MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE – ICMBio
DIRETORIA DE PESQUISA, AVALIAÇÃO E MONITORAMENTO DA BIODIVERSIDADE



Adalto Bianchini
Universidade Federal do Rio Grande – FURG
Instituto de Ciências Biológicas - ICB
adaltobianchini@furg.br

RELATÓRIO

Avaliação do impacto da lama/pluma Samarco sobre os ambientes costeiros e marinhos (ES e BA) com ênfase nas Unidades de Conservação

1ª Expedição do Navio de Pesquisa Soloncy Moura do CEPSUL/ICMBio

BRASÍLIA

28 de Abril de 2016

EQUIPE DE PESQUISA - FURG/CORAL VIVO

Coordenador: Dr. Adalto Bianchini

Pesquisadores: Dra. Cinthia Carneiro da Silva
Dra. Mariana Machado Lauer
Dra. Marianna Basso Jorge
Dra. Patrícia Gomes Costa
Doutoranda Joseane Aparecida Marques
Doutoranda Laura Fernandes de Barros Marangoni
Mestranda Andrea Carlina Jesulich
Mestrando Andrew James Taylor
Mestranda Débora Camacho Luz
Mestranda Juliana Fonseca da Silva
Mestrando Yuri Dornelles Zebral
Acadêmica Marina Marinho de Azevedo Novazzi Pinto

Endereço: Universidade Federal do Rio Grande - FURG
Instituto de Ciências Biológicas - ICB
Avenida Itália km 8 - s/n^{o}
Campus Carreiros
96.203-900 - Rio Grande - RS
Telefone: (53) 3293-5255
e-mail: adaltobianchini@furg.br

1. Contextualização

1.1. Os contaminantes aquáticos

Desde a Antiguidade, as zonas costeiras estão entre as partes mais intensivamente utilizadas do globo, devido às numerosas vantagens que elas oferecem. Estima-se que mais da metade da população viva em zonas costeiras, as quais constituem áreas de importância como centros de transporte e comércio internacional (Asmus & Tagliani, 1998). Como grande parte da população mundial está estabelecida em zonas costeiras, esta é uma das áreas mais prejudicadas com o desenvolvimento associado às atividades agrícolas e industriais desordenadas, as quais têm gerado resíduos tóxicos de difícil degradação no ambiente.

O crescente e desordenado desenvolvimento de fábricas e indústrias, bem como das atividades agrícolas, pesqueiras e de aquicultura, vêm contribuindo de forma crescente para a emissão de contaminantes no ambiente costeiro (van Dam *et al.*, 2011). Embora muitas destas substâncias possam ser originadas de fontes naturais, tais como lixiviação de rochas e erosão (Georgopoulos *et al.* 2002), as atividades humanas tem aumentado consideravelmente a concentração destes contaminantes nos mais diversos ecossistemas. Dependendo da sua concentração, interação com o meio e o organismo alvo, estes contaminantes poderão ter sua concentração limiar ultrapassada no ambiente e apresentar sérios riscos à biota, tornando-se um potencial poluente (Rand & Petrocelli, 1985). Assim, a avaliação dos riscos destes contaminantes deve, sem dúvida, considerar os seus efeitos danosos aos organismos aquáticos, sendo que um dos debates importantes em toxicologia aquática é a habilidade de prognosticar a taxa e a extensão da poluição química, bem como o destino *in vivo* e os efeitos dos compostos químicos absorvidos.

Está bem documentado na literatura que animais que vivem em ambientes aquáticos quimicamente poluídos irão adquirir uma carga corporal destes poluentes químicos, sendo que a carga corporal adquirida pelo indivíduo irá depender de vários fatores, incluindo as propriedades físico-químicas dos contaminantes, as rotas de exposição e os constituintes fisiológicos e bioquímicos do animal (James & Kleinow, 1994; Wood *et al.*, 2011). Por sua vez, as funções celulares dos organismos aquáticos são dependentes de processos que envolvem a captação, regulação, utilização e excreção dos contaminantes, sendo que a toxicidade destes pode ser atribuída a disfunções resultantes de interações inapropriadas entre estes e as estruturas celulares. Por isso, investigações em nível celular vêm sendo

desenvolvidas, a fim de fornecer subsídios para o entendimento do mecanismo envolvido na resposta dos organismos aquáticos à exposição a um determinado contaminante no ambiente (Roesijadi & Robinson, 1994; Wood *et al.*, 2011).

Em vista do acima exposto, fica claro que a introdução de efluentes em rios e estuários, especialmente aqueles localizados em regiões influenciadas por centros industriais, urbanos e de exploração de recursos minerais, tem levado a um significante aumento na contaminação em geral, tanto por substâncias consideradas não perigosas, as quais não representariam um perigo direto ao homem, quanto por aquelas que podem causar sérios danos e comprometer diretamente a vida humana. Neste último grupo, estão incluídos os compostos de hidrocarbonetos aromáticos e policíclicos, pesticidas, substâncias radiativas e os metais (Forstner & Wittmann, 1983). Portanto, os animais aquáticos são expostos a uma variedade de contaminantes no ambiente, sendo que a forma química e concentração destes na água são governadas pela natureza dos processos geoquímicos e das atividades humanas associadas. Estes contaminantes incluem elementos essenciais requeridos em baixas concentrações para suporte de processos biológicos, tais como o cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe) e manganês (Mn), bem como outros, tais como o arsênio (As), chumbo (Pb) e cádmio (Cd), que são considerados não essenciais à biota, pois não apresentam nenhuma função biológica reconhecida (Pais & Jones Jr., 1997; Wood *et al.*, 2011).

A grande maioria dos poluentes oriundos das atividades humanas acaba sendo transportada direta ou indiretamente para as zonas costeiras, o que leva à descarga no oceano, de uma grande variedade de contaminantes existentes em efluentes industriais e esgotos domésticos, pluviais, urbanos e rurais (Nipper, 2000). Desta forma, as regiões estuarinas e costeiras se tornam zonas de contaminação ambiental críticas, pois recebem a descarga de uma grande variedade de contaminantes oriundos de todos os rios que compõem sua bacia de drenagem (Corsi *et al.*, 2003), além dos compostos tóxicos liberados durante operações portuárias (Stephensen *et al.*, 2000). Esta gama de fontes emissoras contribui com diferentes tipos de poluentes, tanto orgânicos (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – PAHs; pesticidas; bifenis policlorados – PCBs, entre outros), como inorgânicos (metais como As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn e Pb). Estes poluentes terminam por atingir o ambiente estuarino na forma de misturas complexas e são capazes de provocar efeitos deletérios nos organismos que o habitam (Shailaja & D'Silva, 2003).

Coincidentemente, as zonas costeiras são também importantes áreas de reprodução e crescimento para muitas espécies de peixes e invertebrados (Abreu & Castello, 1998). Assim

sendo, a poluição aquática pode trazer sérias consequências, tanto econômicas (redução da produção pesqueira) quanto ecológicas (diminuição da densidade e diversidade biológica). Além disso, muitos poluentes são transferidos e acumulados ao longo das cadeias alimentares, ameaçando também de forma indireta a saúde de seus consumidores, que podem ser tanto organismos aquáticos quanto seres humanos (Rodríguez-Ariza *et al.*, 1999). No entanto, as consequências em nível de ecossistema, normalmente só se fazem sentir em longo prazo, e quando os efeitos se tornam visíveis e geralmente mais nenhum tipo de remediação é viável (Goksoyr, 1996). Por estas razões, tornou-se necessário o desenvolvimento de métodos de identificação, estimação e manejo dos riscos impostos pela descarga indiscriminada de compostos químicos no ambiente aquático (Cajaraville *et al.*, 2000).

Sabe-se que a simples presença de um contaminante em algum compartimento do ecossistema aquático não significa, por si só, que este produza efeitos danosos aos organismos que o habitam (Van der Oost *et al.*, 2003). Diversos fatores determinam a biodisponibilidade de um composto, ou seja, a fração da quantidade total de um composto químico, presente no ambiente circundante, passível de ser absorvido pela biota (Rand & Petrocelli, 1985). Dentre estes fatores, citam-se as propriedades dos contaminantes, as características dos organismos e as condições ambientais sob as quais organismos e contaminantes interagem (Newman,1998). Isso é particularmente importante nos ambientes costeiros, que se caracterizam por frequentes variações nas características físico-químicas da água, tais como salinidade, pH e temperatura, e que podem alterar a biodisponibilidade e, consequentemente, a toxicidade dos contaminantes (Witters, 1998).

1.2. Toxicidade dos metais, biomarcadores e a legislação brasileira

Em função do risco ambiental que a emissão dos metais pode apresentar ao ambiente aquático e à biota associada, o lançamento destes contaminantes químicos está regulamentado. Em diversos países, inclusive no Brasil, os níveis de emissão de metais estão baseados na concentração total ou dissolvida do metal no efluente ou no ambiente aquático. No Brasil, esta regulamentação é dada Resolução 357 de 17/03/2005, alterada pelas Resoluções 410/2009 e 430/2011, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2005). Esta legislação dispõe sobre a classificação dos corpos de água e define as diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. No que diz respeito ao presente estudo,

ressalta-se que a Resolução 357 do CONAMA adota as seguintes definições: (a) águas doces - águas com salinidade igual ou inferior a 0,5‰; (b) águas salobras - águas com salinidade superior a 0,5‰ e inferior a 30‰; e (c) águas salinas - águas com salinidade igual ou superior a 30‰. Considerando que a área avaliada no presente estudo é essencialmente marinha, destaca-se que a Resolução 357 do CONAMA classifica as águas salinas nas seguintes classes: **classe especial** - águas destinadas: (a) a preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral e (b) a preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; **classe 1** - águas que podem ser destinadas: (a) a recreação de contato primário, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000; (b) a proteção das comunidades aquáticas; e (c) a aquicultura e a atividade de pesca.

A Resolução 357 do CONAMA estabelece as respectivas condições e padrões de qualidade para cada classe de água, estabelecendo limites individuais para cada substância em cada uma das classes. Esta Resolução estabelece ainda que eventuais interações entre substâncias, especificadas ou não naquela legislação, não poderão conferir as águas características capazes de causar efeitos letais ou alteração de comportamento, reprodução ou fisiologia da vida. A mesma legislação define ainda que o conjunto de parâmetros de qualidade de água selecionado para subsidiar a proposta de enquadramento deverá ser monitorado periodicamente pelo Poder Publico, sendo que também deverão ser monitorados os parâmetros para os quais haja suspeita da sua presença ou não conformidade. Por fim, ressalta-se que a Resolução 357 do CONAMA estabelece que a qualidade dos ambientes aquáticos possa ser avaliada por indicadores biológicos, quando apropriado, utilizando-se organismos e/ou comunidades aquáticas. Assim, a Resolução 357 CONAMA serviu como base para comparação dos resultados obtidos no presente estudo, no que se refere às concentrações de metais (As, Cd, Cd, Cr, Fe, Mn e Pb) na água, visando à detecção de resultados "não conformes" com a legislação vigente, bem como a aplicação de biomarcadores para avaliação de possíveis impactos biológicos associados à contaminação das águas nos pontos de coleta na área de estudo.

No contexto descrito acima, estudos bioquímicos e fisiológicos têm sido realizados por nosso grupo de pesquisa com o objetivo de aperfeiçoar o entendimento a respeito das interações dos metais com os organismos marinhos e avaliar os seus potenciais danos à biota aquática (Bianchini *et al.*, 2003; 2005; 2007; Pedroso *et al.*, 2007; Pinho *et al.*, 2007; Paganini *et al.*, 2008; Paganini & Bianchini, 2009; Lopes *et al.*, 2011; Prazeres *et al.*, 2011, 2012; Machado *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2016). Visto que os organismos aquáticos são expostos aos

metais diretamente através da sua fração dissolvida na água ou indiretamente via dieta, elevadas concentrações deste metal no ambiente (água e/ou biota) podem levar ao seu acúmulo em vários tecidos, incluindo o músculo (Wood *et al.*, 2011), que em muitos casos, serve como alimento à população humana.

De uma forma geral, a toxicidade de metais-traço é atribuída a alterações em funções bioquímicas, como, por exemplo, em sistemas enzimáticos. Portanto, é possível que o mecanismo de toxicidade destes contaminantes em invertebrados e vertebrados expostos ao metal em salinidades elevadas esteja associado a uma interferência nas trocas gasosas, no equilíbrio iônico e osmótico, na excreção de compostos nitrogenados e no transporte de oxigênio e/ou metabolismo energético (Wood *et al.*, 2011).

No contexto descrito acima, cabe destacar que os organismos aeróbicos obtiveram uma significativa vantagem energética com a utilização do oxigênio molecular como oxidante terminal na cadeia respiratória mitocondrial (Storey, 1996). No entanto, durante este processo, o oxigênio tem o potencial de ser parcialmente reduzido, originando moléculas extremamente tóxicas, denominadas espécies reativas de oxigênio (EROs) (Storey, 1996). As EROs também são produzidas durante vários outros processos metabólicos normais que envolvem transferência de elétrons e oxigênio como, por exemplo, no metabolismo de compostos endógenos e na biotransformação de xenobióticos realizados no retículo endoplasmático (Winston & Di Giulio, 1991). Nestes casos, ocorre a formação de $O_2^{\cdot -}$ e H_2O_2, como resultado da auto-oxidação de enzimas do sistema citocromo P450. Fatores ambientais como radiação ionizante e não ionizante, poluição ambiental e produtos tóxicos também são potenciais geradores de EROs, pois provocam a indução dessas enzimas (De Zwart, 1999).

Para contrabalançar e reparar os efeitos da produção basal de EROs, os organismos desenvolveram um complexo sistema de defesa antioxidante (SDA). Segundo Storey (1996), o SDA age de forma integrada, reagindo diretamente com as EROs, o que impede que estas se liguem em macromoléculas essenciais (antioxidantes não enzimáticos), ou agindo como catalisadores no processo de degradação das EROs (antioxidantes enzimáticos). Dentre as enzimas antioxidantes, podem ser mencionadas a Mn-superóxido dismutase (MnSOD), a Cu/Zn-superóxido dismutase (Cu/ZnSOD), a glutationa peroxidase (GPx) e a catalase (CAT) (Monserrat *et al.*, 2007).

Um aumento na produção EROs acima dos níveis basais, ultrapassando a capacidade antioxidante dos tecidos e gerando danos em macromoléculas (lipoperoxidação, oxidação de proteínas e dano de DNA), caracteriza a situação de "estresse oxidativo" (Halliwell &

Gutteridge, 1999). Neste contexto, cabe ressaltar que muitos poluentes, incluindo os metais, são capazes de aumentar a geração de EROs através de mecanismos diversos, tais como a reação de Fenton na presença de alguns metais de transição (como Cu e Fe), a auto-oxidação, o desacoplamento de transportadores de elétrons de membrana, entre outros (Livingstone, 2001), podendo induzir estresse oxidativo em animais aquáticos (Monserrat *et al.*, 2007). Por isso, a medida dos níveis de danos oxidativos às macromoléculas, incluindo a lipoperoxidação, tem sido amplamente utilizada como biomarcadores de estresse oxidativo induzido por contaminantes aquáticos, especialmente os metais (Monserrat *et al.*, 2007; Machado *et al.*, 2013). Portanto, a exposição de organismos aquáticos aos metais, além de causar distúrbios iônicos e osmóticos em algumas espécies, pode alterar os metabolismos aeróbico e energético e induzir a geração de EROs, provocando danos oxidativos importantes às biomoléculas, tais como lipídios, proteínas e DNA. Como resultados deletérios destes danos oxidativos induzidos pela exposição a metais como Cu, Zn e Fe, podem ser citadas a ocorrência de branqueamento de organismos de ambientes recifais (Prazeres *et al.*, 2011, 2012), bem como a indução da fibropapilomatose em tartarugas marinhas (Silva *et al.*, 2016).

Diante desta problemática, diversas técnicas para avaliação e monitoramento da qualidade ambiental, como as utilizadas no presente estudo, vêm sendo empregadas, levando em consideração os aspectos físicos, químicos e biológicos dos três principais compartimentos dos ambientes aquáticos: água, sedimento e biota (Netto *et al.*, 2000). Para tal, diversos grupos de organismos, tais como os crustáceos e os peixes, têm sido empregados como modelos em estudos ecotoxicológicos (Zagatto, 2006). Neste contexto, vale lembrar que a resposta biológica às agressões ambientais pode ser evidenciada em qualquer nível de organização, desde ecossistemas até os menores compartimentos biológicos, tais como tecidos, células e estruturas subcelulares, incluindo reações bioquímicas intracelulares (Zagatto, 2006). Se parâmetros bioquímicos forem correlacionados de forma significativa aos níveis maiores de organização, a detecção de perturbações preliminares poderão então servir como ferramenta preventiva para evitar respostas irreversíveis ao ecossistema (Depledge *et al.*, 1995). Desta forma, a utilização de ferramentas alternativas, como os biomarcadores, no auxílio da avaliação e monitoramento da qualidade e saúde de ambientes aquáticos vem ganhando importância e relevância. Os biomarcadores podem ser considerados como respostas bioquímicas, fisiológicas ou histológicas mensuráveis que indicam a presença de contaminantes no ambiente (Monserrat *et al.*, 2007). De acordo com Dinan *et al.* (2001), a

maior vantagem dos biomarcadores é a sua rápida resposta e, portanto, sua capacidade preditiva para estudos futuros.

No que se refere à acumulação e contaminação de pescados por metais-traço, a Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC nº 42, de 29 de Agosto de 2013, dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre "Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos". Esta legislação estabelece os limites máximos dos metais As, Cd, Pb e Hg em moluscos, crustáceos e peixes destinados ao consumo humano. Assim, a RDC nº 42 foi utilizada como base para comparação dos resultados obtidos no presente estudo, no que concerne as concentrações dos metais As, Cd e Pb no músculo de crustáceos e peixes capturados nos pontos de coleta na área em avaliação, visando a detecção de resultados "não conformes" com a legislação vigente.

1.3. O desastre de Mariana (MG)

Conforme amplamente divulgado na mídia, em 05/11/2015 ocorreu um desastre de grandes proporções associados às atividades da mineração brasileira. O evento ocorreu no distrito de Bento Rodrigues, município de Mariana (MG), após o rompimento da barragem de Fundão da mineradora Samarco, que é controlada pela Vale e pela BHP Billiton. O rompimento da barragem de Fundão em Mariana (MG) provocou uma enxurrada de lama, causando uma série de impactos ambientais, associados à emissão de aproximadamente 62 milhões de metros cúbicos de rejeitos de mineração. Segundo veiculado na mídia nacional, este é o maior desastre do gênero da história mundial nos últimos 100 anos. Se for considerado o volume de rejeitos despejados, o acidente em Mariana (MG) equivale, praticamente, à soma dos outros dois maiores acontecimentos do tipo já registrados no mundo, ambos ocorridos nas Filipinas, em 1982 (28 milhões de m³ de lama) e em 1992 (32,2 milhões de m³ de lama). Segundo também o que foi veiculado na mídia, os rejeitos de mineração emitidos são constituídos principalmente por óxido de ferro, água e lama. O rompimento da barragem afetou o rio Gualaxo, que é afluente do rio Carmo, o qual deságua no Rio Doce. Este, por sua vez, deságua no Oceano Atlântico na região denominada "Mar de Regência", no município de Linhares, no Norte do Espírito Santo.

De fato, a enxurrada de lama oriunda do rompimento da barragem de Fundão em Mariana (MG) atingiu o mar em 21/11/2015. Conforme veiculado na mídia (Correio Braziliense; 07/01/2016), a pluma de sedimentos de maior concentração da lama, junto à Foz

do Rio Doce, já atingiu 392 km^2, sendo que em menor concentração de resíduos, esta pluma de sedimentos abrangeu uma área de 6.197 km^2. Assim, além dos impactos causados na Bacia do Rio Doce, ao atingir o mar, a lama pode também potencialmente ter afetado direta ou indiretamente a vida marinha na região costeira do Espírito Santo e da Bahia. Cabe ressaltar que na região costeira em questão, encontram-se diversas áreas de Unidades de Conservação e seu entorno, bem como áreas foco de planos de ação, entre o norte do Espírito Santo e o sul da Bahia, tais como: APA Costa das Algas, RVS Santa Cruz, REBIO Comboios, RESEX Cassurubá e PARNA Marinho dos Abrolhos.

1.4. Cruzeiro de pesquisa e monitoramento - Navio Soloncy Moura

Visando a avaliação e monitoramento dos possíveis impactos negativos sobre a biodiversidade marinha, com especial referência a áreas de Unidades de Conservação e seu entorno e áreas foco de planos de ação entre o Norte do Espírito Santo e o Sul da Bahia, gerados pelos sedimentos oriundos do desastre ambiental ocasionado pelo rompimento de barragens de contenção de rejeitos de extração de ferro da empresa Samarco, em Mariana (MG), foi realizado cruzeiro de pesquisa e monitoramento com o apoio do Navio de Pesquisa Soloncy Moura do CEPSUL/ICMBio.

No dia 22/01/2016, o navio partiu do Porto de Itajaí (SC), cidade sede do CEPSUL. A chegada em Vitória (ES), onde foi estabelecida a base de operações da expedição, se deu no dia 25/01/2016. Na manhã do dia 26/01/2016, o navio atracou no píer da Capitania dos Portos do Espírito Santo, onde se deu o embarque dos pesquisadores e equipamentos a serem utilizados nas atividades de pesquisa e monitoramento. Esta expedição contou com a participação de pesquisadores da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). No dia 03/02/2016, se deu a chegada de retorno do navio a Vitória (ES), onde ocorreu o desembarque dos pesquisadores e equipamentos utilizados na expedição, tendo o navio, neste mesmo dia, seguido viagem para Itajaí (SC).

No presente documento, apresenta-se o relatório dos resultados obtidos a partir das análises realizadas até o presente momento nas amostras (água e material biológico) coletadas durante o cruzeiro de pesquisa e monitoramento realizado a bordo do Navio de Pesquisa Soloncy Moura (CEPSUL/ICMBio).

2. Área de Estudo

O presente estudo foi realizado em quatro áreas de amostragem que compreendeu treze pontos de coleta ao longo do litoral do norte do Espírito Santo até o sul da Bahia, incluindo ambientes recifais coralíneos e algais (Fig. 1). A sequência de realização das amostragens nos pontos de coleta foi estabelecida de acordo com as melhores rotas identificadas no momento da saída do navio do Porto de Vitória (ES), visando à redução do tempo de navegação, priorizando assim o tempo de trabalho efetivo. Sempre que possível, a navegação entre os pontos de coleta foi realizada à noite, durante o período de descanso da equipe. Os detalhes dos pontos de coleta estão apresentados na Tabela 1. As distintas áreas de amostragens estão apresentadas abaixo, da mais alta para a mais baixa latitude (Sul-Norte):

a. **APA Costa das Algas e REVIS de Santa Cruz**: foram realizadas coletas de amostras de água e de material biológico em dois pontos de coleta (CA1 e CA3).
b. **REBIO Comboios - Foz do Rio Doce**: foram realizadas coletas de amostras de água e de material biológico em seis pontos de coleta (RD1, RD3, RD6, RD8, RD9 e RD10).
c. **Barra Nova/São Mateus**: foram realizadas coletas de amostras de água e de material biológico em dois pontos de coleta (BN1 e BN2).
d. **Região de Abrolhos**: foram realizadas coletas de amostras de água e de material biológico em três pontos de coleta (AB1, AB2 e AB4).

Tabela 1. Posição geográfica (latitude e longitude) dos treze pontos de coleta e dados das amostragens realizadas em cada um destes pontos (data, hora, profundidade do local de coleta).

Área	*Ponto*	*Latitude*	*Longitude*	*Data*	*Hora*	*Profundidade*
Costa das Algas	CA1	19,977593	40,108306	02/02/2016	6:30	22 m
	CA3	19,972194	40,048111	02/02/2016	11:17	35 m
Foz do Rio Doce	RD1	19,653167	39,786389	28/01/2016	8:37	12 m
	RD3	19,714556	39,736972	28/01/2016	14:00	32 m
	RD6	19,605417	39,689250	01/02/2016	8:12	30 m
	RD8	19,840528	39,886139	27/01/2016	7:00	33 m
	RD9	19,507056	39,683611	31/01/2016	19:15 e 6:15	14 m
	RD10	19,764722	39,959694	27/01/2016	16:55	19 m
Barra Nova	BN1	18,957417	39,358639	31/01/2016	6:41	34 m
	BN2	18,957417	39,608194	31/01/2016	11:05	25 m
Abrolhos	AB1	17,934861	39,227222	29/01/2016	13:12	11 m
	AB2	17,991722	38,697111	30/01/2016	6:36	19 m
	AB4	17,883149	38,759722	30/01/2016	13:28	16 m

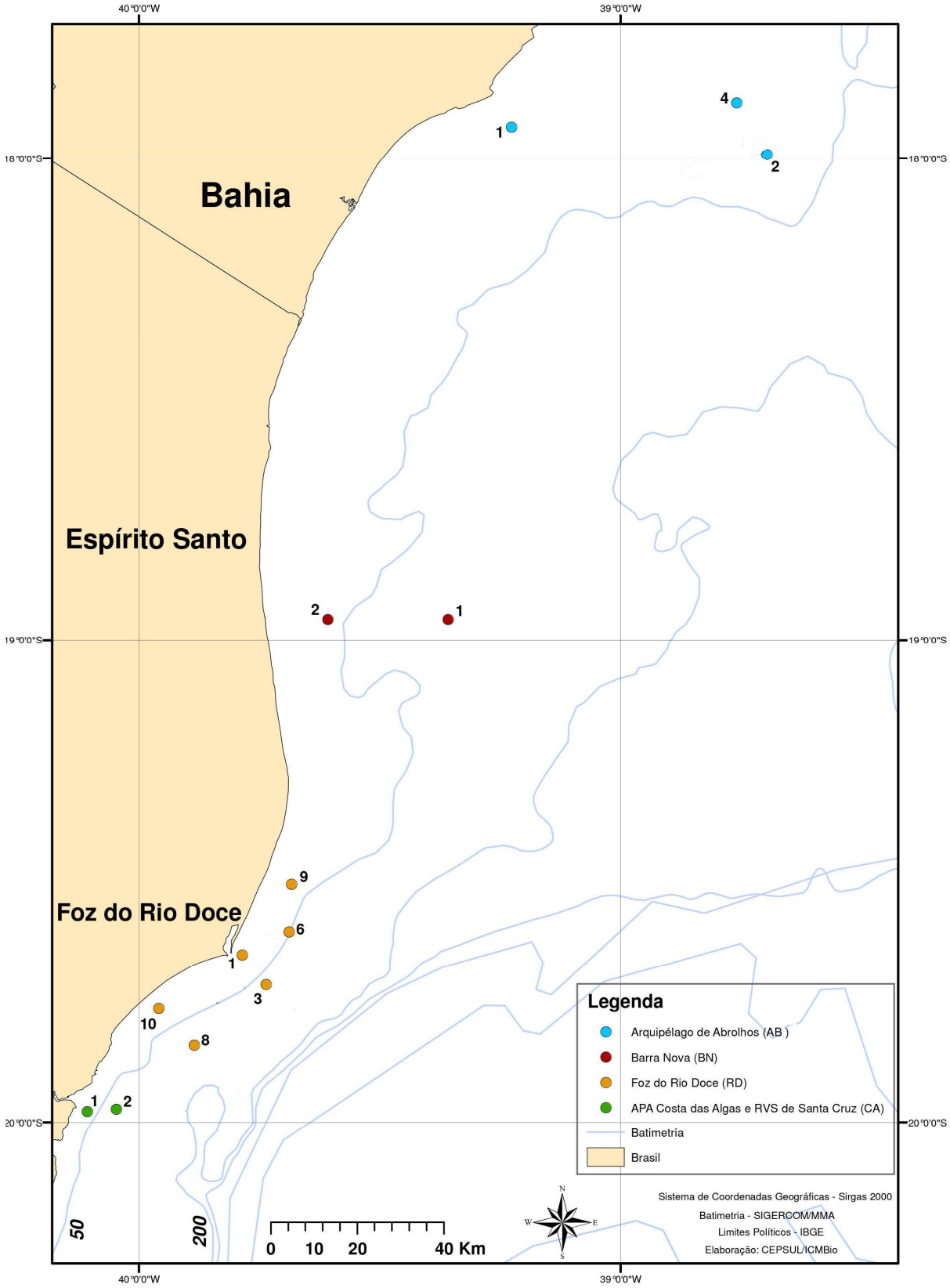


Figura 1. Mapa indicativo dos pontos de coleta na área de amostragem avaliada no presente estudo.

3. Metodologia

3.1. Coleta e processamento de amostras de água e material biológico

Em cada ponto de coleta foram obtidos os dados comuns, utilizados para controlar os lances, tais como coordenadas geográficas (datum WGS 84), data, hora e profundidade que foi realizada a amostragem, conforme descrito na Tabela 1. Em todos os pontos foram coletadas amostras de água (superfície e fundo) para a análise das concentrações de metais (total e dissolvido). Com o objetivo de avaliar possíveis efeitos fisiológicos decorrentes da contaminação da água por metais e consequente acumulação desses metais nos organismos de diferentes níveis tróficos e diferentes habitat, foram realizadas coletas de zooplâncton, epifauna e endofauna do sedimento superficial, bem como da macrofauna pelágica e bentônica. O material biológico coletado foi triado, processado a bordo e armazenado em nitrogênio líquido para posterior análise em laboratório da concentração de metais (corporal ou tecidual), bem como da resposta de biomarcadores selecionados. A seguir são descritos, de forma mais detalhada, os procedimentos adotados para as coletas de água e material biológico analisados no presente estudo.

As coletas de água ao longo da coluna d'água foram realizadas, no mínimo em triplicata, utilizando-se uma garrafa horizontal de Niskin. As coletas foram realizadas nas seguintes profundidades: superfície (0 a 15 cm da superfície) e fundo (cerca de 50 cm acima do fundo, conforme profundidade do local de coleta, Tabela 1). Foram coletadas amostras (~10 mL) de água não filtrada para análise da concentração total de metais. Imediatamente após a coleta, as amostras foram acidificadas com ácido nítrico destilado (HNO_3, concentração final de 1%) e mantidas refrigeradas. Foram também coletadas amostras (~50 mL) de água filtrada (filtro de 0,45 µm de malha) para análise das concentrações de metais dissolvidos e carbono orgânico dissolvido. Imediatamente após a coleta, as amostras foram filtradas, acidificadas com ácido nítrico destilado (HNO_3, concentração final de 1%) e mantidas refrigeradas e na ausência de luz.

Em cada ponto de coleta, foram obtidos, sempre que possível, os seguintes organismos: **zooplâncton** (n = 3 ou 4 amostras por ponto de coleta, sendo cada amostra constituída de pools de no mínimo 3 arrastos diferentes com duração entre 10 e 15 min; coleta com redes de zooplâncton); **hidrocorais** (n = 6 fragmentos por ponto de coleta; coleta manual por mergulho autônomo); **corais** (n = 6 fragmentos por ponto de coleta; coleta

manual por mergulho autônomo); **poliquetos** (n = 6 indivíduos no mínimo por ponto de coleta; coleta manual após triagem de sedimento coletado com draga); **moluscos** (n = 6 indivíduos no mínimo por ponto de coleta; coleta manual ou após triagem de sedimento coletado com draga); **macrocrustáceos** (n = 10 indivíduos por ponto de coleta e por espécie; coleta com rede de arrasto ou armadilha); **peixes** (n = 10 indivíduos por ponto de coleta e por espécie; coleta com redes de arrasto, emalhe ou outra arte de pesca). A Tabela 2 apresenta os organismos que foram coletados por ponto amostral ao longo da expedição.

Tabela 2. Organismos amostrados nos diferentes pontos de coleta na área de estudo.

Área	*Ponto de coleta*	*Nome comum*	*Nome científico/Classe de tamanho*
Costa das Algas	CA1	Poliqueta	A ser identificado
		Lírio do mar	A ser identificado
		Zooplâncton	200-300 µm
		Zooplâncton	300-500 µm
		Linguado com mancha	A ser identificado
		Linguado	A ser identificado
		Stellifer	*Stellifer sp.*
		Peroá	*Balistes capriscus*
		Roncador	*Conodon nobilis*
		Camarão-rosa	*Farfantepenaeus brasiliensis*
		Siri	*Callinectes danae*
	CA3	Lírio do mar	A ser identificado
		Zooplâncton	200-300 µm
		Zooplâncton	300-500 µm
		Pargo	*Pagrus pagrus*
		Linguado	Identificar
		Lagosta sapateira	A ser identificado
Foz do Rio Doce	RD1	Bivalve	A ser identificado
		Zooplâncton	200-300 µm
		Camarão 7 barbas	*Xiphopenaeus kroyeri*
		Siri	*Callinectes ornatus*
		Palombeta	*Chloroscombrus chryurus*
		Manjuba	*Anchoviella spp*
		Roncador	*Conodon nobilis*
	RD3	Bivalve	A ser identificado
		Ofiuro	A ser identificado
		Coral mole	*Renilla sp.*
		Zooplâncton	200-300 µm
		Linguado	A ser identificado
		Palombeta	*Chloroscombrus chryurus*

		Siri	*Callinectes ornatus*
		Camarão 7 barbas	*Xiphopenaeus kroyeri*
	RD6	Ofiuro	A ser identificado
		Zooplâncton	200-300 µm
		Zooplâncton	300-500 µm
		Palombeta	*Chloroscombrus chryurus*
		Linguado	A ser identificado
		Camarão-rosa	*Farfantepenaeus paulensis*
		Siri	*Callinectes ornatus*
	RD8	Ofiuro	A ser identificado
		Pescada	*Cynoscion sp.*
		Roncador	*Conodon nobilis*
		Camarão-rosa	*Farfantepenaeus brasiliensis*
		Siri	*Portunus (Achelous) spinimanus*
		Carapeba	*Eugerres brasilianus*
		Peroá	*Balistes capriscus*
		Guaivira	*Oligophites saliens*
	RD9	Zooplâncton	200-300 µm
		Zooplâncton	300-500 µm
		Pescada Oveva	*Larimus breviceps*
		Roncador	*Conodon nobilis*
		Pescadinha	*Cynoscion sp.*
		Camarão-rosa	*Farfantepenaeus brasiliensis*
		Camarão 7 barbas	*Xiphopenaeus kroyeri*
		Siri	*Callinectes ornatus*
	RD10	Zooplâncton	200-300 µm
		Roncador	*Conodon nobilis*
		Pescada	*Cynoscion sp.*
		Camarão 7 barbas	*Xiphopenaeus kroyeri*
		Siri	*Callinectes ornatus*
Barra Nova	BN1	Zooplâncton	200-300 µm
		Zooplâncton	300-500 µm
	BN2	Bivalve	A ser identificado
		Zooplâncton	200-300 µm
		Zooplâncton	300-500 µm
Abrolhos	AB1	Ofiuro	A ser identificado
		Caranguejo sp1	A ser identificado
		Caranguejo sp2	A ser identificado
		Coral de fogo	*Millepora alcicornis*
		Coral couve-flor	*Mussismilia harttii*
		Zooplâncton	200-300 µm
		Peroá	*Balistes capriscus*
		Lutjanus	*Lutjanus synagris*
		Carapicu	*Eucinostomus sp.*

	Cocoroca	*Calamus sp.*
AB2	Bivalve	A ser identificado
	Coral de fogo	*Millepora alcicornis*
	Coral couve-flor	*Mussismilia harttii*
	Zooplâncton	200-500 µm
	Copépode azul	>500 µm
AB4	Bivalve	A ser identificado
	Coral de fogo	*Millepora alcicornis*
	Zooplâncton	200-300 µm
	Zooplâncton	300-500 µm

Os arrastos de fundo foram a principal ferramenta de coleta de macrofauna e tiveram duração entre 15 a 30 min, de acordo com o tipo de fundo e visando arrastar o máximo de tempo com segurança e sem danificar a rede de coleta. Em alguns pontos de coleta mais de 1 arrasto foi realizado para completar as coletas mínimas desejadas. Em algumas áreas onde não houve a possibilidade de realização do arrasto, foram utilizadas redes de meia-água, armadilhas e pargueiras. Os espécimes da macrofauna pelágica e bentônica que foram coletados e que não foram amostrados para as análises das concentrações de metais e de biomarcadores foram congelados a bordo para posterior triagem e identificação. Nos casos em que houve grande captura de indivíduos de uma mesma espécie já identificada, a captura total foi pesada e apenas um exemplar foi conservado, sendo o restante descartado.

Imediatamente após as coletas, as amostras de zooplâncton, corais, poliquetos e moluscos e demais invertebrados (cnidários e equinodermos) encontrados, foram devidamente acondicionadas (indivíduos inteiros), identificadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido, para posterior análise das concentrações de metais e avaliação de biomarcadores. Após a biometria, peixes e crustáceos foram anestesiados em gelo e dissecados para coleta de brânquias, fígado (peixes) ou hepatopâncreas (crustáceos) e músculo. As amostras de tecidos foram acondicionadas, identificadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido, para posterior análise das concentrações de metais e avaliação de biomarcadores.

3.2. Análise da concentração de metais em amostras de água e material biológico

As análises das concentrações de metais nas amostras de água e do material biológico (indivíduos inteiros ou músculo) foram realizadas utilizando-se forno de grafite acoplado a

espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS-AAS; ContrAA 700 Analytik Jena, Alemanha).

Previamente, as amostras de água filtradas e não filtradas foram dessalinizadas para minimizar um possível "efeito matriz", devido às altas concentrações de íons em água salgada, conforme descrito por Nadella *et al.* (2009). Para tal, os metais representativos presentes em 1 mL de amostra de água foram precipitados adicionando-se 1 µL de óxido de lantânio (10 mg La/mL) e 7,5 µL de carbonato de sódio (1 M), o que elevou o pH da amostra para ~9,8. A solução foi gentilmente agitada em banho-maria (80^{o}C) por 30 min para promover a floculação do precipitado, na sua maioria constituído de hidróxido de lantânio. A solução foi então centrifugada a 3.000 g por 15 min e o sobrenadante foi descartado. O precipitado remanescente foi dissolvido em 1 mL de ácido nítrico (HNO_3, 1 N) ultrapuro (Suprapur, Merck, Darmstadt, Alemanha) e utilizado na determinação da concentração dos metais, utilizando-se o forno de grafite acoplado a espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS-AAS; ContrAA 700 Analytik Jena, Alemanha).

Por sua vez, as amostras de material biológico foram previamente secas em estufa (45-60^{o}C) até peso seco constante e digeridas em ácido nítrico (HNO_3) ultrapuro (Suprapur, Merck, Darmstadt, Alemanha) na proporção de 1 g de peso seco de material biológico para 2 mL de ácido nítrico. O teor de água nas amostras foi de 84,6 ± 7,6% (média ± desvio padrão) para o zooplâncton, de 75,1 ± 3,5% para o músculo dos camarões e de 79,8 ± 4,1% para o músculo dos peixes. As amostras foram então submetidas à digestão ácida em tubos plásticos tipo Eppendorf devidamente lacrados e mantidos em estufa incubadora (45-60^{o}C) até sua completa digestão. As amostras de material biológico digerido foram avolumadas a 1 mL com água tipo Milli-Q. Imediatamente antes da análise da concentração dos metais, as amostras foram diluídas 100x (10 µL de amostra + 990 µL de água) utilizando-se água tipo Milli-Q. Estas análises foram realizadas nas amostras de zooplâncton pelo fato de que estes organismos foram coletados em todas os pontos de coleta nas diversas áreas do estudo, exceto no ponto de coleta RD8, devido à indisponibilidade de rede de zooplâncton no momento da coleta. Além do zooplâncton, foram também analisadas, até o momento, amostras de músculo de crustáceos (camarões-rosa *Farfantepenaeus paulensis* e *F. brasiliensis* e camarão sete barbas *Xiphopenaeus kroyeri*) e peixes (roncador *Conodon nobilis*, linguado - espécie a ser identificada, e peroá *Balistes capriscus*). Estas espécies foram selecionadas para as análises realizadas no presente estudo considerando a maior frequência de ocorrência das mesmas nos pontos de coleta nas diferentes áreas do estudo, bem como suas importâncias comerciais.

As amostras de água e de material biológico, preparadas conforme descrito acima, foram analisadas, em triplicata, por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com forno de grafite acoplado, conforme descrito acima. As concentrações totais e dissolvidas dos metais nas amostras de água foram expressas em µg/L. Por sua vez, as concentrações dos metais no material biológico foram expressas em µg/g de peso úmido (mg/kg de peso úmido).

Para verificar a acurácia e exatidão das análises, foram realizados controles de qualidade analíticos. Para tal, foram analisados "brancos", onde todos os procedimentos para a preparação e análise das amostras foram realizados, porém na ausência da amostra. Além disso, foram utilizadas soluções padrões dos metais analisados (SpecSol®, QuimLab Química & Metrologia, Jacareí, SP, Brazil), rastreadas ao "National Institute of Standards and Technology" (NIST, Gaithersburg, MD, EUA), para verificar a acurácia das medidas. Os percentuais de recuperação dos metais presentes nas soluções padrões dos metais analisados (As, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb e Cd), bem como os limites de detecção e quantificação do método utilizado estão apresentados na Tabela 3.

Por sua vez, a exatidão dos resultados obtidos foi avaliada utilizando-se os seguintes materiais de referência certificados para análise de metais traços: proteína de peixe DORM-3 (National Research Council Canada) e tecido de mexilhão ERM-CE278 (European Reference Material). Amostras destes materiais de referência certificados foram tratadas e analisadas da mesma forma que as amostras do material biológico coletado e avaliado no presente estudo, conforme descrito anteriormente. Os percentuais de recuperação dos metais presentes nos materiais de referência certificados (DORM-3 e ERM-CE278), bem como os limites de detecção e quantificação do método utilizado estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 3. Percentuais de recuperação a partir das soluções padrões de metais e limites (µg/L) de detecção (LD) e quantificação (LQ) considerando o método de análise utilizado no presente estudo.

Metal	*Recuperação (%)*	*LD*	*LQ*
As	96,3-107,0	0,017	0,050
Cd	63,7-122,9	0,001	0,004
Cu	97,0-102,8	0,017	0,050
Cr	82,4-101,7	0,001	0,004
Pb	64,0-81,1	0,025	0,075
Mn	83,4-93,6	0,017	0,050
Fe	95,5-110,2	0,033	0,100

Tabela 4. Percentuais de recuperação dos metais presentes nos materiais de referência certificados utilizados (DORM-3 e ERM-CE278) e limites de quantificação de metais (mg/kg de peso úmido) em nível corporal no zooplâncton e muscular nos camarões e peixes, considerando o método de análise utilizado no presente estudo. A concentração de Mn não está certificada no DORM-3 enquanto a do Fe não está certificada no ERM-CE278.

Metal	*Recuperação (%)*		*Limite de Quantificação*		
	DORM-3	*ERM-CE278*	*zooplâncton*	*camarões*	*Peixes*
As	96,4	97,5	0,00192	0,00018	0,00019
Cd	98,1	96,5	0,00015	0,00001	0,00002
Cu	93,0	77,0	0,00192	0,00018	0,00019
Cr	91,1	97,0	0,00015	0,00001	0,00002
Pb	106,4	92,2	0,00288	0,00027	0,00029
Mn	-	82,4	0,00192	0,00018	0,00019
Fe	98,8	-	0,00385	0,00036	0,00039

Cabe ressaltar que análises dos mesmos materiais de referência certificados também foram realizadas utilizando-se os procedimentos de preparação e análise descritos acima, porém aplicando-se o método de digestão ácida das amostras assistido por um forno de micro-ondas (Multiwave 3000, Anton Paar, Graz, Áustria), conforme descrito pela U.S. Environmental Protection Agency (EPA Method 3052). No entanto, os percentuais de recuperação dos metais presentes nos materiais de referência certificados utilizando-se a digestão rápida em forno de micro-ondas foram significativamente inferiores (DORM-3: 4,3% para As; 100,2% para Cd; 66,8% para Cu; 59,7% para Cr; 53,0% para Pb; e 73,6% para Fe; ERM-CE278: 5,9% para As; 29,0% para Cd; 57,4% para Cu; 25,0% para Cr; 20,2% para Pb; e 68,8% para Mn) àqueles obtidos utilizando-se a digestão ácida lenta em estufa (Tabela 4). Por isso, no presente estudo foi realizada a digestão ácida lenta em estufa para preparação do material biológico analisado, conforme detalhado acima.

3.3. Análise de biomarcador de dano biológico (lipoperoxidação)

A lipoperoxidação é definida como a deterioração oxidativa (rancificação) de lipídios poli-insaturados. Neste caso, a determinação dos danos oxidativos induzidos pela exposição dos organismos aos metais foi realizada nas amostras de zooplâncton e hidrocorais, com base no processo de lipoperoxidação. O zooplâncton foi selecionado para a análise do biomarcador avaliado, por terem sido os únicos a serem capturados em todos os pontos de coleta nas

distintas áreas do estudo, exceto no ponto de coleta RD8, devido à indisponibilidade de rede de zooplâncton no momento da coleta. Além disso, é importante ressaltar que os organismos zooplanctônicos são os responsáveis pela produção secundária nas cadeias tróficas aquáticas, estando, portanto, na base da teia alimentar dos ecossistemas aquáticos. Por sua vez, os hidrocorais (*Millepora alcicornis*) foram selecionados para as análises do biomarcador por serem representativas do PARNA de Abrolhos.

A peroxidação lipídica (LPO) foi determinada nas amostras do material biológico utilizando-se o método fluorescente baseado nas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme descrito por Oakes & Van Der Kraak (2003). Este método quantifica os danos em lipídios por meio da reação do malondialdeído (MDA), produto da peroxidação lipídica, com o ácido tiobarbitúrico. Esta reação ocorre em condições de acidez e alta temperatura (95^{o}C), gerando um cromógeno fluorescente. Para serem analisadas, as amostras foram homogeneizadas (1:9; peso:volume) usando uma solução tampão. A fluorescência gerada (emissão: 520 nm; emissão: 580 nm) foi medida utilizando-se um espectrofluorímetro (Victor 2, Perkin-Elmer, EUA). Os dados foram calculados com base em uma curva construída com soluções padrões de tetrametoxipropano (TMP), que após hidrólise gera MDA. Os resultados foram normalizados em relação ao conteúdo de proteínas nas amostras, o qual foi determinado utilizando-se um kit comercial de reagentes baseado no método de Bradford (Sigma-Aldrich, EUA). Os dados foram expressos em nmol MDA/mg proteína.

4. Resultados

Até o momento, foram realizadas análises das concentrações (total e dissolvido) de metais (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn e Pb) nas amostras de água (superfície e fundo) dos pontos de coleta na Costa das Algas (CA1 e CA3), Foz do Rio Doce (RD1, RD3, RD6, RD8, RD9 e RD10), Barra Nova (BN1 e BN2) e Abrolhos (AB1, AB2 e AB4).

Nos invertebrados, foram realizadas análises das concentrações corporais de metais (arsênio, cádmio, cromo, cobre, ferro, manganês e chumbo) nas amostras de zooplâncton dos pontos de coleta na Costa das Algas (CA1 e CA3), Foz do Rio Doce (RD1, RD3, RD6, RD9 e FRD10), Barra Nova (BN1 e BN2) e Abrolhos (AB1, AB2, AB4). Além disso, foi realizada a análise de um biomarcador de estresse oxidativo (peroxidação lipídica) nas amostras de zooplâncton dos pontos de coleta na Costa das Algas (CA1 e CA2), Foz do Rio Doce (RD1,

RD3, FRD6, RD9 e RD10), Barra Nova (BN1 e BN2) e Abrolhos (AB1, AB2 e AB4), bem como nas amostras de hidrocorais (*Millepora alcicornis*) de Abrolhos (AB1, AB2 e AB4).

Nos crustáceos e peixes, foram realizadas análises das concentrações de metais (arsênio, cádmio, cromo, cobre, ferro, manganês e chumbo) nas amostras de músculo dos camarões-rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*), camarão sete barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) e nos peixes roncador (*Conodon nobilis*), linguado (espécie a ser identificada) e peroá (*Balistes capriscus*), amostrados nos seguintes pontos de coleta: camarão-rosa (RD6, RD8, RD9 e CA1), camarão sete barbas (RD1 e RD3), roncador (RD1, RD8, RD9, R10 e CA1), linguado (RD6, RD3, CA1 e CA2) e peroá (RD8 e AB1).

4.1. Concentrações de metais na água

As concentrações totais de metais nas amostras de água estão apresentadas nas Figuras 2 a 8. Por sua vez, as concentrações dissolvidas de metais nas amostras de água estão apresentadas nas Figuras 9 a 15.

No que se refere às concentrações totais dos metais, verifica-se um marcado gradiente de concentração de As (Fig. 2), Cd (Fig. 3), Fe (Fig. 6), Mn (Fig. 7) e Pb (Fig. 8) com origem na Foz do Rio Doce (RD1), onde são geralmente observadas as maiores concentrações totais destes metais, que decresce tanto em direção aos pontos de coleta localizados ao Sul (CA1, CA3, RD10 e RD8) quanto àqueles localizados à Leste (RD3) e ao Norte (RD6 e RD9) da Foz do Rio Doce. Além disso, observa-se também outro gradiente de concentração destes metais, com as maiores concentrações totais sendo observadas nos pontos de coleta da área de Barra Nova (B1 e/ou B2), que decresce tanto em direção aos pontos de coleta localizados ao Sul (RD6 e RD9) quanto àqueles localizados ao Norte (AB1, AB2 e AB4) da Barra Nova.

Diferentemente do padrão de distribuição espacial das concentrações totais de As, Cd, Fe, Mn e Pb, não foram observados gradientes de concentração total a partir de um ponto amostral para o Cr (Fig. 4) e o Cu (Fig. 5). Neste caso, elevadas concentrações totais destes metais foram observadas no ponto de coleta mais próximo à Foz do Rio Doce (RD1), bem como naqueles localizados ao Sul da Foz do Rio Doce (RD8 e RD10).

Verifica-se que os mesmos padrões espaciais observados para as concentrações totais dos metais descritos acima, geralmente também podem ser notados para as concentrações dissolvidas de As (Fig. 9), Cd (Fig. 10), Cu (Fig. 12), Fe (Fig. 13) e Pb (15). No entanto, nota-se que as concentrações de Cr dissolvido (Fig. 11) assumem um padrão espacial de

distribuição semelhante àquele observado para as concentrações totais de As, Cd, Fe, Mn e Pb, ou seja, com a presença de dois gradientes decrescentes, um partir da Foz do Rio Doce e outro a partir de Barra Nova. Além disso, cabe ressaltar que o padrão espacial de distribuição das concentrações totais de Mn com gradientes decrescentes a partir da Foz do Rio Doce e de Barra Nova também pode ser observado para as concentrações de Mn dissolvido. No entanto, estes gradientes são alterados nos pontos de coleta ao Sul da Foz do Rio Doce (CA1 e CA3) e ao Sul da Barra Nova (RD6 e RD9) (Fig. 14).

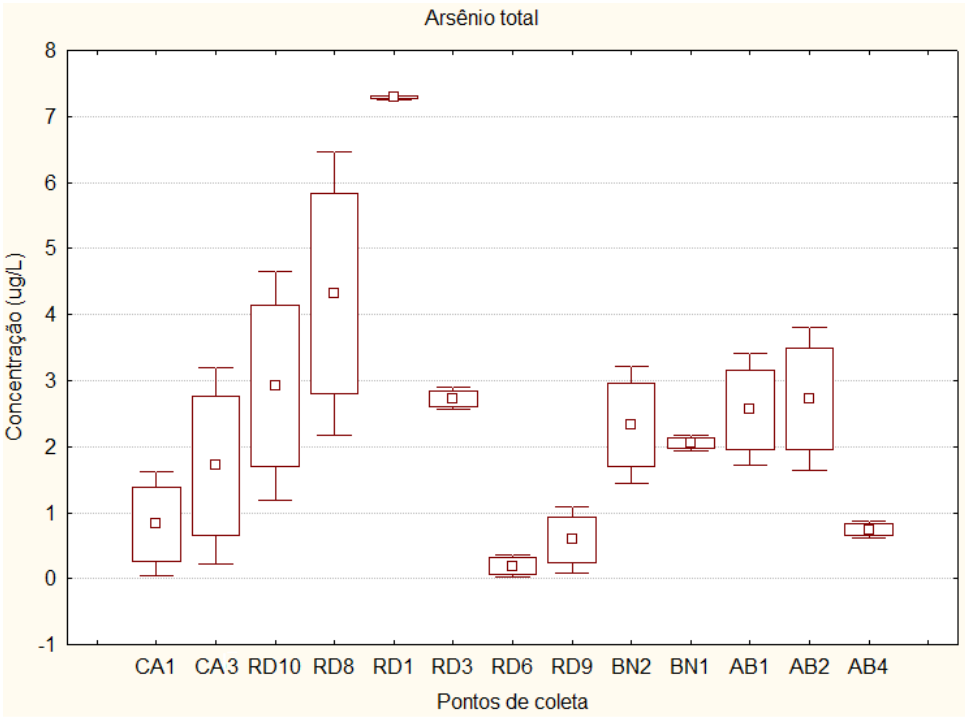


Figura 2. Concentração total de arsênio (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos de coleta são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

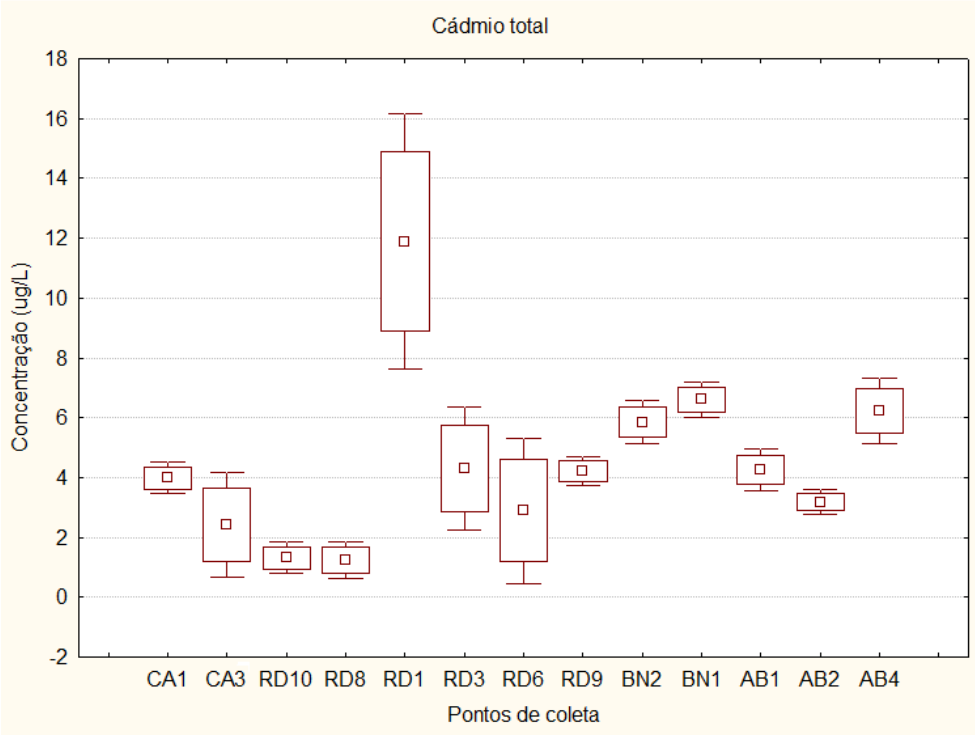


Figura 3. Concentração total de cádmio (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos de coleta são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

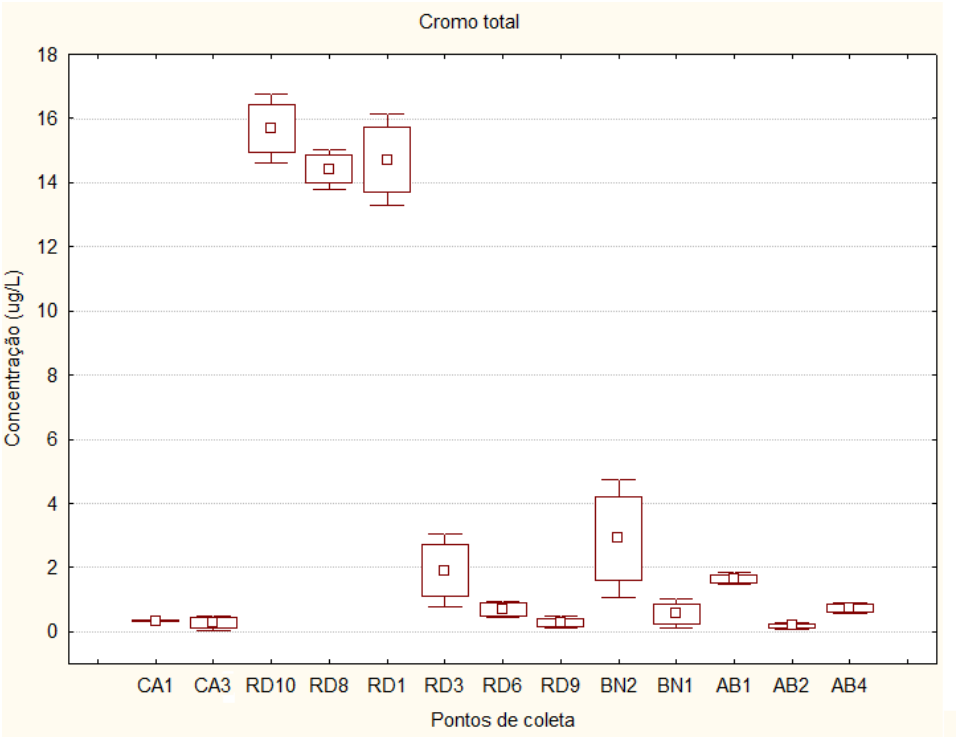


Figura 4. Concentração total de cromo (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos de coleta são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

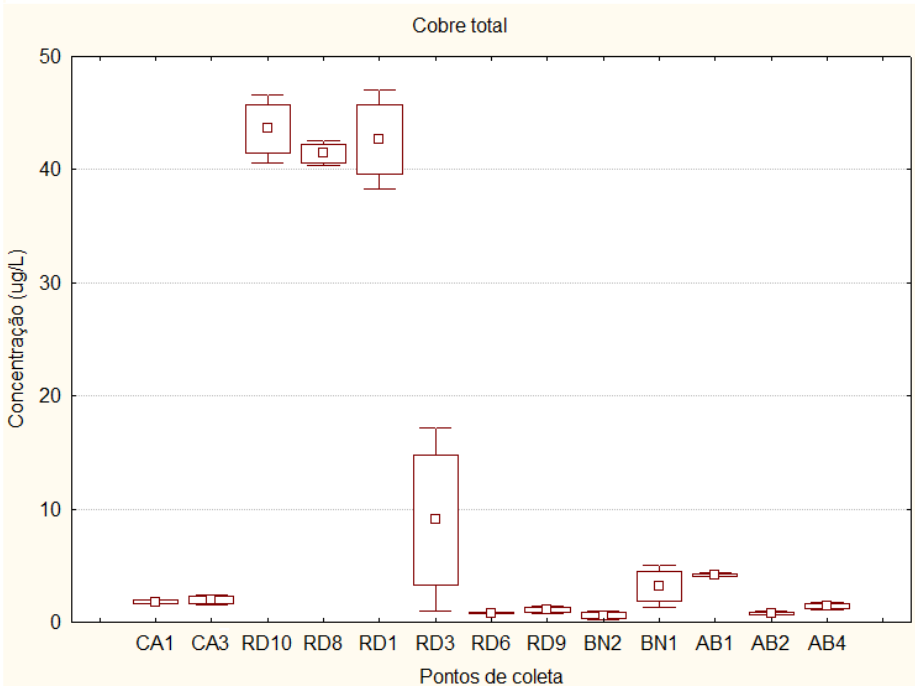


Figura 5. Concentração total de cobre (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos de coleta são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

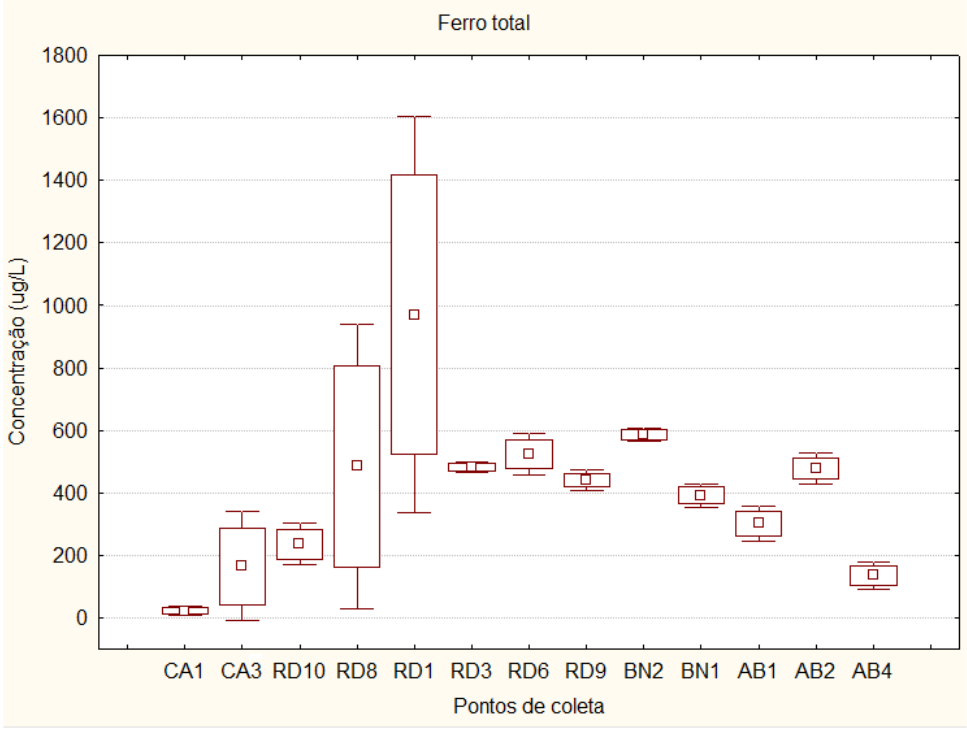


Figura 6. Concentração total de ferro (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos de coleta são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

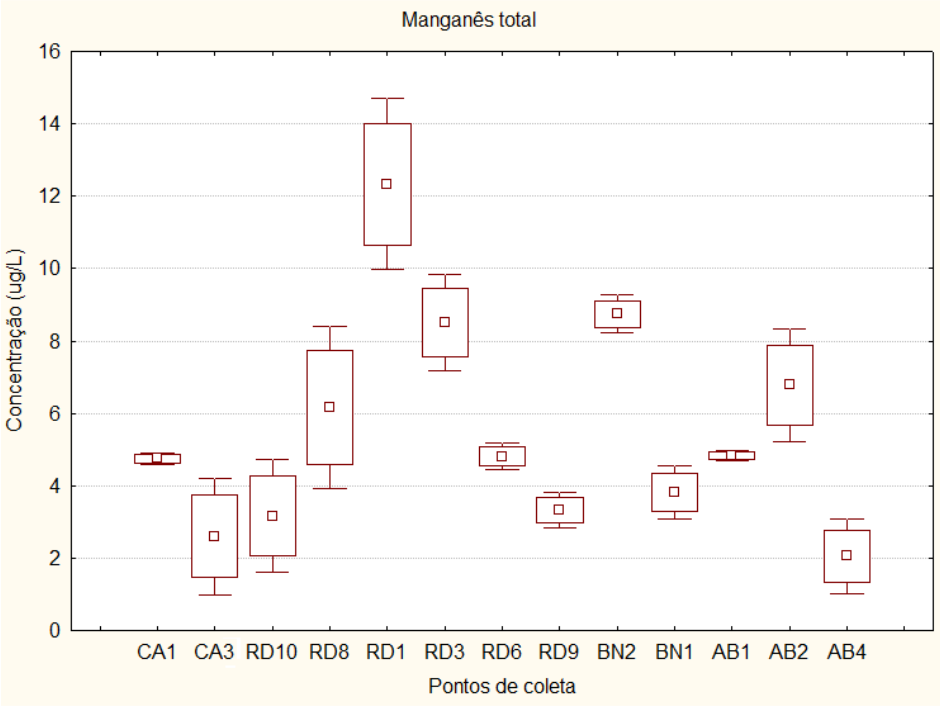


Figura 7. Concentração total de manganês (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

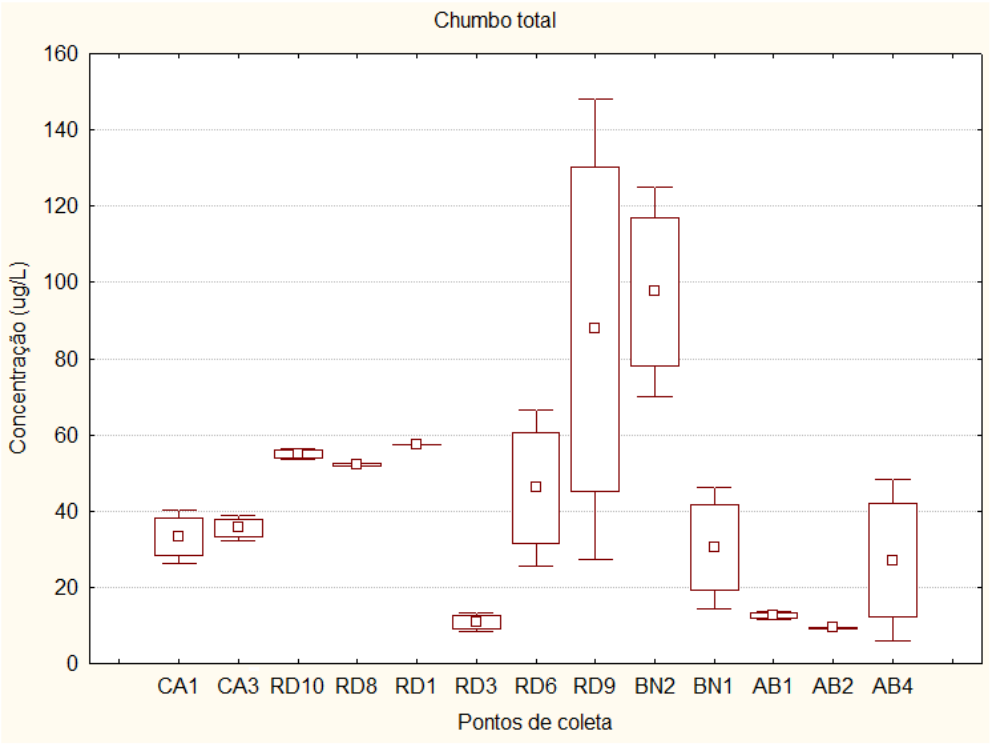


Figura 8. Concentração total de chumbo (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos de coleta são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

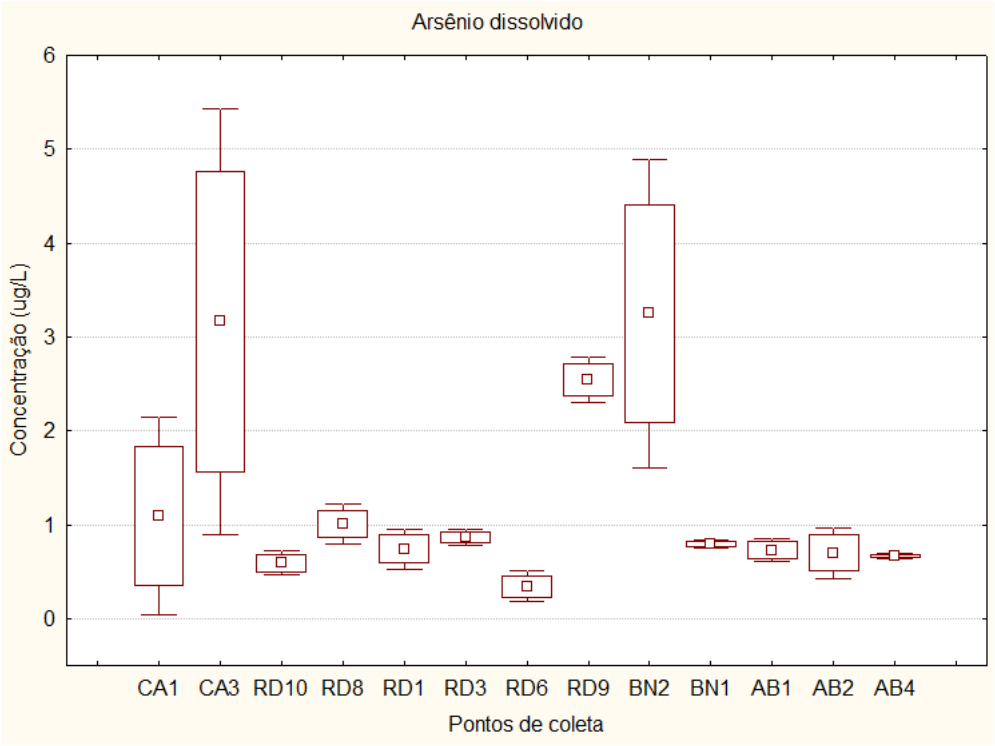


Figura 9. Concentração de arsênio dissolvido (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

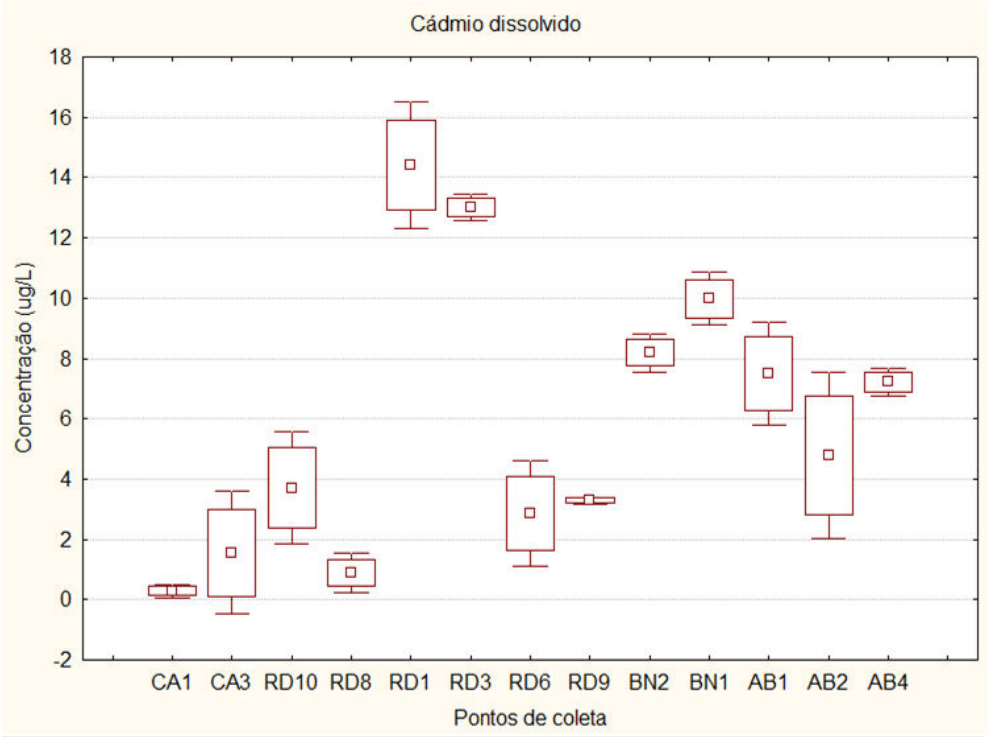


Figura 10. Concentração de cádmio dissolvido (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

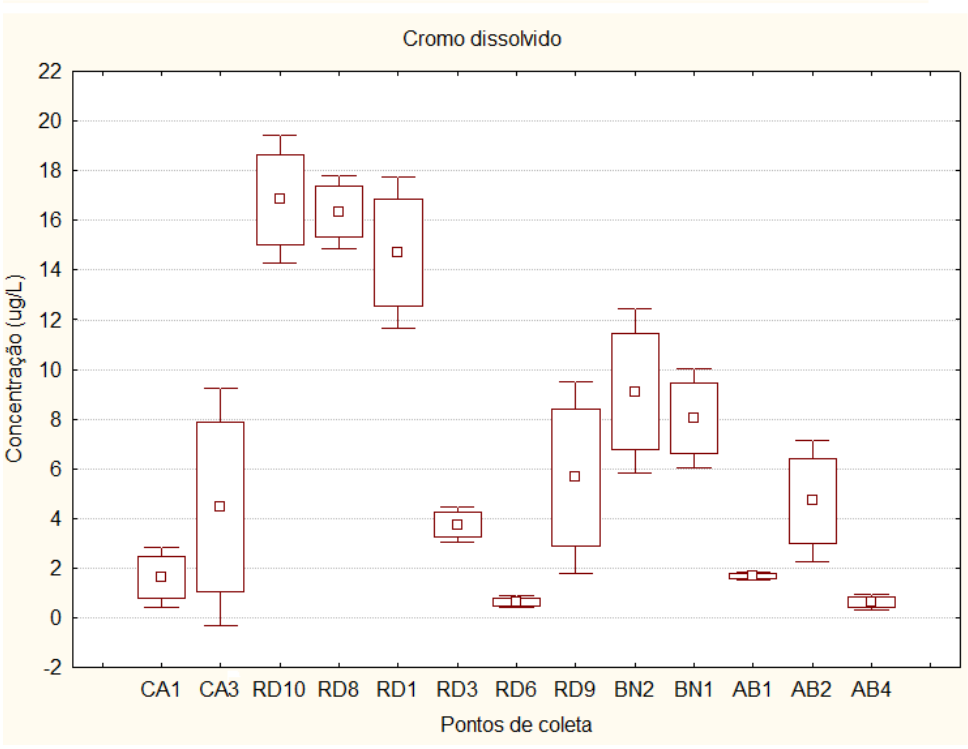


Figura 11. Concentração de cromo dissolvido (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

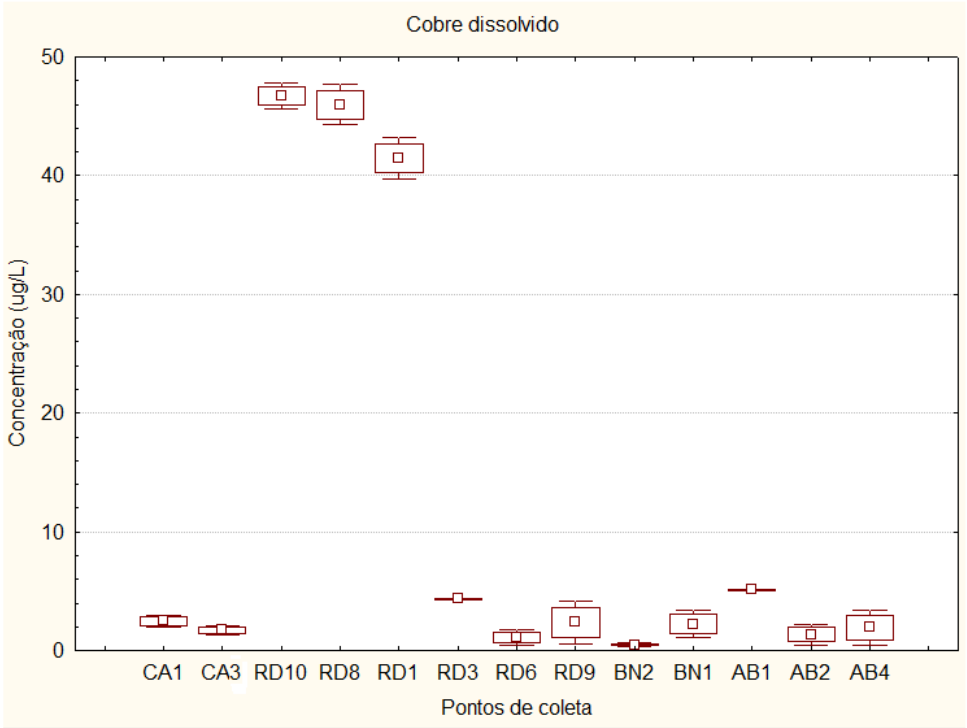


Figura 12. Concentração de cobre dissolvido (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

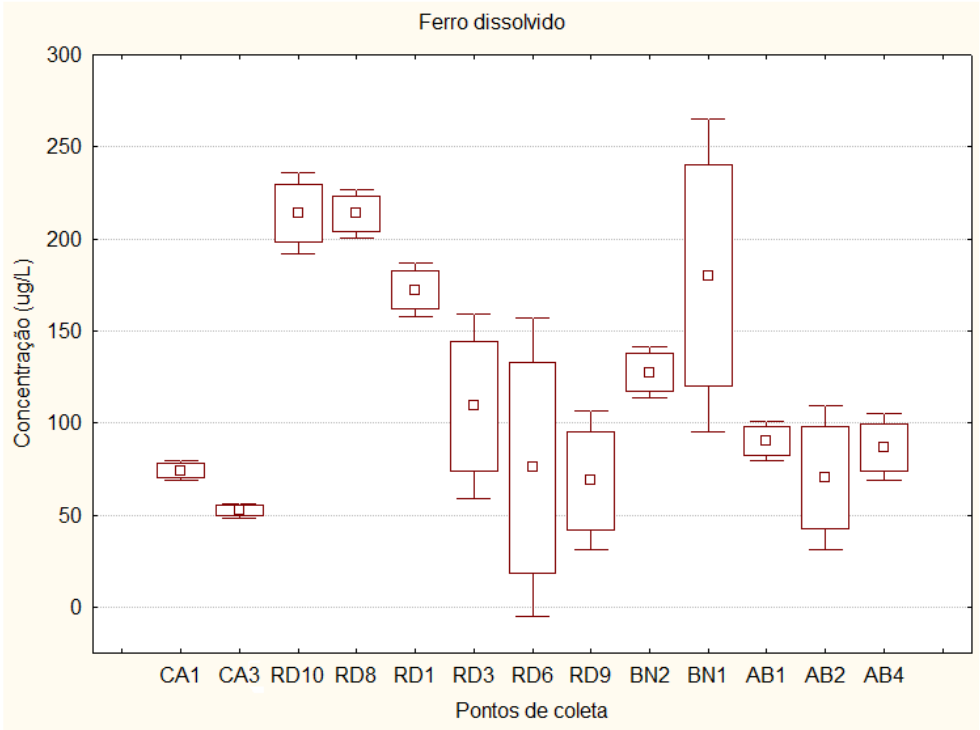


Figura 13. Concentração de ferro dissolvido (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

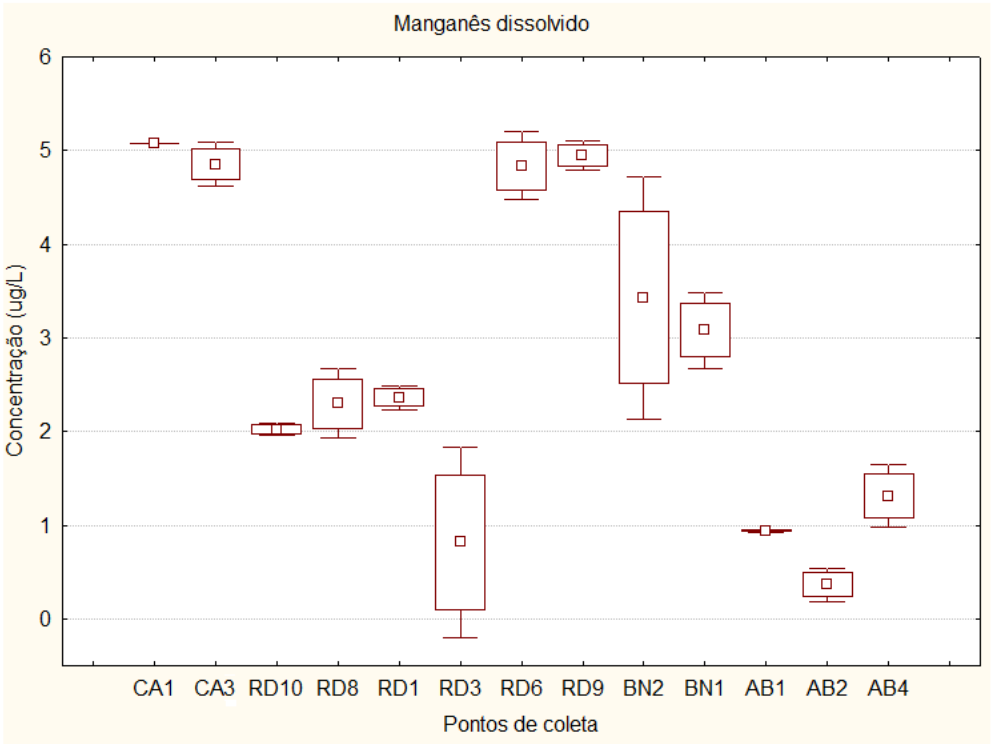


Figura 14. Concentração de manganês dissolvido (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

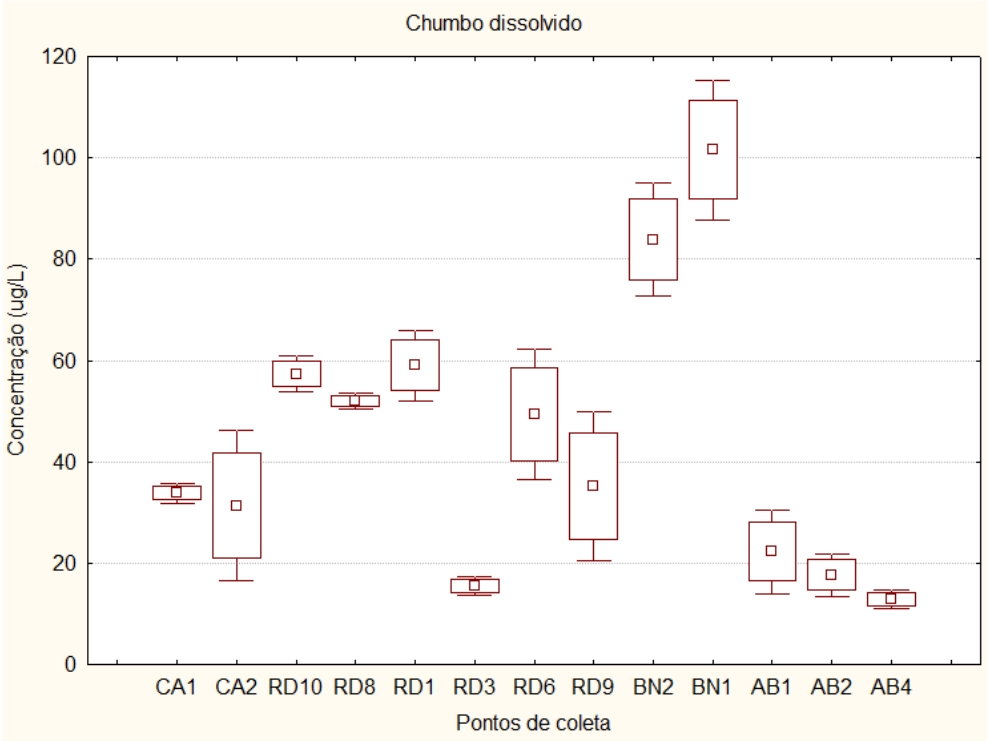


Figura 15. Concentração de chumbo dissolvido (µg/L) nas amostras de água dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média das amostras de superfície e fundo (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

As concentrações dos metais (totais ou dissolvidos) analisados no presente estudo foram comparadas com os limites permitidos para as águas de Classe I, conforme definido pela Resolução 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. A partir desta comparação, foram detectadas concentrações de metais acima dos permitidos na legislação para as amostras de água dos seguintes pontos de coleta, com especial atenção para concentrações totais sempre excessivamente elevadas de metais no ponto de coleta mais próximo da Foz do Rio Doce (RD1):

a. ***corpos de água onde haja pesca ou cultivo de organismos para fins de consumo intensivo:***

Valor máximo permitido pela Resolução CONAMA 357

Arsênio total = 0,14 µg/L - quando considerado este padrão de qualidade da água, as amostras de água de todos os pontos de coleta analisados estão em NÃO CONFORMIDADE com a legislação vigente, com concentrações variando entre 0,23 e 4,77 µg/L.

b. ***águas de classe 1: águas que podem ser destinadas:***

- a recreação de contato primário, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;
- a proteção das comunidades aquáticas; e
- a aquicultura e a atividade de pesca.

Valores máximos permitidos pela Resolução CONAMA 357

Arsênio total = 10 µg/L - quando considerado este padrão de qualidade da água, as amostras de água de todos os pontos de coleta estão em CONFORMIDADE com a legislação vigente, com concentrações variando entre 0,23 e 4,77 µg/L.

Cádmio total = 5 µg/L - quando considerado este padrão de qualidade da água, as amostras de água dos seguintes pontos de coleta estão em NÃO CONFORMIDADE com a legislação vigente: RD1, RD3, RD10, AB4, BN1 e BN2. As concentrações totais de Cd nos diferentes pontos de coleta variaram entre 0,81 e 17,02 µg/L.

Chumbo total = 10 µg/L - quando considerado este padrão de qualidade da água, as amostras de água de todos os pontos de coleta estão em NÃO CONFORMIDADE com a legislação vigente, exceto aquela coletada no ponto AB2, que apresenta uma concentração média de 9,42 µg/L, sendo esta muito próxima da concentração máxima permitida pela legislação. As concentrações totais de Pb nos diferentes pontos de coleta variaram entre 9,27 e 130,40 µg/L.

Cromo total = 50 µg/L - quando considerado este padrão de qualidade da água, as amostras de água de todos os pontos de coleta estão em CONFORMIDADE com a legislação vigente, com concentrações variando entre 0,12 e 16,45 µg/L.

Manganês total = 100 µg/L - quando considerado este padrão de qualidade da água, as amostras de água de todos os pontos de coleta estão em CONFORMIDADE com a legislação, com concentrações variando entre 1,33 e 14,00 µg/L.

Cobre dissolvido = 5 µg/L - quando considerado este padrão de qualidade da água, as amostras de água dos seguintes pontos de coleta estão em NÃO CONFORMIDADE com a legislação vigente: RD1, RD8, RD10 e AB1. As concentrações de Cu dissolvido nos diferentes pontos de coleta variaram entre 0,41 e 47,52 µg/L.

Ferro dissolvido = 300 µg/L - quando considerado este padrão de qualidade da água, as amostras de água de todos os pontos de coleta estão em CONFORMIDADE com a legislação, com concentrações variando entre 18,59 e 239,96 µg/L.

4.2. Concentrações corporais de metais no zooplâncton

Para uma melhor visualização dos dados e de possíveis padrões de distribuição espacial das concentrações corporais de metais no zooplâncton, os dados dos pontos de coleta de cada área foram agrupados, à exceção dos dados dos pontos da área da Foz do Rio Doce. Neste caso, foi observada uma grande variabilidade nos dados entre os pontos de coleta ao Sul, à Leste e ao Norte da Foz do Rio Doce. Portanto, os dados dos pontos de coleta à Leste da Foz do Rio Doce (RD1 e RD3) foram agrupados e apresentados como RD (Foz do Rio Doce). Por sua vez, os dados dos pontos de coleta ao Sul da Foz do Rio Doce (RD8 e RD10) foram agrupados e apresentados como SRD (Sul da Foz do Rio Doce), enquanto aqueles localizados ao Norte da Foz do Rio Doce (RD6 e RD9) foram agrupados e apresentados como NRD (Norte da Foz do Rio Doce). Os dados dos pontos de coleta da Costa das Algas, Barra Norte e Abrolhos foram agrupados e apresentados como CA, BN e ABR, respectivamente.

A partir do agrupamento dos dados, foi possível observar níveis mais elevados de bioacumulação de todos os metais nas amostras de zooplâncton coletadas na Foz do Rio Doce (RD) ou ao Sul da Foz do Rio Doce (SRD). Além disso, foi observado um claro padrão espacial de distribuição da concentração corporal de As (Fig. 16), Cr (Fig. 17), Fe (Fig. 18) e Mn (Fig. 19) no zooplâncton. Este padrão coincide com aquele observado para os níveis de contaminação da água pelos metais analisados no presente estudo. Este padrão é caracterizado por uma maior bioacumulação dos metais nos pontos de coleta mais próximos da Foz do Rio Doce (RD) ou ao Sul desta área (SDR), seguindo um gradiente decrescente de bioacumulação corporal em direção ao Sul (SRD e/ou CA) e ao Norte (NRD) da Foz do Rio Doce. Por outro lado, apesar da bioacumulação de Cu (Fig. 20) e Pb (Fig. 21) ser mais elevada ao Sul da Foz do Rio Doce (SRD), as concentrações corporais destes metais apresentam uma distribuição espacial mais homogênea entre os demais pontos de coleta, à exceção dos pontos de coleta de Barra Norte (BN) e Abrolhos (ABR), que voltam a ter níveis elevados de bioacumulação de Pb (Fig. 21). Por fim, a bioacumulação de Cd no zooplâncton apresenta uma distribuição espacial homogênea entre as áreas de coleta, com destaque para uma grande variabilidade dos dados na região de Abrolhos (ABR) (Fig. 22). Além disso, cabe ressaltar também os níveis elevados de alguns metais, especialmente Fe (Fig. 18), Pb (Fig. 21) e Cd (Fig. 22), nas amostras de zooplâncton coletadas em Abrolhos (ABR).

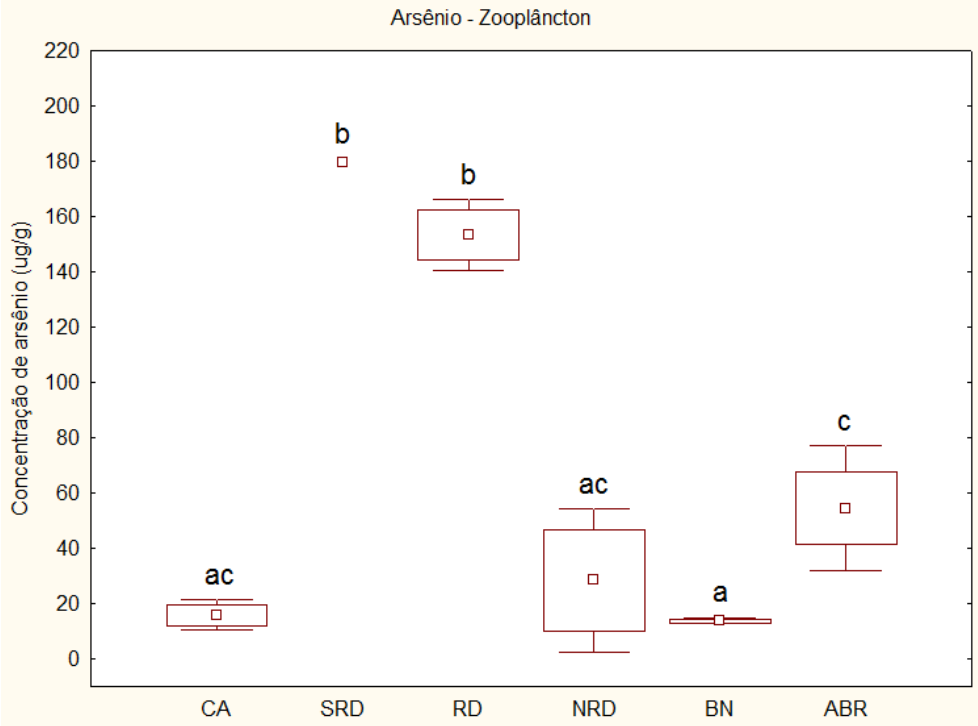


Figura 16. Concentração corporal de arsênio (µg/g de peso úmido) nas amostras (n = 36) de zooplâncton dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo o sentido Sul-Norte. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

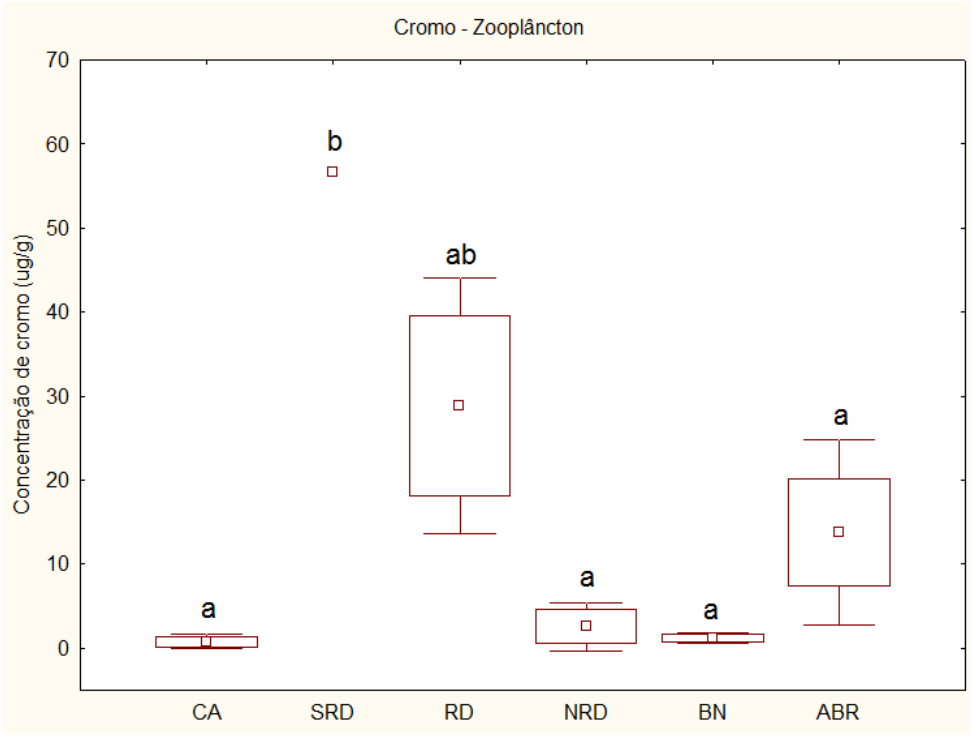


Figura 17. Concentração corporal de cromo (µg/g de peso úmido) nas amostras (n = 36) de zooplâncton dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo o sentido Sul-Norte. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

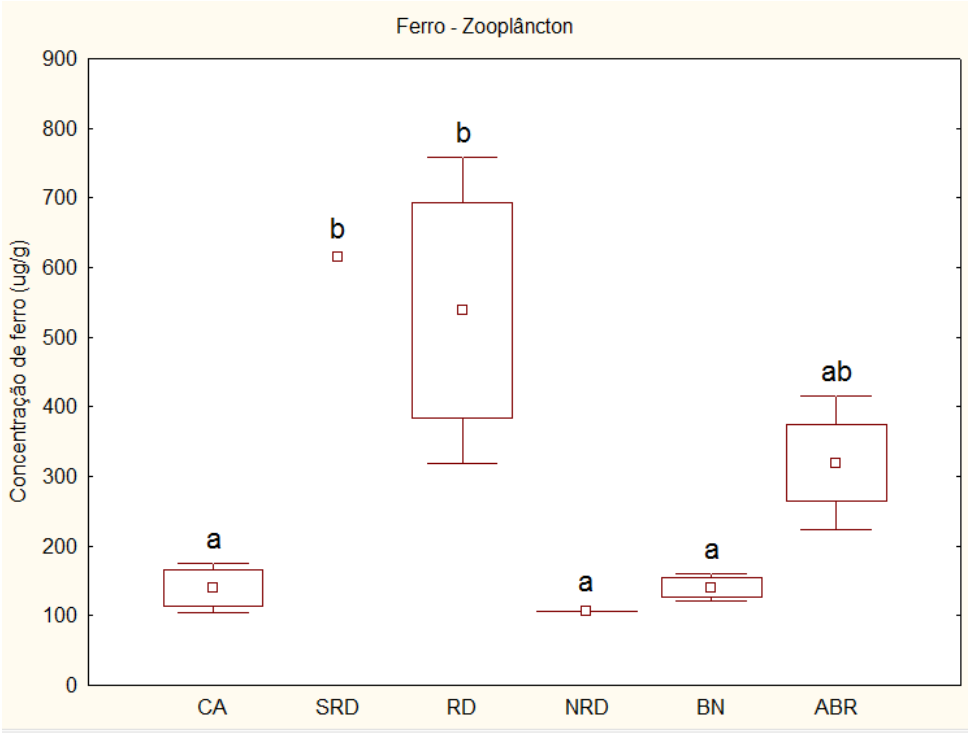


Figura 18. Concentração corporal de ferro (µg/g de peso úmido) nas amostras (n = 36) de zooplâncton dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo o sentido Sul-Norte. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

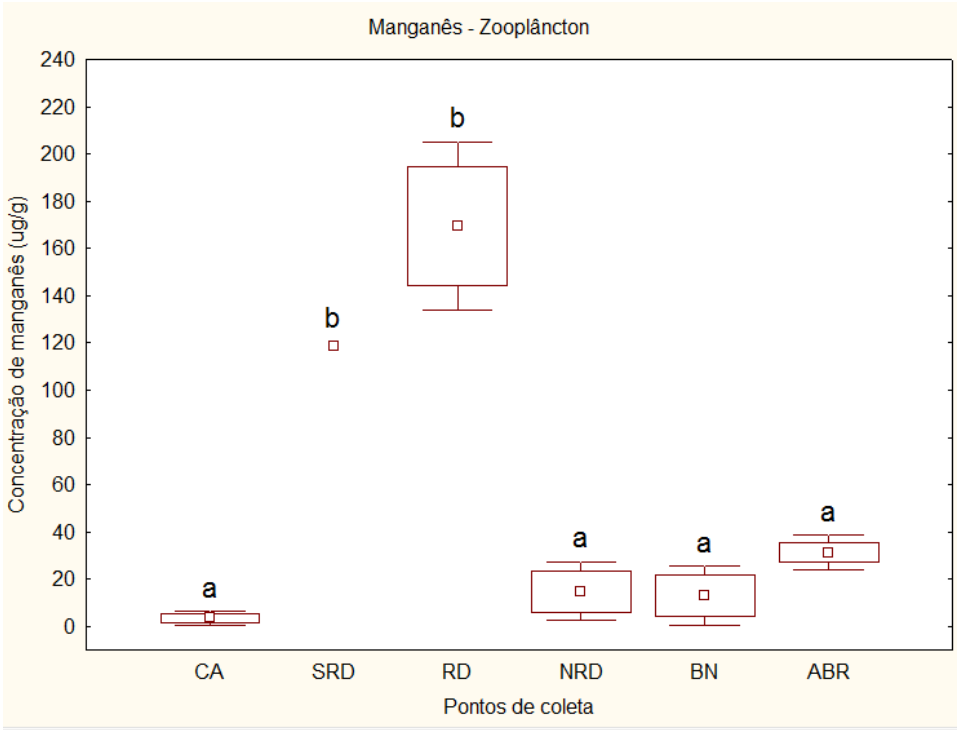


Figura 19. Concentração corporal de manganês (µg/g de peso úmido) nas amostras (n = 36) de zooplâncton dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo o sentido Sul-Norte. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

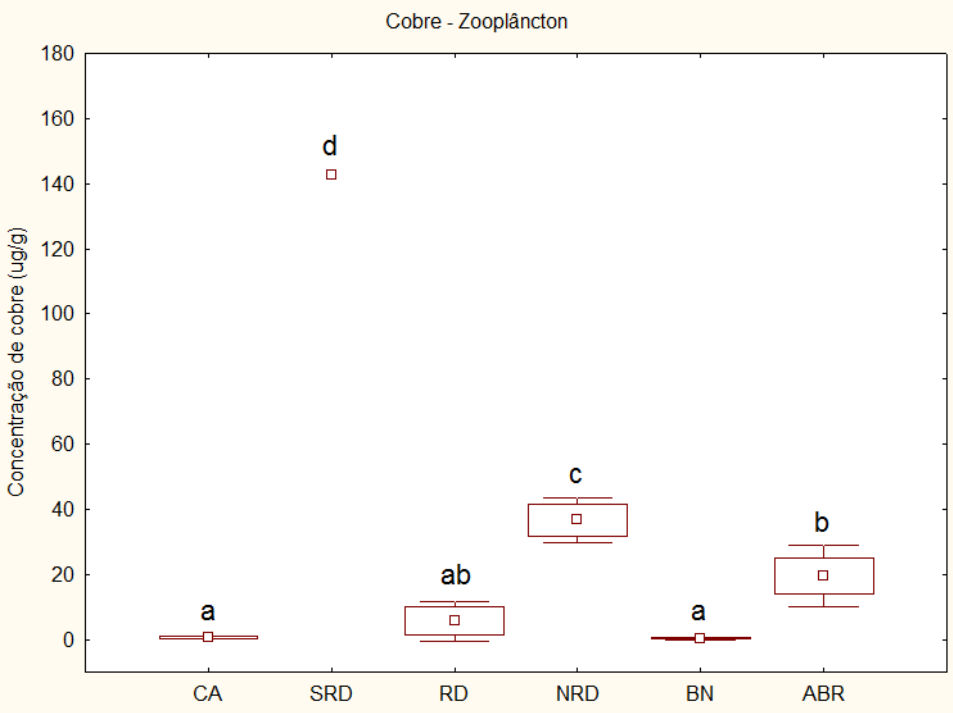


Figura 20. Concentração corporal de cobre (µg/g de peso úmido) nas amostras (n = 36) de zooplâncton dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo o sentido Sul-Norte. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

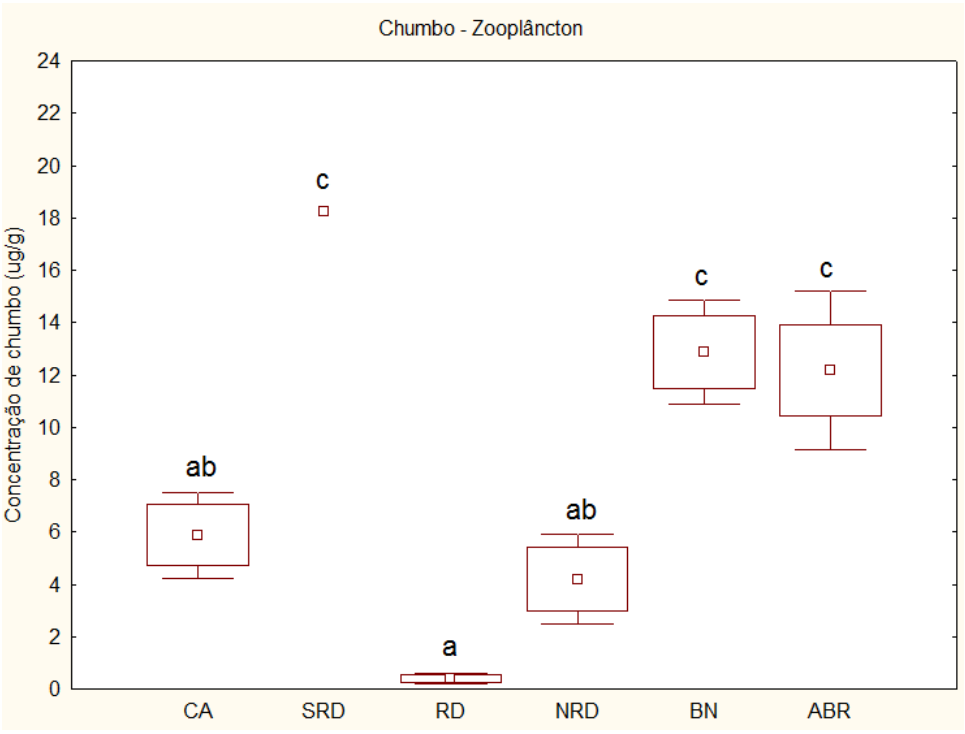


Figura 21. Concentração corporal de chumbo (µg/g de peso úmido) nas amostras (n = 36) de zooplâncton dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo o sentido Sul-Norte. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

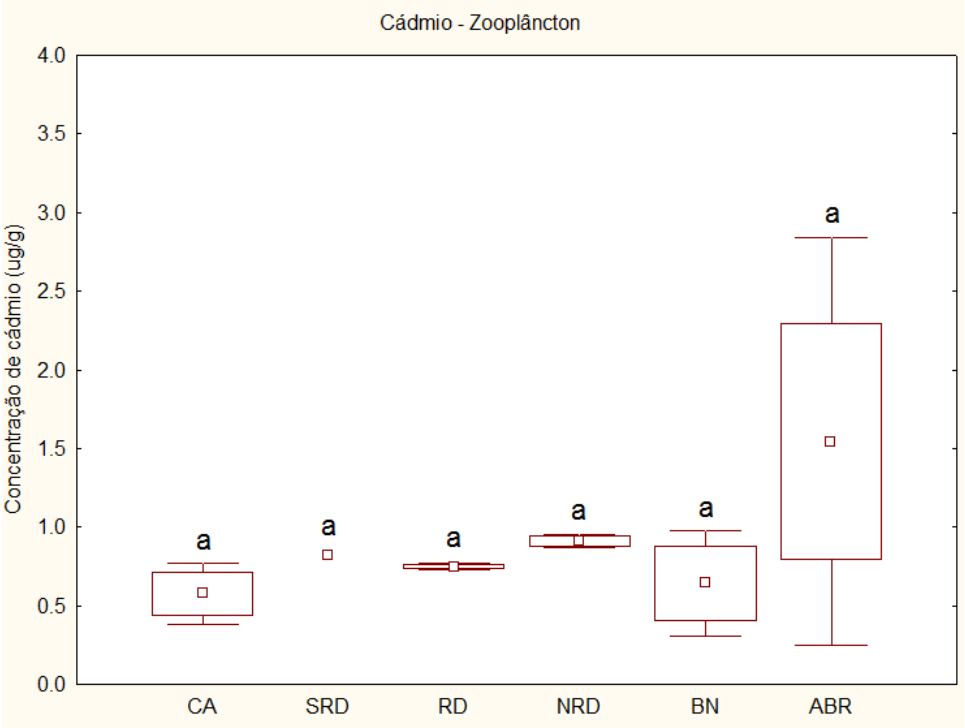


Figura 22. Concentração corporal de cádmio (µg/g de peso úmido) nas amostras (n = 36) de zooplâncton dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo o sentido Sul-Norte. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

4.3. Níveis de lipoperoxidação no zooplâncton e hidrocorais

Assim como procedido para os dados das concentrações corporais de metais no zooplâncton, os dados de lipoperoxidação das amostras de zooplâncton obtidas nos pontos de coleta de cada área foram agrupados para uma melhor visualização de um possível padrão espacial de distribuição destes dados. A partir deste agrupamento, foi possível observar um padrão espacial do biomarcador de estresse avaliado. Neste caso, os maiores valores de lipoperoxidação foram observados nas áreas de coleta mais próximas à Foz do Rio Doce (SRD, RD e NRD), os quais decresceram em direção aos pontos de coleta localizados mais distantes da Foz do Rio Doce, tanto ao Sul (CA) quanto ao Norte (BN e ABR) (Fig. 23).

Nos hidrocorais (*Millepora alcicornis*), foram observados distintos níveis de lipoperoxidação nos organismos dos pontos de coleta em Abrolhos. Os maiores níveis foram observados nos organismos coletados no ponto de coleta na face Norte de Abrolhos (AB4), em relação àqueles coletados na face Sul de Abrolhos (AB1 e AB2). É interessante notar que um padrão semelhante de distribuição espacial dos níveis de lipoperoxidação também foi observado nas amostras de zooplâncton coletadas em Abrolhos (Fig. 24).

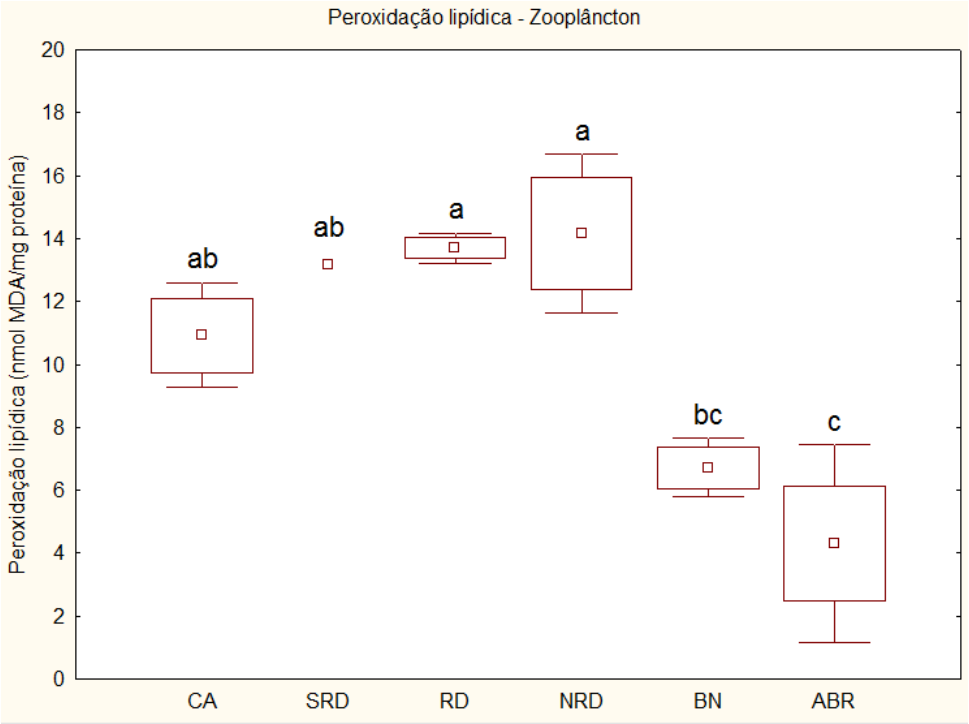


Figura 23. Nível corporal de lipoperoxidação nas amostras (n = 36) de zooplâncton dos pontos de coleta nas áreas de estudo. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo o sentido Sul-Norte. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

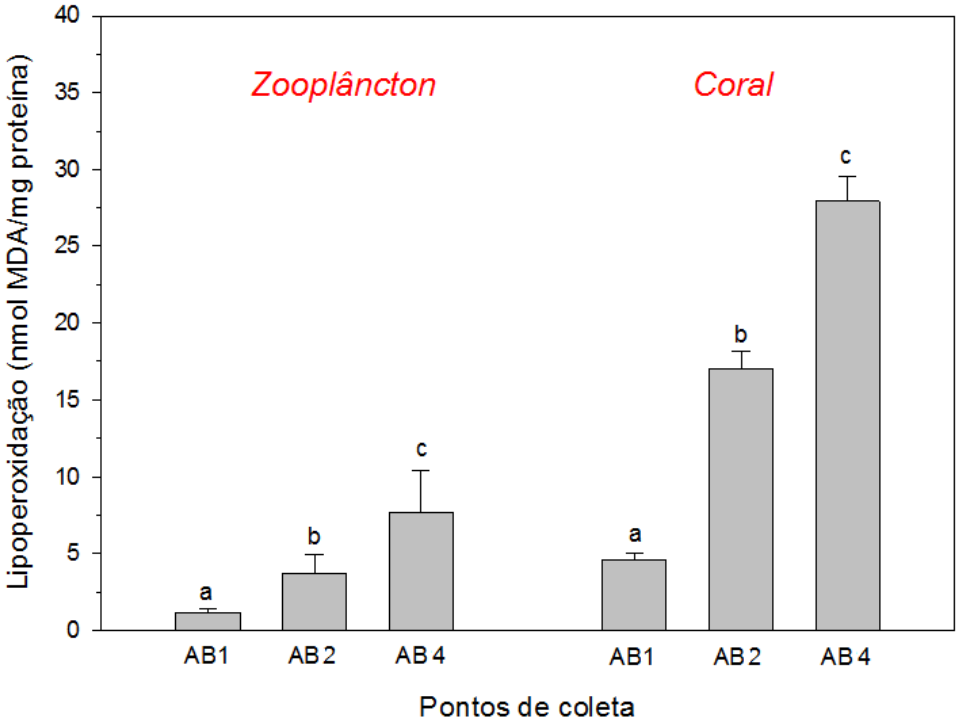


Figura 24. Nível corporal de lipoperoxidação nas amostras de zooplâncton (n = 9) e hidrocoral (*Millepora alcicornis*) (n = 10) dos pontos de coleta na área de Abrolhos. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

4.4. Concentrações de metais no músculo de pescados

Nas amostras de músculo de pescados (camarões e peixes), além das concentrações de As, Pb e Cd, que tem seus limites estabelecidos pela Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC nº 42, de 29 de Agosto de 2013, que dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos, foram também analisadas as concentrações de Cr, Cu, Fe e Mn. Os resultados obtidos para os metais que tem seus limites regulamentados pela Resolução RDC nº 42 da ANVISA indicam que:

Camarões-rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*):

- 75,0% das amostras (12 das 16 amostras analisadas) apresentaram níveis de As acima do permitido pela legislação (1 mg/kg);
- 54,2% das amostras (13 das 24 amostras analisadas) apresentaram níveis de Cd acima do permitido pela legislação (0,50 mg/kg);
- 79,2% das amostras (19 das 24 amostras analisadas) apresentaram níveis de Pb acima do permitido pela legislação (0,50 mg/kg).

Camarão sete barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*):

- 90,9% das amostras (10 das 11 amostras analisadas) apresentaram níveis de As acima do permitido pela legislação (1 mg/kg);
- 42,9% das amostras (6 das 14 amostras analisadas) apresentaram níveis de Cd acima do permitido pela legislação (0,50 mg/kg);
- 71,4% das amostras (10 das 14 amostras analisadas) apresentaram níveis de Pb acima do permitido pela legislação (0,50 mg/kg).

Roncador (*Conodon nobilis*):

- 75,0% das amostras (15 das 20 amostras analisadas) apresentaram níveis de As acima do permitido pela legislação (1 mg/kg);
- 100% das amostras (22 das 22 amostras analisadas) apresentaram níveis de Cd acima do permitido pela legislação (0,05 mg/kg);
- 72,7% das amostras (16 das 22 amostras analisadas) apresentaram níveis de Pb acima do permitido pela legislação (0,30 mg/kg).

Linguado (espécie a ser identificada):

- 88,9% das amostras (16 das 18 amostras analisadas) apresentaram níveis de As acima do permitido pela legislação (1 mg/kg);
- 95,2% das amostras (20 das 21 amostras analisadas) apresentaram níveis de Cd acima do permitido pela legislação (0,10 mg/kg);
- 95,2% das amostras (20 das 21 amostras analisadas) apresentaram níveis de Pb acima do permitido pela legislação (0,30 mg/kg).

Peroá (*Balistes capriscus*):

- 100% das amostras (4 das 4 amostras analisadas) apresentaram níveis de As acima do permitido pela legislação (1 mg/kg);
- 100% das amostras (4 das 4 amostras analisadas) apresentaram níveis de Cd acima do permitido pela legislação (0,05 mg/kg);
- 25% das amostras (1 das 4 amostras analisadas) apresentaram níveis de Pb acima do permitido pela legislação (0,30 mg/kg).

No caso dos camarões-rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*), as amostras analisadas foram obtidas de animais coletados desde a Costa das Algas (CA), ao Sul da Foz do Rio Doce, até o ponto de coleta RD9, ao norte da Foz do Rio Doce (Figs. 25-31). Por sua vez, a maioria dos exemplares do peixe roncador (*Conodon nobilis*) analisados foi coletada na região compreendida entre a Costa das Algas (CA), ao Sul da Foz do Rio Doce, e o ponto de coleta RD1, ponto mais próximo da Foz do Rio Doce (Figs. 32-38). Já os linguados (espécie a ser identificada) analisados foram coletados na região compreendida entre a Costa das Algas (CA), ao Sul da Foz do Rio Doce, e o ponto de coleta RD6, ao Norte da Foz do Rio Doce (Figs. 39-45). Por fim, os poucos exemplares de peroá (*Balistes capriscus*) coletados e analisados foram coletados no ponto RD8, ao Sul da Foz do Rio Doce, e no ponto AB1, em Abrolhos (Figs. 46-52).

De forma geral, as concentrações dos metais analisados nas amostras de músculo dos pescados (crustáceos e peixes), cujos limites estão regulamentados pela Resolução RDC nº 42 da ANVISA (As, Cd e Pb), não seguiram um padrão espacial bem definido na área de estudo, o que pode estar associado à capacidade de mobilidade dos animais estudados. Ressalta-se

apenas uma tendência de maior concentração de As nas amostras de camarões capturados nos pontos de coleta na Foz do Rio Doce (RD1) e no entorno desta (RD3, RD6 e RD8).

No que se referem às concentrações dos demais metais analisados, cujos limites não estão regulamentados pela Resolução RDC nº 42 da ANVISA (Cr, Cu, Fe e Mn), elas foram geralmente maiores no ponto de coleta mais próximo da Foz do Rio Doce (RD1) ou naqueles pontos no entorno desta (RD3, RD6, RD8 e RD10). Este padrão foi observado para todos os metais e espécies analisados, à exceção de Cr nos camarões (Fig. 28) e de Cr (Fig. 42) e Cu (Fig. 43) nos linguados. Cabe destacar ainda a presença de um gradiente bem definido para as concentrações de Fe. Neste caso, a maior concentração média de Fe foi observada nas amostras de músculo dos camarões amostrados no ponto de coleta mais próximo à Foz do Rio Doce (RD1), sendo que esta decresce progressivamente nas amostras de músculo dos camarões amostrados nos pontos de coleta ao Sul (RD8 e RD10) e ao Norte (RD3 e RD6) da Foz do Rio Doce (Fig. 30). Por fim, cabe ressaltar que as concentrações médias de todos os metais analisados nas amostras de músculo dos três exemplares de peroá capturados em Abrolhos (Figs. 46-51), exceto a de Mn (Fig. 52), foram sempre inferiores àquelas observadas no único exemplar coletado ao Sul da Foz do Rio Doce (RD8).

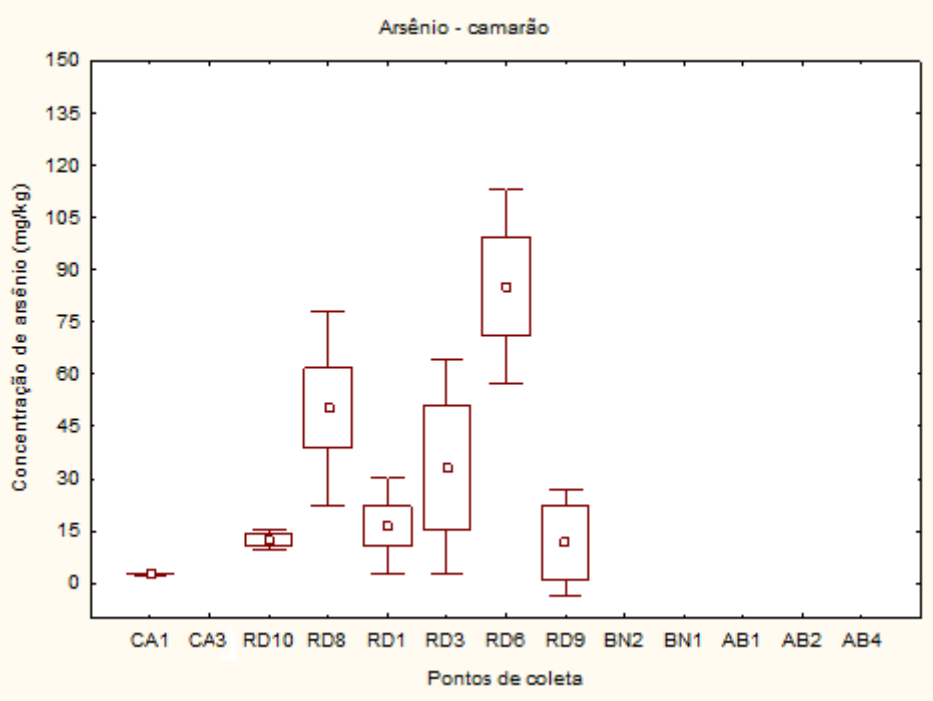


Figura 25. Concentração de arsênio (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 27) de músculo dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

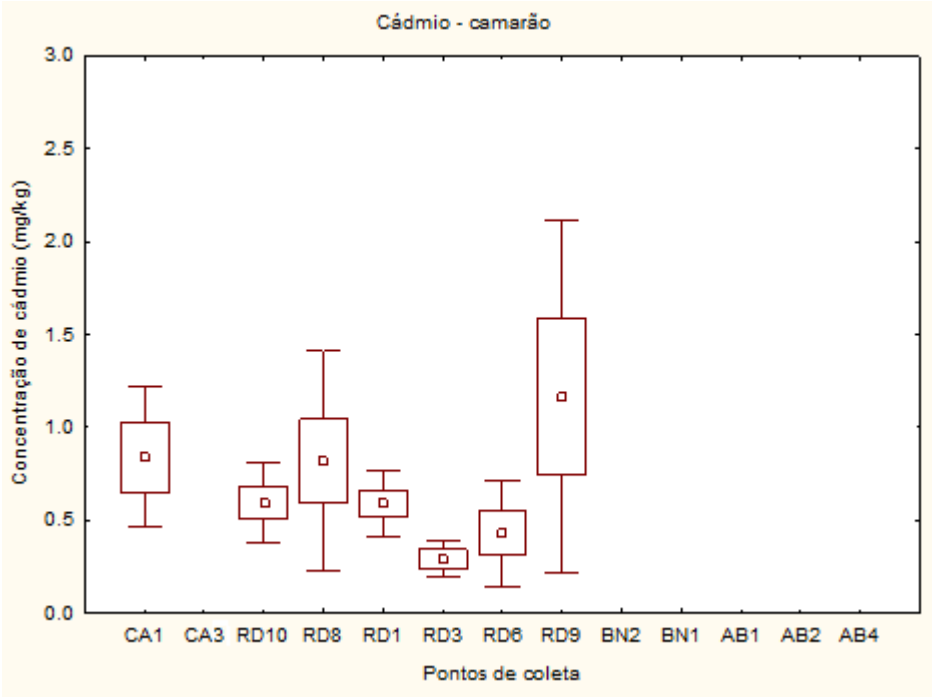


Figura 26. Concentração de cádmio (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 38) de músculo dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

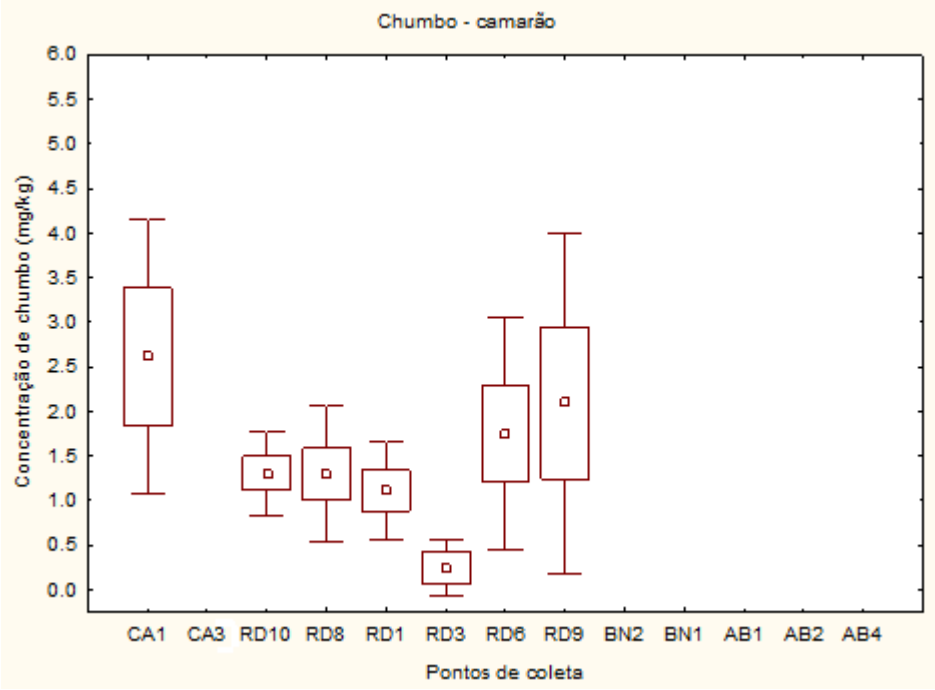


Figura 27. Concentração de chumbo (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 23) de músculo dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

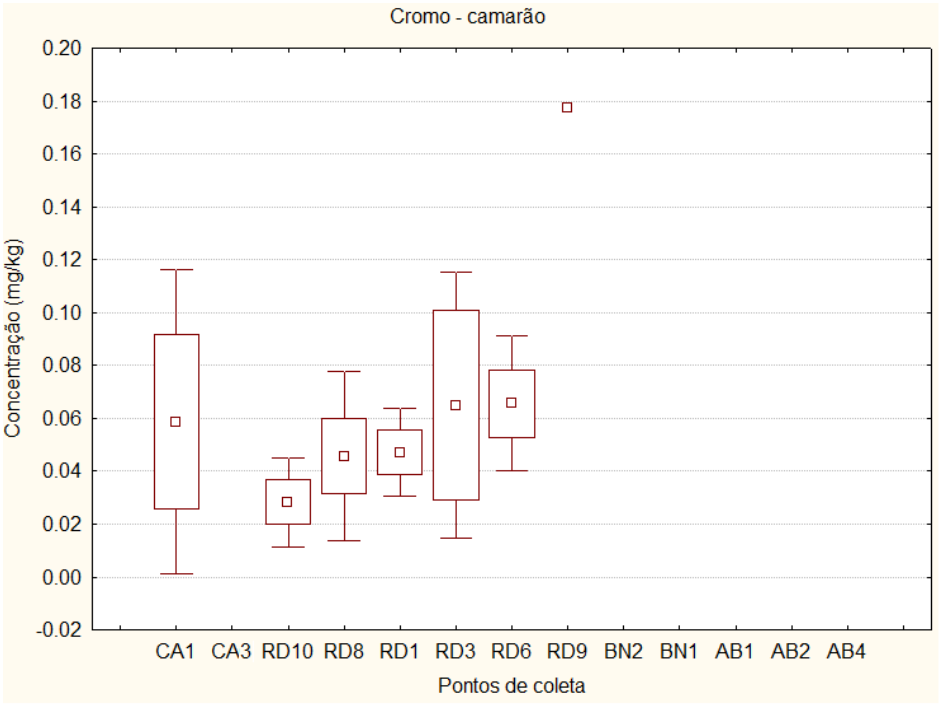


Figura 28. Concentração de cromo (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 23) de músculo dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

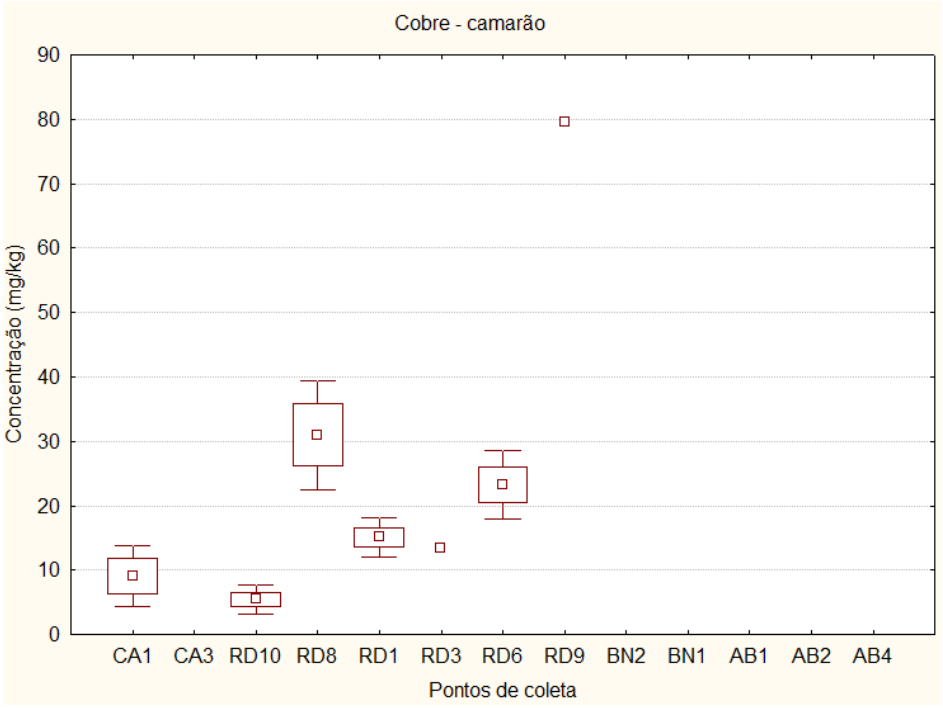


Figura 29. Concentração de cobre (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 23) de músculo dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

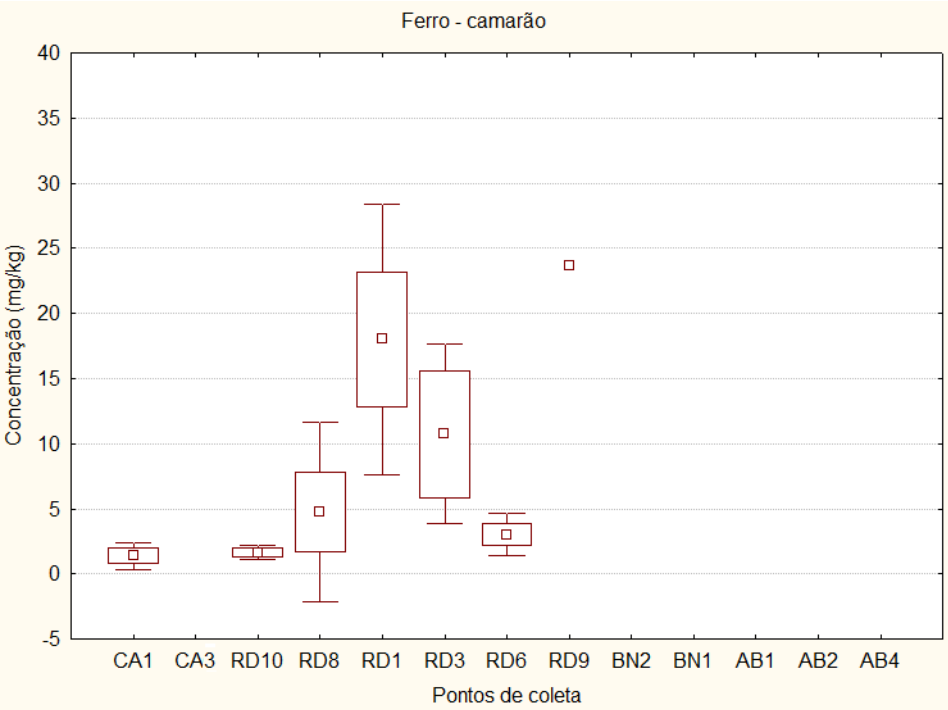


Figura 30. Concentração de ferro (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 23) de músculo dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

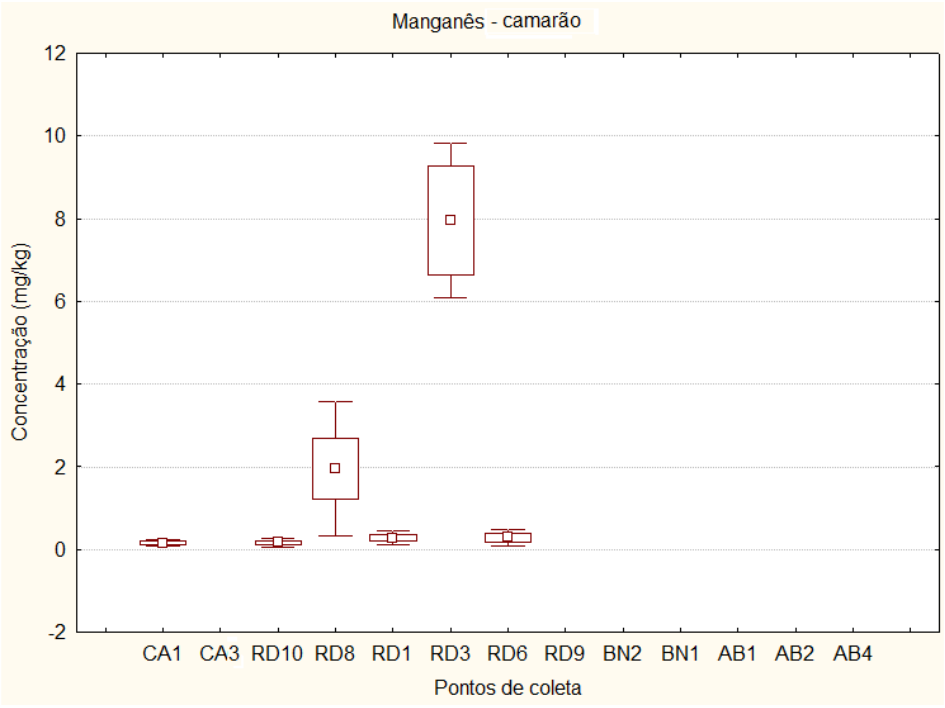


Figura 31. Concentração de manganês (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 23) de músculo dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

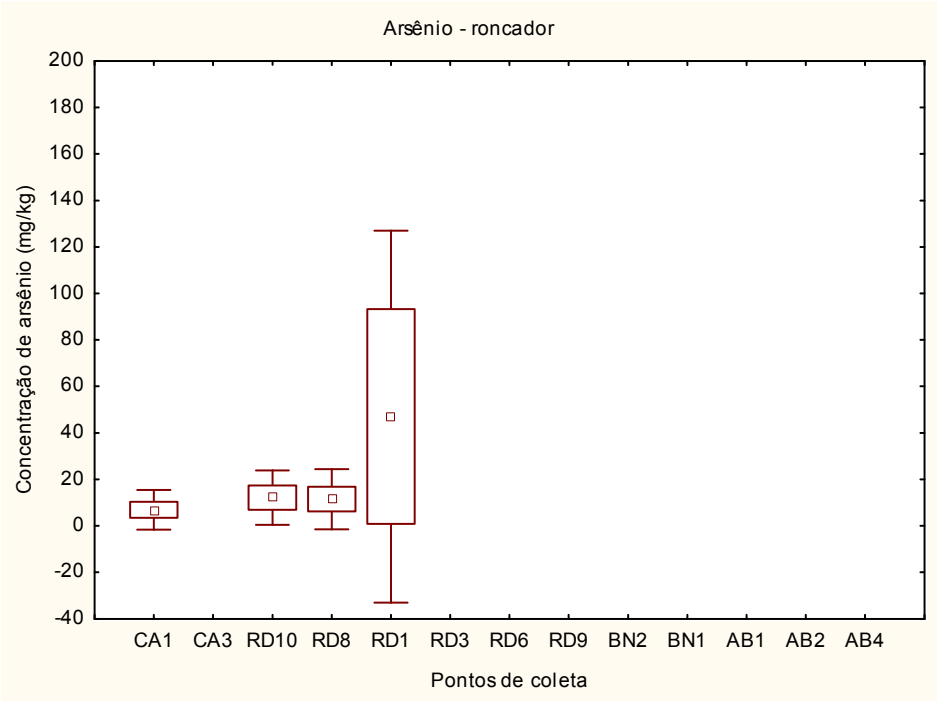


Figura 32. Concentração de arsênio (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 20) de músculo do peixe roncador *Conodon nobilis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

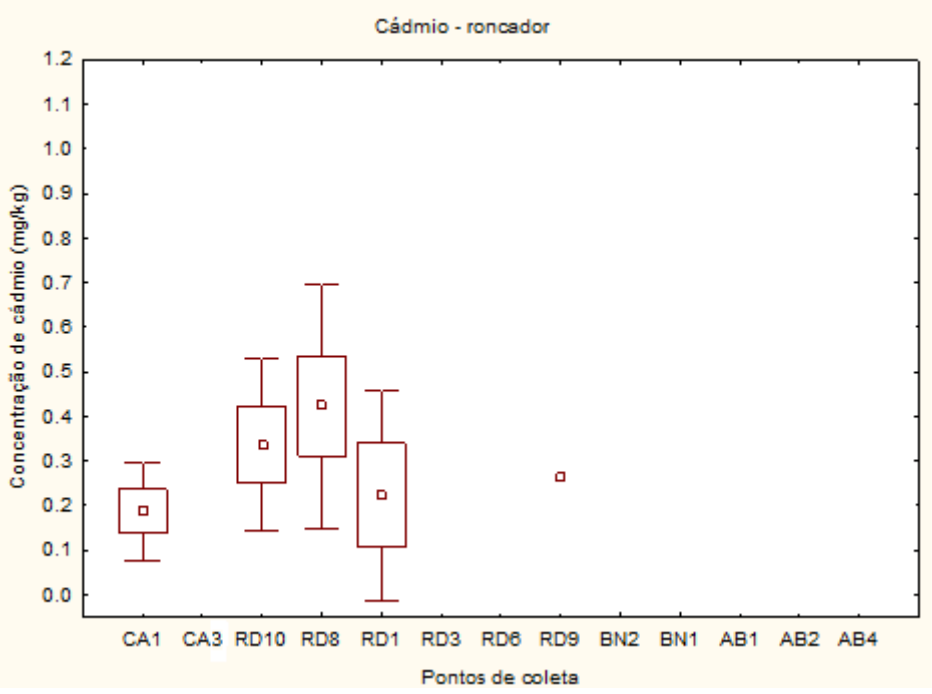


Figura 33. Concentração de cádmio (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 22) de músculo do peixe roncador *Conodon nobilis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

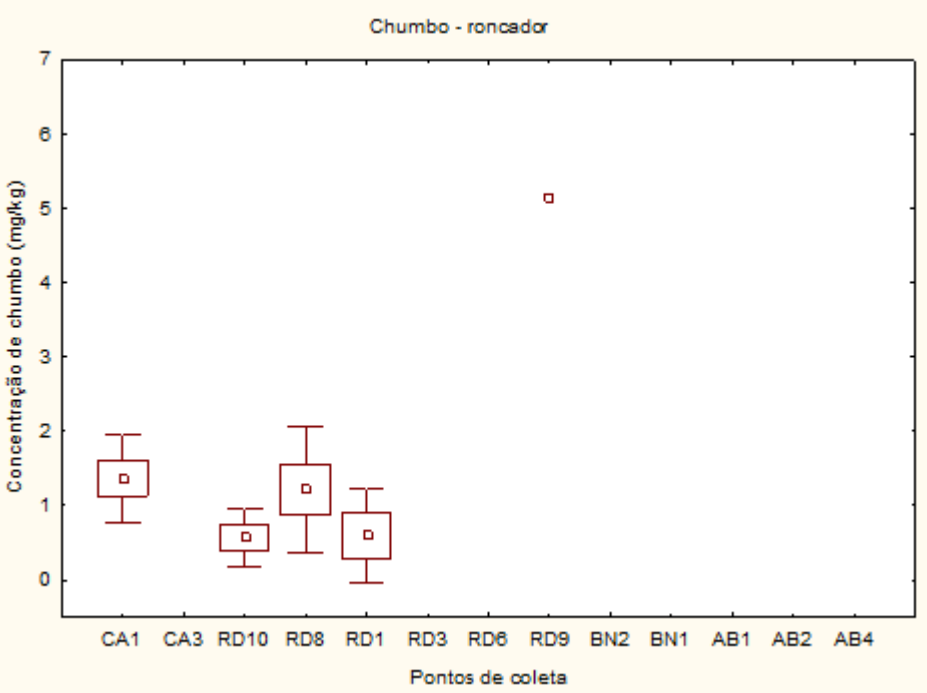


Figura 34. Concentração de chumbo (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 22) de músculo do peixe roncador *Conodon nobilis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

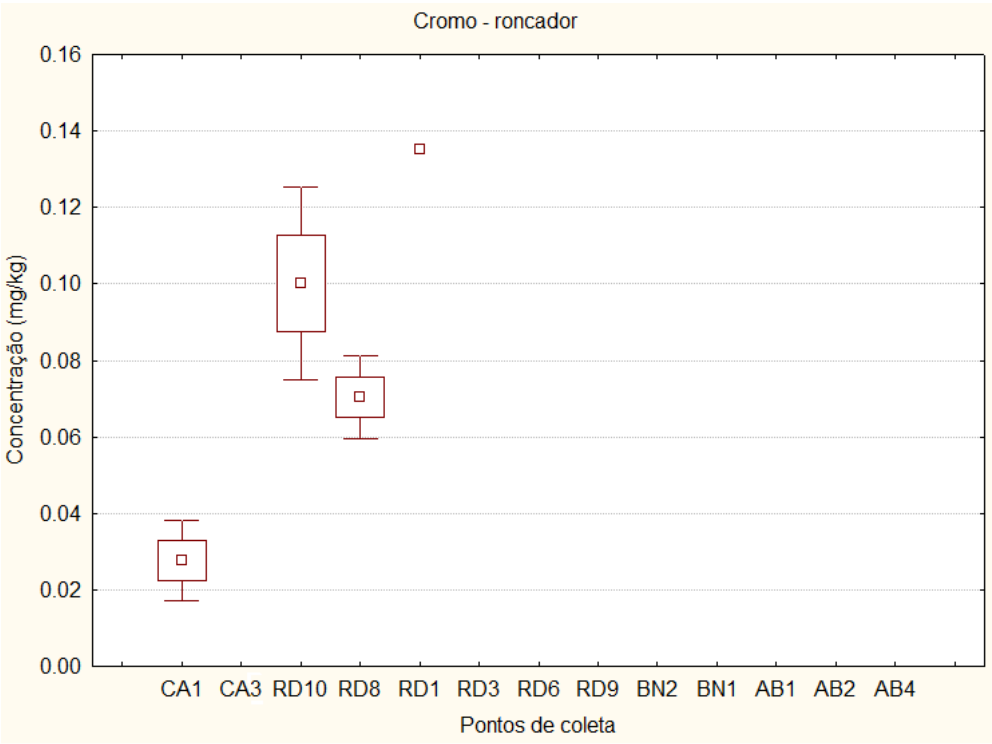


Figura 35. Concentração de cromo (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 13) de músculo do peixe roncador *Conodon nobilis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

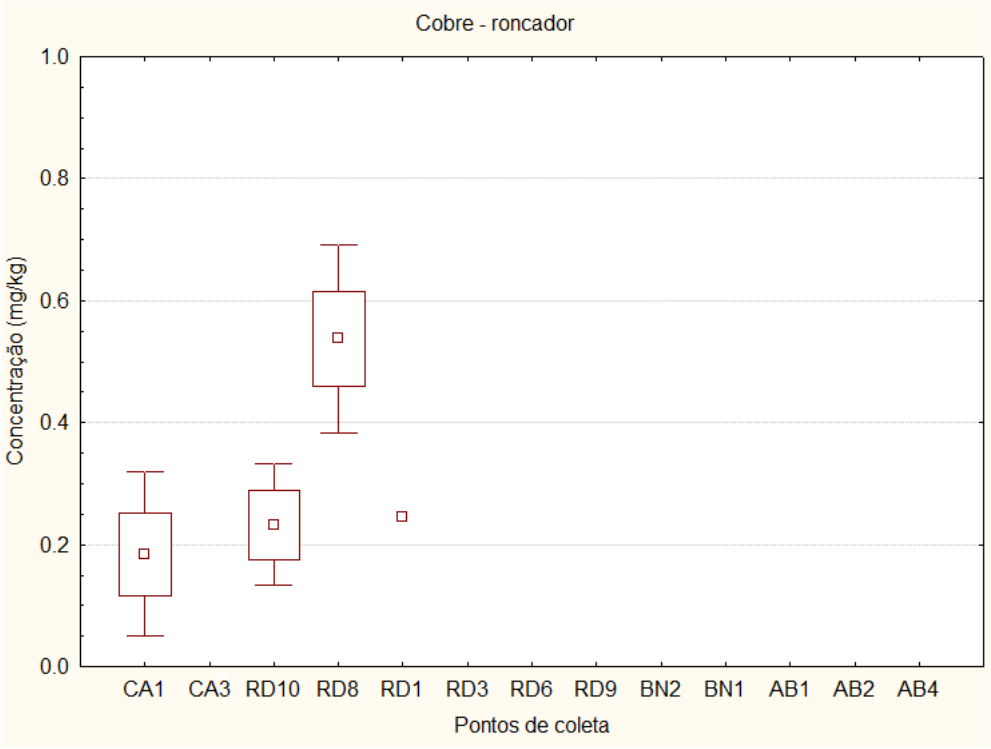


Figura 36. Concentração de cobre (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 13) de músculo do peixe roncador *Conodon nobilis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

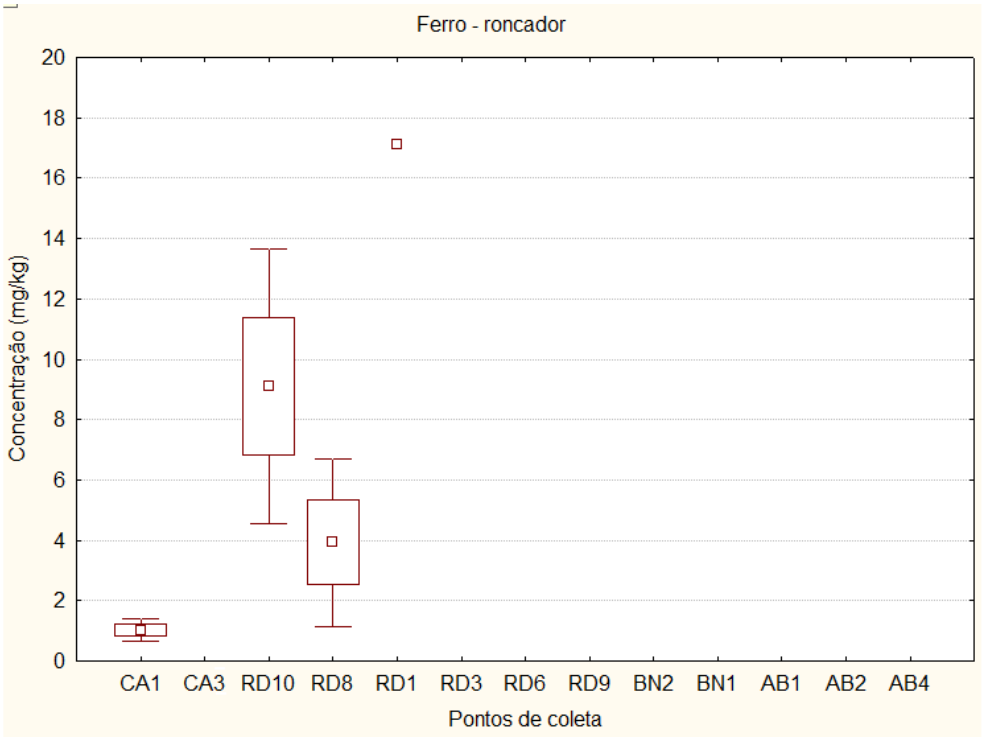


Figura 37. Concentração de ferro (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 13) de músculo do peixe roncador *Conodon nobilis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

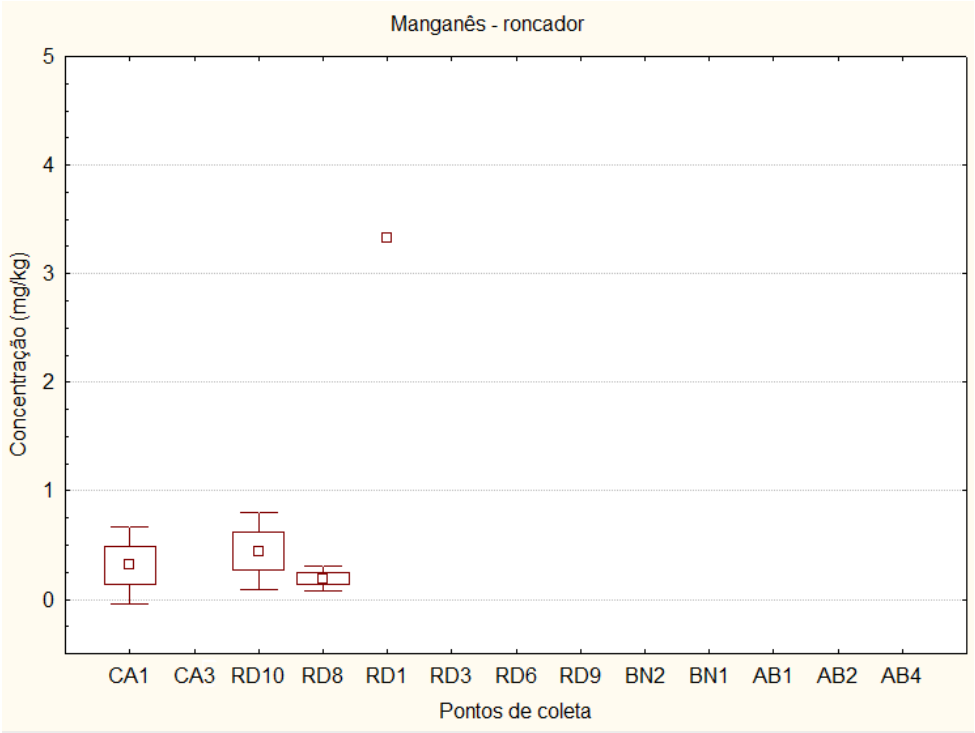


Figura 38. Concentração de manganês (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 13) de músculo do peixe roncador *Conodon nobilis*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

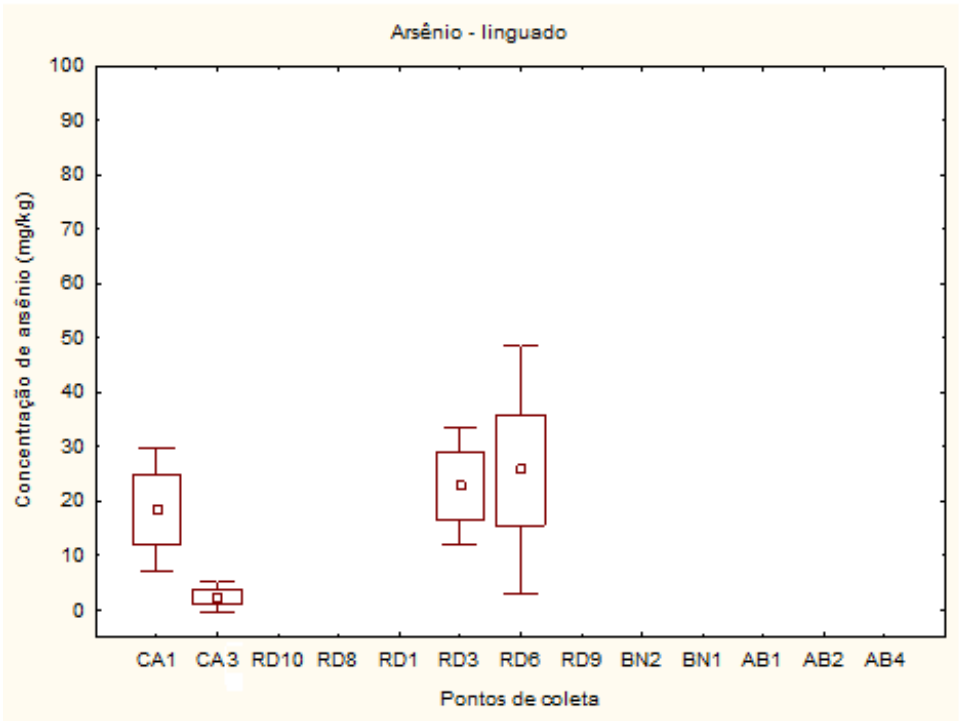


Figura 39. Concentração de arsênio (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 18) de músculo de linguado (espécie a ser identificada). Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

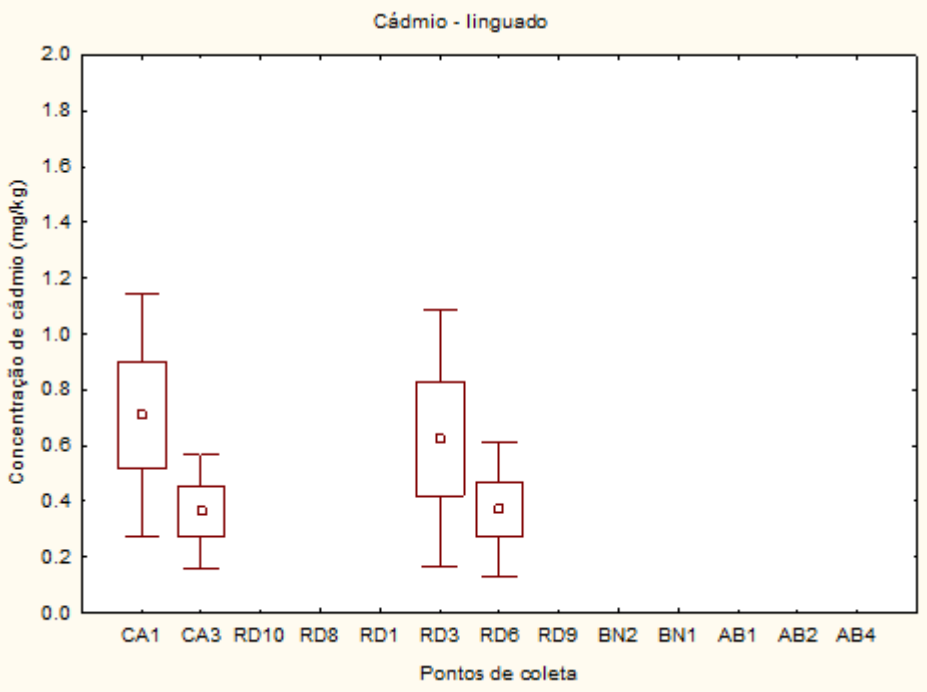


Figura 40. Concentração de cádmio (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 21) de músculo de linguado (espécie a ser identificada). Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

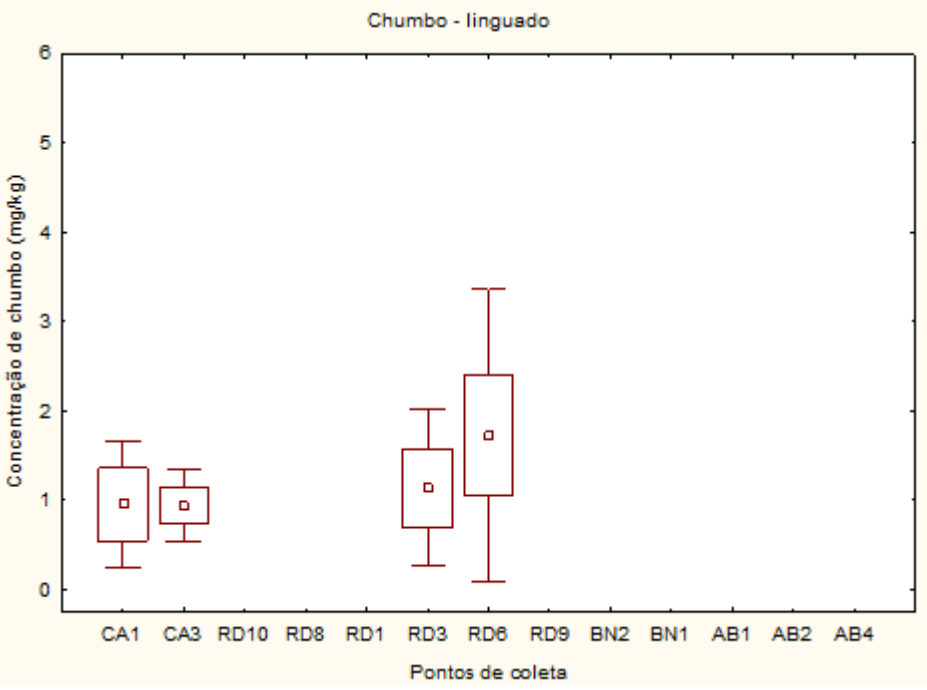


Figura 41. Concentração de chumbo (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 21) de músculo de linguado (espécie a ser identificada). Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

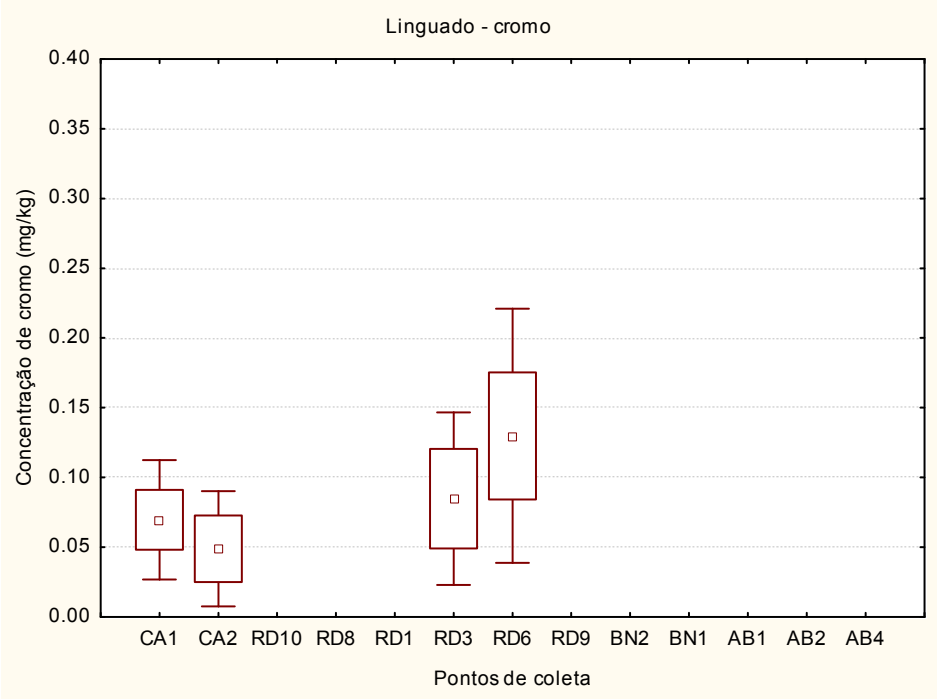


Figura 42. Concentração de cromo (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 14) de músculo de linguado (espécie a ser identificada). Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

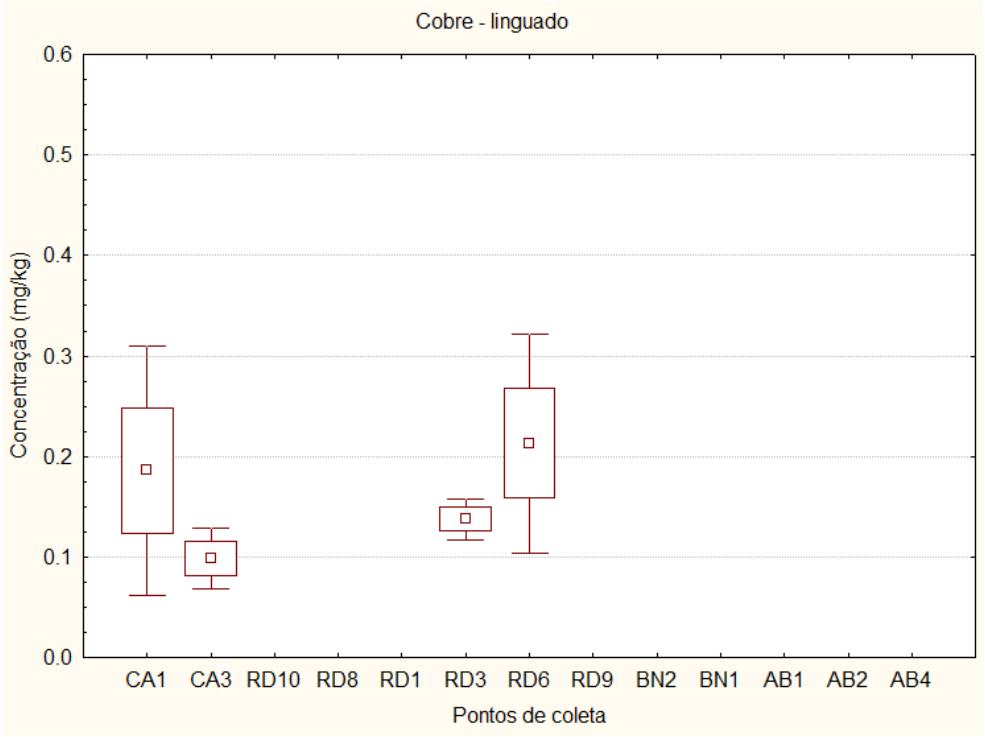


Figura 43. Concentração de cobre (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 14) de músculo de linguado (espécie a ser identificada). Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

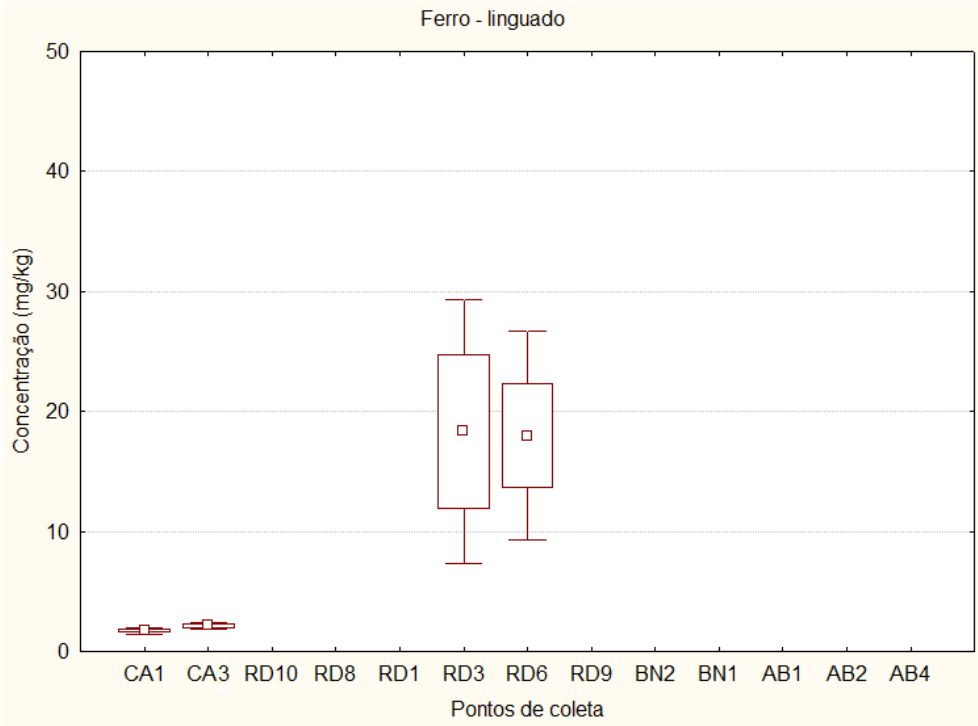


Figura 44. Concentração de ferro (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 14) de músculo de linguado (espécie a ser identificada). Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

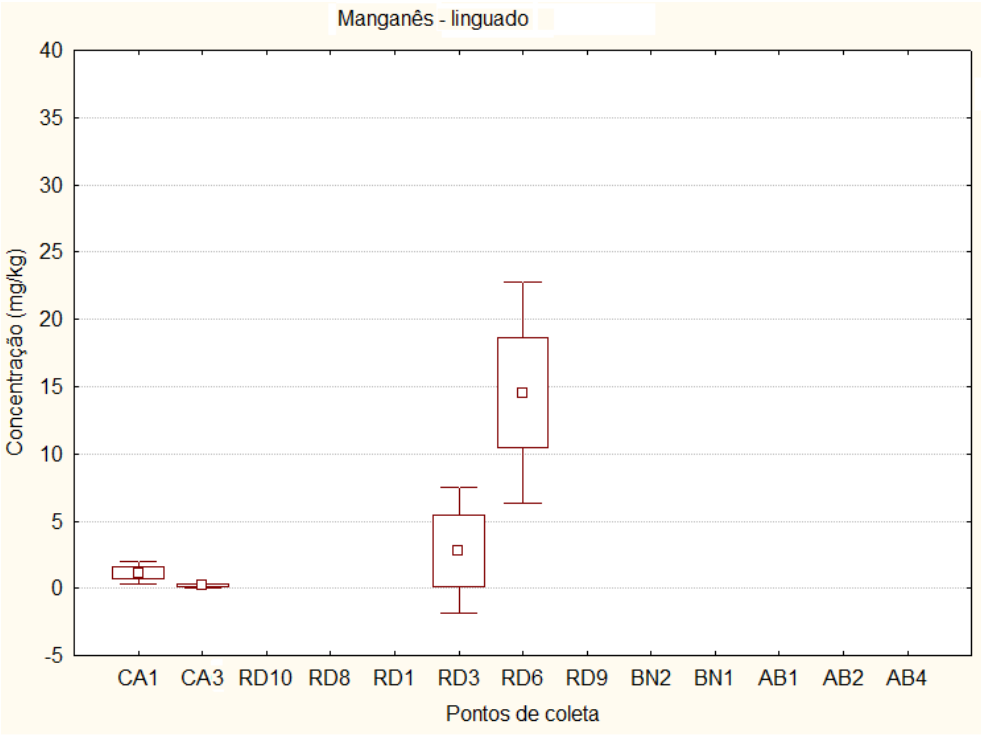


Figura 45. Concentração de manganês (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 14) de músculo de linguado (espécie a ser identificada). Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

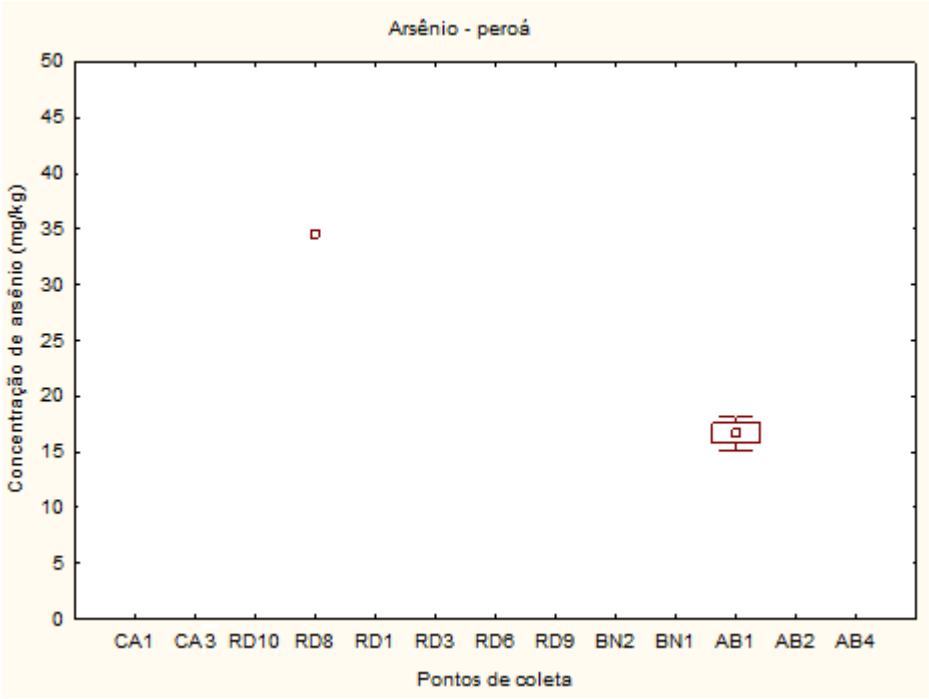


Figura 46. Concentração de arsênio (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 4) de músculo do peroá *Balistes capriscus*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

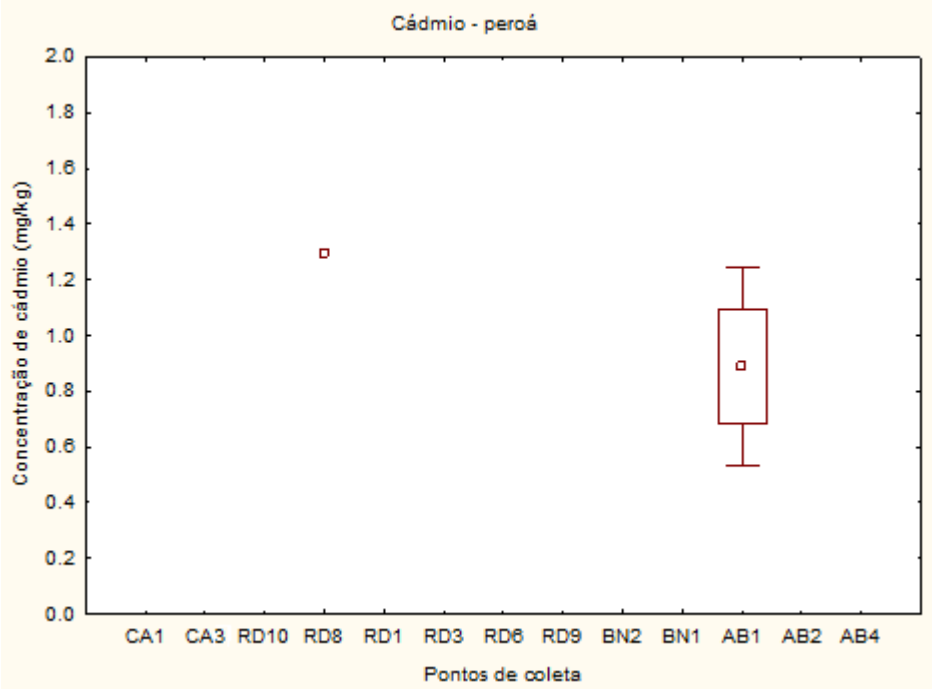


Figura 47. Concentração de cádmio (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 4) de músculo do peroá *Balistes capriscus*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

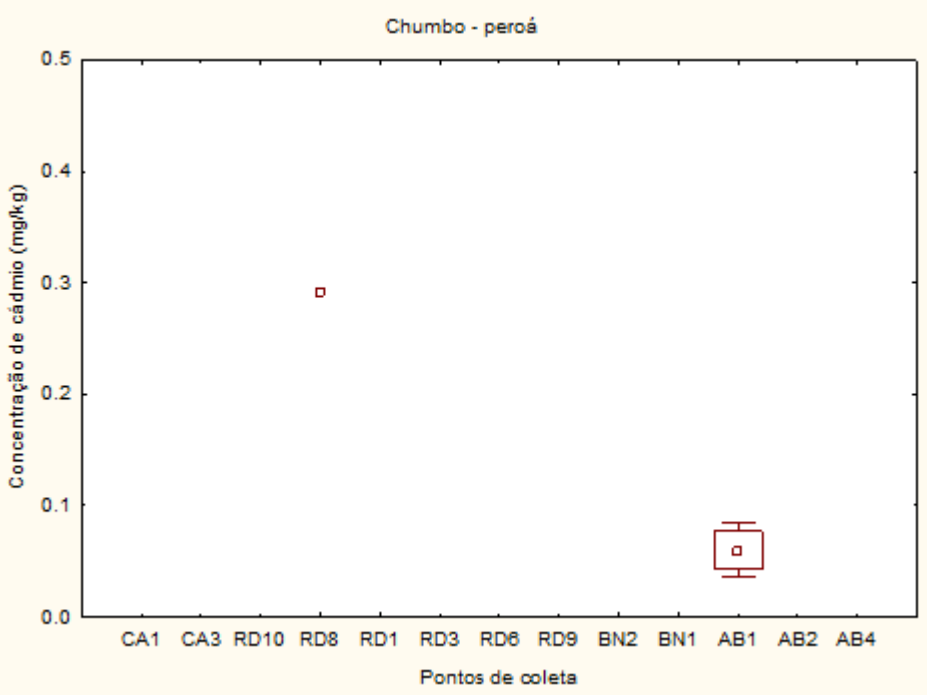


Figura 48. Concentração de chumbo (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 4) de músculo do peroá *Balistes capriscus*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

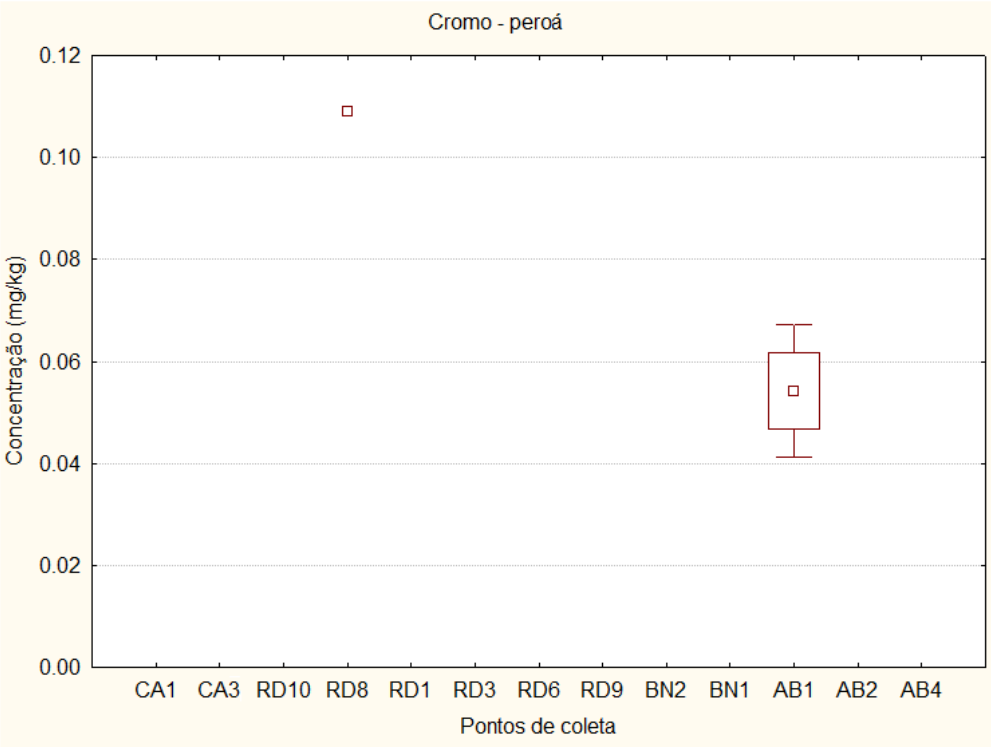


Figura 49. Concentração de cromo (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 4) de músculo do peroá *Balistes capriscus*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

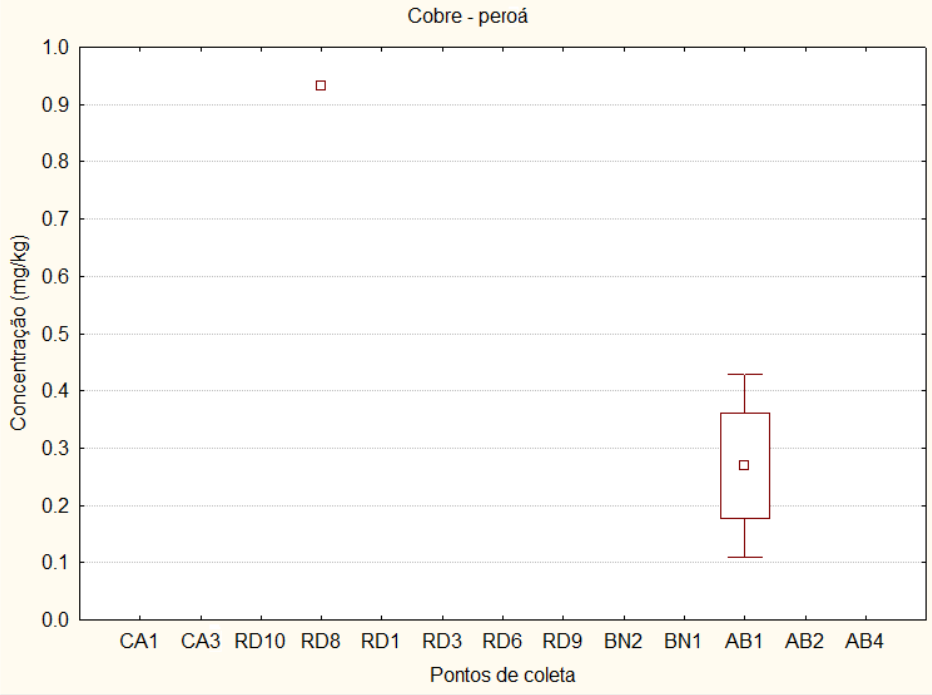


Figura 50. Concentração de cobre (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 4) de músculo do peroá *Balistes capriscus*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

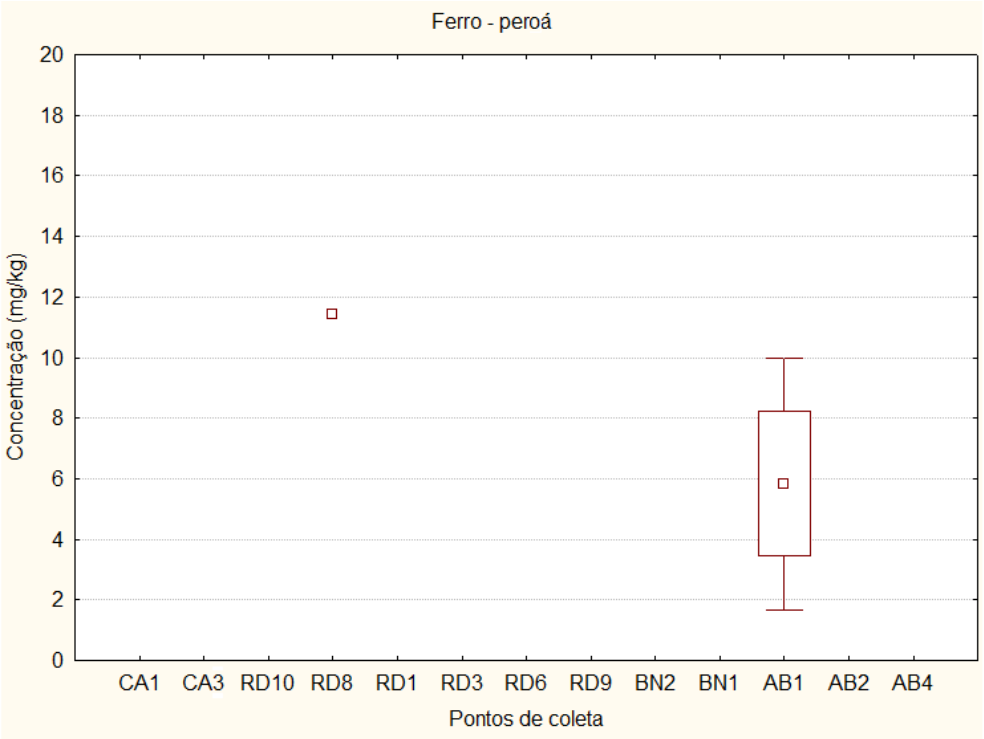


Figura 51. Concentração de ferro (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 4) de músculo do peroá *Balistes capriscus*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

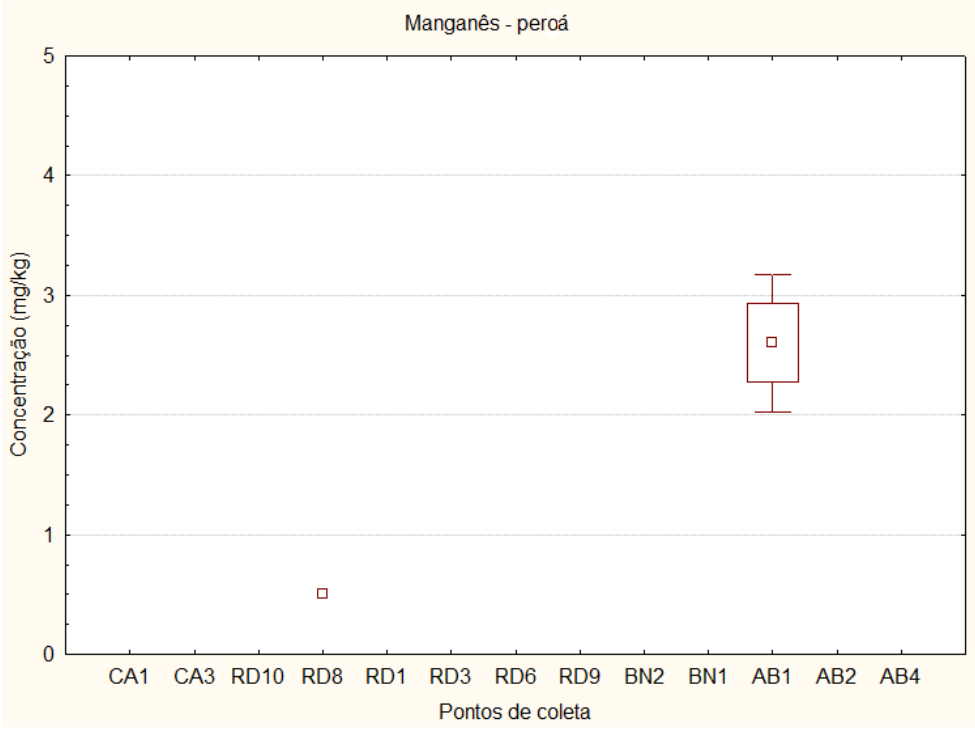


Figura 52. Concentração de manganês (mg/kg de peso úmido) nas amostras (n = 4) de músculo do peroá *Balistes capriscus*. Os pontos são apresentados da esquerda para a direita seguindo os sentidos Sul-Norte e costeiro-marinho. Os dados são expressos como média (quadrado menor) ± desvio padrão (barras verticais) e erro padrão (quadrado maior).

Tabela 4. Concentração de metais (µg/g de peso úmido) no músculo de diversas espécies de animais aquáticos da costa do Espírito Santo analisadas na presente pesquisa e em estudos anteriores (Joyeuax *et al.*, 2004[a]; Souza *et al.*, 2013[b]; Niencheski *et al.*, 2014). Os dados representam valores médios. BV: Baía de Vitória; SC: Santa Cruz; LQ: limite de quantificação.

Espécie	Pb	Cr	Cu	Cd	As	Fe	Mn
Roncador - Fev 2016	1,39	0,08	0,41	0,50	15,9	5,65	0,55
Linguado - Fev 2016	3,08	0,09	0,15	0,66	29,0	10,04	5,13
Peroá - Fev 2016	1,02	0,20	0,43	0,99	21,2	7,24	2,08
Camarões-rosa - Fev 2016	1,90	0,07	30,81	0,92	51,4	4,90	4,84
Camarão sete barbas - Fev 2016	1,27	0,04	14,54	0,56	19,3	13,42	1,77
Robalo - Fev 2001[a]	0,23	0,16	0,26	0,03	-	-	-
Tainha - Fev 2001[a]	0,27	0,15	0,21	0,03	-	-	-
Caranho - Fev 2004[c]	0,11	0,02	0,13	0,01	-	-	-
Ostra - Fev 2004[c]	0,08	0,19	2,50	0,10	-	-	-
Robalo - 2013 (BV) - inverno[b]	0,006	0,014	0,13	<LQ	0,15	1,36	0,11
Robalo - 2013 (BV) - verão[b]	0,020	0,020	0,11	<LQ	0,12	1,00	0,08
Robalo - 2013 (SC) - inverno[b]	0,016	0,018	0,15	<LQ	0,14	1,68	0,17
Robalo - 2013 (SC) - verão[b]	0,010	0,014	0,13	<LQ	0,16	1,56	0,19

Quando os dados obtidos no presente estudo são comparados com informações pretéritas, denota-se que, de forma geral, os níveis de contaminação por metais no músculo das espécies analisadas (camarões, roncador, linguado e peroá) são superiores àquelas relatadas para outros peixes (robalo, tainha e caranho) e invertebrados (ostra) da costa do Espírito Santo (Tabela 4). Os valores observados para os camarões-rosa também são superiores àqueles observados no camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* do estuário da Lagoa dos Patos (RS) e região costeira adjacente, coletados em dezembro/2011 e março/2012 (Pinto *et al.*, 2013).

5. Conclusões

A partir dos resultados obtidos nas análises realizadas até o presente momento nas amostras de água coletadas durante a 1ª expedição do Navio de Pesquisa Soloncy Moura do CEPSUL/ICMBio, pode-se concluir que:

a) existe contaminação por metais na água coletada nas diferentes áreas de estudo, sendo que em muitos casos os níveis observados representam concentrações acima dos limites permitidos para as águas de Classe I, conforme definido pela Resolução 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Foram detectadas concentrações de arsênio (As) total acima daquela permitida na legislação vigente em todos os pontos de coleta das diferentes áreas avaliadas, quando se considera a área do estudo, compreendida entre a Costa das Algas e o Parque Nacional de Abrolhos, como sendo uma região destinada à pesca ou cultivo de organismos para fins de consumo intensivo. Também foram detectadas concentrações de chumbo (Pb) total em praticamente todos os pontos de coleta da área de estudo. Além disso, foram observadas concentrações de cádmio (Cd) total acima dos limites permitidos pela legislação vigente nos pontos de coleta com influência direta da Foz do Rio Doce (RD1 e RD3), bem como nos pontos de coleta da região de Barra Nova (BN1 e BN2). Por sua vez, concentrações de cobre (Cu) dissolvido acima daquelas permitidas pela legislação vigente também foram observadas nas amostras de água do ponto de coleta mais próximo à Foz do Rio Doce (RD1), bem como daqueles pontos que se localizam ao Sul da Foz do Rio Doce e que são mais frequentemente influenciados pela pluma originada a partir da foz deste rio (RD8 e RD10). No que se refere à área de Abrolhos,

houve contaminação da água além dos limites permitidos pela legislação vigente com cádmio (Cd) total (AB4), chumbo (Pb) total (AB1 e AB4) e cobre (Cu) dissolvido (AB1).

b) foram observados padrões espaciais distintos de distribuição dos metais analisados, inclusive quando são comparadas as concentrações totais e dissolvidas destes elementos na água. Quando são consideradas as concentrações totais dos metais, fica evidente a importante contribuição da pluma da Foz do Rio Doce nas concentrações de todos os metais analisados (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn e Pb). A evidência desta contribuição está caracterizada pelo gradiente decrescente bem definido das concentrações totais dos metais analisados, a partir da Foz do Rio Doce em direção à zona costeira tanto ao Sul quanto ao Norte da foz este rio.

c) assim como observado nos pontos de coleta mais próximos da Foz do Rio Doce, foram também observadas concentrações elevadas de todos os metais analisados, à exceção do cobre (Cu), nos pontos de coleta na região de Barra Nova (BN1 e BN2), sugerindo a possível existência de outra fonte de aporte de metais nesta região, além daquela bem caracterizada pela contribuição da Foz do Rio Doce. Outra possibilidade para explicação dos resultados obtidos é uma possível chegada da pluma de sedimentos da Foz do Rio Doce até a região de Abrolhos na época da realização das coletas durante a 1ª expedição do Navio de Pesquisa Soloncy Moura.

d) o padrão espacial de distribuição dos valores de bioacumulação corporal dos metais no zooplâncton coincide com o padrão espacial de distribuição dos níveis de contaminação da água observado para todos os metais analisados, à exceção do cobre (Cu). Este padrão é caracterizado por uma maior bioacumulação dos metais nos pontos de coleta mais próximos da Foz do Rio Doce, seguindo gradiente decrescente de bioacumulação corporal em direção ao Sul e ao Norte da foz deste rio. Cabe ressaltar ainda que foram também observados níveis elevados de bioacumulação corporal de alguns metais, especialmente ferro (Fe), cádmio (Cd) e chumbo (Pb), nas amostras de zooplâncton coletadas na região de Abrolhos, com destaque para a presença de um marcado gradiente de bioacumulação de cádmio (Cd) entre os pontos de coleta naquela região, com o maior valor sendo observado nos organismos coletados na face Norte do Banco de Abrolhos.

e) o padrão espacial de resposta do biomarcador de estresse utilizado (lipoperoxidação corporal) coincide com os padrões observados de contaminação da água e da bioacumulação dos metais analisados, indicando que os metais associados à pluma da Foz do Rio Doce encontram-se disponíveis para assimilação pelo zooplâncton, organismos da base da cadeia trófica, e consequentemente para transferência via dieta para níveis mais elevados da teia alimentar. Além disso, o padrão espacial de distribuição dos níveis de lipoperoxidação observado indica que o nível de impacto biológico (estresse oxidativo) ao qual se encontra submetido o zooplâncton da região em estudo está associado, pelo menos em parte, aos níveis de contaminação da água pelos metais analisados.

f) o padrão espacial de resposta do biomarcador de estresse utilizado (lipoperoxidação corporal) no coral *Millepora alcicornis* na região de Abrolhos coincide com o padrão espacial de contaminação da água naquela região por metais, especialmente o cádmio (Cd), indicando assim a necessidade de monitorar a saúde destes organismos nos diferentes pontos de coleta na região de Abrolhos.

g) os bioindicadores (zooplâncton e coral) e o biomarcador (lipoperoxidação corporal) selecionados se mostraram adequados para a avaliação do impacto biológico de metais na área de estudo, indicando a sua adequação para uso futuro em programas de biomonitoramento na área em questão.

h) na maioria das amostras de músculo dos pescados analisados (crustáceos e peixes), os níveis de contaminação estão acima dos limites permitidos pela legislação vigente, a Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC nº 42, de 29 de Agosto de 2013, que dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre "Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos". No caso dos crustáceos (camarões-rosa e sete barbas), a frequência de contaminação do músculo com níveis de metais acima do limite permitido pela legislação vigente variou de 43 a 91% das amostras analisadas. Por sua vez, no caso das espécies de peixes analisadas (roncador, linguado e peroá), esta frequência variou de 25 a 100%. Cabe ressaltar que a maior parte das amostras analisadas foi obtida de animais coletados desde a Costa das Algas, ao Sul da Foz do Rio Doce, até o ponto de coleta RD9, ao norte da Foz do Rio Doce. Além disso, observa-se que as concentrações médias observadas no presente estudo são, de forma geral, superiores àquelas relatadas na literatura

para algumas espécies de invertebrados e peixes da costa do Espírito Santo, as quais foram capturadas e analisadas anteriormente por outros pesquisadores brasileiros.

i) diferentemente do observado para as concentrações corporais de metais no zooplâncton, as concentrações dos metais analisados nas amostras de músculo dos pescados (crustáceos e peixes), cujos limites estão regulamentados pela Resolução RDC nº 42 da ANVISA, não seguiram um padrão espacial de distribuição bem definido na área de estudo. Este fato pode estar associado à capacidade de mobilidade dos animais avaliados, ao contrário do zooplâncton que tem seu deslocamento em função dos movimentos das massas d'água. No entanto, as concentrações daqueles metais, cujos limites não estão regulamentados pela Resolução RDC nº 42 da ANVISA, apresentaram geralmente maiores médias nos pontos de coleta mais próximos da Foz do Rio Doce ou no seu entorno.

6. Recomendações e propostas futuras

Considerando-se os resultados obtidos no presente estudo, recomenda-se:

(a) elaborar e executar plano de avaliação e monitoramento de longo prazo na região estudada utilizando-se os parâmetros físico-químicos, biondicadores e biomarcadores avaliados durante as atividades realizadas no escopo do 1º cruzeiro de pesquisa e monitoramento do Navio de Pesquisa Soloncy Moura (CEPSUL/ICMbio);

(b) estender a área em avaliação e monitoramento, incluindo novos pontos de amostragem entre os pontos de coleta na APA Costa das Algas e a Baía de Vitória, bem como ao Sul desta Baía, entre o Norte da Foz do Rio Doce (RD6 e RD9) e Barra Nova (BN1 e BN2), bem como entre Barra Nova (BN1 e BN2) e o PARNA Marinho de Abrolhos;

(c) realizar monitoramento da qualidade dos pescados capturados e comercializados na costa do Espírito Santo e Sul da Bahia, no que se refere ao conteúdo muscular de metais, a fim de evitar possível contaminação pelo consumo humano;

(d) analisar outros biomarcadores de relevância ecológica nos organismos bioindicadores já estudados, bem como incluir outros organismos bioindicadores no programa de monitoramento de longo prazo;

(e) executar ações que minimizem o aporte de metais contaminantes a partir da Foz do Rio Doce, bem como gerar evidências a fim de identificar outras possíveis fontes dos metais contaminantes presentes nas amostras de água e material biológico analisadas no presente estudo, especialmente na região de Barra Nova e Abrolhos.

6. Referências bibliográficas

Abreu PC, Castello JP. 1998. Interações entre os ambientes estuarino e marinho. In: Seeliger U, Odebrecht C, Castello JP (Eds). Os Ecossistemas Costeiros e o Marinho do Extremo Sul do Brasil. Ecoscientia, Rio Grande. pp. 199-218.

Asmus ML, Tagliani PRA. 1998. Considerações sobre manejo ambiental. In: Seeliger U, Odebrecht C, Castello JP. Os Ecossistemas Costeiros e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Ecoscientia. Rio Grande, pp. 227-230.

Bianchini A, Martins SE, Pedroso MS, Said JS, Spengler A. 2003. Biotic ligand model in fresh and sea water in Brazil. In: Lagos GE, Warner AEM, Sánchez M. (Eds.), Health, Environment and Sustainable Development, vol. II. Proceedings of the 5th International Conference, Santiago, pp. 543–552.

Bianchini A, Playle RC, Wood CM, Walsh PJ. 2005. Mechanism of acute silver toxicity in marine invertebrates. Aquatic Toxicology 72: 67-82.

Bianchini A, Playle RC, Wood CM, Walsh PJ. 2007. Short-term silver accumulation in tissues of three marine invertebrates: Shrimp *Penaeus duorarum*, sea hare *Aplysia californica*, and sea urchin *Diadema antillarum.* Aquatic Toxicology 84: 182-189.

Cajaraville MP, Bebianno MJ, Blasco J, Porte C, Sarasquete C, Viarengo A. 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. The Science of the Total Environment 247: 295-311.

CONAMA. 2005. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução N^0 357, de 17 de março de 2005. Diário Oficial da União de 18/03/05.

Corsi I, Mariottini M, Sensini C, Lancini L, Focardi S. 2003. Fish as bioindicators of brackish ecosystem health: integratind biomarker responses and target pollutant concentrations. Oceanologica Acta, 26:129-138.

De Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. 1998. Biomarkers of free radical damage application in experimental animals and in humans. Free Radical in Biology and Medicine 26: 202-226.

Depledge MH, Aagaard A, Györkös R. 1995. Assessment of trace metal toxicity using molecular, physiological and behavioural biomarkers. Marine Pollution Bulletin 31: 19-27.

Dinan L, Bourne P, Whiting P, Dhadialla T, Hutchinson T. 2001. Screening of environmental contaminants for ecdysteroid agonist and antagonist activoty using the *Drosophila melanogaster* Bll cell in vitro assay. Environmental Toxicology and Chemistry 20: 2038-2046.

Forstner U, Wittmann GTW. 1983. Metal pollution in the aquatic environment. Springer-Verlag, Berlin, pp. 30-61.

Georgopoulus PG, Roy A, Opiekun RE, Yonone-Lioyand MJ, Lioy PJ. 2002. Introduction: copper and man. Environmental Dynamics and Human Exposure to Copper. In: Georgopoulus PG, Roy A, Opiekun RE, Yonone-Lioyand MJ, Lioy PJ (Eds.), pp. 15–26. International Copper Association Ltd, New York.

Goksoyr A, Förlin L. 1992. The cytochrome P-450 system in fish, aquatic toxicology and environmental monitoring. Aquatic Toxicology 22: 287-312.

Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. University Press, Oxford.

Hoegh-Guldberg O. 2015. Reviving the ocean economy: the case for action-2015. WWF International, Gland, Switzerland.

James MO, Kleinow KM. 1994. Trophic transfer of chemicals in the aquatic environment. In: Malins DC, Ostrander G. (Eds). Aquatic Toxicology: Molecular, Biochemical, and Cellular Perspectives. Lewis Publishers: USA, p 1-35.

Joyeaux J-C, Campanha Filho EA, Jesus HC. 2004. Trace metal contamination in estuarine fish from Vitoria Bay, ES, Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology 47: 765-774.

Livingstone DR. 2001. Contaminant-stimulates reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. Marine Pollution Bulletin 42: 656-666.

Lopes TM, Barcarolli IF, Oliveira CB, Souza MM, Bianchini A. 2011. Mechanisms of copper accumulation in isolated mantle cells of the marine clam *Mesodesma mactroides*. Environmental Toxicology and Chemistry 30: 1586-1592.

Machado A, Hoff M, Klein R, Giacomin M, Pinho G, Bianchini A. 2013. Biomarkers of waterborne copper exposure in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to salt water. Aquatic Toxicology 138: 60-69.

Monserrat JM, Martinez PE, Geracitano LA, Amado LL, Martins CMG, Pinho GLL, Chaves IS, Ferreira-Cravo M, Ventura-Lima J, Bianchini A., 2007. Pollution biomarkers in estuarine animals: Critical review and new perspectives. Comparative Biochemistry and Physiology C 146: 221-234.

Nadella SR, Fitzpatrick JL, Franklin N, Bucking C, Smith S, Wood CM. 2009. Toxicity of dissolved Cu, Zn, Ni and Cd to developing embryos of the blue mussel (*Mytilus trossolus*) and the protective effect of dissolved organic carbon. Comp Biochem Phys C. 149, 340-348.

Netto ADP, Dias JCM, Arbilla G, Oliveira LF, Barek J. 2000. Avaliação da contaminação humana por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e seus derivados nitratos: Uma revisão metodológica. Química Nova 23: 765-773.

Newman MC. 1998. Fundamentals of Ecotoxicology. Ann Arbor Press, Chelsea, USA.

Niencheski LF, Machado EC, Silveira IMO, Flores Montes MJ. 2014. Metais traço em peixes e filtradores em quatro estuários da costa brasileira. Tropical Oceanography 42: 94-106.

Nipper M. 2000. Current approaches and future directions for contaminant-related impact assessments in coastal environments: Brazilian perspective. Aquatic Ecosystem Health and Management Society 3: 433-447.

Oakes KD, van Der Kraak GJ. 2003. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. Aquat. Toxicol. 63: 447-463.

Paganini CL, Bianchini A. 2009. Copper accumulation and toxicity in isolated cells from gills and hepatopancreas of the blue crab (*Callinectes sapidus*). Environmental Toxicology and Chemistry 28: 1200-1205.

Paganini CL, Souza MM, Bianchini A. 2008. Gill ion transport and copper accumulation in the blue crab *Callinectes sapidus*. Comparative Biochemistry and Physiology C 184: 461-461.

Pais I, Jones JB Jr. 1997. The Handbook of Trace Elements. St Lucie Press, Boca Raton.

Pedroso MS, Pinho GLL, Rodrigues SC, Bianchini A. 2007. Mechanisms of acute silver toxicity in the euryhaline copepod *Acartia tonsa*. Aquatic Toxicology 82: 173-180.

Pinho GLL, Pedroso MS, Rodrigues SC, de Souza SS, Bianchini A. 2007. Physiological effects of copper in the euryhaline copepod *Acartia tonsa*: Waterborne versus waterborne plus dietborne exposure. Aquatic Toxicology 84: 62-70.

Pinto AMTP, Hirdes IM, Sanches Filho PJ. 2013. Determinação de metais pesados nos camarões (*Farfantepenaues paulensis*) consumidos na cidade de Pelotas-RS. Ecotoxicology and Environmental Contamination 8: 129-134.

Prazeres MDF, Martins SE, Bianchini A. 2011. Biomarkers response to zinc exposure in the symbiont-bearing foraminifer *Amphistegina lessonii* (Amphisteginidae, Foraminifera). 407: 116-121.

Prazeres MDF, Martins SE, Bianchini A. 2012. Assessment of water quality in coastal waters of Fernando de Noronha, Brazil: biomarker analyses in *Amphistegina lessonii*. Journal of Foraminiferal Research 42: 56-65.

Rand GM, Petrocelli SR. 1985. Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications. Hemisphere Pub, Washington, USA.

Rodríguez-Ariza A, Alhama J, Díaz-Méndez FM, López-Barea J. 1999. Content of 8-oxodG in chromosomal DNA of *Sparus aurata* fish as biomarker of oxidative stress and environmental pollution. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 438: 97-107.

Roesijadi G, Robinson WE. 1994. Metal regulation in aquatic animals: Mechanisms of uptake, accumulation and release. In: Maiins DC, Ostrander GK (Eds.). Aquatic Toxicology, Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives. Lewis Publishers, London.

Shailaja MS, D'Silva C. 2003. Evaluation of impact of PAH on tropical fish, *Oreochromis mossambicus* using multiple biomarkers. Chemosphere 53: 835-841.

Silva CC, Klein RD, Barcarolli IF, Bianchini A. 2016. Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean. Aquatic Toxicology 170: 42-51.

Souza IC, Duarte IA, Pimentel NQ, Rocha LD, Morozesk M, Bonomo MM, Azevedo VC, Pereira CDS, Monferrán MV, Milanez CRD, Matsumoto ST, Wunderlin DA, Fernandes MN. 2013. Matching metal pollution with bioavailability, bioaccumulation and biomarkers response in fish (*Centropomus parallelus*) resident in neotropical estuaries. Environmental Pollution 180: 136-144.

Stephensen E, Svavarsson J, Sturve J, Ericson G, Adolfsson-Erici M, Förlin L. 2000. Biochemical indicators of pollution exposure in shorthorn sculpin (*Myoxocephalus scorpius*), caught in four harbours on the southwest coast of Iceland. Aquatic Toxicology 48: 331-442.

Storey KB. 1996. Oxidative stress: animal adaptations in nature. Brazilian Journal of Medical and Biological Research 29: 1715-1733.

van Dam JW, Negri AP, Uthicke S, Mueller JF. 2011. Chemical pollution on coral reefs: exposure and ecological effects. In: Sanchez-Bayo F., P.J. van den Brink, R.M. Mann (Eds.), Ecological Impacts of Toxic Chemicals. Bentham Science Publishers, Amsterdam, Netherlands.

van der Oost R, Beyer J, Vermeulen NPE. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environmental Toxicology and Pharmacology 13: 57-149.

Winston GW, Di Giulio RT. 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. Aquatic Toxicology 19: 137-161.

Witters HE. 1998. Chemical speciation dynamics and toxicity assessment in aquatic systems. Ecotoxicology and Environmental Safety 41: 90-95.

Wood CM, Farrell T, Brauner C. 2011. Fish Physiology: Homeostasis and Toxicology of Essential Metals, 1st Edition. Academic Press, New York, USA.

Zagatto P. 2006. Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações. RiMa, São Carlos.