do sobrenatante foram transferidos para frascos de vidro estéreis, contendo formaldeído com concentração final de 5% (V/V), para fixação dos microrganismos presentes nas amostras. Estes frascos foram mantidos sob refrigeração para posterior determinação dos microrganismos através do método de contagem direta de microrganismos utilizando microscopia de epifluorescência, segundo Hobbie *et al.* (1977).

3.4.1. Contagem Direta de Bactérias Heterotróficas e Cianobactérias

Para a contagem de bactérias heterotróficas, alíquotas de 200 μ L das amostras fixadas, foram transferidas para tubos de ensaio e coradas com 5 μ L DAPI, 4',6-diamidino-2-fenolindol, (PORTER & FIEG, 1980), mantidas isoladas de qualquer fonte luminosa, por uma hora e então filtradas, por meio de sistema de filtração à vácuo, em membranas Nucleopore Black de 0.2 μ m de porosidade e 25mm de diâmetro (HOBIE *et al.*, 1977). Após a filtração, as membranas foram dispostas em lâminas limpas e estéreis, colocadas de modo que não houvesse a formação de bolhas na interface lâmina-membrana, e por fim, as membranas foram cobertas com uma gota de óleo mineral e uma lamínula limpa e estéril, evitando que houvesse formação de bolhas na interface membrana-lamínula. As contagens foram realizadas em microscópio de epifluorescência (Nikon Eclipse 50i) acondicionado dentro de uma câmara escura para possibilitar a visualização da fluorescência, sob luz ultravioleta (330 a 390 nm).

Para enumeração das cianobactérias alíquotas de 2,0 mL foram filtradas em membrana Nucleopore Black de 0.2 μ m de porosidade, as quais foram dispostas em lâminas limpas e estéreis, cobertas com óleo mineral e uma lamínula, semelhante ao procedimento realizado com as bactérias heterotróficas. As lâminas foram visualizadas em microscópio de epifluorescência (Nikon 50i) sob

luz azul (450 a 490 nm), e observadas em relação à autofluorescência dos pigmentos fotossintéticos. Devido ao fato desses microrganismos serem autofluorescentes, as contagens destes foram realizadas logo após o processamento das amostras.

3.4.2. Contagem de Nanoflagelados Heterótrofos

Segundo Sherr *et al.* (1986) e Caron *et al.* (1991), nanoheterótrofos menores que 8,0 μm são os predadores de bactérias mais importantes, sendo assim, as alíquotas foram primeiramente filtradas em membranas Nuclepore Black com porosidade de 8,0 μm para a remoção dos microrganismos de maior tamanho. Após este processo, alíquotas de 2,0 mL do filtrado foram transferidas para tubos de ensaio, totalmente isolados de qualquer luminosidade, contendo 50 μL de solução de DAPI e coradas por aproximadamente duas horas. Após o tempo determinado para corar as amostras, as alíquotas foram filtradas, por meio de um sistema à vácuo, em membrana Nuclepore Black de porosidade 2,0 μm de porosidade, as quais foram posteriormente dispostas em lâminas e recobertas com lamínulas com uso de óleo mineral, semelhante ao procedimento realizado com os outros microrganismos. A contagem foi realizada em microscópio de epifluorescência, em uma câmara escura, sob luz ultravioleta (330 a 390 nm).

3.4.3. Cálculo da densidade

Os dados analisados foram obtidos a partir da contagem dos microrganismos e calculadas suas densidades baseado na Equação 1 (PAUL, 2001) .

Equação 1 - Cálculo de abundância de microrganismos. Adaptado de PAUL (2001).

$$Células/g = \frac{(\frac{Me}{C}) * 5971,07273}{(v * cf) * d}$$

Onde temos:

C = área do campo de contagem

Me = média das contagens de microrganismos

V = volume filtrado

cf = correção para o formol

d = diluição utilizada

3.5. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas através do software R (versão 3.1.3). Para a correlação entre as densidades de bactérias heterotróficas e nano flagelados, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk para teste de normalidade e posteriormente a Correlação de Pearson.

4. RESULTADOS

4.1. *Análise Microbiológica*

Inicialmente as coletas foram feitas em 37 pontos, incluindo a zona entremarés (pontos 1 ao 25) e sublitoral (pontos 26 ao 37), porém a partir de março de 2014 (4ª coleta), as coletas ficaram restritas a região do sublitoral, totalizando 12 pontos de coleta.

A Figura 4 apresenta os valores totais obtidos durante o período estudado para as densidades de cianobactérias, enquanto que a Figura 5 apresenta as médias obtidas para cada mês estudado. É possível observar uma maior densidade de cianobactérias no sublitoral ao longo de todo o período estudado. As análises dos resultados obtidos demonstram que a região do sublitoral apresenta uma maior abundância de cianobactérias (58% maior que na entre marés), com uma média de $1,07 \times 10^4$ células g^{-1} , enquanto que a média da região de entremarés foi de $0,72 \times 10^4$ células g^{-1} . O mês de outubro apresentou as maiores médias em ambas zonas estudadas, enquanto o mês de julho apresentou as menores densidades para ambos.

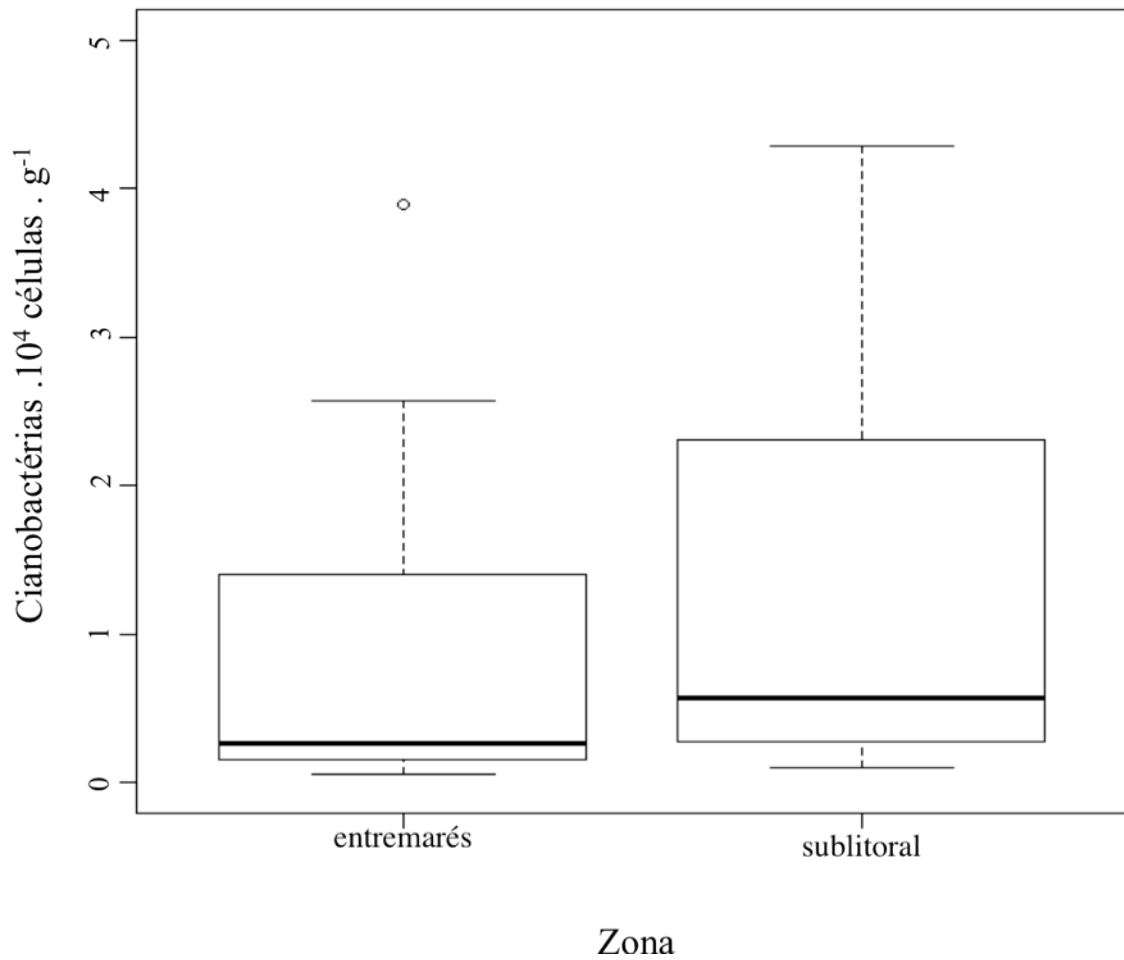


Figura 4 – Densidades de cianobactérias nas diferentes zonas estudadas.

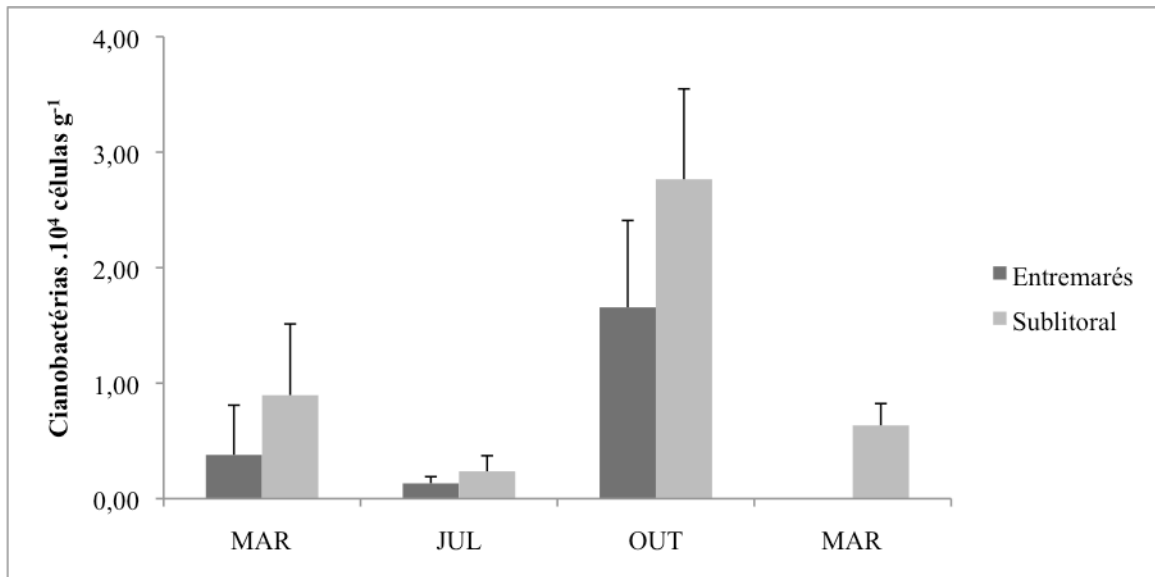


Figura 5 – Médias obtidas para cianobactérias ao longo do período de estudo.

As densidades de bactérias heterotróficas está representada na Figura 6, e suas médias obtidas em cada mês na Figura 7. É possível observar que as maiores densidades de bactérias ocorreram na região do sublitoral (valores 7,5% maiores que o entremarés), semelhante ao observado para as cianobactérias, embora esta diferença não tenha sido tão grande quanto aquela obtida para cianobactérias, onde foi obtida uma média 58% maior na região do sublitoral do que no entremarés. Bactérias heterotróficas apresentaram, no sublitoral, média de $1,79 \times 10^5$ células g^{-1} , enquanto que na região de entremarés a média para o período foi de $1,67 \times 10^5$ células/g.

As maiores densidades de bactérias heterotróficas ocorreram em julho para ambas regiões, sendo obtidos resultados de $2,77 \times 10^5$ células g^{-1} para a zona de entremarés, e $3,33 \times 10^5$ células g^{-1} para o sublitoral.

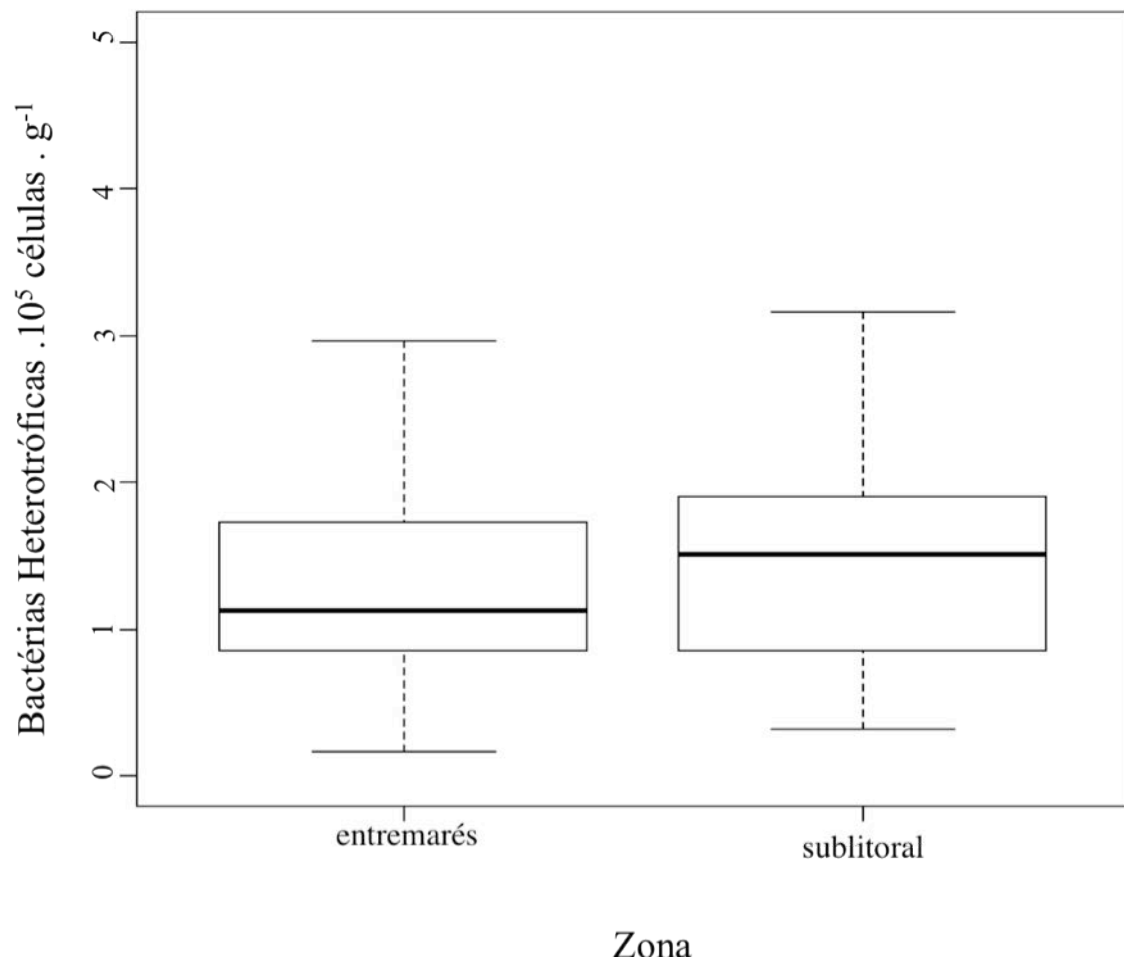


Figura 6 – Densidades de bactérias heterotróficas nas zonas estudadas na Baía do Araçá.

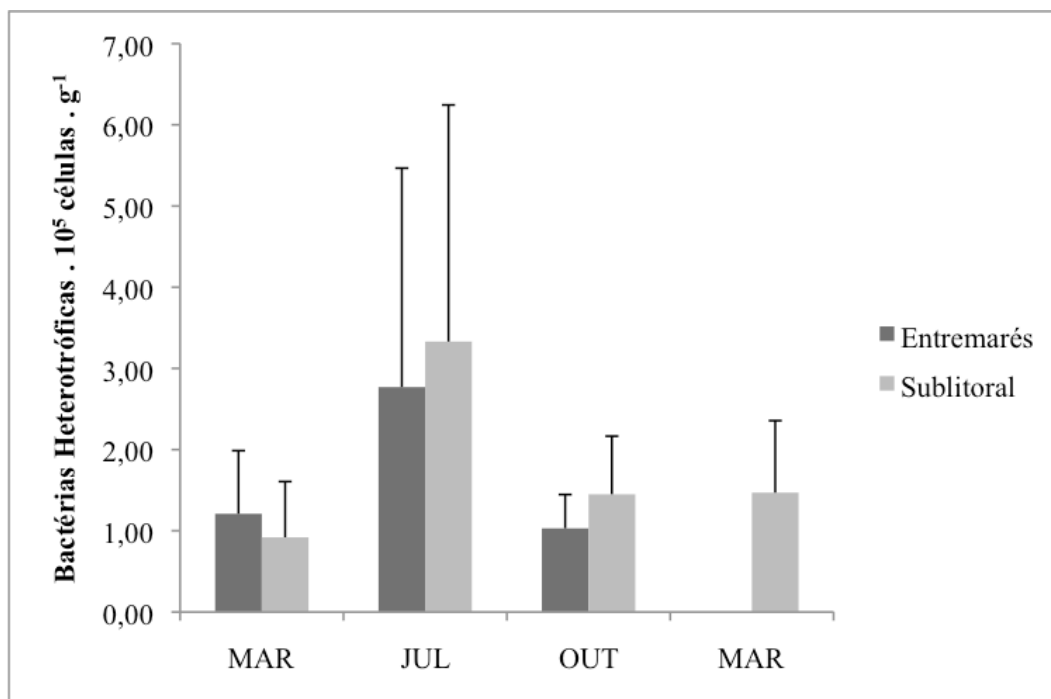


Figura 7 - Médias obtidas para bactérias heterotróficas ao longo do período de estudo.

As Figuras 8 e 9 apresentam as densidades totais de nanoflagelados e suas médias de densidades em cada mês de estudo, respectivamente. Durante todo o período estudado, as médias de densidade do sublitoral foram maiores ($0,37 \times 10^3$ células g^{-1}) quando comparadas com aquelas da região do entremarés ($0,23 \times 10^3$ células g^{-1}) em torno de 60% maior, sendo março de 2014 o mês que apresentou maior abundância, $0,63 \times 10^3$ células g^{-1} .

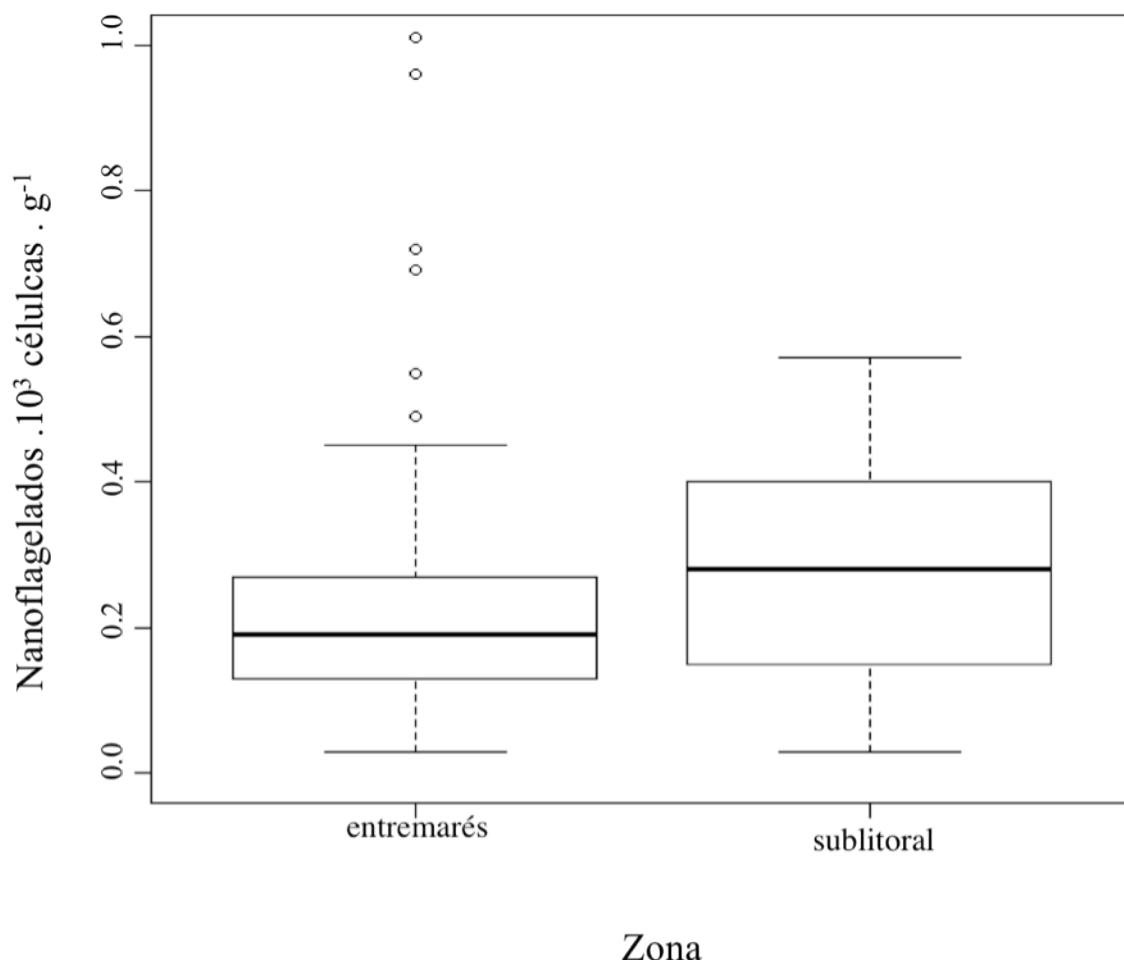


Figura 8 - Densidades de nanoflagelados nas zonas estudadas na Baía do Araçá.

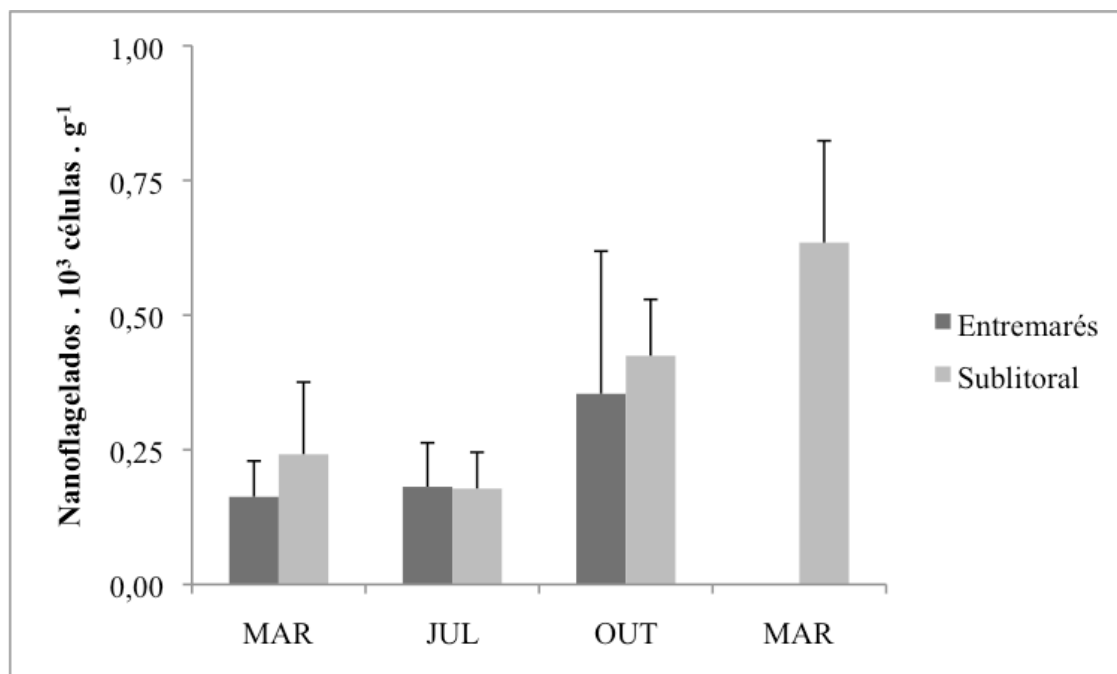


Figura 9 - Médias obtidas para nanoflagelados ao longo do período de estudo.

A Figura 10 mostra a variação das médias das densidades populacionais dos microrganismos estudados em todos os pontos da região do entremarés, para os três microrganismos estudados, nos meses de março, julho e outubro de 2013. Com base na análise da Figura 10 é possível verificar que, na região entre marés, ocorre entre março e julho de 2013, um aumento nas densidades de nanoflagelados e de bactérias heterotróficas e uma diminuição das densidades de cianobactérias. Já entre os meses de julho de 2013 a março de 2014 é possível observar um aumento da densidade de nanoflagelados e de cianobactéria e uma diminuição da densidade de bactéria heterotróficas.

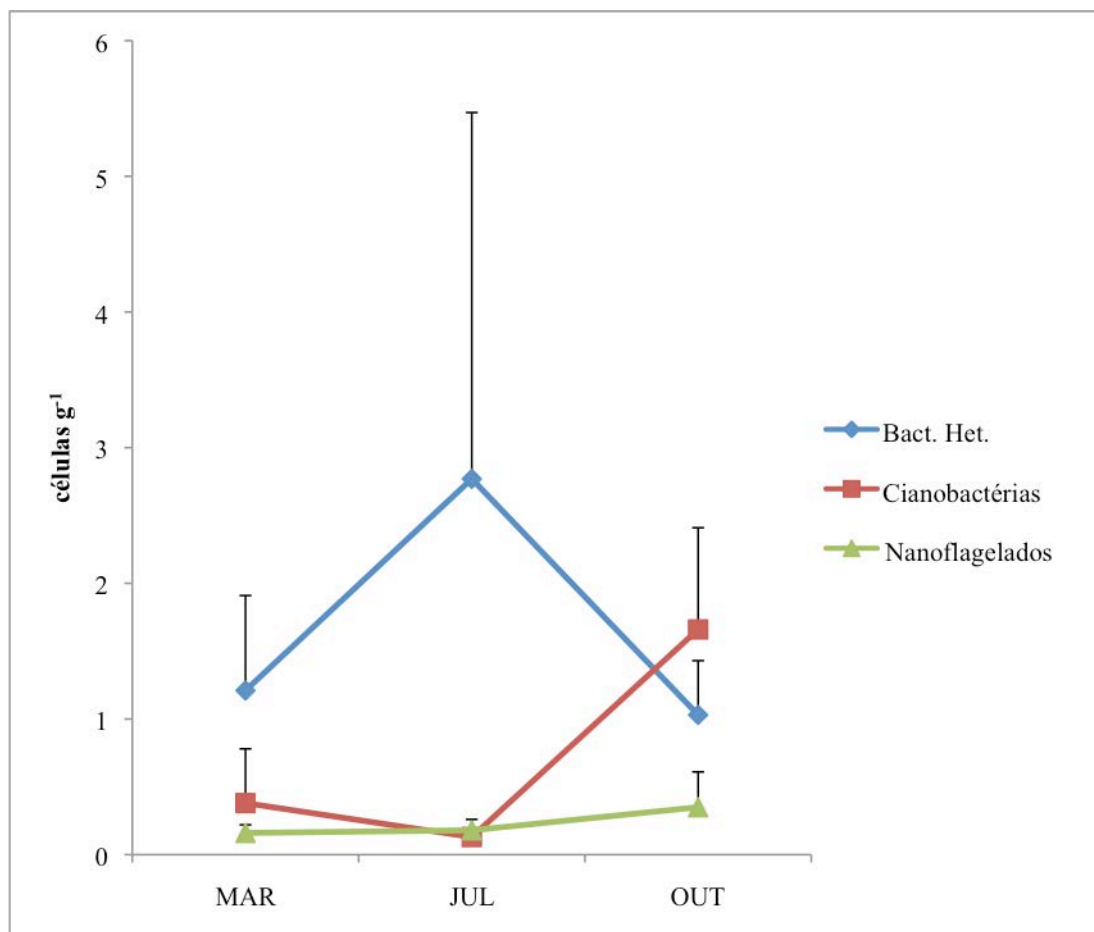


Figura 10 - Variação das médias das densidades de microrganismos na região do entremarés. Cianobactérias ($\times 10^4$), bactérias heterotróficas ($\times 10^5$) e nanoflagelados ($\times 10^3$), nas coletas de março, julho e outubro de 2013.

A Figura 11 apresenta a variação das médias de densidades de bactérias, cianobactérias e nanoflagelados, de todos os pontos da região do sublitoral, nas coletas de março, julho e outubro de 2013 e março de 2014. Com base na análise da Figura 11 é possível verificar que, na região sublitoral, ocorre entre março e julho de 2013, uma diminuição das densidades de nanoflagelados e de cianobactérias e um aumento da densidade de bactérias heterotróficas. Já entre os meses de julho/2013 a março de 2014 é possível observar um aumento da densidade de nanoflagelados e de cianobactéria e uma diminuição da densidade de bactéria heterotróficas. A Figura 12 apresenta o

gráfico de correlação obtido entre as densidades de bactérias heterotróficas e de nanoflagelados e o valor obtido com a correlação de Pearson foi $p = -0.12$.

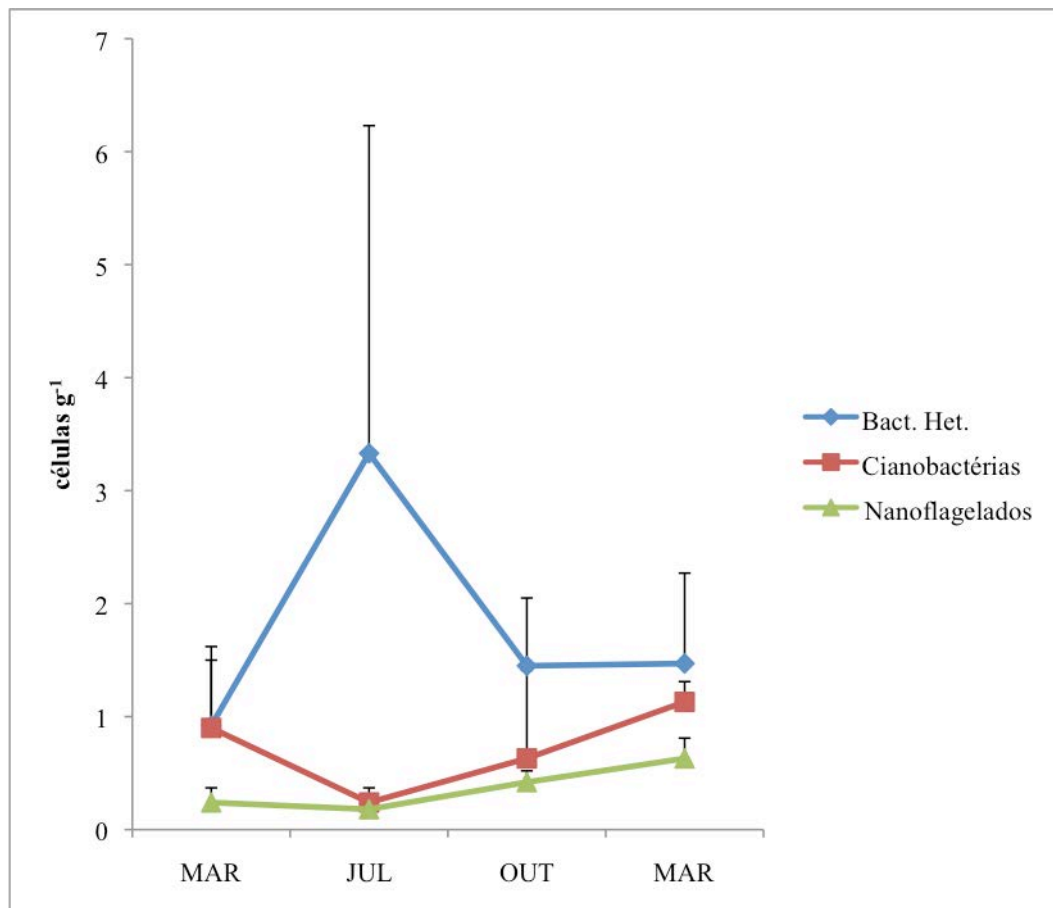


Figura 11 - Variação das médias das densidades de microrganismos na região do sublitoral. Cianobactérias ($\times 10^4$), bactérias heterotróficas ($\times 10^5$) e nanoflagelados ($\times 10^3$), nas coletas de março, julho e outubro de 2013 e março de 2014.

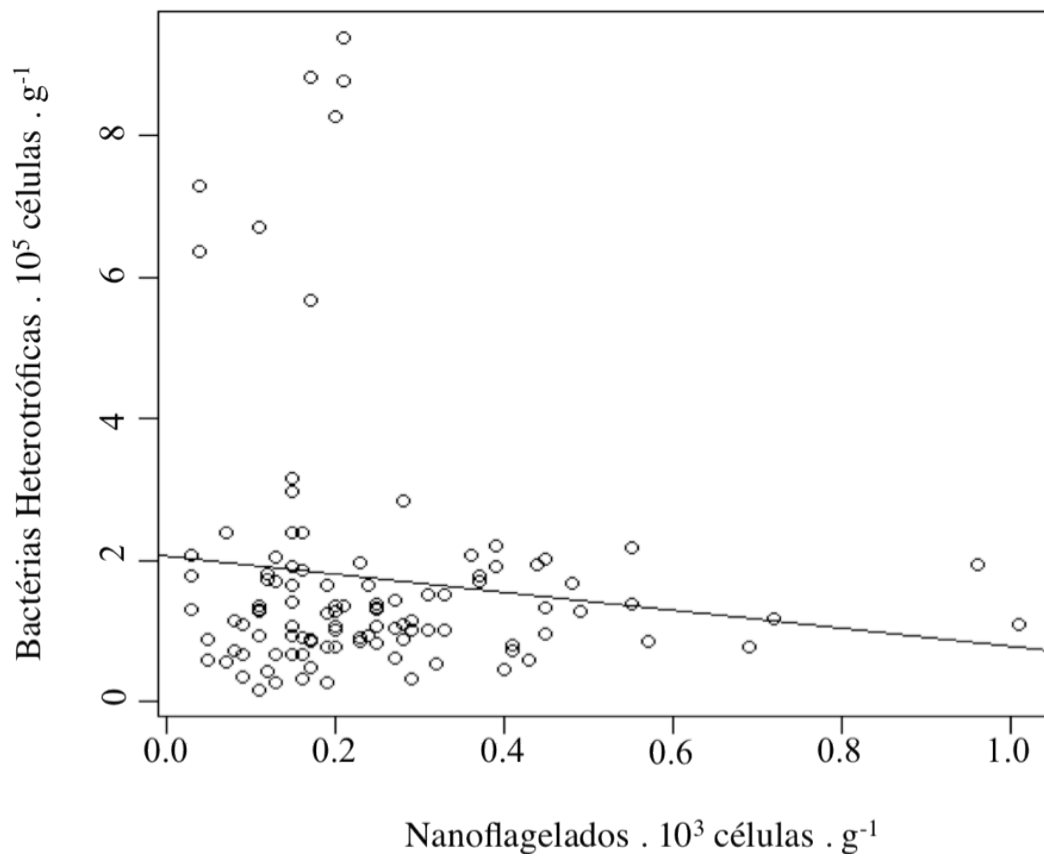


Figura 12 – Correlação de Pearson entre as densidades de bactérias heterotróficas e nanoflagelados

As Figuras 13, 14 e 15, são algumas das fotomicrografias tiradas sob microscopia de epifluorescência, ao longo do estudo, demonstrando alguns dos microrganismos estudados. Nas figuras 13 e 14 (seta) é possível observar cianobactérias em cadeia através da autofluorescência dos pigmentos fotossintéticos, na figura 15 (seta) bactérias heterotróficas coradas com DAPI.

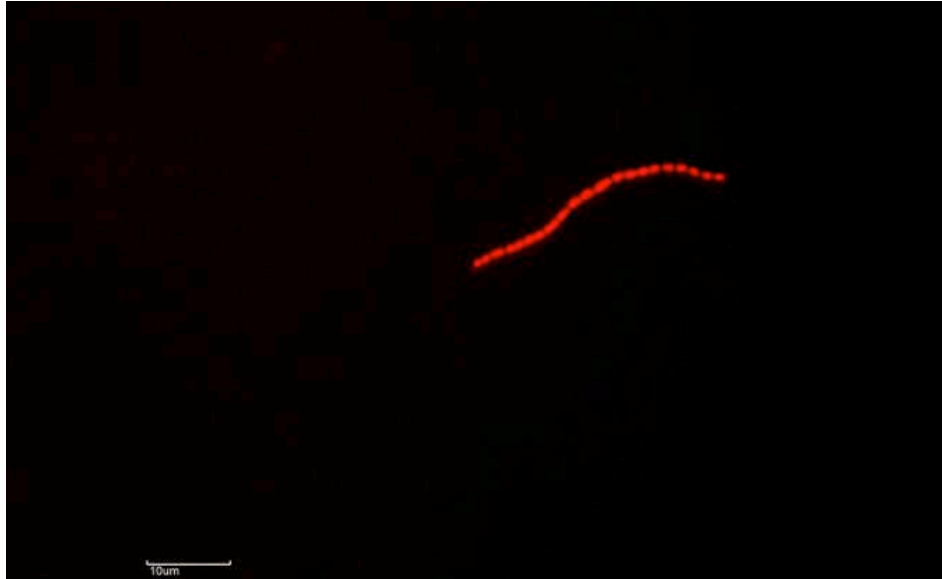


Figura 13 - Cianobactéria em cadeia, observada nas amostras da coleta de março de 2013, no sedimento da Baía do Araça, São Sebastião (SP).

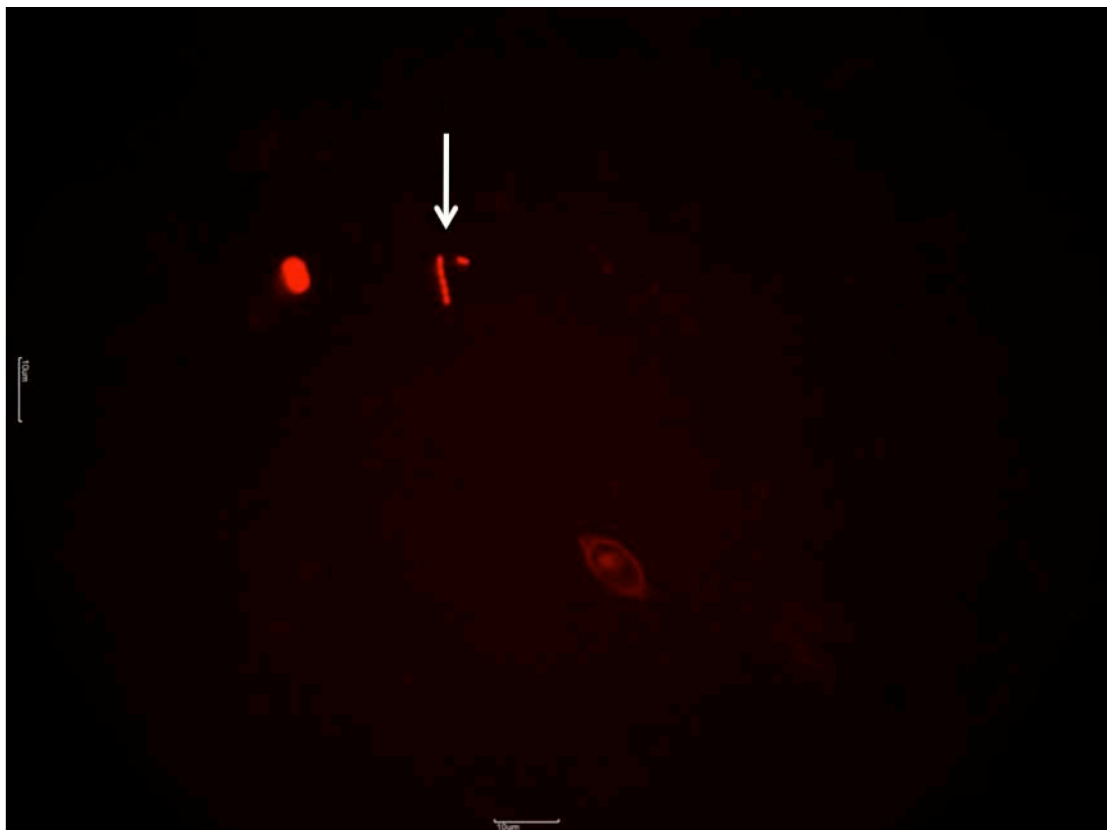


Figura 14 – Cianobactérias em cadeia (seta), observada nas amostras da coleta de março de 2014 no sedimento da Baía do Araça, São Sebastião (SP).

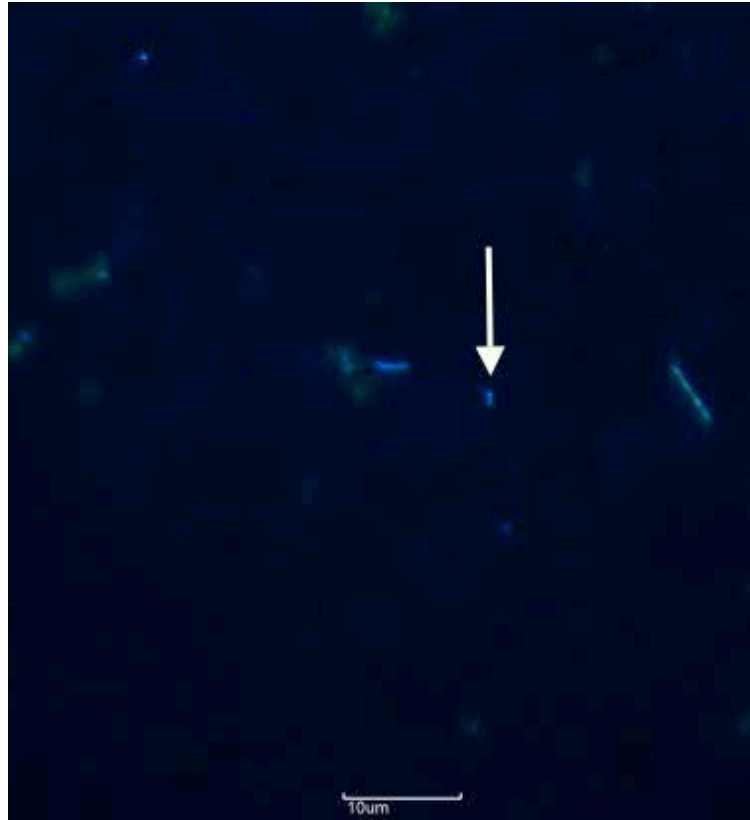


Figura 15 – Bactérias heterotróficas (seta), observada na amostra de outubro de 2013, no sedimento da Baía do Araçá, São Sebastião (SP).

4.2. *Análise do sedimento*

Com relação à granulometria, foi possível observar um predomínio de areias finas, além de sedimento pobremente selecionado, tanto na região de entremarés, como no sublitoral.

Com relação à matéria orgânica (Tabela 1), é possível observar uma maior concentração de matéria orgânica no sublitoral (pontos 26 a 37), apresentando média de 8,62%, enquanto que no entremarés a média obtida foi de 4,93%. O mês de julho de 2013 apresentou as maiores quantidades de matéria orgânica ao longo do período estudado, com média total de 10,46%, sendo 7,38% o entremarés, e 13,55% a região sublitoral (Figura 16).

Tabela 1 - Porcentagem de matéria orgânica presente nas amostras de sedimento nas regiões entre marés (pontos 1 a 25) e sub litoral (pontos 26 a 37) da Baía do Araça, São Sebastião (SP).

Ponto de Coleta	Matéria Orgânica (%)			
	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 4
1	2,58	3,35	1,88	
2	3,78	10,59	2,37	
3	10,43	7,44	3,48	
4	5,35	2,73	4,49	
5	0,99	7,79	3,28	
6	2,03	7,15	4,31	
7	4,64	7,79	2,77	
8	3,27	7,77	3,89	
9	2,06	7,04	4,05	
10	13,26	12,92	4,14	
11	13,55	1,92	4,28	
12	2,68	6,60	2,51	
13	6,21	8,45	3,60	
14	3,74	1,60	2,71	
15	0,90	3,11	2,97	
16	0,52	9,28	3,22	
17	0,37	4,77	2,29	
18	2,41	0,27	2,94	
19	2,14	6,29	2,97	
20	1,58	1,28	3,18	
21	2,73	11,89	6,05	
22	1,64	10,64	2,11	
23	1,81	5,44	4,30	
24	3,32	30,24	3,07	
25	8,57	8,09	3,99	
26	4,35	5,84	9,72	4,90
27	8,08	11,94	7,13	8,63
28	5,38	15,24	9,69	5,93
29	6,71	5,85	10,71	7,26
30	8,60	14,33	11,42	9,15
31	3,43	15,46	4,23	3,98
32	5,81	16,41	11,15	6,36
33	4,73	16,95	12,49	5,28
34	0,88	15,56	11,33	1,43
35	7,38	3,06	11,58	7,93
36	3,43	23,26		3,98
37	2,49	18,70		

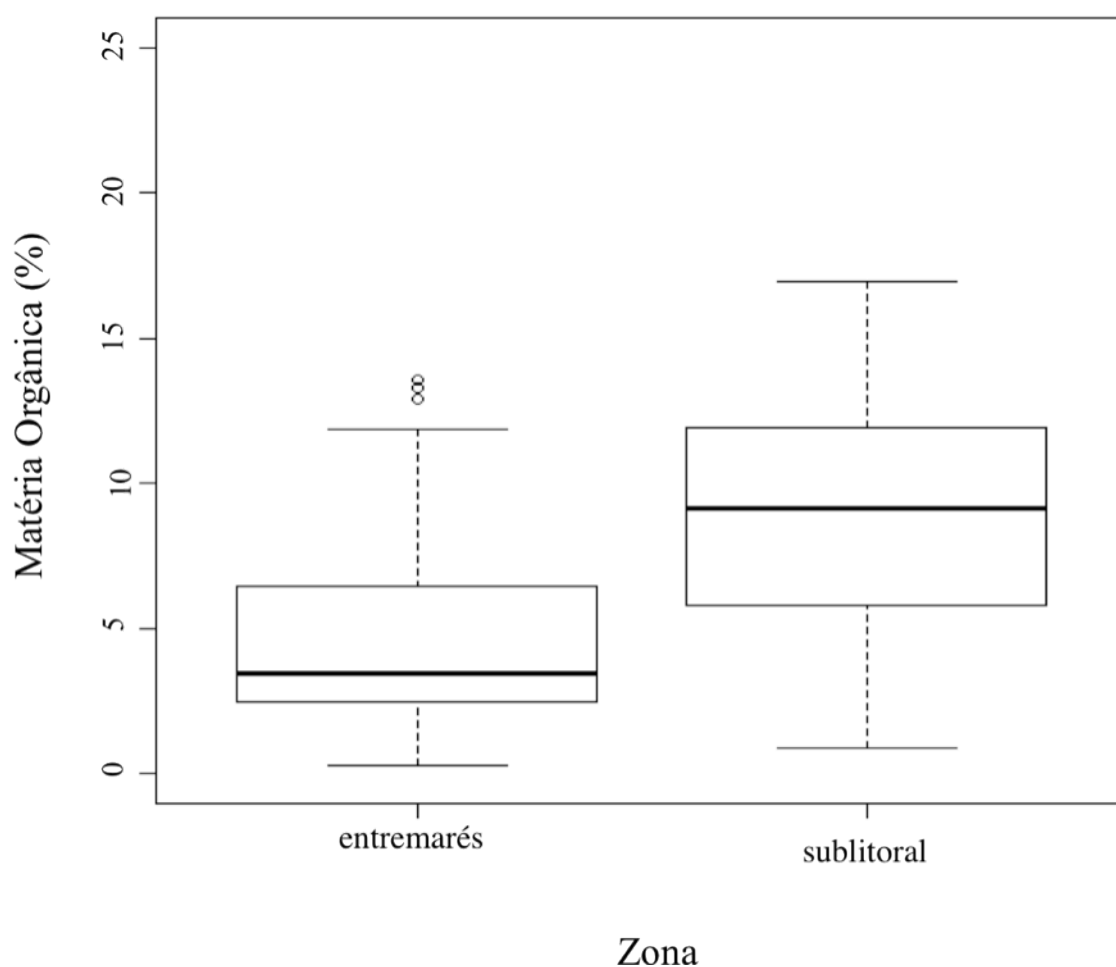


Figura 16 – Concentração de matéria orgânica (MO) encontrada nos sedimentos da Baía do Araçá.

Os valores obtidos para as concentrações de metais pesados (Arsênico, Cobre, Cádmio e Chumbo), para as duas regiões estudadas na Baía do Araçá (entremarés e sublitoral) são apresentados pela Figura 17. É possível observar maiores concentrações de metais pesados na região do sublitoral. O Cromo apresentou as maiores médias, tanto no entremarés ($12,44 \text{ mg kg}^{-1}$), quanto no sublitoral ($35,21 \text{ mg kg}^{-1}$), ressaltando que o valor obtido para o sublitoral foi aproximadamente 3 vezes maior que aquele obtido para o entre marés. Já o Cádmio mostrou as menores médias tanto no entremarés ($0,14 \text{ mg kg}^{-1}$), quanto no sublitoral ($0,46 \text{ mg kg}^{-1}$), embora a proporção maior no sublitoral se mantenha. O Arsênico apresentou média de $4,04 \text{ mg kg}^{-1}$ no

entremarés e $11,59 \text{ mg kg}^{-1}$ no sublitoral, e foram obtidas médias de chumbo de $4,65 \text{ mg kg}^{-1}$ no entremarés e $15,78 \text{ mg kg}^{-1}$ no sublitoral. Valores aproximadamente 3 vezes maiores na região do sub litoral foram observados para as concentrações de todos os metais estudados (Figura 17).

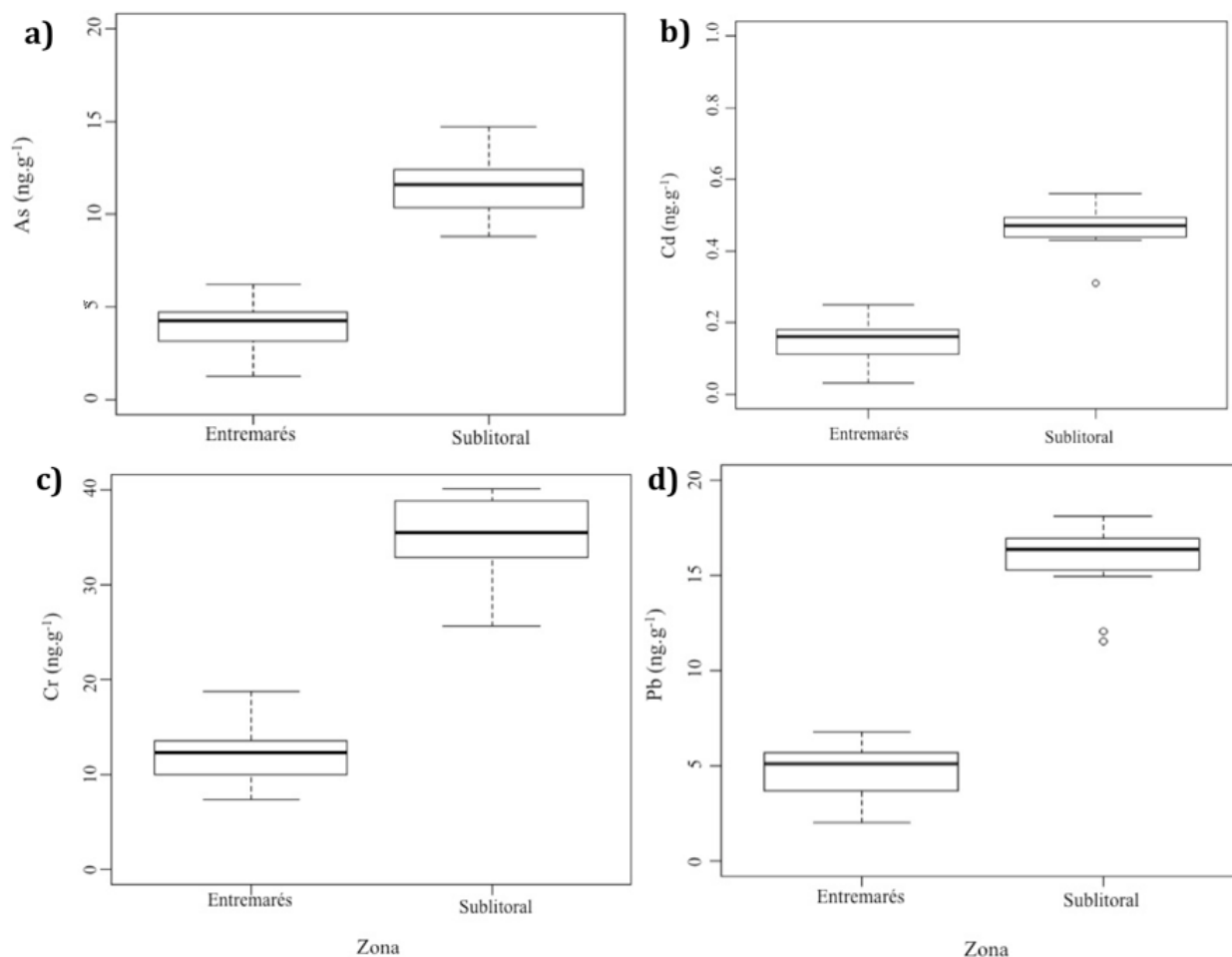


Figura 17 – Concentrações de (a) Arsênio, (b) Cádmio, (c) Cromo e (d) Chumbo presentes nos sedimentos da Baía do Araçá.

A Figura 18 apresenta um gráfico comparativo entre as densidades de bactérias heterotróficas e a porcentagem de matéria orgânica encontradas nos sedimentos da região entremarés, sendo observado um pico, tanto de bactérias heterotróficas, quanto de matéria orgânica, no mês de julho.

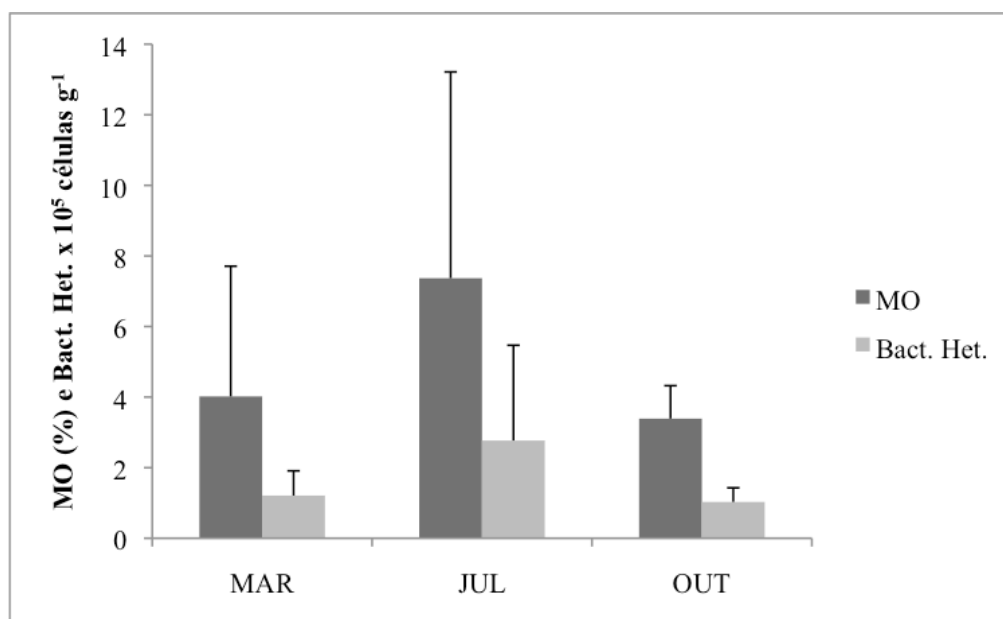


Figura 18 - Comparativo das médias das porcentagens de matéria orgânica e das densidades de bactérias heterotróficas nos sedimentos da região entremáres.

A Figura 19 apresenta a comparação entre as bactérias heterotróficas e a matéria orgânica encontradas nos sedimentos da região de sublitoral da Baía do Araçá, nos meses de março, julho e outubro de 2013 e março de 2014. Foi observado tanto na região entremarés, quanto na sublitoral, que as bactérias heterotróficas seguiram os padrões de variação da matéria orgânica presente nos sedimentos, com maiores valores de densidade em julho de 2013.

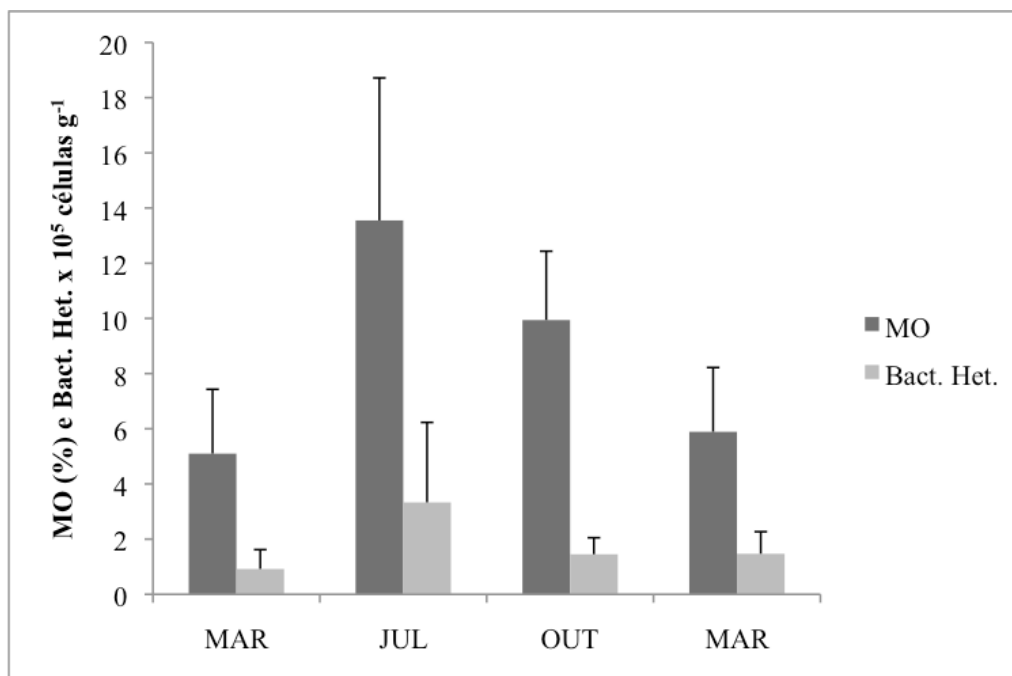


Figura 19 - Comparativo das médias das porcentagens de matéria orgânica e das densidades de bactérias heterotróficas nos sedimentos da região do sublitoral.

A Figura 20 representa os LABs totais encontrados para cada ponto de coleta. As concentrações de LABs totais (soma dos 26 isômeros de LABs) analisados nas amostras de sedimento na região de Araçá variaram de $<0,85$ a $84,5 \text{ ng g}^{-1}$ peso seco. É possível notar que as maiores concentrações foram obtidas na região do sublitoral, e a maior concentração foi encontrada no ponto 28, enquanto que a menor concentração foi encontrada no ponto 22 (entremarés).

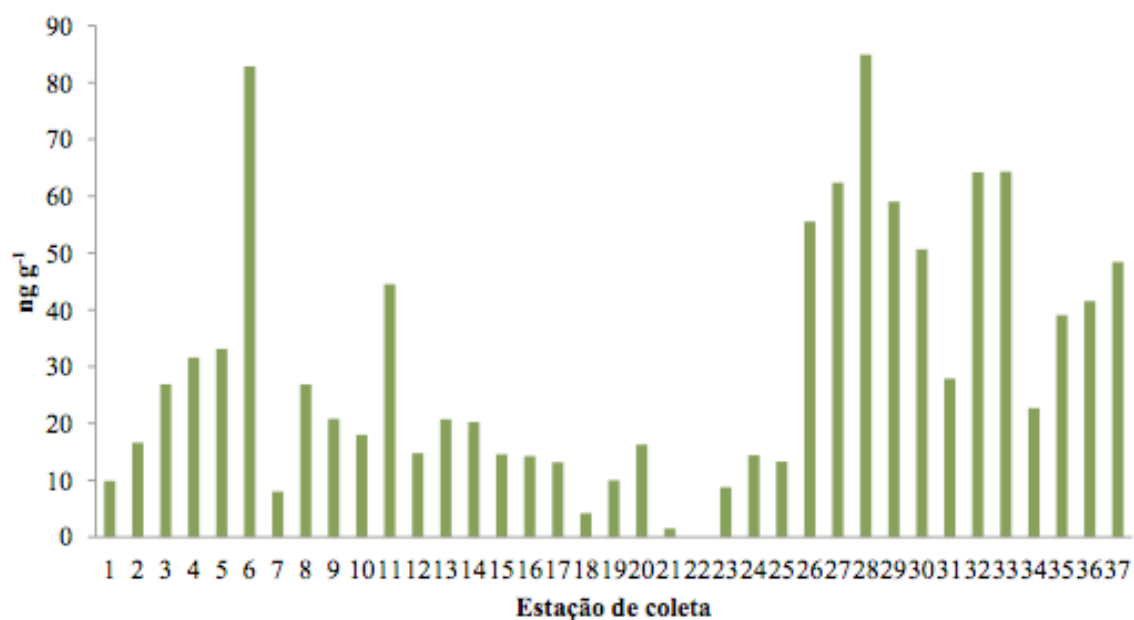


Figura 20 - Alquilbenzeno lineares (LABs) em amostras de sedimentos coletados na Baía do Araçá.

Os valores de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) apresentaram variação de concentração entre $<1,00$ a 625 ng g^{-1} . Conforme a Figura 21, é possível notar que as maiores concentrações encontram-se na região do sublitoral, sendo o ponto 28 o com a maior concentração.

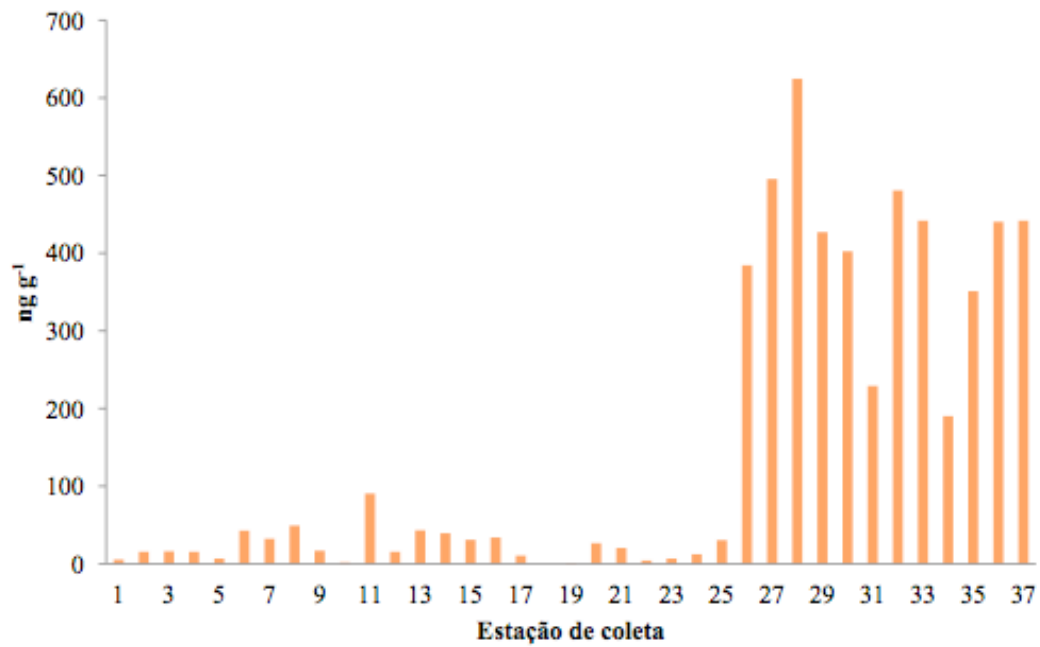


Figura 21 - Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em amostras de sedimento coletados na Baía do Araçá.

5. DISCUSSÃO

A bacterivoria por protistas é relativamente bem estudada na literatura (STROM, 2000; SHERR & SHERR, 1994; FENCHEL, 1986; SIEBURTH, 1981), e importante nas variações temporais das bactérias heterotróficas (TSAI *et al.*, 2013) e de cianobactérias (CARON *et al.*, 1985). No caso do presente estudo, apesar do baixo valor para a correlação entre bactérias heterotróficas e nanoflagelados, é possível inferir que as densidades de bactérias foram inversamente proporcional, mesmo que com uma correlação fracamente negativa (Figura 11).

O controle que os nanoflagelados exercem sobre suas presas em diferentes ambientes, é variável e depende de diversos fatores, tais como densidades, tamanho, espécies de presas e predadores, alterando também os valores adaptativos das bactérias heterotróficas (presas) (OLIVEIRA, 2000; TOWNSEND, 2006). Deve-se considerar outros fatores, como respostas adaptativas, fisiológicas e morfológicas às mudanças do ambiente (LUCAS *et al.*, 1987). Segundo Hall *et al.* (1993) e Kuosa (1991), a preferência de nanoflagelados por cianobactérias ocorre em habitats onde há uma menor concentração de matéria orgânica, enquanto que a preferência por bactérias heterotróficas ocorre em ambientes com maior concentração de matéria orgânica. No caso da Baía do Araçá, estas baixas de matéria orgânica ocorreram no mês de outubro de 2013 no caso do entremarés e no período entre outubro de 2013 e março de 2014 para o sublitoral, e coincide com a elevação de densidades de cianobactérias e diminuição da densidade de bactérias heterotróficas. A ausência de limitação de nutrientes e com a disponibilidade de cianobactérias e bactérias heterotróficas, a cianoherbivoria foi uma atividade dominante nos estudos de Oliveira (2000). A cianoherbivoria/bacterivoria por nanoheterótrofos está relacionada, principalmente, à produção bacteriana/cianobacteriana, o que levou McManus & Fuhrman (1988) a concluir que a predação foi maior sobre a presa mais ativa, semelhante aos resultados obtidos na Baía do Araçá.

No presente trabalho foi possível observar que, entre março e julho de 2013, na região entre marés, ocorreu um aumento das densidades de nanoflagelados e bactérias heterotróficas e uma diminuição da densidade de cianobactérias, bem como aumento na porcentagem de matéria orgânica (o que favorece o crescimento das bactérias heterotróficas). Este padrão, somado as maiores densidades de bactérias heterotróficas observadas no mesmo período, indica a ocorrência de predação de nanoflagelados sobre as cianobactérias. Já entre os meses de julho a outubro de 2013, foi possível observar um aumento nas densidades de nanoflagelados e de cianobactérias e uma diminuição das densidades de bactérias heterotróficas, o que indica que, neste período, os nanoflagelados deixaram de se alimentar das cianobactérias e passaram a se alimentar de bactérias heterotróficas. O mesmo padrão, indicando alternância alimentar dos nanoflagelados foi observado na região do sub litoral, com os nanoflagelados se alimentando de cianobactérias entre março e julho de 2013 e entre julho de 2013 a março de 2014, se alimentando de bactérias heterotróficas. Isto explica, em parte, os aumentos das densidades de cianobactérias no mês de outubro, como resposta à menor predação por nanoflagelados, que neste períodos está mais intensa sobre as bactérias heterotróficas.

Foi possível detectar um aumento das densidades de nanoflagelados heterotróficos após a elevação das densidades de bactérias heterotróficas, podendo indicar uma relação de predação, semelhante ao estudo de Montanié *et al.* (2014), e as baixas densidades de bactérias poderiam ocorrer devido à predação, um fator limitante à população bacteriana (TIND *et al.*, 1999; OLIVEIRA, 2000).

A bacterivoria em ecossistemas aquáticos ocorre principalmente por pequenos flagelados heterotróficos, em geral menores que 5 μm (SHERR & SHERR, 2002; STROM, 2000; SHERR & SHERR, 1989). Esta forte relação entre a abundância bacteriana, a abundância de cianobactérias e a abundância de nanoflagelados, na qual a predação controla significativamente a ocorrência de

bactérias e cianobactérias, é bem descrita nos estudos de Oliveira (2000), Sanders *et al.* (1992) e Berninger *et al.* (1991). No caso das cianobactérias, o decréscimo da densidade no mês de março de 2014 pode ser relacionado com o aumento dos nanoflagelados, que são predadores tanto de cianobactérias como de bactérias heterotróficas, e ao aumento das bactérias heterotróficas que são microrganismos competidores. Analisando os dados de densidades apresentados anteriormente, é possível observar que as flutuações de cianobactérias variaram inversamente às de bactérias heterotróficas, podendo-se associar este fenômeno a uma possível alternância sazonal da atividade alimentar dos nanoflagelados heterotróficos conforme a disponibilidade nutricional de seu habitat, implicando em diferentes funções da alça microbiana nos períodos com maior abundância de nutrientes e nos mais pobres (LUCAS *et al.*, 1987; HAGSTROM, 1988; MCMANUS & FUHRMAN, 1988; KUOSA, 1991; HALL *et al.*, 1993; OLIVEIRA, 2000). Em experimentos de Perez *et al.* (1996) no mar Mediterrâneo, observaram-se que quando as cianobactérias apresentaram taxas de crescimento maiores, foram preferencialmente usadas como alimentos pelos nanoflagelados, semelhante na Baía do Araçá no mês de março de 2014, onde houve uma nítida troca de estratégia alimentar dos nanoflagelados.

Comparando-se as médias de densidades de bactérias heterotróficas e as médias da porcentagem de matéria orgânica presente no sedimento, separados por região de estudo, é possível notar que as flutuações nas densidades acompanham a variação da quantidade de matéria orgânica no sedimento, e no mês de julho (inverno) ocorre uma elevação da matéria orgânica, o que, somado ao fato dos nanoflagelados estarem se alimentando de cianobactérias, promove um aumento na densidade das bactérias heterotróficas.

A região do sublitoral apresentou maior densidade de microrganismos, provavelmente devido ao fato de ser uma região mais rica em matéria orgânica e em carbonos orgânicos totais, o que também contribui para maiores densidades se comparado com a região do entremarés. Segundo

estudos Andersen & Sorensen (1986), notou-se que eventos hidrográficos (*e.g.* fluxo de águas ricas em nutrientes) alteram o padrão das oscilações entre bactérias e nanoheterótrofos.

Em relação as variações sazonais das densidades de bactérias heterotróficas, resultados diferentes foram obtidos para a região de Ubatuba, região próxima à área de estudo, na qual Pires-Vanin *et al.* (1993), observaram densidades menores no inverno do que no verão. Entretanto há que se considerar que, no trabalho de Pires Vanin *et al.* (*op. cit.*) as coletas foram realizadas na coluna de água e em regiões mais afastadas da costa, nas quais ocorreram a penetração da Água Central do Atlântico Sul (ACAS), que é uma massa fria e rica em nutrientes que enriquece as águas da plataforma continental. Já no presente trabalho as coletas foram realizadas no sedimento e portanto, a ação enriquecedora da ACAS parece não ter influência sobre os mesmos.

Além da influência dos fatores físico-químicos, as densidades microbianas também sofrem influência da hidrodinâmica local. A hidrodinâmica da região estudada apresenta um padrão sazonal de circulação, com correntes de direção preferencial para NE em toda coluna d'água durante a primavera, outono e inverno. No verão a circulação superficial tem predomínio para SW e uma circulação mais profunda para NE relacionada com a ingressão da Águas Costeiras do Atlântico Sul (ACAS) (FONTES, 1995; TOMINAGA *et al.*, 2006).

No Canal de São Sebastião, no qual se localiza a Baía do Araçá, há uma variação sazonal da circulação, devido às frentes frias e intensas durante os meses de inverno, sendo mais freqüente a observação de correntes na direção sul-norte durante esses meses (CASTRO, 1985), o que pode favorecer um aporte de nutrientes na região e, conseqüentemente favorecer o crescimento microbiano.

Outro fator é a presença da Ilhabela (Ilha de São Sebastião), que cria uma área abrigada, com baixa movimentação de fundo e deflete a corrente costeira de sudoeste, diminuindo a circulação local (SOARES, 1994), propiciando condições para o acúmulo de nutrientes na coluna

d'água, trazidos pela própria corrente (BARCELLOS & FURTADO, 1999) e que, em parte acabam por se depositar no sedimento.

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam a ocorrência de um padrão de flutuação das densidades microbianas diverso para a coluna de água e para o sedimento, uma vez que o sedimento parece não sofrer, a curto prazo, em termos de nutrientes, influência pela penetração da ACAS o que é corroborado pelo fato da ocorrência de maiores densidades bacterianas no inverno, contrariamente aos resultados obtidos por Mesquita (1993) em trabalhos realizados também no litoral norte, mas na coluna de água da região costeira de Ubatuba (SP), onde as densidades foram maiores no verão, com a presença da ACAS.

Semelhante ao observado por Barcellos & Furtado (1999), o impacto antrópico, principalmente devido às atividades do Porto de São Sebastião e do DTCS, geram um aumento dos hidrocarbonetos presentes no sedimento e nas águas, bem como também das concentrações de metais pesados trazidos da zona portuária e de regiões antropizadas, pelo Canal de São Sebastião, devido à sua dinâmica predominantemente determinada pelo vento, onde a variabilidade gerada por oscilações de maré são relativamente pequenas (CASTRO, 1990). Segundo Castro Filho *et al.* (1987), o vento é um fator importante na determinação das condições de correntes superficiais na maioria das vezes, alterando principalmente nos sentidos N e NE, com ocasionais inversões, favorecendo a dispersão de efluentes e contaminantes.

A proximidade da região do sublitoral ao Canal de São Sebastião, pode justificar as maiores concentrações de metais pesados, alquilbenzenos lineares (LABs) e de matéria orgânica nesta região, comparativamente à região do entremarés. Entretanto, as maiores concentrações de metais pesados observadas na região do sublitoral parecem não ter influência negativa sobre as densidades dos microrganismos estudados uma vez que suas densidades também foram mais elevadas nesta região comparativamente ao entre marés.

Além dos compostos lançados pelo porto e pelo DTCS, há uma liberação no ecossistema de matéria orgânica e LABs oriunda de efluentes domésticos, colaborando significativamente para o aumento de LABs e matéria orgânica dissolvida e particulada. Esses efluentes domésticos são lançados pelo emissário submarino, localizado na Baía do Araçá, sem sofrer de fato um tratamento, passando apenas por um pré-condicionamento (TEODORO *et al.*, 2010). Segundo Takada *et al.* (1992), os LABs podem ter como origem o esgoto doméstico ou industrial que não sofrem tratamento adequado antes de ser descartado em rios ou oceanos. Sendo assim, é possível que os LABs da Baía do Araçá tenham origem no esgoto lançado pelo emissário. As concentrações de LABs nas amostras de Araçá foram similares às encontradas por Martins *et al.* (2008) na Baía de Santos ($< \text{LDM a } 116,5 \text{ ng g}^{-1}$), onde há um emissário submarino. Medeiros e Bícigo (2004) realizaram estudos na mesma região, e encontraram concentrações entre 25,3 a 430,6 ng g^{-1} . Entretanto as concentrações foram mais baixas que as encontradas que Takada *et al.* (1992), que apresentaram valores entre 1000 a 3000 ng g^{-1} LABs totais na Baía de Tóquio.

A região objeto do presente estudo vem sofrendo intensas modificações devido à degradação do ambiente ao longo das décadas. Porém com a possibilidade da expansão do Porto de São Sebastião e do retroporto, os danos serão irreversíveis. Devido à alterações dinâmicas, o fluxo de matéria orgânica pode ser comprometido ou alterado de forma drástica, afetando diretamente a dinâmica ecológica da alça microbiana, e consequentemente alterando os demais níveis tróficos, inclusive na cadeia trófica clássica, afetando indiretamente a economia pesqueira local.

6. CONCLUSÕES

- A região do sublitoral apresenta maiores densidades de microrganismos, quando comparado à região do entremarés, principalmente pelo fato de ser uma região mais rica em matéria orgânica, influenciando principalmente as bactérias heterotróficas.
- A contaminação, principalmente devido à descargas domésticas lançadas pelo emissário submarino e descargas de efluentes oriundos do Porto de São Sebastião, influenciam diretamente a alça microbiana na Baía do Araçá.
- Os nanoflagelados realizam bacterivoria na região da Baía do Araçá, optando preferencialmente por bactérias heterotróficas, porém alteraram seu regime alimentar, optando pela predação de cianobactérias. Este fato deve-se pela concentração de suas presas no ambiente, ocorrendo em períodos distintos, de março a julho de 2013 para a bacterivoria e após julho para a cianoherbivoria.
- Uma vez que a alça microbiana está intimamente relacionada às variações da matéria orgânica, é de suma importância a preservação da área da Baía do Araçá para a manutenção desta estrutura ecológica delicada.
- Com a possibilidade da expansão do Porto de São Sebastião, alterações hidrodinâmicas afetarão diretamente o fluxo de matéria orgânica, que pode ser comprometido ou alterado de forma drástica, afetando diretamente a dinâmica ecológica da alça microbiana, e conseqüentemente alterando os demais níveis tróficos, inclusive na cadeia trófica clássica, afetando indiretamente a economia pesqueira local.
- Economicamente, a alteração acarretará graves problemas à pesca, uma vez que esta está relacionada com a alça microbiana. A alteração da paisagem na área também terá um impacto econômico negativo, uma vez que o turismo está diretamente relacionado com a preservação de áreas naturais.

7. REFERÊNCIAS

- AMARAL, A.C.Z.; MIGOTTO, A.E.; TURRA, A. & SCHAEFFER-NOVELLY, Y., 2010. **Araçá: biodiversidade, impactos e ameaças**. Biota Neotropica, 10, 1-47.
- ANDERSEN, P.; FENCHEL, T., 1985. **Bacterivory by microheterotrophic flagellates in seawater samples**. Limnol. and Oceanogr., 30, 198-202.
- ANDERSEN, P.; SORENSSEN, H. M., 1986. **Population dynamics and trophic coupling in pelagic microorganisms in eutrophic coastal waters**. Mar. Ecol. Prog. Ser., 33, 99 – 109.
- ANDERSON, T. R.; DUCKLOW, H. W., 2001. **Microbial loop carbon cycling in ocean environments studied using a simple steady-state model**. Aquat. Microb. Ecol., 26, 37-49.
- AZAM, F.; FENCHEL, T.; FIELD, J. G.; GRAY, J. S.; MEYER-REIL, L. A.; THINGSTAD, F., 1983. **The ecological role of water-column microbes in the sea**. Mar. Ecol. Prog. Ser., 10, 257-263.
- AZAM, F., 1998. **Microbial Control of Oceanic Carbon Flux: The Plot Thickens**. Science, v. 280, i. 5364, 694-696.
- AZAM, F.; MALFATTI, A., 2007. **Microbial structuring of marine ecosystems**. Nature Rev. Microbiol., 5, 728-791.
- BARCELLOS, R. L.; FURTADO, V. V., 1999. **Processo sedimentar atual e a distribuição de carbono e nitrogênio orgânicos no Canal de São Sebastião (SP) e plataforma continental interna adjacente**. Rev. Bras. Oceanogr., 47 (2), 207 - 221.
- BARBIER, E. B., HACKER, S. D., KENNEDY, C., KOCH, E. W., STIER, A. C., 2011. **The value of estuarine and coastal ecosystem services**. Ecological Monographs, 81 (2), 169-193.
- BERGH, O.; BORSHEIM, K. Y.; BRATBAK, G.; HELDAL, M., 1989. **High abundances of viruses found in aquatic environments**. Nature, 340, 476.
- BRATBAK, G.; HELDAL, 1992. **Incorporation of viruses into the budget of microbial C-transfer. A first approach**. Mar. Ecol.: Prog. Ser., 83, 273 – 280.
- CARON, D. A.; LIM, L. E.; MICELLI, G.; WATERBURY, J. B.; VALOIS, F. W., 1991. **Grazing and utilization of chroococcoid cyanobacteria and heterotrophic bacteria by protozoa in laboratory cultures and a coastal plankton community**. Mar. Ecol. Prog. Ser., 76, 205-217.
- CASTRO, B. M., 1985. **Subtidal response to wind forcing in the South Brazil Bight during winter**. Ph.D. Dissertation. University of Miami, RSMAS.

- CASTRO, B. M., 1990. **Wind driven currents in the Channel of São Sebastião: winter, 1979.** Bolm Inst. oceanogr., S Paulo, 38(2), 111-132
- CASTRO FILHO, B. M.; MIRANDA, L. B.; MIYAO, S. Y., 1987. **Condições hidrográficas na plataforma continental ao largo de Ubatuba: variações sazonais e em média escala.** Bol. Inst. Oceanogr., 35 (2), 135 – 151.
- DAME, R.; CHRZANOWSKI, T.; BILDSTEINS, K.; KJERFVE, B.; McKELLAR, H.; NELSON, D.; SPURRIER, J.; STANCYK, S.; STEVENSON, H.; VERNBERG, J.; ZINGMAR, R., 1986. **The outwelling hypothesis and the North Inlet, South California.** Mar. Ecol. Prog. Ser., 33, 217-229.
- DUCKLOW, H. W.; PURDIE, D. A.; WILLIAMS, P. J. leB.; DAVIES, J. M., 1986. **Bacterioplankton: A sink for carbon in coastal marine plankton community.** Science, 232, 865-867.
- FENCHEL, T., 1982b. **Ecology of heterotrophic microflagellates: II. Bioenergetics and growth.** Mar. Ecol. Prog. Ser., 8, 225-231.
- FENCHEL, T., 1986. **The ecology of heterotrophic flagellates.** Advances in microbial ecology, 9, 57 - 97.
- FENCHEL, T., 2008. **The Microbial Loop – 25 years later.** Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 366, 99-103.
- FERNANDES, A. J.; MESQUITA, H. S. L., 1999. **An experimental study of nanoflagellate bacterivory.** Revista de Microbiologia, 30, 365-372.
- FONTES, R. F. C., 1995. **As correntes do Canal de São Sebastião, São Paulo.** M.Sc. Thesis. University of São Paulo, Oceanographic Instituto. 159p.
- FUHRMAN, J. A.; NOBEL, R. T., 1995. **Viruses and protists cause similar bacterial mortality in coastal seawater.** Limnology and Oceanography, 40 (7), 1236 – 1242.
- FUHRMAN, J. A., 1999. **Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects.** Nature, 399, 541-548.
- GAUDETTE, H. E.; FLIGHT, W. R.; TONER, L.; FOLGER, D. W., 1974. **An inexpensive titration method for the determination of organic carbon in recent sediments.** J. sedim. Petrology, 44(1), 249-253.
- GUBITOSO, S.; DULEBA, W.; TEODORO, A. C.; PRADA, S. M.; ROCHA, M. M. da; LAMPARELLI, C. C.; BEVILACQUA, J. E.; MOURA, D., 2008. **O estudo geoambiental da região circunjacente ao emissário submarino de esgoto do Araçá, São Sebastião (SP).** Revista Brasileira de Geociências, 38 (3), 467 – 475.
- HAGSTRÖM, Å.; AZAM, F.; ANDERSSON, A.; WIKNER, J.; RASSOULZADEGAN, F., 1988. **Microbial loop in an oligotrophic pelagic marine ecosystem: possible roles of cyanobacteria and nanoflagellates in the organic fluxes.** Mar. Ecol. Prog. Ser., 49, 171-178.

- HALL, J. A.; BARRETT, D. P.; JAMES, M. R., 1993. **The importance of phytoflagellate, heterotrophic flagellate and ciliate grazing on bacteria and picophytoplankton sized prey in a coastal marine environment.** *Journal of plankton research*, 15, 1075 - 1086.
- HOBBIE, J. E.; HOLM-HANSEN, O.; PACKARD, T. T.; POMEROY, L. W.; SHELDON, R. W.; THOMAS, J. P.; WIEBE, W. J., 1972. **A study of the distribution and activity of microorganisms in ocean water.** *Limnol. Oceanogr.*, 17, 544-555.
- HOBBIE, J. E.; DALEY, R. J.; JASPER, S., 1977. **Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy.** *Applied and Environmental Microbiology*, v. 33, 1225-1228.
- JACKSON, J. B. C.; KIRBY, M. X.; BERGER, W. H.; BJORN DAL, K. A.; BOTSFORD, L. W.; BOURQUE, B. J.; BRADBURY, R. H.; COOKE, R.; ERLANDSON, J.; ESTES, J. A.; HUGHS, T. P.; KIDWELL, S.; LANGE, C. B.; LENIHAN, H. S.; PANDOLFI, J. M.; PETERSON, C. H.; STENECK, R. S.; TEGNER, M. J.; WARNER, R. R., 2001. **Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems.** *Science*, 293, 629-637.
- JUMARS, P. A.; PENRY, D. L.; BAROSS, J. A.; PERRY, M. J.; FROST, B. W., 1989. **Closing the microbial loop: dissolved carbon pathway to heterotrophic bacteria from incomplete ingestion, digestion and absorption in animals.** *Deep-Sea Research*, v. 36, n. 4, 483-495.
- KEPNER, R. L.; PRATT, J. R., 1994. **Use of fluorochromes for direct enumeration of total bacteria in environmental samples: past and present.** *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 58.
- KUOSA, H., 1991. **Picoplanktonic algae in the northern Baltic Sea: seasonal dynamics and flagellate grazing.** *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 73, 269 – 276.
- KRAMBECK, C.; KRAMBECK, H. J.; OVERBECK, J., 1981. **Microcomputerassisted biomass determination of plankton bacteria on scanning electron micrographs.** *Appl. Environ. Microbiol.*, 42, 142-149.
- LUCAS, M. I.; PROBYN, T. A.; PAINTING, S. J., 1987. **An experimental study of microflagellates bacterivory: further evidence for the importance and complexity of microplanktonic interactions.** *S. Afr. J. Mar. Sci.*, 5, 791 - 808.
- MARTINS, C. C.; FERREIRA, J. A.; TANIGUCHI, S.; MAHIQUES, M. M.; BÍCEGO, M. C.; MONTONE, R. C., 2008. **Spatial distribution of sedimentary linear alkylbenzenes and faecal steroids of Santos Bay and adjoining continental shelf, SW Atlantic, Brazil: Origin and fate of sewage contamination in the shallow coastal environment.** *Mar. Pollut. Bull.*, 56, 1353-1376.
- McFAYDEN, A., 1964. **Energy flow in ecosystems and its exploitation by grazing.** In: D. J. Crispie (Ed.) *Grazing in terrestrial and marine environments*. Oxford, Blackwell: 3-20.
- McMANUS, G. B.; FUHRMAN, J. A., 1988. **Control of marine bacterioplankton populations: measurement and significance of grazing.** *Hydrobiologia*, 159, 51 – 62.

MEDEIROS, P. M.; BÍCEGO, M. C., 2004. **Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers. I. Santos, SP, Brazil.** Mar. Pollut. Bull., 49, 761–769.

MESQUITA, H. de S. L., 1993. **Densidade e distribuição do bacterioplâncton nas águas de Ubatuba (23°S 45°W), Estado de São Paulo.** Pub. Esp. Inst. Oceanogr., 10, 45 – 63.

MEYER-REIL, L. A., 1978. **Autoradiography and epifluorescence microscopy for the determination of number and spectrum of actively metabolizing bacteria in natural waters.** Appl. Environ. Microbiol., 36, 506-512.

MONTANIÉ, H.; ORY, P.; ORVAIN, F.; DELMAS, D.; DUPUY, C.; HARTMANN, H. J., 2014. **Microbial interactions in marine water amended by eroded benthic biofilm: A case study from an intertidal mudflat.** Journal of Sea Research, 92, 74 - 85.

NAGELKERKEN, I., VAN DER VELDE, G., GORISSEN, M. W., MEIJER, G. J., VAN'T HOF, T., DEN HARTOG, C., 2000. **Importance of mangroves, seagrass beds and the shallow coral reef as a nursery for important coral reef fishes, using a visual census technique.** Estuarine, Coastal and Shelf Science, 51, 31 - 44

OLIVEIRA, A. F. C., 2000. **Regeneração de nutrientes por alguns componentes da alça microbiana.** Tese de doutorado (Ciências, Área Oceanografia Biológica), Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo (USP).

ODUM, E. P., 1980. **The status of three ecosystem-level hypothesis regarding salt marsh estuaries: tidal subsidy, outwelling and detritus-based food chains.** In: KENNEDY, V. (Ed.) Estuarine Perspectives. New York, Ed. Academic, 485-495.

PAUL, J. H., 2001. **Methods in Microbiology.** Marine Microbiology. Academic Press, London. 666p.

PAULY, D.; ALDER, J.; BENNET, E.; CHRISTENSEN, V.; TYEDMERS, P.; WATSON, R., 2003. **The future for fisheries.** Science, 302, 1359-1361.

PEREZ, M. T.; DOLAN, J. R.; RASSOULZADEGAN, F.; MOSTAJIR, B., 1996. **Pradation on marine picoplankton populations examined with an “add-in” approach.** J. Plank. Res., 18(4), 635 – 641.

PIRES-VANIN, A. M. S.; ROSSI-WONGTSCHOWSKY, C. L. del B.; AIDAR, E.; MESQUITA, H. de S. L.; SOARES, L. S. H., KATSURAGAWA, M.; MATSUURA, Y., 1993. **Estrutura e função do ecossistema de plataforma continental do Atlântico Sul brasileiro: síntese dos resultados.** Pub. Esp. Inst. Oceanogr., 10, 217 – 231.

POMEROY, L. R., 1974. **The ocean’s food web, a changing paradigm.** BioScience, 24, 499-504.

POMEROY, L. R., WILLIAMS, P. I., AZAM, F., HOBBIE, J. E., 2007. **The Microbial Loop.** Oceanography, v. 20, n. 2, 28-33.

PORTER, K. G.; FEIG, Y. S., 1980. **The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora.** Limnol. Oceanogr., 25, 943-948.

PROCTOR, L. M.; FUHRMAN, J. A., 1990. **Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria.** Nature, 343, 60 – 62.

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2011). **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. URL: <http://www.R-project.org>.

ROBINSON, C.; WILLIAMS, P. J. leB., 2005. **Respiration and its measurement in surface marine waters.** In: **Respiration in Aquatic Ecosystems.** GIORGIO, P. A.; WILLIAMS, P. J. leB. (Ed.) Oxford: Oxford University Press. 147-180.

SANDERS, R. W.; CARON, D. A.; BERNINGER, V. G., 1992. **Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and freshwaters: an interecosystem comparison.** Marine ecology progress series, 86, 1 - 14.

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

SHELDON, R. W.; PRAKASH, A.; SUTCLIFF, W. H., 1972. **The size distribution of particles in the ocean.** Limnol. Oceanogr., 17, 327-340.

SHERR, E. B.; SHERR, B. F., 1994. **Bacterivory and herbivory: key roles of phagotrophic protists in pelagic food webs.** Microb. Ecol., 28, 223–235.

SHERR, B. F.; SHERR, E. B., 1988. **Role of microbes in pelagic food webs: a revised concept.** Limnol. Oceanogr., 33, 1225-1227.

SHERR, B. F.; SHERR, E. B.; ANDREW, T. L.; FALLON, R. D.; NEWELL, S. Y., 1986. **Trophic interactions between heterotrophic Protozoa and bacterioplankton in estuarine water analyzed with selective metabolic inhibitors.** Mar. Ecol. Prog. Ser., 32, 169-179.

SIEBURTH, J. McN.; SMETACEK, V.; LENZ, J., 1978. **Pelagic ecosystem structure: heterotrophic components of plankton and their relationship to plankton size fractions.** Limnol. Oceanogr., 23 (6), 1256-1263.

SIEBURTH, J. McN., 1981. **Protozoan bacterivory in pelagic marine waters.** In: Hobbie, J. E.; Williams PleB (Eds) Heterotrophic Activity in the Sea, NATO Conference Series IV, Vol. 15, pp 405–444).

SOARES, I. D., 1994. **Um modelo numérico de dispersão oceânica: aplicações ao Canal de São Sebastião e adjacências.** Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico. 126p.

SPENCER, R., 1955. **A marine bacteriophage.** Nature, 175 – 690.

- STEELE, J. H., 1974. **The structure of marine ecosystems**. Massachusetts: Harvard University of Cambridge, 128pp.
- STROM, S. L., 2000. **Bacterivory: interactions between bacteria and their grazers**. In: Kirchman DL (Ed) *Microbial Ecology of the Oceans* (pp 351–286). Wiley-Liss, New York.
- TAKADA, H.; ISHIWATARI, R.; OGURA, N., 1992. **Distribution of linear alkybenzenes (LABs) and Linear alkybenzene-sulphonates (LAS) in Tokyo Bay sediments**. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 35, 141–156.
- TEODORO, A. C., DULEBA, W., GUBITOSO, S., 2011. **Estudo multidisciplinar (Geoquímica e Associações de Foraminíferos) para caracterizar e avaliar intervenções antrópicas na Baía do Araçá, Canal de São Sebastião, SP**. *Revista do Instituto de Geociências - USP*, 11 (1), 113-136.
- TESSLER, M. G.; LOPES, R. C. F.; BÍCEGO, M. C.; TANIGUCHI, S., 2014. **Relatório expandido Biota Araçá. Módulo 6 – Dinâmica Sedimentar**, 141pp.
- THINGSTAD, T. F., 2000. **Elements of a theory for the mechanisms controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic bacterial viruses in aquatic systems**. *Limnol. Oceanogr.* 45, 1320.
- THOMAZ, S. M., 1999. **O papel ecológico das bactérias e teias alimentares microbianas em ecossistemas aquáticos**. In: Pompêo, M. L. M. (Ed.) *Perspectivas da Limnologia no Brasil*. São Luis. 147-167.
- TOMINAGA, E. N., RUGNO, N. C., FLYNN, M. N., 2006. **Processos hidrodinâmicos e sedimentares avaliados na região de São Sebastião - SP**. *Environmental and Health World Congress*, 671 - 675.
- TORRELLA, F.; MORITA, R. Y., 1979. **Evidence by electron micrographs for a high incidence of bacteriophage particles in the waters of Yaquina Bay, Oregon: Ecological and taxonomical implications**. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37 (4), 774 – 8.
- TOWNSEND, C. R., 2006. **Fundamentos em ecologia**. 2ª ed., Artmed, Porto Alegre, 592p.
- TRANVIK, L. J., 1992. **Allochthonous dissolved organic matter as an energy source for pelagic bacteria and the concept of the microbial loop**. *Hydrobiologia*, 229, 107 - 114.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency), 1994. **Method 3051. Microwave assisted Cid digestion of sediments, slugs**. Soils and oils. Revision 0, September.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency), 2007. **Method 6010C. Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry**. Revision 3, February.
- SUGUIO, K., 1973. **Introdução à sedimentologia**. Editora Edgard Blucher Ltda/EDUSP.
- WRIGHT, R. T; HOBBIIE, J. E., 1965. **The uptake of organic solutes in lake water**. *Limnol. Oceanogr.*, 10, 22-28.

ZOHARY, T., GAL, G., HAMBRIGHT, K. D., 2014. **The Pelagic Food Web**. Aquatic Ecology Series, 6, 293-306