



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Ana Maria Azevedo Velho


**Mutagênese ambiental: estabelecimento de valores de referência para
manguezais da Baía de Ilha Grande**

Rio de Janeiro

2011

Ana Maria Azevedo Velho

**Mutagênese ambiental: estabelecimento de valores de referência para manguezais da
Baía de Ilha Grande**



-Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Israel Felzenszwalb

Rio de Janeiro

2011

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

V436 Velho, Ana Maria Azevedo.

Mutagênese ambiental: estabelecimento de valores de referência para manguezais da Baía de Ilha Grande / Ana Maria Azevedo Velho.- 2011.

120 f. : il.

Orientador: Israel Felzenszwalb.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

1. Testes de mutagenicidade - Teses. 2. Genotoxicidade - Teses. 3. Manguezais - Teses. 4. Sedimentos estuarinos - Teses. 5. Caranguejo - Teses. 6. Metais - Teses. 7. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - Teses. I. Felzenszwalb, Israel. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 575.24:574

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação.

Assinatura

Data

Ana Maria Azevedo Velho

Mutagênese ambiental: estabelecimento de valores de referência para manguezais da Baía de Ilha Grande

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2011.

Orientador:

Prof. Dr. Israel Felzenszwalb (Orientador)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Sérgio Machado Corrêa
Faculdade de Tecnologia - UERJ

Prof^ª. Dra. Ângela de Luca Rebello Wagener
Pontifícia Universidade Católica – PUC-Rio

Prof^ª. Dra. Vera Maria Ferrão Vargas
Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler - FEPAM-RS

Rio de Janeiro

2011

DEDICATÓRIA

Á minha família, pelas raízes e asas...

Aos amigos, pela força constante.

Com amor.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

- Ao prof. Dr. Mário Luis Gomes Soares, referência em manguezais, pela grande oportunidade que me foi dada e pela orientação;
- Ao prof. Dr. Israel Felzenszwalb pela orientação, incentivo e disponibilidade;
- À prof^a Dra. Claudia Aiub, que me recebeu de um jeito gaúcho peculiar, pelas dicas, suporte, ensinamentos e discussões enriquecedoras;
- Ao Dr. José Luiz Mazzei por seu auxílio com materiais e equipamentos, disposição em auxiliar nas dúvidas e esforço em tornar melhor o ambiente de trabalho. Hoje “me dou” melhor com a química graças a sua ajuda;
- Ao prof. Dr. Sérgio Machado Corrêa pelas análises em CG/EM inicialmente, mas também por auxiliar na interpretação dos dados, entendimento da metodologia e pela revisão deste trabalho;
- À prof^a Dra Mônica Marques e sua equipe (Dolores, Maria Elena e Aline), que contribuíram para a execução das análises químicas dos metais;
- Aos professores Dr. Jayme Bastos Neto e Dr. Heitor Evangelista da Silva, por serem referências importantes no corpo docente do PPGB/UERJ;
- Ao Rafael Nunes, aluno de iniciação científica do Labmut que participou diretamente das etapas de desenvolvimento da pesquisa com esforço, comprometimento e parceria. Rafinha, valeu!
- À Andréia Fernandes e à Claudia Rainho, pessoas especiais que me receberam com carinho, pela ajuda técnica, apoio e troca de “figurinhas”;
- A todos os amigos do Labmut por tornarem agradáveis os dias de trabalho e pela ajuda na bancada, em especial ao Raphael, Wanderson e à Michelle;
- À equipe do “gargalo” do Nema: Gustavo, Daniel, Vivi e Filipe, pela disposição, parceria e paciência;
- Ao Departamento de Bioquímica, em especial ao Paulinho e ao laboratório da prof^a Dra. Marsen Coelho e ao prof^o Dr. Jayme Neto, por serem solícitos em compartilhar equipamentos e materiais;
- Ao Programa de Pós-graduação em Biociências da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, seus docentes, discentes e funcionários;
- Ao CNPq pela bolsa concedida;

- As minhas amigas e irmãs de Porto: Cris, Cris Kbeça, Dani nega, Dani alemoa, Fabi, Fê, Julia, Rafa, Rê e Má...longe fisicamente mas presentes constantemente nesta minha trajetória no Rio. Obrigada, sem vocês acho que eu não teria conseguido;
- As minhas amigas e irmãs no Rio: Bibba e Tati – as amo e admiro;
- Ao querido José Dark, meu vizinho preferido, por tudo.
- Ao Daniel Medida, pela amizade, força e carinho, sem falar na confecção dos mapas. Obrigada por tornar os campos do Mamanguá possíveis e especialmente únicos;
- Ao amigo Pedro Xico, pelas palavras, força, carinho e pelos presentes;
- Ao meu “cunhadinho do coração” Dedé pelo exemplo de homem que é e pelos ótimos papos;
- A Nati e a Luisa, afilhadas amadas, que mesmo sem perceber o bem que fizeram, proporcionaram-me um valioso estímulo para poder completar mais uma etapa da vida e um dia servir de exemplo para quando ficarem adultas, que “não há limite para se aprimorar intelectualmente e cultivar uma crescente afeição à natureza e à ciência”;
- Xandi, Mana e Kid, irmãos abençoados que incondicionalmente me apoiaram e incentivaram a sonhar, planejar e realizar;
- Pai e mãe, sem palavras.
- E meus sinceros agradecimentos e grata estima a todos aqueles que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho, grande desafio por se tratar de um ambiente até então desconhecido, fora do meu Estado de origem e longe dos pilares da minha vida: família e amigos;
- Obrigada N. Sra. da Conceição, obrigada meu Deus!

Não é o desafio com que nos deparamos que determina quem somos e o que estamos nos tornando, mas a maneira com que respondemos ao desafio.

Somos combatentes, idealistas, mas plenamente conscientes.

Porque o ter consciência não nos obriga a ter teoria sobre as coisas:
só nos obriga a sermos conscientes.

Problemas para vencer, liberdade para provar.

E, enquanto acreditamos no nosso sonho, nada é por acaso...

(Henfil)

RESUMO

VELHO, Ana Maria Azevedo. *Mutagênese ambiental: estabelecimento de valores de referência para manguezais da Baía de Ilha Grande*. 2011. 120 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

Estudos ambientais têm demonstrado que substâncias geradas por processos antropogênicos podem causar efeitos prejudiciais interferindo no equilíbrio natural do ecossistema. Manguezais exercem funções essenciais nos ciclos biológicos e constituem Área de Proteção Permanente no Brasil. Infelizmente, eles estão sendo degradados acima do seu limite de suporte, levando a uma redução das áreas remanescentes no mundo. Este trabalho apresenta os resultados de mutagenicidade e genotoxicidade observados em quatro amostragens (PI, V, O e PII) entre 2009 e 2010, relacionados com metais e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) em sedimento de mangue para a caracterização dos valores de referência. Os testes de genotoxicidade foram feitos a partir de hemócitos do caranguejo *Goniopsis cruentata*, coletados em um ecossistema potencialmente não poluído do Brasil, localizado no sul do Rio de Janeiro (Parati/RJ), chamado de "Saco do Mamanguá". Coleta, armazenamento e manipulação dos sedimentos e material biológico de cinco pontos de amostragem (M1- M5) foram processados de acordo com normas norte-americanas reconhecidas. A identificação das substâncias químicas foi realizada com extratos de sedimentos e utilizada no bioensaio *Salmonella/microsossoma* (Kado). A avaliação de potenciais danos genotóxicos estabelecidos foi realizada através do Teste de Micronúcleo, que apresentou valores significativos na amostra V. Resultados negativos foram observados para as cepas de *Salmonella typhimurium* TA97, TA98, TA100 e TA102, tanto na ausência quanto na presença de fração de metabolização exógena de mamíferos (S9 mix 4%) em todas as análises. A quantificação por cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas dos 16 HPA prioritários em termos de conservação ambiental apresentou valores baixos nas duas primeiras amostragens (PI e V) e nulos nas coletas seguintes (O e PII), nos mesmos pontos. De acordo com os valores utilizados nos Estados Unidos e Canadá como referência, os detectados por nós não são considerados como toxicantes ambientais positivos, com exceção do Benzo(a)pireno, que em M1V apresentou valores um pouco acima do limite a partir do qual já podem ser observados pequenos efeitos na biota. A análise dos metais (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn) por Espectrometria de Absorção Atômica inicialmente realizada com a água intersticial foi melhor interpretada a partir da matriz sedimento. Este estudo contribuirá com a implementação de indicadores para valores de referência em mangue.

Palavras-chave: Mutagenicidade. Genotoxicidade. Manguezal. Sedimento. *Goniopsis cruentata*. Metais. HPA.

ABSTRACT

Environmental studies have shown that substances generated by anthropogenic processes can cause adverse effects by interfering with the ecosystem natural balance. Mangroves perform essential functions in biological cycles and are Permanent Protection Area in Brazil. Unfortunately, they are being degraded above its support limit, leading to a reduction of the remaining areas in the world. This paper presents the results of mutagenicity and genotoxicity observed in four samples (PI, V, O, and PII) between years 2009 and 2010 linked to metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mangrove sediment in order to characterize reference values. The genotoxicity tests were made from the hemocytes *Goniopsis cruentata* collected in a potential unpolluted ecosystem of Brazil, located in the southern Rio de Janeiro (Parati/RJ), called "Saco do Mamanguá". Collection, storage, manipulation of sediment and biological material from five sampling sites (M1-M5) were processed according to U.S. standards recognized. The identification of the chemicals was performed with extracts of sediments and bioassay used in the *Salmonella* / microsome (Kado). The assessment of potential genotoxic damage were done down through the Micronucleus Test, and showed significant values in the sample V. Negative results were observed for the *Salmonella typhimurium* strains TA97, TA98, TA100 and TA102, both in the absence or presence of exogenous fraction of mammalian metabolism (S9 mix 4%) for all analysis. Quantification by Gas chromatography-mass spectrometry of the 16 priority PAHs in terms of environmental conservation, presented low values in the first two samples (V and PI) and null value in the following collections (and the IIP), in the same points. According to United States and Canada references, we detected chemicals not regarded as a positive environmental toxicants, with the exception of benzo(a)pyrene, which showed values in M1V just above the threshold at which already small effects can be observed in the biota. The analysis of metals (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb and Zn) by Atomic Absorption Spectrometry initially performed with the pore water was best interpreted from the sediment matrix. This study will contribute to the implementation of indicators to benchmarks in the swamp.

Keywords: Mutagenicity. Genotoxicity. Mangrove. Sediment. *Goniopsis cruentata*. Metals. PAHs.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura molecular de compostos polares e apolares.....	23
Figura 2 – Mapa localizando a região de Parati/RJ.....	33
Figura 3 – Identificação dos pontos de coleta – manguezal do fundo do SM.....	40
Figura 4 – Coleta de sedimento superficial de mangue.....	41
Figura 5 – Material de captura/coleta caranguejos.....	42
Figura 6 – Medição de Eh e temperatura.....	43
Figura 7 – Punção de hemolinfa em <i>G. cruentata</i>	45
Figure 8 – Esquema das etapas contidas no procedimento de extração por água-régia.....	51
Figure 9 – Frequência de MN entre as campanhas.....	55
Figure 10 – Resultados obtidos em M1PI.....	57
Figura 11 – Resultados obtidos em M2PI.....	58
Figura 12 – Resultados obtidos em M3PI.....	59
Figura 13 – Resultados obtidos em M4PI.....	60
Figura 14 – Resultados obtidos em M5PI.....	61
Figure 15 – Resultados obtidos em M1V.....	63
Figure 16 – Resultados obtidos em M2V.....	64
Figure 17 – Resultados obtidos em M3V.....	65
Figure 18 – Resultados obtidos em M4V.....	66
Figure 19 – Resultados obtidos em M5V.....	67
Figure 20 – Resultados obtidos em M1O.....	69
Figure 21 – Resultados obtidos em M2O.....	70
Figure 22 – Resultados obtidos em M3O.....	71
Figure 23 – Resultados obtidos em M4O.....	72
Figure 24 – Resultados obtidos em M5O.....	73
Figura 25 – Resultados obtidos em M1PII.....	75
Figura 26 – Resultados obtidos em M2PII.....	76
Figura 27 – Resultados obtidos em M3PII.....	77
Figura 28 – Resultados obtidos em M4PII.....	78
Figura 29 – Resultados obtidos em M5PII.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – HPA prioritários em termos de conservação ambiental e sua classificação quanto à atividade carcinogênica.....	27
Tabela 2 – Valores orientadores para solo no Estado de São Paulo.....	30
Tabela 3 – Valores de referência da Resolução CONAMA 344/04.....	31
Tabela 4 – Pontos de amostragem no SM.....	39
Tabela 5 – Linhagens utilizadas neste estudo.....	47
Tabela 6 – Controles positivos utilizados nos ensaios de mutagenicidade.....	48
Tabela 7 – Comparação entre a composição dos sedimentos analisada.....	53
Tabela 8 – Coletas e dados físico-químicos de cada amostragem.....	54

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	13
1	MUTAGÊNESE AMBIENTAL	14
1.1	Ecotoxicologia e mutagênese ambiental	14
1.2	Manguezal	15
1.3	Sedimento	20
1.4	Substâncias orgânicas	23
1.4.1	<u> Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos</u>	25
1.5	Substâncias inorgânicas	27
1.5.1	<u> Metais</u>	27
1.6	Valores de referência	29
1.7	Área de estudo	32
2	CONSIDERAÇÕES	36
3	OBJETIVOS	37
3.1	Objetivo geral	37
3.2	Objetivos específicos	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1	Autorização para pesquisa	38
4.2	Campo	39
4.2.1	<u> Campanha amostral e estações de coleta</u>	39
4.2.2	<u> Amostragem sedimento</u>	41
4.2.3	<u> Goniopsis cruentata</u>	41
4.2.4	<u> Dados físico-químicos</u>	42
4.3	Laboratório	43
4.3.1	<u> Granulometria</u>	43
4.3.2	<u> Ensaio de genotoxicidade (Micronúcleo)</u>	44
4.3.3	<u> Manipulação sedimento</u>	45
4.3.4	<u> Extração orgânica</u>	46
4.3.5	<u> Teste de mutagenicidade e sobrevivência celular</u>	46
4.4	Caracterizações químicas	48
4.4.1	<u> Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos</u>	48
4.4.2	<u> Metais</u>	49

5	RESULTADOS	53
5.1	Granulometria	53
5.2	Dados físico-químicos	53
5.3	Micronúcleo	55
5.4	Mutagenicidade: extratos orgânicos	56
5.4.1	<u>Primavera I</u>	56
5.4.2	<u>Verão</u>	62
5.4.3	<u>Outono</u>	68
5.4.4	<u>Primavera II</u>	74
6	DISCUSSÃO	80
6.1	Do objeto de estudo	80
6.2	Granulometria	81
6.3	Dados físico-químicos	82
6.4	Micronúcleo	84
6.5	Extrações	85
6.6	Mutagenicidade: extratos orgânicos	86
7	CONCLUSÕES	90
	REFERÊNCIAS	91
	APÊNDICE A - Tabela 9: campanha Primavera I.....	102
	APÊNDICE B - Tabela 10: campanha Verão.....	105
	APÊNDICE C - Tabela 11: campanha Outono.....	108
	APÊNDICE D - Tabela 12: campanha Primavera II.....	111
	ANEXO A - Autorização Sisbio/ Ibama.....	114
	ANEXO B - Autorização Inea.....	117
	ANEXO C - Parecer técnico Reserva Ecológica da Juatinga.....	119
	ANEXO D - Certificado Comitê de Ética.....	120

INTRODUÇÃO

A legislação ambiental brasileira é antiga, mas bastante consistente e vem evoluindo nos últimos dez anos através da Lei de Resíduos Sólidos, de Recursos Hídricos, entre outras. De acordo com a Resolução CONAMA 420/09, valores de referência de qualidade para solos e sedimentos devem ser estabelecidos em cada Estado até 2013. Embora esta normativa não se aplique diretamente em áreas de solos submersos no meio aquático marinho e estuarino, existe uma tendência para apropriado monitoramento desses ambientes. Isto se dá diante do incremento da exploração de petróleo e das atividades portuárias, processos que demandam conhecimento para preservação e remediação de acidentes com vazamento de óleo, por exemplo.

É importante a determinação de parâmetros específicos para saber a partir de que momento e/ou o quanto determinada área está contaminada. Contudo, técnicas individuais de quantificação de substâncias químicas ou a avaliação de danos em determinado organismo, por exemplo, podem ser muito relativos diante das diferentes metodologias utilizadas e características geoquímicas únicas de cada região. Estes são fatores que podem levar a uma interpretação equivocada sobre os riscos potenciais para o ecossistema. A utilização de biomarcadores moleculares, aliada a quantificações químicas vem auxiliando na identificação de diferentes tipos de danos, inclusive através de testes preditivos.

Os manguezais são áreas dinâmicas complexas capazes de reter, por exemplo, contaminantes metálicos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em seus sedimentos. Essas áreas costeiras são importantes por exercerem uma barreira aos poluentes, serem únicas nos papéis ecológicos que desempenham e possuírem valor econômico direto. Diante da relevância em se fazer um registro pré-impacto do cenário físico-químico dos sedimentos e efeitos adversos na biota, como o potencial mutagênico, esta dissertação foi realizada na Baía de Ilha Grande, especificamente no Saco do Mamanguá (Parati/RJ).

1 MUTAGÊNESE AMBIENTAL

1.1 Ecotoxicologia e mutagênese ambiental

A contaminação de compartimentos ambientais é atualmente um problema global e que demanda pesquisas para avaliar os efeitos adversos nos organismos e nos ecossistemas. O monitoramento das alterações ambientais tem sido feito não apenas para a compreensão das implicações e consequências de várias atividades antropogênicas, mas também de oscilações, mudanças e interações naturais que um sistema biológico dinâmico possui. Esse monitoramento pode ser realizado através da análise de importantes compartimentos como ar, água, organismos vivos, solo e sedimento.

Agentes xenobióticos provindos de atividades antrópicas têm contribuído expressivamente nos impactos sofridos pelo ambiente (Ghiselli & Jardim, 2007). Tais agentes, ao interagirem com as células, podem ser capazes de induzir lesões em macromoléculas (Griffiths *et al.*, 2002). Sedimentos contaminados com substâncias mutagênicas constituem um exemplo de como o ambiente pode representar risco para toda a biota, incluindo a formação de adutos, quebras e sítios álcali-lábeis no DNA, micronúcleos e aberrações cromossômicas, podendo culminar em processos carcinogênicos (Chen & White, 2004).

Neste contexto a ecotoxicologia é uma ferramenta bastante utilizada, exigida na legislação mundial, que usa indicadores ambientais para contribuir com informações de caráter técnico e científico sobre o estado do ambiente. Para um adequado planejamento das políticas ambientais, principalmente devido às características únicas de cada região, existe ainda carência no conhecimento e aplicação de dados básicos.

Um desafio consiste no fato de que muitos poluentes são relativamente estáveis por períodos longos, sendo que podem persistir e/ou bioacumular no sistema. Como as atividades genotóxica ou cancerígenas só podem ser detectadas ao longo de vários anos de exposição, tornam-se necessárias ações de diagnóstico prévio como ação de prevenção a poluentes ambientais (Vargas *et al.*, 2004). Mesmo assim, problemas de desequilíbrio genético, redução de fertilidade e prejuízo à saúde humana vêm sendo cada vez mais detectados nas populações, que são dependentes da variabilidade gênica para evoluir, mas possuem um limite de suporte e correção de danos gerados a partir de contaminantes sintéticos.

Desde o início da década de 90 já era relatada a falta de atenção dedicada à caracterização de compostos mutagênicos em sedimentos, quando comparado com água

potável, residual, industrial ou de efluentes urbanos (Grifoll *et al.*, 1990). Hoje, mesmo com um considerável aumento no número de publicações, solos e sedimentos ainda compõem o compartimento menos estudado, tanto para caracterização química de substâncias tóxicas, quanto para a área específica da mutagênese ambiental. Nesta área, os estudos mais recentes demandaram principalmente pesquisas em ambientes de água doce, como rios, lagos, riachos e córregos, normalmente utilizados “diretamente” para consumo humano (De Flora *et al.*, 2002; Horn *et al.*, 2004; Lemos *et al.* 2009). Com relação a sedimentos marinhos as publicações relatam os potenciais danos tóxicos de hidrocarbonetos de origem petrogênica (Grant & Briggs, 2002) fruto do crescimento da exploração de petróleo e atividades industriais nas áreas costeiras, ambientes peculiares por apresentarem maior densidade populacional humana e menor circulação direta de águas (Martinez-Gomes *et al.*, 2010).

Desta forma, o monitoramento de ambientes baseado em biomarcadores requer de início uma comparação entre as respostas obtidas nos locais alterados e aquelas obtidas nos locais onde não haja ocorrência das fontes poluentes. A tendência atual do biomonitoramento alia a quantificação de poluentes, por exemplo, dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), à aplicação de técnicas sensíveis baseadas nestes biomarcadores para avaliação dos efeitos dos poluentes nos organismos aquáticos. A definição da classe de compostos responsáveis pela contaminação genotóxica de amostras complexas como é o caso das ambientais, é uma tarefa com múltiplas abordagens. Diante desta complexidade, o fracionamento químico, de acordo com as propriedades ácido-base ou polaridade de produtos químicos tem sido utilizado em associação com bioensaios, especialmente o ensaio *Salmonella*/microssoma, a fim de correlacionar mutagenicidade e composição química (Vargas *et al.*, 2001).

1.2 Manguezal

Manguezal é um ecossistema costeiro que ocorre em regiões tropicais e subtropicais do mundo ocupando as áreas entremarés (Soares *et al.*, 2003). Em geral, os manguezais estão associados às margens de baías, enseadas, desembocaduras de rios, lagunas e reentrâncias costeiras, onde ocorre o encontro da água do rio com a água do mar, ou diretamente exposto à linha de costa (Lacerda, 2006). São ecossistemas complexos, com formações florestais sujeitas aos regimes de marés e adaptadas a condições específicas e peculiares como inundações e variações de salinidade. Caracterizam-se por altas taxas de produtividade primária, que é originária dos fluxos externos de materiais e energia a que estão sujeitos,

utilizando a energia e materiais de um dado ambiente para convertê-los em uma diversidade de produtos e serviços, muitos dos quais têm valor econômico imediato.

O melhor local para o desenvolvimento de um manguezal é a área que vai do trópico de Câncer ao trópico de Capricórnio, conhecida como faixa intertropical, onde ocupa cerca de 75% da área do planeta, ao longo dos litorais e das ilhas (Schaeffer-Novelli & Cintrón, 1986). Segundo Walsh (1974), a ocorrência e o melhor desenvolvimento de bosques de mangue se dá em regiões onde a temperatura média do mês mais frio é superior a 20°C e a amplitude térmica anual inferior a 5°C, em substrato aluvial (lamoso), em ambientes costeiros abrigados, com presença de água salgada e submetidas a grande amplitude de marés. Apesar das características anteriormente descritas determinarem a ocorrência dos manguezais ao longo das regiões costeiras, as características em termos estruturais e funcionais podem ser extremamente variáveis. O modelo de "assinatura energética" (Lugo & Snedaker, 1974) demonstra que o manguezal possui seu desenvolvimento estrutural controlado por forças subsidiárias como energia solar, aporte de água doce e de nutrientes e energia das marés. Sendo assim, os fatores de ocorrência, numa escala global, estão intimamente relacionados com a interação de fatores em escala regional ("assinatura energética") e fatores em escala local associados à frequência de inundação pelas marés (Soares *et al.*, 2003). Por possuir muita matéria orgânica (MO) em decomposição, o solo dos manguezais exala odor intenso, possui coloração escura e a quantidade de oxigênio é bastante reduzida (Souza-Junior *et al.*, 2007).

Dados da FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*) estimaram, em 2008, uma perda de 20% da área de mangue mundial, no período de 1980-2005, sendo as causas principais a pressão demográfica, a conversão em larga escala de áreas de mangue para carcinicultura, piscicultura e agricultura, infra-estrutura e turismo, bem como a poluição e os desastres naturais (FAO, 2008). Reforçando estes dados, Giri *et al.* (2010) identificaram que cerca de 35% dos manguezais do mundo foram perdidos entre 1980-2000, e as florestas vêm diminuindo a um ritmo mais rápido do que as florestas tropicais e os recifes de corais. Este mesmo estudo aponta para previsões que sugerem que de 30-40% das zonas úmidas costeiras e 100% das florestas de mangue (Duke *et al.*, 2007) poderiam se perder nos próximos 100 anos se o ritmo atual de perda continuar (Giri *et al.*, 2010). Tecnicamente, o desmatamento de manguezais é tido como uma das principais razões para a diminuição da pesca costeira de muitos países tropicais e subtropicais (Holguin *et al.*, 2001).

No Brasil, os manguezais estão distribuídos em quase todo o litoral, do Amapá a Santa Catarina (Schaeffer-Novelli & Cintrón, 1999), e abrangem uma área de 962.683 Km², o que

representa 7% do total mundial (Giri *et al.*, 2010). Diante da tendência em expandir o conhecimento e consequentemente sua proteção, nos últimos anos tem sido dada maior atenção à conservação dos manguezais. Muito embora já se saiba dos principais papéis que os manguezais desempenham, existem algumas importantes lacunas que demandam mais pesquisas, a fim de conectar informações de diferentes áreas em benefício de todo o sistema.

Entre as principais funções que o manguezal desempenha, destacam-se, segundo Soares (1997):

- Fonte de detritos (matéria orgânica) para as águas costeiras adjacentes, constituindo a base de cadeias tróficas de espécies de importância econômica e/ou ecológica;
- Área de abrigo, reprodução, desenvolvimento e alimentação de espécies marinhas, estuarinas, límnicas e terrestres;
- Pontos de pouso (alimentação e repouso) para diversas espécies de aves migratórias, ao longo de suas rotas de migração;
- Manutenção da diversidade biológica da região costeira;
- Proteção da linha de costa, evitando erosão da mesma e assoreamento dos corpos d'água adjacentes;
- Controle de vazão, e prevenção de inundações e proteção contra tempestades;
- Fonte de recreação e lazer, associado a seu alto valor cênico;
- Fonte de alimento e produtos diversos, associados à subsistência de comunidades tradicionais que vivem em áreas vizinhas aos manguezais e;
- Absorção e imobilização de produtos químicos (por exemplo, metais pesados), filtro de poluentes em sedimentos, além de tratamento de esgotos em seus diferentes níveis;

Vale ressaltar que tem sido amplamente pressuposto que os manguezais exercem uma proteção física contra eventos extremos tais como tempestades, furacões e tsunamis. Recentes estudos de caso confirmaram esta função, demonstrando que estruturas construídas atrás dos manguezais foram significativamente menos danificadas do que suas contrapartes desprotegidas ao longo da costa de Tamil Nadu diante do tsunami que assolou o Oceano Índico em 2004 (Alongi, 2007; Sanford, 2009). Ainda, os manguezais, incluindo os solos associados, poderiam seqüestrar aproximadamente 22,8 milhões de toneladas de carbono por ano. Cobrindo apenas 0,1% da superfície continental da Terra, as florestas de mangu

respondem por 11% da entrada total de carbono terrestre no oceano e 10% do carbono orgânico dissolvido terrestre exportado para o oceano (Giri *et al.*, 2010).

As florestas de mangue possuem características específicas que tornam esse ecossistema funcional e estruturalmente único. Adaptações fisiológicas e morfológicas, por exemplo, se unem em eficientes mecanismos que se especializaram para sobrevivência sob rigorosas condições ambientais de presença de água salgada, substrato não consolidado e pouco oxigenado e frequentes inundações pelas marés. Mesmo possuindo poucas espécies vegetais típicas, por exemplo, os manguezais são responsáveis pela manutenção de uma enorme biodiversidade de espécies que dependem do sistema de alguma forma.

Diante deste suporte á condições adversas, as espécies possuem rápido crescimento de copa. As raízes desenvolveram mecanismo de absorção de nutrientes e água, resistindo até mesmo a ambientes hipersalinos (Alongi, 2002). A morfologia foliar também é peculiar, apresentando, por exemplo, glândulas de sal, capazes de secretar o excesso a que estão submetidas. Os mecanismos de reprodução, a forma e a estrutura das sementes, também estão adaptadas para dispersão dos propágulos pelas correntes controladas pelas marés (Tomlinson, 1986).

A comunidade microbiana, não só por representar a forma de vida mais diversificada e abundante do planeta (Whitman *et al.*, 1998), é fundamental para a estrutura trófica na ciclagem de nutrientes, fluxo de energia e material vegetal produzido pela floresta para os organismos detritívoros. É estabelecida a importância das bactérias reductoras de sulfato na oxidação do carbono orgânico em sedimentos marinhos, uma vez que o sulfato é um dos principais aceptores de elétrons presentes neste ambiente (Liang *et al.*, 2007). A redução de sulfato também pode ser uma importante via de mineralização da MO em depósitos orgânicos ricos típicos de florestas de mangue (Alongi *et al.*, 1998). Muitas bactérias simbiontes oxidantes de enxofre estão relacionadas a detoxificação de sulfeto nos sedimentos.

Em manguezais tropicais, bactérias e fungos representam 91% da biomassa microbiana, considerando que algas e protozoários representam apenas 7% e 2%, respectivamente. Vários gêneros de bactérias já foram isolados dos sedimentos, rizosfera e superfícies de raízes de espécies de manguezais, bem como representantes da ordem Actinomycetales, importantes produtores de fármacos, por exemplo (Dias, 2008). Estudos também vêm relacionando que a alta ocorrência de bactérias resistentes a antibióticos pode estar ligada a eventos de contaminação nos manguezais (antibacterianos usados no cultivo de camarões e peixes). Uma diversificada e especializada comunidade microbiana procariótica e

eucariótica degrada HPA no solo, mas, por serem removidas lentamente e diante de grandes contaminações não possuem capacidade para dissipá-los.

Denominados animais símbolo do manguezal, os caranguejos apresentam a maior variedade de espécies entre os invertebrados (Nanni & Nanni, 2005). Em termos de alimentação, as espécies de caranguejo com maior representatividade no Brasil são: *Ucides cordatus* (“caranguejo-uçá”), *Cardisoma guanhumi* (“guaiamum”) e *Goniopsis cruentata* (“aratu-do-mangue”). *U. cordatus* é uma espécie ocorrente em manguezais desde a Florida (USA) até Santa Catarina, no sul do Brasil. Diante do tamanho que atinge na fase adulta, é importante no consumo humano e economia local, além de ter se mostrado bom bioindicador de contaminação por HPA em sedimento de mangue através de análises de metabólitos da urina e micronúcleos em hemócitos (Wagener *et al.*, 2010). *C. guanhumi* é um caranguejo terrestre e grande que habita as regiões tropicais e subtropicais ocidentais do mundo, e também vem sendo explorado, juntamente com peixes e bivalves, como bioindicador para contaminação de sedimento de manguezais por metais. Molisani *et al.* (2004), ao fazer caracterização de mudanças ambientais na Baía de Sepetiba (RJ), importante região diante da ocupação humana e industrial, verificaram que *C. guanhumi* apresentou concentrações de Cd e Zn superiores ao máximo permitido.

Conhecido popularmente no Nordeste do Brasil como “aratu” e no Sudeste como “maria mulata”, *G. cruentata* pertence à família Grapsidae (subfamília Grapsinae) e é encontrado ao longo da costa oeste da África, no Pacífico Americano e no Atlântico Ocidental, desde as Bermudas, Flórida, Golfo do México, Antilhas, Guianas, até o território brasileiro, do estado do Pará até as proximidades de Santa Catarina (Melo, 1996). Embora se reconheça a importância socioeconômica da captura de *G. cruentata* em todo o Brasil, pouco se conhece sobre a estrutura populacional e outros aspectos biológicos dessa espécie (Botelho *et al.*, 2004; Maciel & Alves, 2009), bem como o potencial da espécie como bioindicador ambiental em estudos de genotoxicidade, por exemplo.

A retenção e a ciclagem de poluentes em ecossistemas de manguezal têm sido reconhecidas como importantes aspectos funcionais desses ambientes, reduzindo efeitos potencialmente deletérios para o ambiente (como eutrofização da coluna d’água por um excesso de nutrientes e a incorporação de metais pesados pelos organismos presentes) (Machado, 2000). Neste contexto, os manguezais podem reter, por exemplo, contaminantes metálicos em seus sedimentos.

Quanto à salinidade, que traduz o teor de sais dissolvidos ou em suspensão em uma determinada porção de água, podem ser destacados os seguintes componentes: cloretos de

sódio, magnésio e cálcio, sulfatos de magnésio, potássio e cálcio e carbonatos e nitratos de cálcio e magnésio (CONAMA, 1986). A salinidade é controlada por fatores de diluição e de concentração de sais, dentre os quais a maré e o clima são fundamentais. Assim, em climas úmidos a salinidade diminui para o interior, sendo maior nas franjas do mangue, onde as marés funcionam como fonte de sais e no interior o excesso de chuvas como diluidor de sais. Já em climas secos ou sazonalmente secos, as salinidades aumentam para o interior, onde o déficit hídrico associado a pouca lavagem pelas marés contribui para a concentração de sais. Já na franja, a frequente lavagem pelas marés impede concentração de sais (Soares, 2011)[comunicação pessoal].

Os teores de oxigênio nas águas dos canais responsáveis pela inundação em geral obedecem a um padrão decrescente desde a área próxima à baía até a parte superior do manguezal (Wetler, 2006). Um grande número de poluentes orgânicos pode ser mineralizado ou transformado por microrganismos que crescem na presença de sal (Margesin & Schinner, 2001). Existe uma relação inversamente proporcional entre a concentração de sais e a solubilidade de HPA (Whitehouse, 1984). Segundo Brunk *et al.* (1997), a salinidade aumenta a adsorção dos poluentes ao sedimento estuarino, fazendo com que os poluentes hidrofóbicos se concentrem na região estuarina.

Esse importante ecossistema compõe as Áreas de Preservação Permanente, protegidas por Leis nas esferas Federais (Lei Federal nº 4.771/65; Resolução CONAMA 369/2006) e Estaduais (Art.268, Cap.VIII da Constituição Estadual). Entretanto, como estão sob forte influência de atividades humanas, a ação de tensores e distúrbios é um problema iminente para essas dinâmicas áreas caracterizadas como “berçários naturais”.

1.3 Sedimento

Compondo os diferentes compartimentos ambientais existentes, juntamente com biosfera, hidrosfera, atmosfera e litosfera, o sedimento se destaca dentro do sistema de transferência e transformação de elementos que constituem a Terra. É o compartimento que recicla compostos envolvendo processos biológicos (bioturbação, ação de bactérias oxidantes e redutoras, entre outros), físico-químicos (adsorção, dessorção), químicos (precipitação, oxidação, redução, complexação) e processos de transporte (difusão, advecção) (Baumgarten *et al.*, 2001).

Sedimento é o resultado da deposição de detritos de rochas, ou do acúmulo de detritos orgânicos ou da precipitação química. Os sedimentos de origem clástica ou detrítica ocorrem

por meio de fragmentação de rochas, que são principalmente as eruptivas (também chamadas magmáticas ou ígneas), que são produzidas pelo resfriamento do material ígneo do interior da terra, ou metamórficas, que são produzidas pela transformação de rochas preexistentes. A origem orgânica dá-se pela ação dos seres vivos, vegetais e animais, formando os detritos orgânicos que vão sendo depositados. Os sedimentos de origem química acontecem pela precipitação, dissolução e/ou pela ação coloidal (Guerra & Guerra, 2001; Mendonça, 2006). Quanto à origem podem ser autóctones ou alóctones. Os sedimentos de origem autóctone, conhecidos como turfa, são formados a partir de resíduos de origem vegetal e animal. Os sedimentos de origem alóctone são formados por areias finas de origem marinha, argila de origem terrestre ou silte trazidos pela ação das ondas, ventos, correntes marítimas ou fluxo de rios (Schaeffer-Novelli *et al.*, 2001).

O sedimento é representado por uma matriz inorgânica, definida como inerte, porém onde acontecem reações de adsorção de múltiplas características, coberta por substâncias orgânicas e por uma série de compostos inorgânicos e orgânicos co-precipitados ou, de qualquer modo, ligados. A idéia que devemos ter do sedimento é a de um núcleo inicial de baixa reatividade, como uma partícula de argila, sobre o qual se forma uma primeira camada de material por causa da precipitação ou adsorção de espécies químicas provenientes da água sobrejacente. Esse processo é progressivo (diagênese) no plano molecular e não necessariamente impede o contato da água com as camadas mais profundas. As primeiras camadas depositadas podem interagir para a biodisponibilidade dos compostos, mesmo que, com influencia menor que as camadas mais superficiais (Mendonça, 2006).

A saturação da água implica em dois tipos de água nas cinéticas ambientais: a intersticial e a superficial. A intersticial está intimamente ligada ao grão de sedimento por meio de ligações energeticamente fortes. Está, portanto, muito pouco disponível, quando se consideram somente os mecanismos de troca que ocorrem na interface sedimento/água, mas pode ser extraída por centrifugação, extração com seringa, compressão e diálise do sedimento (Ankley & Schubauer-Berigan, 1994). São, geralmente, muito mais concentradas que as águas superficiais.

Os ambientes marinhos costeiros e estuarinos possuem sedimentos formados por materiais detríticos inorgânicos, que são compostos principalmente por minerais silicatos, como quartzos, feldspatos, micas, piroxênios, anfibólios, e minerais de argila, e em menores quantidades, óxidos metálicos e sulfetos. Em algumas áreas costeiras, os minerais carbonáticos (ou carbonáceos) podem representar o principal componente desses sedimentos (Mabessone, 1983).

As condições de pH (potencial hidrogeniônico), Eh (potencial de óxido-redução), concentração de ânions e quantidade de MO, de maneira geral, determinam a natureza das espécies de metais e sua distribuição nos ambientes aquáticos (Hypolito *et al.*, 2005). O Eh corresponde a uma medida da intensidade e sentido das reações de oxidação-redução do sistema, que assim como outras variáveis químicas do solo, também podem ser modificados pela presença de raízes de plantas. Alguns desses parâmetros refletem, complexamente, a interação de fatores bióticos e abióticos.

Os sedimentos interagem continuamente com a água sobrejacente de modo particular, tanto que são capazes de condicionar o estado de qualidade da água. A maior parte dos contaminantes que entram no sistema aquático se depositam e se acumulam no sedimento de fundo. Eles são o destino final de todos os processos que acontecem no ar, na água e no solo, e possuem a capacidade de acumular as baixas concentrações dos elementos presentes na água. Segundo Förstner *et al.* (1995), menos de 1% das substâncias que atingem um sistema aquático são dissolvidas em água e, conseqüentemente, mais de 99% são estocadas no compartimento sedimentar.

Normalmente, são encontrados no sedimento cinco tipos principais de substâncias que podem ser poluentes: nutrientes (fósforo e compostos nitrogenados, como amônia, por exemplo), “Bulk Organics” (classe de hidrocarbonetos que inclui óleos e graxas), hidrocarbonetos halogenados ou orgânicos persistentes (DDT e PCBs estão nesta categoria), HPA e, os metais (ferro, manganês, chumbo, cádmio, zinco, mercúrio) e semimetais, (arsênio e selênio) (USEPA, 2010).

A qualidade do solo pode ser afetada por três processos de degradação: química (substâncias tóxicas), física (erosão, água, vento e compactação) e biológica (diminuição da biodiversidade). A propriedade do solo em armazenar compostos químicos tóxicos está relacionada com sua capacidade tampão. Esta é resultado de equilíbrios químicos que se estabelecem entre os poluentes e os componentes do solo (gases, soluções e substâncias minerais e orgânicas). A permeabilidade torna-se um dos principais indicadores de qualidade física, pois é ela quem determina o volume de água que pode ser armazenado, os movimentos da água, do ar, dos elementos nutritivos, além de influenciar também na profundidade das raízes das plantas.

A presença de diversos contaminantes nos sedimentos de ambientes aquáticos representa um potencial latente de degradação continuada desses ambientes, mesmo que a coluna de água e a própria biota não apresentem concentrações acima daquelas estabelecidas

pelas legislações vigentes. Além disso, os sedimentos também podem ser usados para registrar a história da poluição de um ecossistema aquático (Lacerda, 1998).

1.4 Substâncias Orgânicas

A MO no solo desempenha um papel de suma importância do ponto de vista químico, físico e biológico. A sua origem, as transformações no solo, a composição química e suas diferentes funções vêm sendo objeto de muitos estudos. A solubilidade destes elementos os caracteriza como compostos orgânicos polares, apolares e moderadamente polares.

Os compostos orgânicos apolares são praticamente insolúveis em água e tendem a se dissolver em outros compostos orgânicos apolares (semelhante tende a dissolver semelhante). Por outro lado, os compostos orgânicos polares são, portanto, solúveis em água, como açúcar, álcool comum, ácido acético, éter comum etc. As ligações mais frequentes envolvendo os compostos orgânicos acontecem entre átomos de carbono e hidrogênio. Nesse caso, como a atração exercida sobre os elétrons é praticamente a mesma, não ocorre acúmulo de cargas elétricas (pólos). Portanto, essas ligações são apolares, originando compostos apolares. Quando, na molécula de um composto orgânico existe outro elemento químico além de carbono e hidrogênio, suas moléculas poderão apresentar certa polaridade (Figura 1).

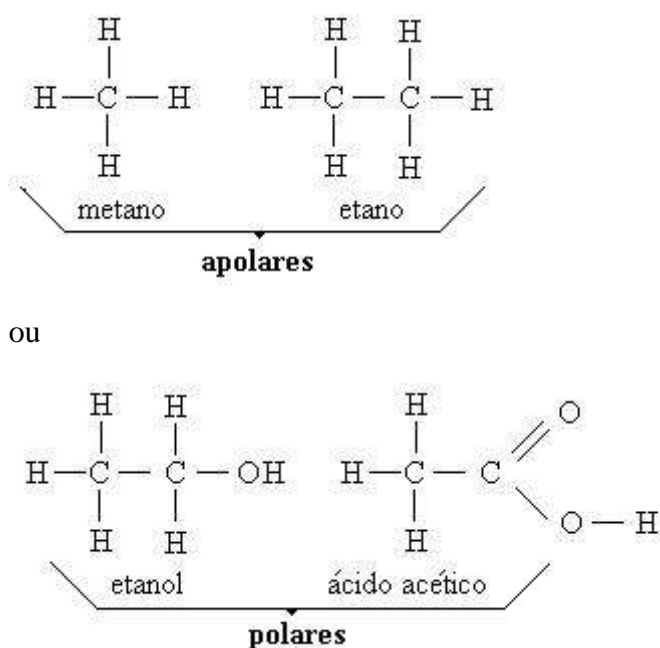


Figura 1: Exemplo de estruturas moleculares de compostos apolares e polares.

Muitas estruturas minerais são polares e mostram na camada livre, que está em contato com a água, grupos de hidroxila ou átomos de oxigênio. Estas favorecem a formação de ligações com hidrogênio, particularmente com moléculas de água líquida. Então, pode-se esperar que na camada limite da superfície mineral, uma camada de moléculas esteja fortemente ligada à estrutura mineral. Compostos orgânicos apolares encontram-se em condição desfavorável no que diz respeito à adsorção. O alto conteúdo energético necessário para ultrapassar a barreira de moléculas de água na superfície da matriz mineral desfavorece a aproximação, mesmo em condições de fugacidade favoráveis.

Na maioria dos ecossistemas aquáticos, a principal fonte de MO primária é a produção fotossintética da comunidade fitoplanctônica (Meyers & Ishiwatari, 1997), seguida da contribuição de detritos de MO de origem terrestre. Em condições aeróbicas, a oxidação da MO pela ação bacteriana ocorre utilizando o oxigênio comoceptor de elétrons. Já em ambientes redutores, condição comum no manguezal, essa degradação é feita por bactérias anaeróbicas, que podem utilizar várias substâncias comoceptoras finais de elétrons, dependendo das condições do meio. Nas camadas mais superficiais do sedimento anaeróbico ocorre redução de nitrato e óxidos e hidróxidos de ferro e manganês, enquanto que em zonas mais profundas observa-se uma camada sulfato-redutora seguido de uma camada carbono-redutora (Goldhaber, 2003).

O conteúdo de carbono orgânico nos sedimentos superficiais depende de fatores como: características granulométricas, produtividade da coluna d'água, taxa de degradação microbiana e condições oceanográficas locais. A maioria das bacias oceânicas, principalmente as de mares abertos, é caracterizada pela baixa concentração de carbono orgânico, enquanto que os sedimentos próximos à costa são geralmente enriquecidos deste constituinte (Barcellos, 2005). Nos oceanos, as concentrações de nitrogênio aumentam em direção às áreas costeiras, principalmente em regiões de ressurgência (Meyers *et al.*, 1993; Nestor Filho, 2009).

Entre as frações orgânicas encontradas nos sedimentos, os ácidos húmicos (AH) são os que representam grande parte da MO (aproximadamente 50%). Constituem-se na substância orgânica que liga diretamente os compostos químicos apolares à estrutura inorgânica da matriz sólida. AH quando associados ao sedimento nos corpos de água oferecem um meio relativamente apolar, no qual compostos hidrofóbicos podem se inserir sem ter que competir com moléculas de água.

Os AH representam o produto da biodegradação da MO da madeira e que se formam em várias fases da degradação. O objetivo final é a mineralização total da MO a carbono

(tempos geológicos longos). São formados por 40% de carbono e também hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. Particularmente importante é a presença de grupos funcionais nos ácidos húmicos – isso significa que, mesmo não existindo a polaridade da água, eles podem formar ligações de hidrogênio e são dotados de uma elevada capacidade ligante. Apenas a distribuição dos pesos moleculares é diferente: frações de baixo peso molecular são geralmente mais reativas que as de elevado peso molecular.

1.4.1 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Os HPA compreendem uma classe de compostos orgânicos que contêm carbono e hidrogênio combinados em dois ou mais anéis aromáticos condensados, podendo haver ou não substituição, e são provenientes da pirólise ou combustão incompleta da matéria orgânica (Wang *et al.*, 2004). Podem ser naturalmente formados por processos geoquímicos de longa duração ou quimicamente sintetizados. Uma das principais fontes de HPA são os óleos e combustíveis fósseis, largamente utilizados atualmente. As propriedades químicas dos HPA são dependentes em parte do tamanho da molécula, isto é, do número de anéis aromáticos, da configuração da molécula e de possíveis substituições, como grupos alquil, nitro ou aminos. Geralmente, o aumento no tamanho e na angulação na molécula resulta no aumento da hidrofobicidade e estabilidade eletroquímica do HPA.

Esses compostos orgânicos possuem estruturas relativamente simples (plana e altamente conjugada) e inertes, porém são classificados como compostos químicos mutagênicos e carcinogênicos (Tucker *et al.*, 1991; Nesnowa *et al.*, 1995). Como são componentes de diversos combustíveis e de uma grande variedade de outros compostos e possuem menor suscetibilidade à degradação no meio ambiente, constituem uma classe de marcadores geoquímicos ambientais extensamente utilizada (Miranda, 2008).

Os hidrocarbonetos são compostos químicos apolares (hidrófobos), o que limita sua solubilidade na água do mar, favorecendo a tendência de associação a partículas sólidas (Queiroz *et al.*, 2005). A relevância dos sedimentos como “depósitos” de HPA têm sido amplamente documentados na literatura, tornando este compartimento adequado para o estudo de HPA (Meniconi, 2007).

Com base no peso molecular, os HPA podem ser divididos em dois grupos: aqueles com baixos pesos moleculares que possuem dois ou três anéis aromáticos e os de altos pesos moleculares, compostos por quatro a seis ou sete anéis aromáticos. Os HPA de baixo peso molecular têm um significado de toxicidade aguda, onde o conhecimento sobre suas fontes,

comportamento e distribuição no meio ambiente é um dos requisitos essenciais para um melhor controle das atividades humanas responsáveis pela contaminação e poluição ambiental, podendo influenciar a tomada de decisão quanto à limpeza e remediação dos locais considerados contaminados (Queiroz *et al.*, 2005).

HPA tornaram-se de grande importância, pois estes compostos podem estar disponíveis aos organismos ao longo de todo seu ciclo geoquímico no ambiente. O aumento no interesse pela contaminação do meio ambiente por HPA nos últimos 30 anos é inicialmente devido às suas características de resistência a biodegradação microbológica e persistência, resultando na acumulação de compostos tóxicos nas cadeias alimentares. A natureza tóxica destes compostos pode desencadear atividades mutagênicas causando danos genéticos e problemas de saúde humana como, por exemplo, o câncer (Liu *et al.*, 2001). Os compostos aromáticos mais solúveis penetram na corrente sanguínea a partir da pele ou da ingestão, podendo ser filtrados pelo sistema excretor e eliminados na urina. Alguns HPA têm capacidade de causar danos nas células sanguíneas, nos tecidos ósseos (medula óssea) e no sistema nervoso. Causam irritações e dermatite na pele, mucosas e olhos (CETESB, 2009).

Os organismos que vivem na região entremarés estão mais expostos aos HPA que os que vivem em águas profundas face ao maior número de fontes destes compostos. Organismos fixos filtrantes (mexilhões, ostras) tendem a bioacumular em seus tecidos, assim como os invertebrados bênticos, que podem transferi-los aos organismos da cadeia trófica imediatamente acima deles, porém esta transferência é interrompida pelos organismos marinhos vertebrados. Nesses níveis tróficos superiores, os HPA são metabolizados por estes organismos, secretados na bile e excretados no trato alimentar (NOAA, 1993, 2008; Meniconi, 2007).

Os HPA encontrados em amostras ambientais podem ser de origem biogênica (fontes naturais) ou antrópicas, introduzidas pelo homem. A quantidade de HPA proveniente de processos naturais é geralmente baixa quando comparada com os de origem petrogênica. As fontes biogênicas incluem os processos de biossíntese em plantas, erupções vulcânicas, combustão natural de florestas e exsudação natural de petróleo (Baek *et al.*, 1991).

Diante do exposto acima, USEPA tem listado 16 HPA como poluentes prioritários para remediação nos diferentes tipos de ambientes (sedimento, água, solo e biota). A tabela 1 mostra algumas informações toxicológicas sobre esses compostos segundo a EPA.

Tabela 1: HPA prioritários em termos de conservação ambiental e sua classificação quanto à atividade carcinogênica.

Substância	CAS	Atividade carcinogênica		
		IARC	EPA	ABNT
Naftaleno	91-20-3	2B	P	NM
Acenaftileno	208-96-8	-	P	NM
Acnafteno	83-32-9	3	P	NM
Fluoreno	86-73-7	3	P	NM
Fenantreno	85-01-8	3	P	NM
Antraceno	120-12-7	3	P	NM
Fluoranteno	206-44-0	3	P	CP
Pireno	129-00-0	3	P	NM
Benzo (a) antraceno	56-55-3	2B	P	CP
Criseno	218-01-9	2B	P	CP
Benzo (b) fluoranteno	205-99-2	2B	P	CP
Benzo (k) fluoranteno	207-08-9	2B	P	NM
Benzo (a) pireno	50-32-8	1	P	CP
Indeno (1,2,3-cd) pireno	193-39-5	2B	P	CP
Dibenzo (a,h) antraceno	53-70-3	2A	P	CP
Benzo (g,h,i) perileno	191-24-2	3	P	NM

CAS: Chemical Abstract Number; IARC: International Agency for Research on cancer; EPA: Environmental Protection Agency; ABNT: Associação brasileira de Normas Técnicas (NBR 10.004); 2A=provável carcinógeno para humanos - limitada evidencia em humanos e suficiente em animais; 2B=provável carcinógeno para humanos - limitada evidencia e humanos e insuficiente em animais; 3=não carcinógeno para humanos; P=prioritários; CP=confere periculosidade; NM=não mencionado.

1.5 Substâncias inorgânicas

1.5.1 Metais

Em ambientes aquáticos, uma grande proporção dos íons metálicos e semimetálicos estão incorporadas aos sedimentos de fundo (Lacerda, 1998). É muito importante distinguir íons metálicos naturalmente presentes no sedimento daqueles provenientes de uma contaminação não natural (chumbo proveniente de efluentes industriais, por exemplo). Além disso, em termos ambientais, é mais importante conhecer a fração biodisponível - quanto do metal pode ser efetivamente levado do compartimento abiótico para o biótico - do que a concentração total de um determinado elemento ou da soma deles.

A mobilidade e o comportamento dos íons metálicos nos diversos compartimentos do ambiente dependem inicialmente da espécie química que o mesmo pode assumir (Salomons & Forstner, 1984), em especial o seu estado de oxidação. Outros parâmetros devem ser analisados, além da composição química (medições de pH, condutividade e Eh, por exemplo), por serem importantes na complexação de metais: conteúdo de MO, conteúdo de carbonato e mineralogia. Conforme exemplificado anteriormente, a presença de quelantes no ambiente também interfere na solubilidade dos metais, assim como íons orgânicos que podem formar precipitados diminuindo a disponibilidade desses elementos para a biota.

Os elementos traço associados aos sedimentos são comumente classificados como residuais e não-residuais (Clark *et al.*, 1998). Os metais residuais são definidos como aqueles que fazem parte da matriz silicatada do sedimento e que se encontram principalmente na estrutura cristalina dos minerais. Já os metais traços não-residuais são incorporados aos sedimentos por processos, tais como adsorção, precipitação e complexação com substâncias orgânicas e inorgânicas. A fase não-residual dos metais inclui os metais “trocáveis” (fracamente adsorvidos ao material sedimentar), além dos metais associados aos carbonatos, a MO e sulfetos, bem como a óxidos e hidróxidos de ferro e manganês. É nesta fase que se incluem metais de origem antropogênica, que podem eventualmente repassar para o meio aquático através do processo de dessorção, solubilização e destruição de complexos (Pereira *et al.*, 2007).

Diversas características importantes favorecem a acumulação e a retenção de elementos traço nos sedimentos de manguezais, dentre as quais se destacam:

- i) Distribuição preferencial das florestas de mangue em áreas abrigadas, o que favorece a deposição de partículas finas de MO e de metais associados a essas partículas.
- ii) Condições quimicamente redutoras, mantidas pela decomposição microbiana da MO presente nos sedimentos. Nesse tipo de metabolismo, os microorganismos promovem a redução de íons sulfato a sulfeto, os quais promovem a precipitação dos metais pesados nos sedimentos na forma de polissulfetos, greigita, monossulfeto de ferro e pirita (Clark *et al.*, 1998; Lacerda, 1998).

Os metais pesados, em particular, são elementos químicos que ocorrem em ambientes naturais em baixas concentrações e são essenciais para os seres vivos, mas em quantidades excessivas podem ser tóxicos, mutagênicos, carcinogênicos e/ou agentes teratogênicos

(Vargas *et al.*, 2001). O manganês, um elemento traço essencial muito utilizado na indústria, é relativamente não tóxico para o organismo adulto (exceto para o cérebro), mas doses relativamente altas afetam a replicação e reparo do DNA em bactérias e provoca mutações em microorganismos e células de mamíferos, embora o teste de Ames não parece ser particularmente sensível ao manganês (Gerber *et al.*, 2002).

Uma pesquisa desenvolvida no estado de São Paulo, com amostras de água submetidas ao teste Cometa e teste do Micronúcleo utilizando eritrócitos de peixe, associou anormalidades nucleares a compostos de cromo genotóxicos. Entre outras relações, o maior dano observado ocorreu com a água de um local de descarga de efluentes de curtume contendo cromo. Ainda, na avaliação de mutagenicidade através do ensaio com células de raiz de cebola, as anormalidades cromossômicas observadas foram maiores para as amostras de água contendo os mais elevados níveis de cromo (Matsumoto *et al.*, 2006).

1.6 Valores de referência

Valores de referência para química do solo são atualmente solicitados para composição do Estudo de Impacto Ambiental (EIA) e Relatório de Impacto Ambiental (RIMA), previstos no artigo 225, § 1º, IV da Constituição Federal (CF/88). Eles são instrumentos importantes para aplicação dos princípios do desenvolvimento sustentável e da prevenção.

O Brasil, por não possuir ainda dados locais de referência e limites aceitáveis para compostos de potencial tóxico em solo/sedimento estabelecidos pelo órgão competente federal, utiliza frequentemente especificações fornecidas pelas agências norte americana (United States Environmental Protection Agency - USEPA) e canadense (Environment Canada - EC). Uma exceção é a CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo), que no ano de 2005 publicou “Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo”, contemplando diversas substâncias orgânicas e inorgânicas. A Tabela 2 apresenta algumas destas substâncias de interesse ambiental, avaliadas no referido estudo. Outros estados do Brasil como, por exemplo, Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Espírito Santo possuem somente padrões estabelecendo limites máximos de poluentes atmosféricos para ar ambiente (Resolução CONAMA Nº 03/90) e referentes à água de abastecimento público (potabilidade) e superficial (padrões de lançamentos de efluentes) com base na Resolução Nº 357/05 do CONAMA. O INEA, órgão público de gerenciamento ambiental do Estado do Rio de Janeiro, também aplica padrões CONAMA para lançamento de efluentes (sólidos, líquidos

e gasosos), que variam de acordo com a atividade poluidora. Entretanto, ainda não existe lista de referência para solo/sedimento, o que é proposto pela CONAMA 420/09, conforme detalharemos ainda neste capítulo.

Tabela 2: Valores orientadores para solo no estado de São Paulo

Substância	CAS	RQ (mg.Kg ⁻¹)	VP (mg.Kg ⁻¹)	VI (mg.Kg ⁻¹)
Inorgânicos				
Alumínio	7429-90-5	-	-	-
Cádmio	7440-48-4	<0,5	1,3	3
Chumbo	7440-43-9	17	72	180
Cobre	7440-50-8	35	60	200
Cromo	7440-47-3	40	75	150
Ferro	7439-89-6	-	-	-
Manganês	7439-96-5	-	-	-
Mercúrio	7439-97-6	0,05	0,5	12
Níquel	7440-02-0	13	30	70
Zinco	7440-66-6	60	300	450

HPA

Antraceno	120-12-7	na	0,039	-
Benzo(a)antraceno	56-55-3	na	0,025	9
Benzo(k)fluoranteno	207-06-9	na	0,38	-
Benzo(g,h,i)perileno	191-24-2	na	0,57	-
Benzo(a)pireno	50-32-8	na	0,052	0,4
Criseno	218-01-9	na	8,1	-
Dibenzo(a,h)antraceno	53-70-3	na	0,08	0,15
Fenantreno	85-01-8	na	3,3	15
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	193-39-5	na	0,031	2
Naftaleno	91-20-3	na	0,12	30

CAS: número de registro único no banco de dados do Chemical Abstracts Service; RQ: referência de qualidade; VP: valor de prevenção; VI: valor de intervenção (Agrícola - mais restritivo); HPA: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos; na: não se aplica para substâncias orgânicas (Modificado de CETESB, 2005).

Valores de referência para alguns metais estão contidos na Resolução CONAMA N° 344/04 (Tabela 3) baseados no protocolo canadense da qualidade dos sedimentos, tendo em vista a proteção das vidas aquáticas. Os valores canadenses foram obtidos a partir de um banco de dados de efeitos biológicos para sedimentos com base em informações químicas e toxicológicas disponíveis na América do Norte. Três valores limites foram derivados para definir as faixas de concentração química, aquelas que raramente, ocasionalmente e frequentemente são associadas a efeitos biológicos adversos. Os dois valores canadenses federais são TEL (*Threshold Effect Level*), concentração abaixo da qual efeitos tóxicos à biota ocorrem raramente, e PEL (*Probable Effect Level*), concentração acima da qual efeitos adversos à biota são frequentemente esperados, para cada elemento presente na lista. Na Resolução brasileira os valores de TEL e PEL foram denominados, respectivamente, nível 1 e 2.

Tabela 3: Valores de referência da Resolução CONAMA 344/04

Elementos	Valores orientadores ¹	
	TEL (Nível 1)	PEL (Nível 2)
Cd	1,2	9,6
Pb	46,7	218
Cu	34	270
Cr	81	370
Hg	0,15	0,71
Ni	20,9	51,6
Zn	150	410

¹ - água salina e salobra - mg/Kg; nível 1: limiar abaixo do qual prevê-se baixa probabilidade de efeitos adversos à biota; nível 2: limiar acima do qual prevê-se um provável efeito adverso à biota.

Os valores de TEL para cada composto correspondem à média geométrica das mais baixas concentrações onde se pode observar algum efeito adverso (corresponde a 15% do conjunto de valores nos quais foram observados efeitos negativos à biota) e 50% dos valores de concentração que não apresentaram efeitos negativos à biota. Os valores de PEL referem-se à média geométrica entre 50% dos valores onde foram observados efeitos na biota e 85% dos valores de concentração que não apresentaram efeito negativo para a biota. Os valores encontrados abaixo do respectivo TEL não são considerados como nocivos à comunidade aquática. Os valores acima do PEL frequentemente ou sempre estão associados a efeitos negativos para a biota (CCME, 1995 *apud* Regattieri, 2007).

Contudo, um grande passo foi dado no final de 2009 no Brasil, quando foi aprovada e publicada a Resolução CONAMA nº 420 que "Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas". Esta Resolução especifica, no Art.8º, que os VRQs (Valores de Referência de Qualidade) do solo para substâncias químicas naturalmente presentes serão estabelecidos pelos órgãos ambientais competentes dos Estados e do Distrito Federal, em até 04 anos. O Art. 13º estabelece as classes de qualidade dos solos, segundo a concentração de substâncias químicas, com base em: VRQ, VP (valor de prevenção) e VI (valor de investigação). Portanto, até 2013, cada Estado deverá ter estabelecido seus valores de *background* de sedimentos.

1.7 Área de estudo

A Baía de Ilha Grande está situada entre duas grandes metrópoles da América do Sul: as cidades do Rio de Janeiro e São Paulo e abriga uma grande beleza paisagística e uma rica fauna e flora, sendo um santuário de biodiversidade singular (Creed *et al.*, 2007). Situado entre os paralelos 23 17' e 23 18' S e o meridiano 044 38' W estão os manguezais localizados ao fundo (na Enseada) do Saco do Mamanguá (SM) em Parati Mirim (Parati/RJ), no litoral sul do Estado do Rio de Janeiro (Figura 2). O SM é um sistema estuarino lagunar vertical e longitudinalmente bem misturado, de baixa circulação de águas e sedimentação lamosa (Bernardes, 1995 *apud* Teixeira, 2009). A circulação interna de água nas enseadas ocorre através de correntes geradas pelos ventos, o que causa ressuspensão de material de fundo e transferência de material para o exterior das enseadas (Lima, 1985).

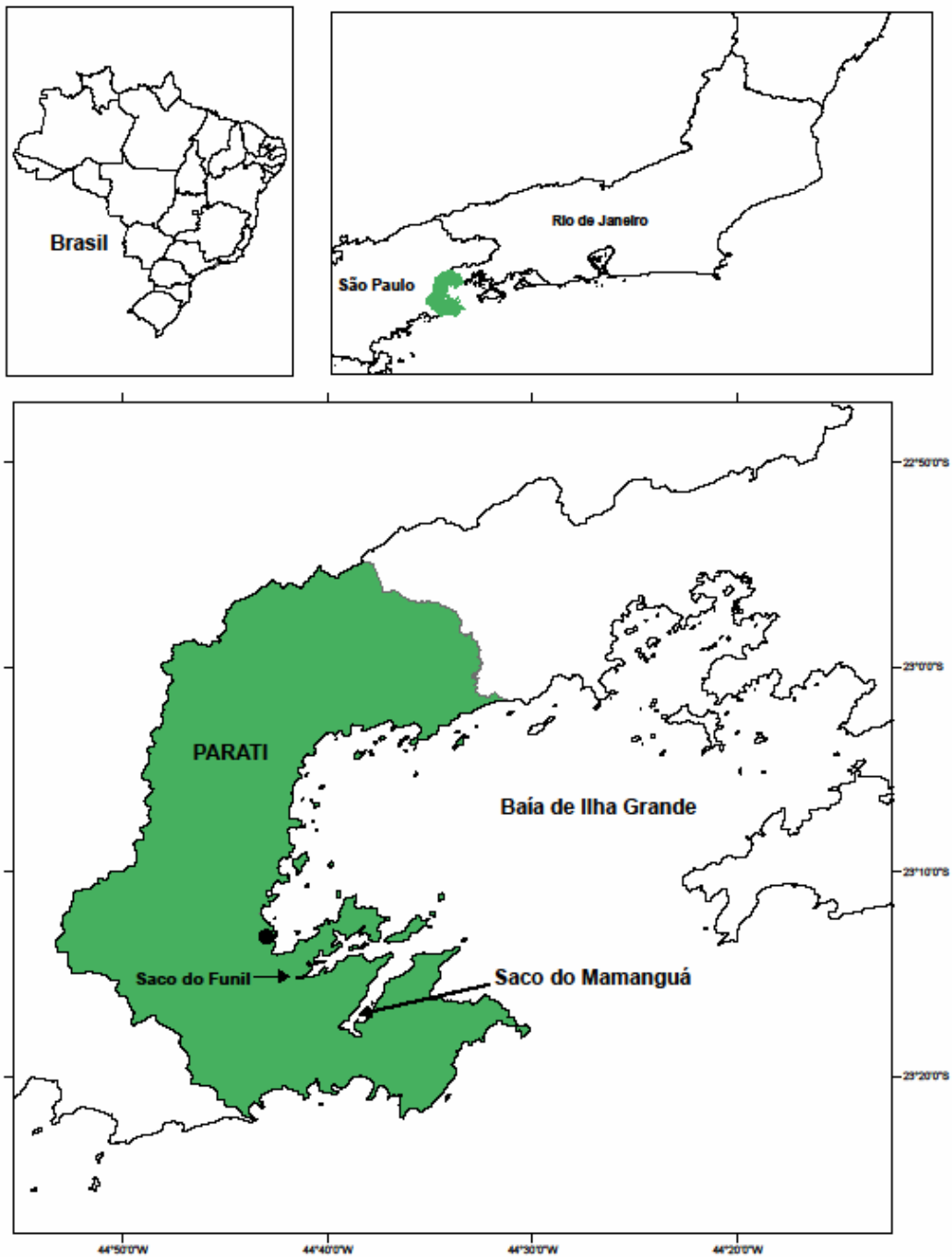


Figura 2: Mapa localizando a região de Parati/RJ

Esta área é gerida oficialmente pela Reserva Ecológica da Juatinga – REJ, criada pelo Decreto Estadual nº 17.981 de 30 de outubro de 1992, possui natureza *non aedificandi*, e tem como objetivo a preservação do bioma. Seu Decreto de criação prevê também que o órgão administrador da Unidade é responsável pelo fomento da cultura caiçara residente na Reserva, compatibilizando seu modo de vida e a utilização dos recursos naturais com a conservação ambiental. No Saco do Mamanguá está localizada a Área de Proteção Ambiental – APA de Cairucu, criada pelo Decreto Federal nº 89.242/83 e administrada pelo IBAMA. A REJ possui na região um escritório situado no município de Parati, contando com seu administrador e alguns funcionários, além de uma sede de campo em Parati Mirim. A administração é feita pelo Instituto Estadual do Ambiente (INEA) que atualmente “unifica e amplia a ação dos três órgãos vinculados à Secretaria de Estado do Ambiente (SEA): a Fundação Estadual de Engenharia e Meio Ambiente (FEEMA), a Superintendência Estadual de Rios e Lagoas (Serla) e o Instituto Estadual de Florestas (IEF)” (Inea, 2011).

Com cerca de 8.000 (oito mil) hectares, a Reserva Ecológica é constituída por inúmeras praias que permeiam os costões rochosos e abriga doze núcleos de ocupação de populações tradicionais, que se distribuem na sua grande maioria, ao longo do litoral em cinco principais núcleos: Praia do Sono; Ponta Negra; Praia Grande do Pouso da Cajaíba; Ponta da Juatinga e Mamanguá. Registros das comunidades tradicionais e de alguns pesquisadores identificaram a riqueza da fauna marinha como garoupa, espada, sardinha, anchova, galo, corvina, xerelete, cação, lula entre outros (Silveira & Brandão, 2009).

O bioma que caracteriza a região é a Mata Atlântica, que além do ecossistema manguezal, apresenta restinga e floresta tropical. O clima predominante é tropical quente e úmido, com temperatura média anual de 22,5°C, sendo fevereiro o mês mais quente (25,7°C na média) e julho o mais frio (média 19,6°C). A umidade relativa do ar tem como média mensal uma variação entre 80 e 95%. É a área com maior índice pluviométrico do Estado do Rio de Janeiro, com média anual de 1500 a 2000 mm (Teixeira, 2009).

Os remanescentes florestais da região sul do Estado, a exemplo das outras regiões, estão sob intensa pressão de degradação, principalmente pela especulação imobiliária para a construção de grandes condomínios e “resorts”. Também são presentes os conflitos pela posse da terra onde poucos se dizem donos, mas a ocupação irregular tem crescido assustadoramente, principalmente na faixa litorânea. Hoje as populações tradicionais que ainda moram na reserva estão sobrevivendo principalmente do turismo desenfreado, colocando em risco a qualidade do meio e dos recursos naturais. Inúmeras praias sofrem com o camping, realizados dentro dos terrenos das casas caiçaras, e o contato dessas comunidades

com culturas diferentes está acelerando o processo de perda da identidade dessa população e o que é mais evidente, o abandono do modo de subsistência tradicional.

Esta localidade foi escolhida diante da importância de se fazer uma avaliação pré-impacto de contaminação antrópica, já que é considerada área livre de poluição por ação de tensores antropogênicos (Teixeira, 2009), mas extremamente vulnerável diante das questões discutidas anteriormente.

2 CONSIDERAÇÕES

Considerando que:

- Áreas costeiras abrigadas são as mais afetadas pela grande população humana, que normalmente as utiliza tanto como áreas de descarga de rejeitos, como fonte de vida básica;
- Sedimentos podem fornecer informações sobre vários processos tais como a taxa e condições de sedimentação, dinâmica das águas, interações sedimento-contaminantes e indicadores históricos;
- Não existem valores naturais e concentrações de *background* que norteiem os estudos e aplicações de parâmetros legais “suportáveis” pelo compartimento sedimento no Brasil;
- Este estudo poderá contribuir no estabelecimento de valores orientadores, a ser concluído, segundo Art. 8º da Resolução CONAMA nº 420/2009, em até quatro anos;
- A importância do registro pré-impacto do cenário físico químico dos sedimentos e efeitos na biota, como o potencial mutagênico;
- São escassos estudos com ecotoxicologia e mutagênese ambiental nos manguezais;
- O impacto ambiental provocado por agentes mutagênicos é capaz de causar efeitos deletérios em níveis individual ou populacional a médio e longo prazo, mas ainda são subestimados.

Justifica-se esta dissertação na avaliação dos níveis de potenciais contaminantes, ajudando a reconstruir o histórico de mudanças de sistemas, diagnosticar o impacto antrópico e ainda sugerir possíveis estratégias de remediação.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo do presente estudo foi contribuir para a determinação de valores de referência para sedimentos de mangue quanto à presença de metais e HPA com base em índices de mutagenicidade, genotoxicidade e caracterização química de compostos orgânicos e inorgânicos.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar a região teoricamente mais preservada do Estado do Rio de Janeiro em termos de florestas de mangue, o Saco do Mamanguá (Baía de Ilha Grande; Parati/RJ) quanto:

- As características físico-químicas do sedimento;
- Aos indicadores de possíveis danos genéticos (mutações) com teste mundialmente reconhecido (*Salmonella*/microssoma) em extratos de sedimento;
- A viabilidade da metodologia para analisar possíveis danos genotóxicos através do caranguejo bioindicador *G. cruentata*;
- A quantificação química de compostos orgânicos (HPA) e inorgânicos (metais) do referido ecossistema.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Autorização para pesquisa

Para desenvolver um trabalho de pesquisa científica ou didática que envolva qualquer tipo de estudo ambiental, principalmente em áreas legalmente protegidas, deve-se cadastrar o projeto junto aos órgãos, fundações e/ou institutos ambientais responsáveis. Este cadastro teve por finalidade obter autorização prévia e parcerias necessárias à execução do trabalho com o conhecimento dos governos e da sociedade. Com isso, os resultados poderão ser utilizados para compor um banco de dados aplicáveis à conservação ambiental, por exemplo.

Uma determinada área pode estar inserida em uma reserva ecológica estadual e também em área de proteção (ambiental ou permanente) federal. Nesta esfera política, as normas mais restritivas são as que devem ser aplicadas. Este é o caso do Saco do Mamanguá (SM), região de manguezais que compõe a baía de Ilha Grande (RJ), o qual está inserido no cenário atual de consumo humano de diversas formas, como o turismo, consumo local e utilização desordenada de recursos. A localidade referida integra a Reserva Ecológica da Juatinga e a Área de Proteção Ambiental Cairuçu (APA Cairuçu). Neste caso, as normativas indicadas pela Reserva Ecológica da Juatinga (ou REJ), do Estado, são mais restritivas, o que não significa que somente esta instância tenha responsabilidades.

Diante disso, inicialmente foi feito um pedido junto ao IBAMA, através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), que levou aproximadamente 60 dias e algumas modificações até ser deferido. A licença do Instituto Estadual do Ambiente (INEA) também foi solicitada obedecendo a procedimentos burocráticos exigidos através de cartas, cronogramas, cadastros, declaração de comitê de ética, uma vez que no presente trabalho utilizou-se coletas de amostras biológicas, e outros documentos. Esta licença foi obtida com todo apoio e boa vontade da equipe da Diretoria de Biodiversidade e Áreas Protegidas do INEA, em aproximadamente 15 dias. Vale ressaltar que um fator facilitador na obtenção destas autorizações legais foi o contato feito com antecedência, expressando o interesse em conduzir esta pesquisa com planejamento, ética e validade científica.

Durante o período previsto para o desenvolvimento desta dissertação de mestrado foram encaminhados aos referidos órgãos ambientais relatórios de atividades e resultados parciais. Além disso, contatos eletrônicos e pessoais foram feitos com a equipe coordenadora e funcionários da REJ, para acertar cronogramas e utilizar informações e espaços físicos fornecidos como estrutura de apoio à pesquisa. A sede de Parati Mirim pôde ser utilizada

como ponto de referência nos trabalhos de campo. Além do ponto estratégico em que se encontra, este local forneceu alojamento com local para permanência da equipe e armazenagem do material e equipamento de coleta.

Encontram-se anexadas neste trabalho cópias das autorizações mencionadas anteriormente (Anexos A e B), bem como o parecer técnico da REJ (Anexo C).

4.2 Campo

4.2.1 Campanha amostral e estações de coleta

O estudo de campo foi realizado entre outubro de 2009 (Primavera I) e dezembro de 2010 (Primavera II), procurando manter as coletas em períodos de maré de quadratura, quando as amplitudes de marés são menores. A proposta do trabalho foi composta de quatro campanhas trimestrais (Primavera, Verão, Outono e Inverno) e cada uma delas constituída de cinco amostras, processadas e analisadas separadamente. Em cada um dos pontos foram coletados: sedimento superficial de mangue e um espécime macho do caranguejo *Goniopsis cruentata*, além da medição de parâmetros físico-químicos.

Os cinco pontos (amostras), denominados M1-M5 estão distribuídos no fundo do Saco do Mamanguá, cujas coordenadas foram obtidas com aparelho de GPS GARMIN® 60 MAP CXS e estão apresentados na Tabela 4, tanto em UTM - Universal Transversa de Mercator que é baseado no plano cartesiano (eixo x, y) e usa o metro (m) como unidade para medir distâncias e determinar a posição de um objeto – quanto em Coordenadas Geográficas (Sistema SW), que acompanha a curvatura da Terra (Figura 3).

Tabela 4. Pontos de amostragem no SM

Ponto	Sistema UTM SAD 69 Quadrante 23 S	Sistema SW
M1	Lat. 536055/ Long. 7423174	S 23°18'05.5'' W 044°38'53.4''
M2	Lat. 536064/ Long. 7423156	S 23°18'07.2'' W 044°38'49.9''
M3	Lat. 536724/ Long. 7423740	S 23°17'49.1'' W 044°38'24.5''
M4	Lat. 536763/ Long. 7423808	S 23°17'43.1'' W 044°38'28.3''
M5	Lat. 536650/ Long. 7423843	S 23°17'40.1'' W 044°38'32.3''

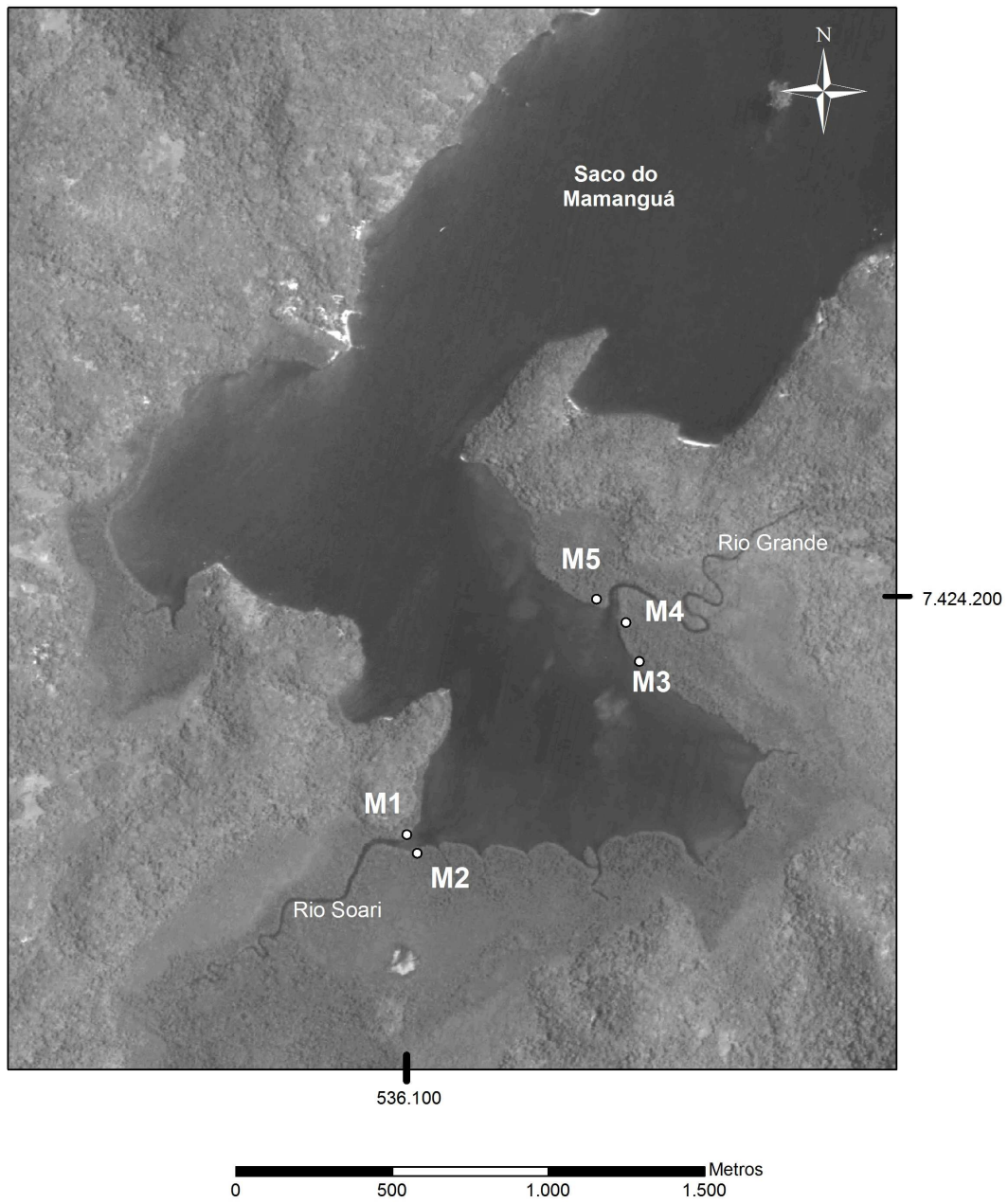


Figura 3. Identificação dos pontos de coleta – manguezal do fundo do SM.

4.2.2 Amostragem sedimento

Devido à falta de especificações nacionais, as metodologias de coleta adotadas neste estudo seguiram normativas norte americanas, conforme protocolo validado *Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual* (USEPA, 2001). Visando manter a integridade das amostras, foi utilizado material totalmente descontaminado. O protocolo para lavagem e descontaminação utilizou basicamente detergente Extran[®], solventes orgânicos como Acetona e Hexano (grau P. A.), Ácido Clorídrico 5% e água destilada. A coleta de aproximadamente 1,0 kg de sedimento superficial (10-15 cm) foi manual com auxílio de espátula e colher de aço inoxidável e vidros borossilicato com tampa âmbar (1L) previamente identificados e descontaminados (Figura 4A e B). Este sedimento ficou armazenado em gelo até a chegada ao laboratório, onde foi imediatamente congelado a 4° C.

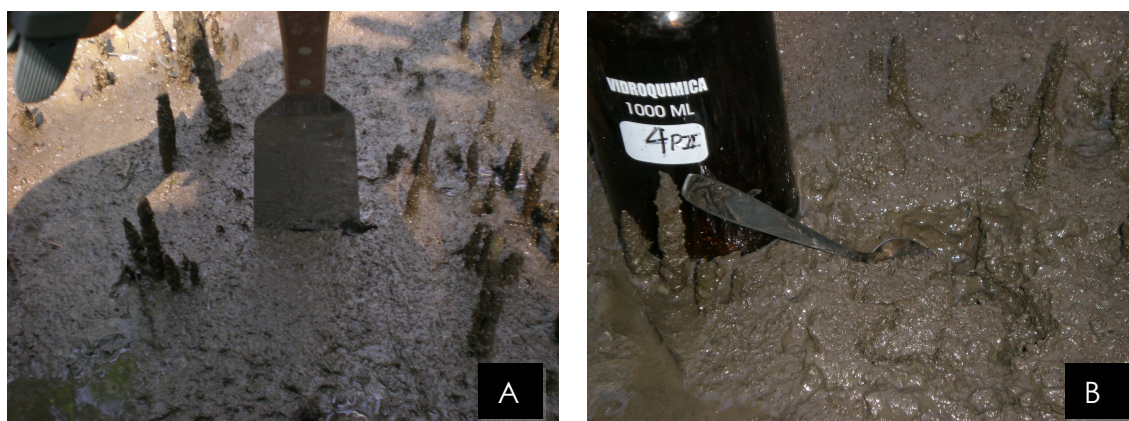


Figura 4. Coleta de sedimento superficial de mangue.

4.2.3 Goniopsis cruentata

Esta espécie foi escolhida por sua ampla ocorrência na área de estudo, facilidade de captura diante dos hábitos semi-arborícolas, e manejo devido ao seu menor tamanho (em relação a *Ucides cordatus* e *Cardisoma guanhumi*) (Maciel & Alves, 2009). *C. guanhumi*, apesar do hábito terrestre, nunca foi avistado pelo nosso grupo de pesquisa no Saco do Mamanguá. *U. cordatus* foi visualmente identificado em raras ocasiões ao longo do desenvolvimento do trabalho. A captura foi realizada manualmente com luva grossa e puçá. Um animal por ponto foi coletado e depositado em gaiolas com separações, (Figura 5A e B), visando melhor transportá-los para o biotério do Departamento de Bioquímica da UERJ, onde foram mantidos e alimentados até a retirada do material biológico para realização dos ensaios.

O protocolo está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ sob o número CEA/014/2010 (Anexo D).



Figura 5.A: caranguejos transportados no barco; B: gaiolas e material de captura/coleta.

4.2.4 Dados físico-químicos

Após a coleta do sedimento e dos caranguejos, foram efetuadas as medições dos parâmetros físico-químicos. Foram medidos em campo: pH, Eh, temperatura no sedimento e salinidade na água intersticial. Os valores de pH, Eh e temperatura foram obtidos através de aparelho medidor de pH e Eh portátil Quimis[®] Q400AM (previamente calibrado), com eletrodos específicos, a aproximadamente 10 cm de profundidade em locais afastados das raízes aéreas da vegetação (Figura 6). Foi padronizado o tempo de 3 minutos para estabilização, com leitura dos valores a cada minuto, sendo considerada a média obtida em cada área. A medição de salinidade foi realizada com refratômetro Intrutemp[®] (modelo RTS-101ATC, compensação de temperatura automática) na água acumulada no interstício, encontrada com auxílio de cavadeira. Na primeira campanha amostral (PI) somente foram medidos os valores de pH (indicador universal de pH, sistema de reação química por meio de fitas de papel); a salinidade foi medida somente na última amostragem.



Figura 6. Medição de Eh e temperatura

4.3 Laboratório

4.3.1 Granulometria

Diante da necessidade de se conhecer a matriz com a qual se estava trabalhando, na primeira viagem a campo (abril de 2009), foi coletado sedimento em cada um dos locais (M1-M5) para caracterizar as frações dos grãos através da granulometria. Os processos de análise granulométrica utilizados no presente estudo incluíram o peneiramento para os sedimentos grossos ($> 63 \mu\text{m}$) e separação por pipetagem para os sedimentos finos ($< 63 \mu\text{m}$), ambos descritos por Suguio (1973) e realizados no Laboratório de Oceanografia Geológica da UERJ.

As amostras foram inicialmente lavadas para retirada de sais solúveis (4 x 24 h cada) antes da pesagem de 30 g para o protocolo de preparo de amostra descrito a seguir:

- Eliminação da matéria orgânica em chapa aquecida (aproximadamente 40°C) com H_2O_2 10% (aproximadamente uma semana);
- Lavagens sucessivas (4 x 24 h cada),
- Remoção de água (estufa),
- Eliminação de carbonato (reação de queima com HCl 30%; 3 dias),
- Lavagem (2 dias), secagem e pesagem.

O material foi passado via úmida em peneira de 0,063 mm e a fração grossa que ficou retida, quando $> 5\%$ do peso da amostra, analisada através do método de peneiramento, onde uma série de peneiras (diferentes tamanhos de aberturas das malhas) ficou no agitador mecânico por 20 minutos. Foram pesadas e identificadas as frações retidas em cada uma das

malhas (seixos, cascalho/grânulos e areia). As partículas menores que a malha da última peneira (63 μm), ou a parcela de finos da amostra chamada de lama, foram retidas e analisadas através do método de peneiramento úmido.

Para os finos, foi necessário 900 mL de amostra (água + finos), a qual foi acrescida de defloculante silicato de sódio (1 g / 1000 mL) antes do início da pipetagem. Este método é baseado nas mudanças de concentração de partículas em uma suspensão originalmente uniforme, pela tomada de várias amostras com uma pipeta (em intervalos de tempo definidos), em profundidade que corresponde a do material que acabara de sedimentar naquele momento. Cada fração fina foi então seca, pesada e anotada.

O programa de análise granulométrica GRADISTAT 4.0 foi usado para discussão dos resultados obtidos nas amostras avaliadas do Saco do Mamanguá.

4.3.2 Ensaio de genotoxicidade (Micronúcleo)

Um volume aproximado de 100 μL de hemolinfa de cada animal foi obtido através de punção nas articulações dos quelípodos com auxílio de seringa para insulina descartável de 1 mL (13 x 0,45; 26 G1/2”) (Figura 7). Na primeira metodologia testada (adaptada de Michalopoulos *et al.*, 1982), a seringa foi rinsada e preenchida com tampão anticoagulante (hemolinfa/tampão 1:1) (0,1 M Glicose; 15 mM citrato de sódio; 13 mM ácido cítrico; 10 mM EDTA; 0,45 mol L^{-1} cloreto de sódio), antes da retirada da linfa. Com cada animal foram preparadas lâminas de esfregaço (bem espalhado e seco) assim que as amostras foram coletadas, seguido de fixação com solução Carnoy (metanol/ácido acético 3:1) por aproximadamente 15 minutos. As lâminas foram coradas em solução de Giemsa (Sigma-Aldrich) a 5% por 10 minutos e lavadas com água deionizada a fim de retirar o excesso do corante. Quando as lâminas estavam secas eram aderidas lamínulas para posterior análise sob microscópio óptico com aumento de 1000 X. Foram analisadas 1.000 células por animal e a quantidade de micronúcleos foi registrada.



Figura 7. Punção de hemolinfa em *G. cruentata*

A partir disso, adaptações metodológicas foram realizadas (Wagener *et al.*, 2010). A hemolinfa foi extraída com seringa sem a presença de tampão anticoagulante e, após a retirada da agulha, transferida para lâminas de vidro previamente preparadas com solução de poli-L-lisina que auxilia na adesão das células. As lâminas com a hemolinfa espalhada cuidadosamente ficaram numa caixa escura e úmida por 30 minutos, secas a temperatura ambiente, e então fixadas com solução Carnoy por 20 minutos. Estas foram coradas com Giemsa 3%, preparada em tampão, por 20 minutos, quando foram lavadas com água deionizada a fim de retirar o excesso do corante. Foram aderidas lamínulas e as lâminas analisadas em microscopia óptica com aumento de 500 ou 1000X. Foram contadas 300 células por lâmina e a quantidade de micronúcleos registrada. As amostragens foram comparadas (Teste T, bicaudal) e consideradas estatisticamente diferentes quando $p < 0,05$.

4.3.3 Manipulação sedimento

Cada amostra de sedimento foi descongelada separadamente e processada antes da abertura da amostra seguinte. Para dar início ao processo de preparação do sedimento para os extratos visando à separação da água intersticial, uma parte da amostra foi centrifugada (10.000 x g; 10 minutos; 4 °C). Esta metodologia de separação da água foi adotada para evitar secar o sedimento à temperatura ambiente ou em estufa, pois compostos voláteis e semi voláteis poderiam ser perdidos. Foram retiradas manualmente partículas maiores, raízes e pedras, evitando assim peneiramentos desnecessários.

4.3.4 Extração orgânica

Os extratos orgânicos para análise de mutagenicidade foram obtidos conforme descrito por Tagliari *et al.* (2004), com modificações. Amostras de 30 g de sedimento úmido foram levadas à ultrasonicação (Ultrassom UNIQUE UltraClear 1600, 40HZ) com solvente diclorometano (DCM) Tedia[®] grau pesticida, em 4 pulsos de 5 minutos (100 mL cada), visando obter a fração moderadamente polar dos compostos orgânicos. Os extratos foram pré filtrados com lã de vidro (REAGEN) e sulfato de sódio anidro (PRÓQUIMIO; 99%) super seco. O filtrado obtido foi passado em uma coluna cromatográfica de vidro borossilicato com torneira de teflon e placa porosa (30 mm diâmetro, 300 mm comprimento) contendo sulfato de sódio e Celite 545 (TEDIA). Estes procedimentos foram realizados buscando a remoção de moléculas de água que tenham permanecido no sedimento. O extrato foi então concentrado em rotaevaporador (37°C) até 15 mL, 1mL separado para análise química e o restante congelado por até 30 dias até a execução dos ensaios de mutagenicidade.

É relevante mencionar que a quantidade de material levada ao procedimento de extração (30g), corresponde a aproximadamente 24 g de peso seco.

4.3.5 Teste de mutagenicidade e sobrevivência celular

O ensaio *Salmonella*/microsoma (Teste de Ames), com suas várias metodologias, é o mais comumente usado para acessar mutagenicidade em sedimentos (Chen & White, 2004). Uma das variações do teste é o método de Microsuspensão (ou Kado), utilizado quando há pouca quantidade de amostra e/ou extratos concentrados de amostras ambientais. Essa variação utiliza culturas de bactérias pré-concentradas de 5 a 10 vezes, que são misturadas com menores volumes de amostra (2 a 5 microlitros ao invés de 100 a 200 microlitros no método tradicional) e de sistema de metabolização (100 microlitros). Depois, são pré-incubadas por 90 minutos e semeadas em meio mínimo com traços de histidina e biotina acrescidos a gelose e incubadas em estufa (37 °C) por 72 horas. Esse método tem sensibilidade 5 a 10 vezes maior que o teste convencional (Kado *et al.*, 1983).

O teste é baseado na verificação de mutações reversas em linhagens específicas de *Salmonella typhimurium* auxotróficas para produção do aminoácido histidina que, em contato com algum agente mutagênico, tem seu caráter de dependência de histidina modificado, isto é, revertido, pois a ocorrência de alterações nos códons permite a biossíntese do aminoácido, dando condições para a célula bacteriana proliferar e formar colônias. A escolha da metodologia adequada é fundamental para se fazer uma interpretação mais próxima das

condições naturais. A metodologia de incorporação em placas, por exemplo, não é adequada pra avaliar a ação de metais, que necessitam de um tempo de incubação para que possam entrar em contato e atuar no DNA procaríoto.

As linhagens testadoras básicas utilizadas e suas características genéticas, checadas periodicamente (Maron & Ames, 1983) encontram-se detalhadas na tabela 5. As cepas foram escolhidas para uma investigação inicial das características locais, já que nem o local (SM/ Baía de Ilha Grande), nem a matriz avaliada (sedimento de mangue) possuem referências anteriores.

Tabela 5. Linhagens utilizadas neste estudo

Linhagens	Mutação <i>His</i>	Evento reversão/tipo mutação	<i>UvrB</i> (REN ^a)	SPL ^b	Plasmídeo
TA97	<i>hisO1242 hisD6610</i>	Frameshift /adição GC	deleção	<i>rfa</i>	pKM101
TA98	<i>hisD3052</i>	Frameshift /deleção GC	deleção	<i>rfa</i>	pKM101
TA100	<i>hisG46</i>	Substituição /GC:TA	deleção	<i>rfa</i>	pKM101
TA102	<i>hisG428</i>	Transições e transversões/AT:GC	-	<i>rfa</i>	pKM101/pAQ1

^a REN - reparo por excisão de nucleotídeos; ^b SPL – defeito síntese de lipopolissacarídeos.

Cada experimento incluiu placas em triplicata para cada concentração testada, um controle (Dimetilsufóxido - DMSO - 5 µL /placa) com o solvente para determinar a frequência espontânea de revertentes, e um controle positivo (CP – Tabela 6) para garantir a qualidade das cepas teste, além de curva de sobrevivência celular realizada em paralelo. As concentrações testadas do extrato orgânico correspondem a 2,5, 10, 40 e 80 mg sedimento/placa que foram acrescidas da cultura concentrada (10^{10} células/mL) e de S9 mix, uma mistura de homogenato preparado com fígado de ratos tratados com um indutor de enzimas microsossomais de metabolização de xenobióticos, o Aroclor 1254 (induz síntese de CYP2B e CYP1A) ou tampão fosfato 0,2M pH 7,4. Esta ativação metabólica mimetiza um sistema de metabolização em mamíferos e pode levar tanto ao aumento da desintoxicação como aumento da ativação de xenobióticos (dependendo da substância estudada). Utilizando os critérios descritos por Vargas *et al.* (1993) com algumas modificações (Aiub *et al.*, 2004), as amostras foram consideradas mutagênicas quando o número de colônias revertentes da mutação induzida ≥ 2 , $p < 0.05$ e não citotóxico.

Tabela 6. Controles positivos utilizados nos ensaios de mutagenicidade

Substância	CAS	Concentração	Linhagem	Condição	
				+ S9	- S9
4NQO	76082-65-0	10.0 µg/placa	TA 97		X
4NQO	76082-65-0	5.0 µg/placa	TA 98		X
AS	26628-22-8	10.0 µg/placa	TA 100		X
MitC	50-07-7	10.0 µg/placa	TA 102		X
2AA	613-13-8	5.0 µg/placa	TA 97	X	
2AA	613-13-8	1.0 µg/placa	TA 98	X	
2AA	613-13-8	10.0 µg/placa	TA 100	X	
2AA	613-13-8	100.0 µg/placa	TA 98	X	

CAS: número de registro único no banco de dados da *Chemical American Society*. 4NQO: 4-nitroquinolina 1-óxido; AS: Azida sódica; MitC: Mitomicina C; 2AA: 2- aminoantraceno.

Para curva de sobrevivência celular foram utilizadas as mesmas condições do ensaio descritas acima. Depois do período de pré-incubação, uma alíquota (10µL) de cada tubo foi retirada para realização de diluições seriadas em tampão fosfato de sódio 0,2 M pH 7,4, até obtermos a concentração estimada de 10^3 células/mL. O produto desta diluição (100 µL) foi semeado em placas contendo meio LB (Louria Bertani) sólido e espalhado com auxílio de pérolas de vidro estéreis. Após incubação de 24 horas foi avaliada quantitativamente a população de células sobreviventes, considerando-se não tóxico quando a porcentagem de colônias revertentes em relação ao controle negativo for maior ou igual a 60% (Vargas *et al.*, 1993).

4.4 Caracterizações químicas

4.4.1 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

A determinação qualitativa e quantitativa dos 16 HPA prioritários em termos de preservação ambiental foi realizada no Laboratório de Tecnologia Ambiental (UERJ – Campus Regional de Resende/RJ) pelo Prof. Dr. Sérgio Machado Corrêa, com protocolo adaptado da Califórnia Air Resource Board –SOP MLD 144 (USA). As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa de alta resolução com detecção por espectrometria de massas (CG/EM). A separação cromatográfica foi em uma coluna de fase estacionária VF-

5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 um, Varian) usando gás de arraste He Ultra Puro (5.0) (99,999 %, Linde Gases Ltda.) a 1,6 mL/min em cromatógrafo de fase gasosa Varian 450-GC. O extrato (de 1 a 3 µL) foi diretamente injetado em injetor tipo split/splitless (modelo Varian 1177 S/SL) a temperatura de 300 °C e sem divisão de fluxo (modo splitless), mantendo a vazão de purga de 3 mL/min e abrindo a divisão de fluxo após 1 min. A programação de CG é descrita a seguir: temperatura inicial da coluna 70 °C, isoterma por 4 minutos, taxa de aquecimento de 10 C°/ min até a temperatura final de 300 °C. As substâncias separadas foram detectadas, identificadas e quantificadas em espectrômetro de massas acoplado Varian MS 220 com Ion Trap a 250 °C, transfer line a 280 °C e manifold a 40 °C.

Curvas de calibração externa foram construídas com injeção de mistura de padrões nas concentrações de 10 a 250 pg/uL. Os resultados foram calculados e expressos em mg/Kg de sedimento seco. Os limites de quantificação (LQ) foram calculados a partir da curva de calibração. Para naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno e criseno, LQ foi 0,0062 mg/Kg (6,2 ug/kg). Para benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno, 0,0125 mg/Kg (12,5 ug/kg) e para indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno, 0,0312 mg/Kg (31,2 ug/kg). O limite de detecção (LD) foi estimado como 3 – 5 x sinal do ruído.

A identificação de cada HPA foi realizada contra padrões SUPELCO (Supelco 48755-U KIT PAH610-S) monitorando os íons em modo SIS (fragmentos característicos de cada ion).

4.4.2 Metais

A partir da água intersticial obtida no processo de centrifugação para separação do sedimento, foram testadas metodologias de preparo deste tipo de amostra, peculiar diante da salinidade, pH e quantidade de MO, para análise química. O interesse em caracterizar esses elementos na água originou-se do fato de que é nesta fração do sedimento que se encontra a fração biodisponível dos metais, que seriam mais acessíveis inicialmente à biota (Machado *et al.*, 2002).

A proposta foi identificar e quantificar, através de análise pelo Espectrofotômetro de Absorção Atômica (modelo Varian AAS 240) realizada no Laboratório de Caracterização Instrumental II do Instituto de Química (Programa de Pós Graduação em Química), os seguintes elementos: Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn. Os limites de detecção do aparelho

foram: Al = 1,2 mg/L; Cd = 0,03 mg/L; Cr = 0,025 mg/L; Cu = 0,02 mg/L; Fe = 0,24 mg/L; Mn = 0,07 mg/L; Ni = 0,16 mg/L; Pb = 0,08 mg/L; Zn = 0,015 mg/L. As lâmpadas usadas foram multi-elemento: Ag/Cd/Pb/Zn SpectrAA lamp Varian – Part number 5610108700; Ca/Mg/Al SpectrAA lamp Varian – Part number 5610108800; Co/Cr/Cu/Fe/Mn/Ni SpectrAA lamp Varian – Part number 5610107600. Todas as amostras foram avaliadas tendo como referência a mesma curva de calibração para cada elemento. Os padrões utilizados foram da marca SpecSol, solução padrão 1000 ppm, esses foram diluídos em Água Mili-Q para preparar as concentrações pré-determinadas.

As amostras da campanha PI foram acidificadas (HNO₃, 5%) e filtradas (Millipore 0,45 mm) antes do envio para análise. Diante da necessidade de assumir outro tipo de metodologia de preparo de amostra, na campanha V a digestão foi incrementada. Uma extração sequencial via úmida com ácidos fortes (HCl 37% P.A. e HNO₃, 65% P.A.) foi empregada e as amostras processadas em triplicata (adaptado de Vogel, 2005). Nesta adaptação, 50 mL de água intersticial foi acrescida de 50 mL de ácido nítrico e aquecido para redução do volume até 10 mL. Após retorno da amostra à temperatura ambiente foram acrescentados 50 mL de ácido clorídrico, aquecidos novamente para redução até 10 mL, deixado esfriar e recomposto o volume para 50 mL com água ultra pura.

Outro protocolo foi testado para as amostragens das campanhas Outono e Primavera II, utilizando digestão do sedimento via água-régia. O extrato oriundo destes ensaios também foram analisados no Espectrômetro de Absorção Atômica, nas mesmas condições descritas acima. Para cada ponto amostrado foram utilizados 1 (um) grama de sedimento, sendo os ensaios realizados em duplicata. A extração se deu conforme o protocolo da *Community Bureau of Reference* (BCR), agora chamada de *Standards, Measurements and Testing Programme*, material de referência BCR-701, que permite a determinação de metais traços em sedimentos (Rauret *et al*, 2001). O procedimento se deu em etapa única, extração com água-régia (Figura 88).

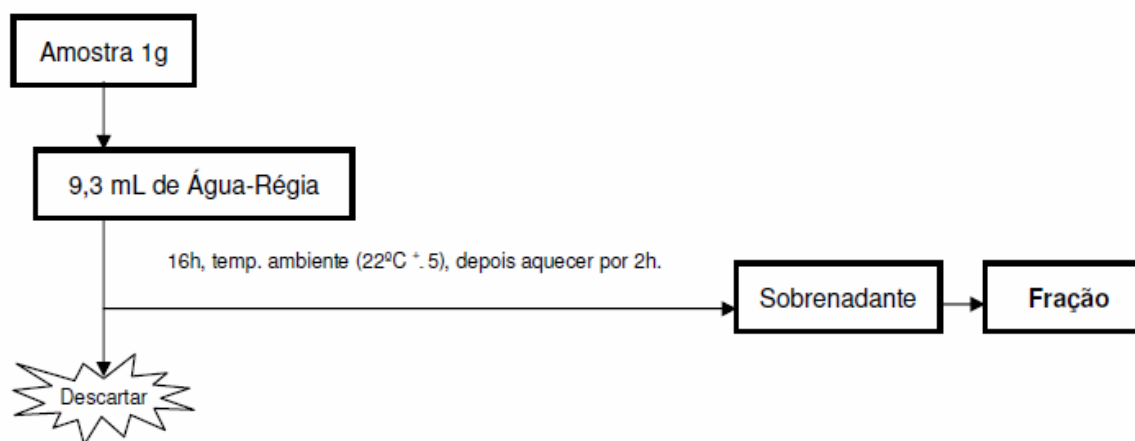
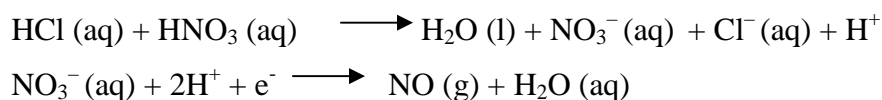


Figura 8 - Esquema das etapas contidas no procedimento de extração por água-régia.

Os sedimentos foram pesados em erlenmeyers de 125 mL, em uma balança (modelo: AY220, Shimadzu) com precisão de 0,1 mg. Após a pesagem, adicionou-se 9,3 mL de água-régia, e tampou-se o erlenmeyer com um septo de borracha envolto com fita de teflon, e um capilar de vidro foi inserido para liberação dos gases. Após 16 horas em temperatura ambiente, $22^{\circ}\text{C} \pm 5$, as amostras foram aquecidas durante 2 horas a uma temperatura de $75^{\circ}\text{C} \pm 5$, sendo que nos primeiros 10 minutos a temperatura foi sendo aumentada gradualmente. Após o aquecimento e o esfriamento a temperatura ambiente, as amostras foram filtradas em papel de filtro de $8\ \mu\text{m}$ (faixa azul) e avolumadas para 50 mL com água deionizada.

A solução de água-régia foi preparada na proporção 3:1 (HCl: HNO_3), ou seja foram adicionados 7,0 mL de HCl (37% P.A.) para 2,3 mL de HNO_3 (Sigma 65% P.A.). Durante as extrações foram realizados brancos, que continham apenas os reagentes e receberam o mesmo tratamento dos ensaios que continham os reagentes e as amostras.

Na reação do sedimento com a água régia, o metal (agente redutor) é oxidado e o nitrato, NO_3^- (agente oxidante) é reduzido a NO. O cloreto, o oxigênio e o hidrogênio não sofrem nenhum processo redox nas reações. As principais reações envolvidas no processo são:



Para validação da metodologia de extração para os elementos Cobre (Cu), Chumbo (Pb) e Zinco (Zn) utilizou-se o material de referência BCR-701 (sedimento). A mesma metodologia de extração empregada nas amostras foi realizada no material de referência.

Utilizou-se como referência para comparação, os valores de ERL e ERM, orientados pela NOAA (*National Oceanic and Atmospheric Administration*), que compila concentrações de poluentes orgânicos e inorgânicos em água (profunda e superficial) e sedimento (marinho ou de água doce).

5 RESULTADOS

5.1 Granulometria

Na tabela 7 estão representados os dados obtidos a partir da análise granulométrica do sedimento da “coleta prévia”. A classificação de areia corresponde a partículas $> 63 \mu\text{m}$ e $< 2 \text{ mm}$, enquanto que a de silte, entre $2 \mu\text{m}$ e $63 \mu\text{m}$ e a de argila $< 2 \mu\text{m}$. Não foram observados grânulos que correspondessem a seixo e cascalho ($> 2 \text{ mm}$).

Tabela 7. Comparação entre a composição dos sedimentos analisada

	M1	M2	M3	M4	M5
Peso inicial total	30,67 g	31,54 g	32,81 g	35,29 g	30,00 g
Peso sem MO	24,62 g	24,82 g	27,41 g	30,19 g	26,46 g
Peso sem carbonato	19,49 g	21,02 g	21,35 g	24,89 g	23,08 g
Peso Grossos	0,32 g	0,14 g	0,21 g	1,05 g	3,69 g
Peso Finos	19,17 g	20,88 g	21,14 g	22,83 g	19,39 g
% MO	19,7	21,3	16,5	14,4	11,8
% Carbonato	20,8	15,3	22,1	17,6	12,8
Classificação (%)					
Areia	0,2	0,2	0,2	0,2	15,6
Silte	55,3	54,5	55,6	54,7	46,2
Argila	44,5	45,3	44,2	45,1	38,2

Embora o peso inicial seja praticamente o mesmo, a porcentagem de carbonato e MO é ligeiramente diferente entre os pontos. O comparativo por ponto de coleta indicou M5 com a menor composição de finos (84,4%) e uma fração representativa de areia na amostra.

5.2 Dados físico-químicos

Os parâmetros físico-químicos considerados neste estudo foram: pH, temperatura, Eh e salinidade, todos registrados “*in situ*”, com o intuito de se verificar as possíveis influências destes sobre os processos biológicos bem como no potencial mutagênico e genotóxico do sedimento. A tabela 8 apresenta estes dados, por ponto, em cada uma das quatro amostragens.

Tabela 8. Coletas e dados físico-químicos de cada amostragem

Amostragem	Ponto	pH	Temp	Eh (mV)	Salinidade
Primavera I	M1	6,5	-	-	-
28/10/2010	M2	7,0	-	-	-
	M3	7,0	-	-	-
	M4	6,5	-	-	-
	M5	6,0	-	-	-
Verão	M1	6,8	29,5 °C	-157	-
25/03/2010	M2	6,9	31,7 °C	-535	-
	M3	6,9	31,5 °C	-359	-
	M4	6,6	29,9 °C	-357	-
	M5	7,1	29,1 °C	+115	-
Outono	M1	7,4	23,4 °C	-108	-
01/07/2010	M2	6,7	23,0 °C	-177	-
	M3	6,5	22,4 °C	-73	-
	M4	6,1	22,7 °C	-271	-
	M5	6,7	23,2 °C	-24	-
Primavera II	M1	5,9	25,0 °C	-21	
11/12/2010	M2	5,6	25,0 °C	-134	32% (5cm)
	M3	6,0	30,0 °C	-340	31% (2cm)
	M4	6,6	32,0 °C	-122	
	M5	6,5	28,6 °C	+48	30% (5cm)

- : medições não realizadas

Pode-se observar que os valores de pH oscilaram entre a acidez, neutralidade e leve alcalinidade (5,6 – 7,4). As avaliações de temperatura foram realizadas no sedimento concomitantemente a outros parâmetros (pH e Eh). Conforme esperado, apresentou as maiores médias a amostragem de Verão (30,3°C), seguida da amostragem de Primavera II (28,2°C) e de Outono (22,9°C). Os valores de Eh sugerem ambiente predominantemente redutor (valores negativos) normalmente encontrado em sedimentos de mangue. As medidas de salinidade só

foram obtidas na última amostragem (PII), por isso não puderam ser comparadas entre as campanhas, mas apresentaram valores entre 30 e 32% (Tabela 8).

5.3 Micronúcleo

Os resultados da frequência de MN observados em 1000 hemócitos, com suas respectivas médias e desvios-padrão entre os cinco espécimes de cada campanha amostral, estão apresentados na figura 9.

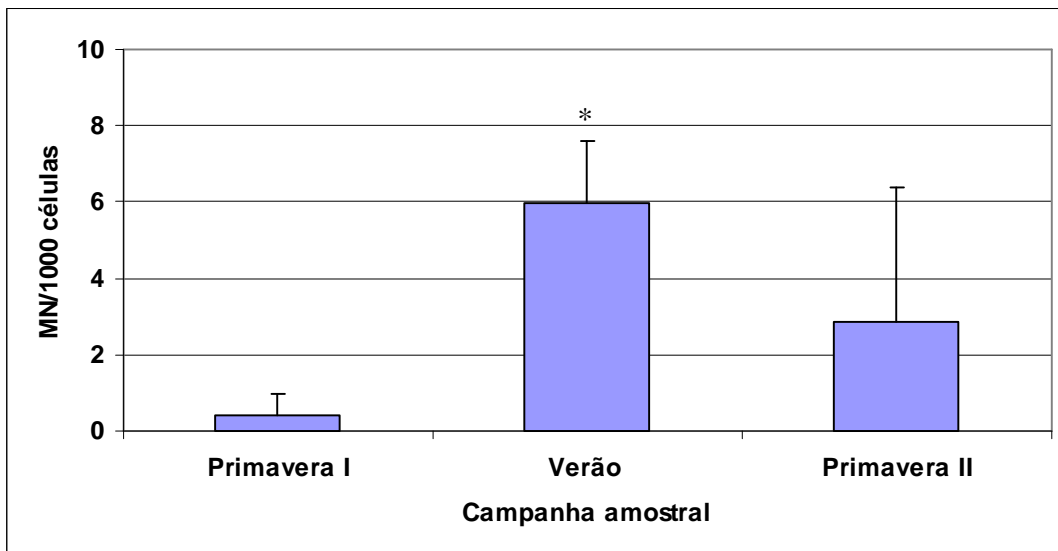


Figura 9. Frequência de MN entre as campanhas. * $p < 0,001$, em relação à PI.

Foi observada diferença significativa ($p < 0,001$) apenas para V em relação à PI, onde a frequência de micronúcleos foi de 6,0 e 0,4, respectivamente. Mesmo com a mudança de metodologia, PII não apresentou diferença significativa quando relacionada com as duas amostragens anteriores, diante do alto desvio padrão calculados. Não foram capturados caranguejos no período amostral de outono. Nas análises realizadas com os animais da PII, foi observada uma frequência média de 2,9 MN/1000 células (Figura 9).

5.4 Mutagenicidade: extratos orgânicos

5.4.1 Primavera I

As figuras 10-14 apresentam os resultados para mutagenicidade, em índice de mutagênese (IM), o(s) HPA detectado(s) (provenientes do extrato orgânico) e a quantificação de metais (provenientes de água intersticial), nos pontos M1-M5. Para todos os pontos foi observada resposta mutagênica negativa para as cepas analisadas, conforme o valor de IM, ≤ 2 . Paralelamente, foi realizada uma avaliação de resposta citotóxica, a qual também apresentou resposta negativa. Os valores absolutos de número de revertentes e porcentagem de sobrevivência estão disponíveis no apêndice A (Tabela 9).

Foram detectados HPA em todos os pontos de coleta, conforme figuras 10E-14E. Os valores mais representativos encontram-se em M1 e M2 e referem-se ao Indeno(1,2,3-cd)pireno (0,27 mg/Kg), Dibenzo(a,h)antraceno (0,22 mg/Kg) e Benzo(g,h,i)perileno (0,34 mg/Kg). Destacamos o Dibenzo(a,h)antraceno, que foi detectado em todos os pontos em baixas concentrações (de 0,05 a 0,22 mg/kg).

Os metais, analisados nos pontos M1-M4, apresentaram valores variavelmente baixos, oscilando pouco acima do limite de detecção do aparelho correspondente para cada elemento. Pb (0,31 a 0,51 mg/L) e Mn (0,70 a 0,98 mg/L) são os mais representativos, presentes em todos os pontos.

PRIMAVERA I - M1PI

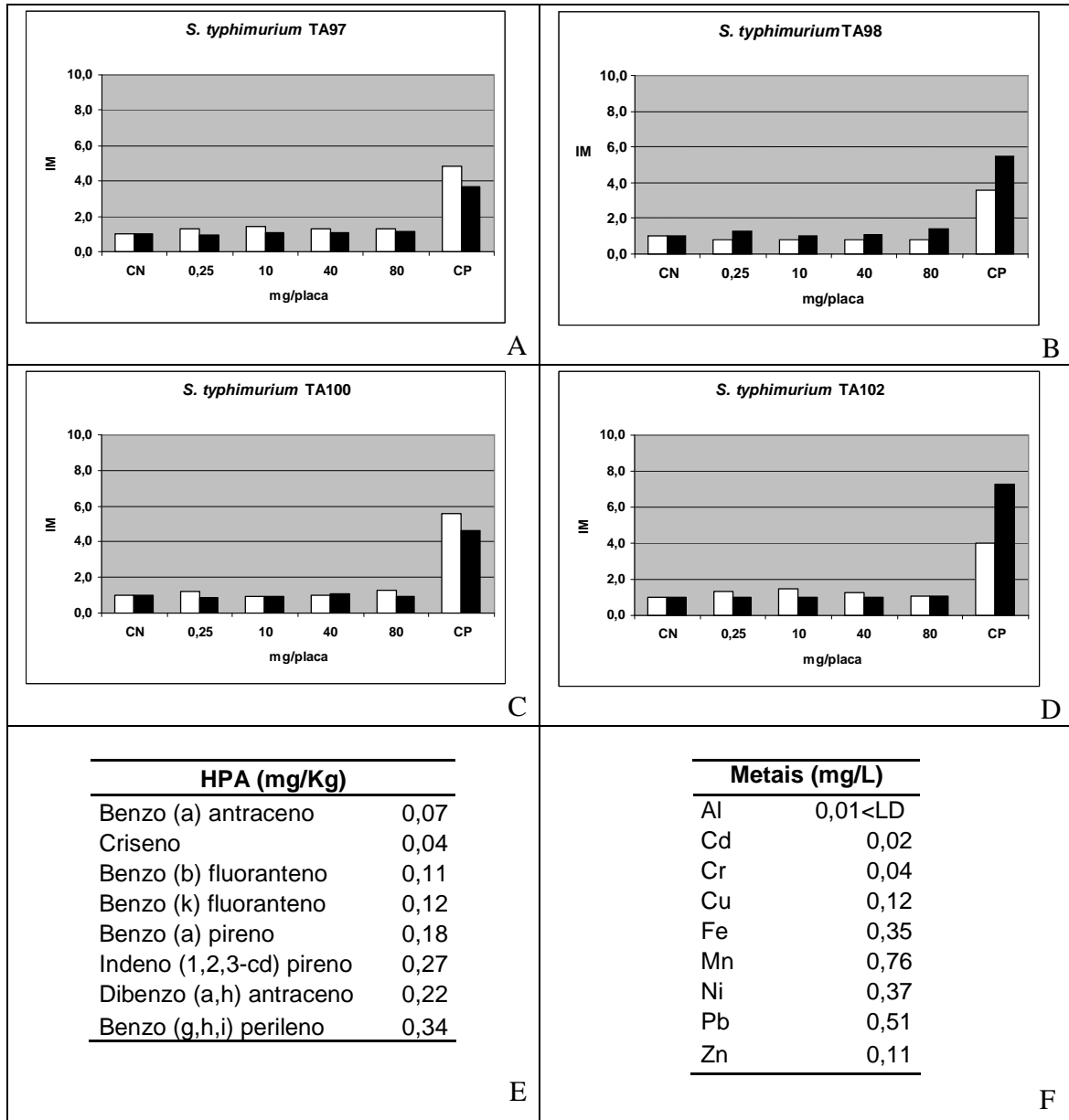


Figura 10- Resultados obtidos em M1. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microssuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. Oito HPA identificados entre os dezesseis prioritários indicados pela EPA (mg/Kg equivalente de sedimento). F. Quantificação dos metais na água intersticial (mg/L).

PRIMAVERA I – M2PI

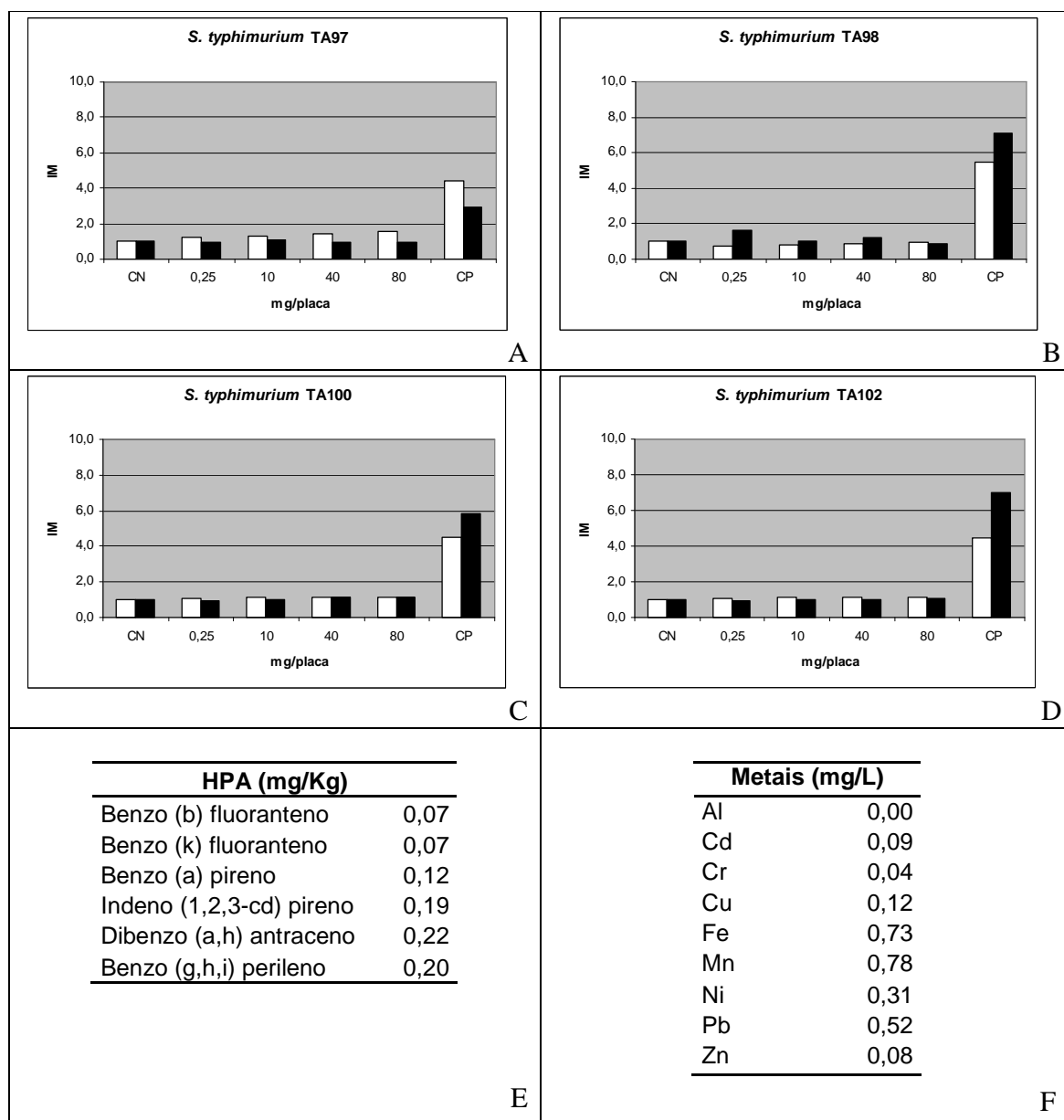


Figura 11- Resultados obtidos em M2. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microsuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. Seis HPA identificados entre os dezesseis prioritários indicados pela EPA (mg/Kg equivalente de sedimento). F. Quantificação dos metais na água intersticial (mg/L).

PRIMAVERA I – M3PI

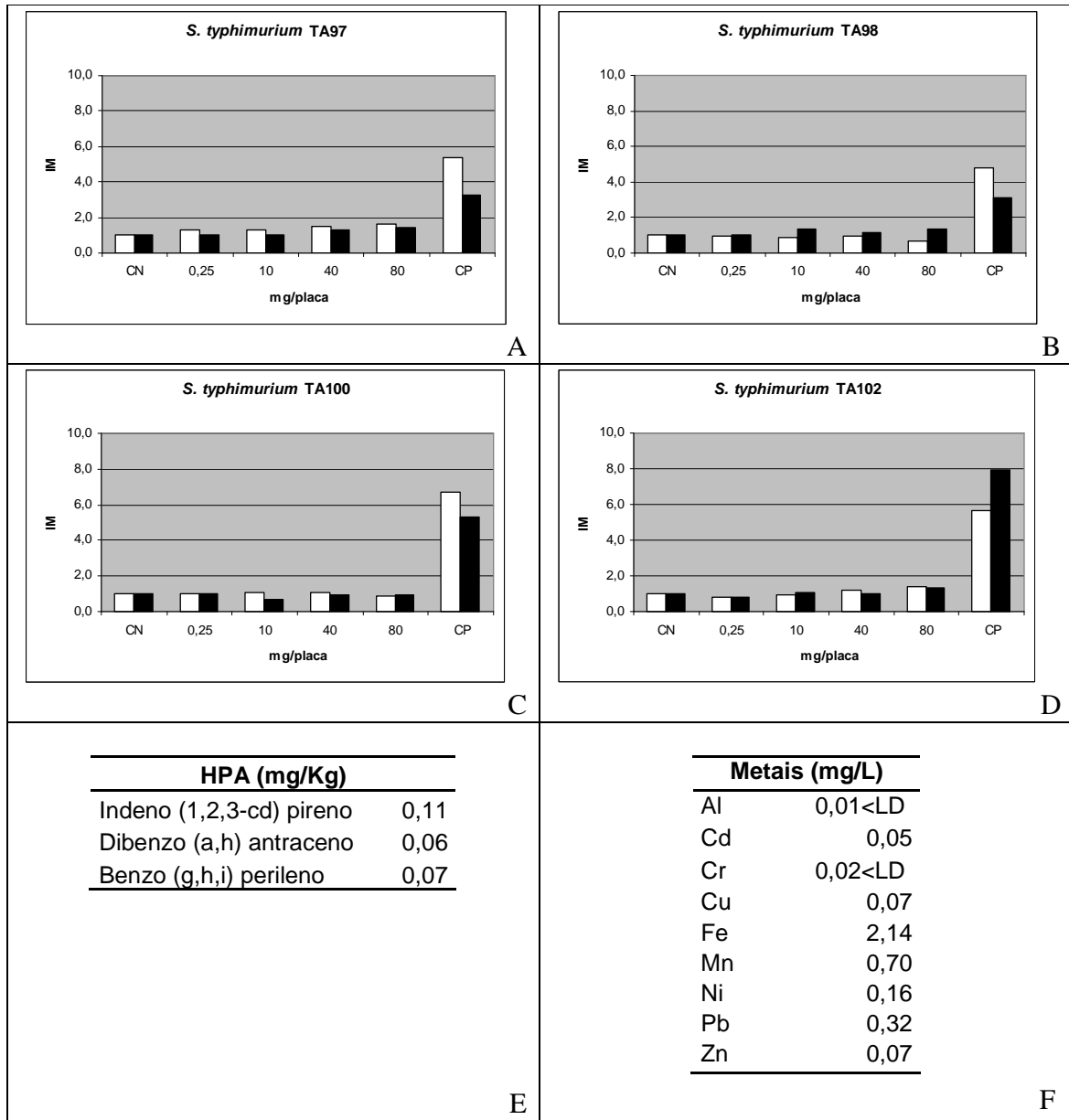


Figura 12- Resultados obtidos em M3. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microsuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. Três HPA identificados entre os dezesseis prioritários indicados pela EPA (mg/Kg equivalente de sedimento). F. Quantificação dos metais na água intersticial (mg/L).

PRIMAVERA I – M4PI

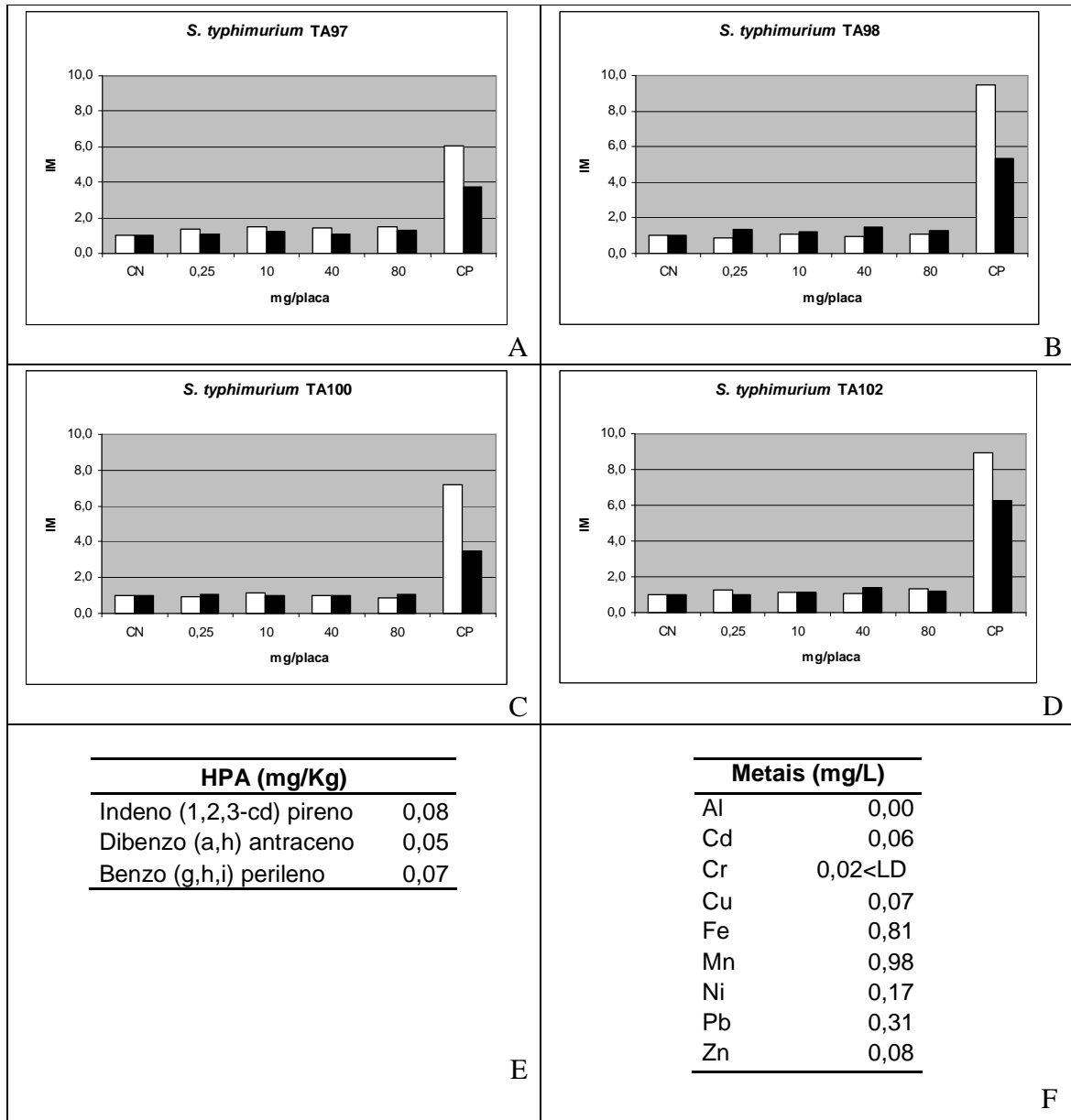


Figura 13- Resultados obtidos em M4. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microsuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. Três HPA identificados entre os dezesseis prioritários indicados pela EPA (mg/Kg equivalente de sedimento). F. Quantificação dos metais na água intersticial (mg/L).

PRIMAVERA I – M5PI

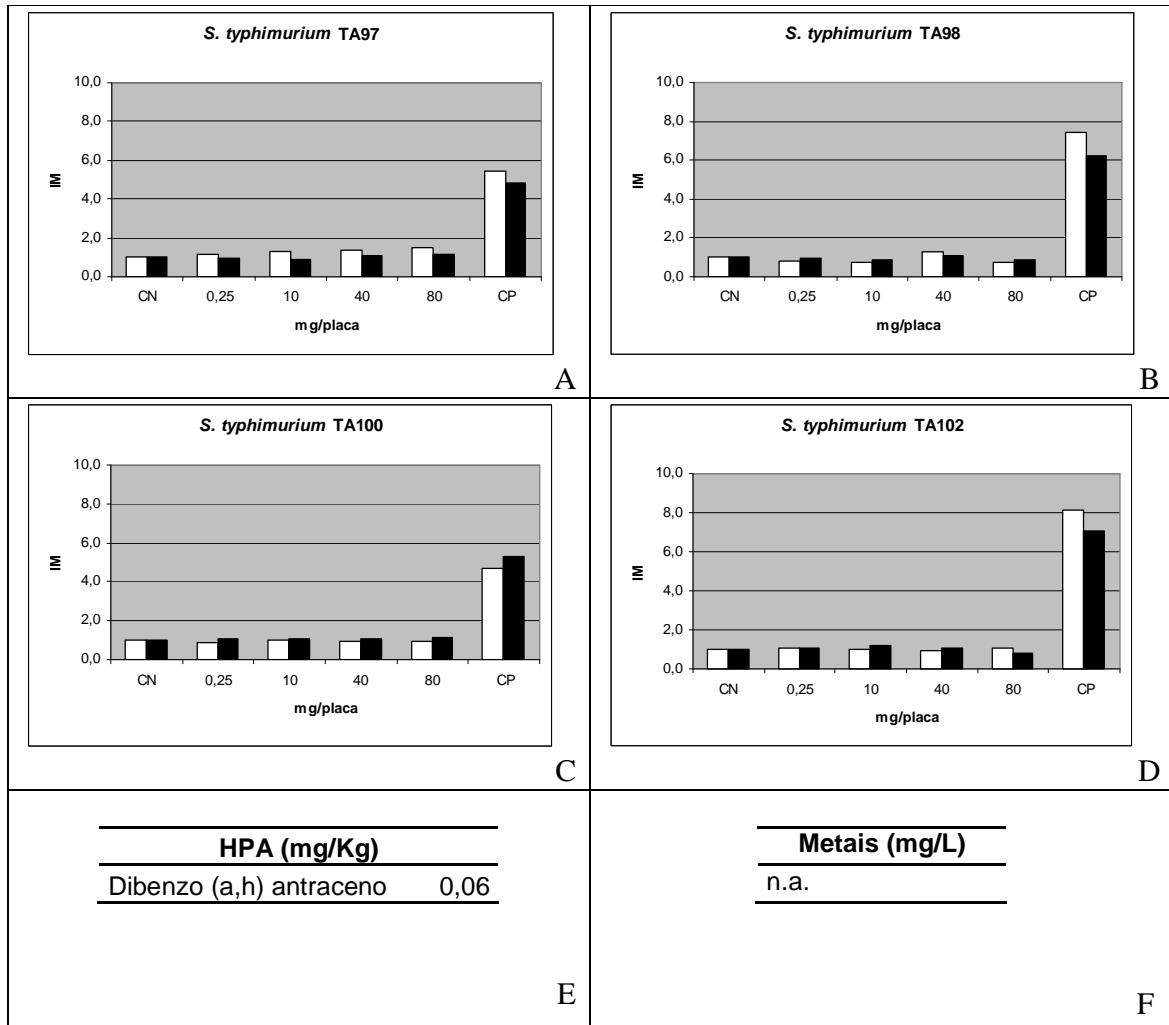


Figura 14- Resultados obtidos em M5. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microsuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. Um HPA identificado entre os dezesseis prioritários indicados pela EPA (mg/Kg equivalente de sedimento). F. n.a. não avaliado.

5.4.2 Verão

Conforme figuras 15-19 (A-D), os resultados para mutagenicidade foram negativos no extrato orgânico do sedimento. Os valores absolutos do número de revertentes e porcentagem de sobrevivência estão disponíveis no apêndice B (Tabela 10). Benzo(a)pireno foi detectado em M1V com valor significativamente maior entre os demais (Figura 15E-19E). Entre os metais traço analisados, o Pb foi o de maior concentração, sendo representativo nos pontos M1 e M2V. Outros metais como Cr, Fe e Zn foram negativos quando descontado os valores do “branco” da digestão ácida (Figura 15F-19F).

VERÃO – M1V

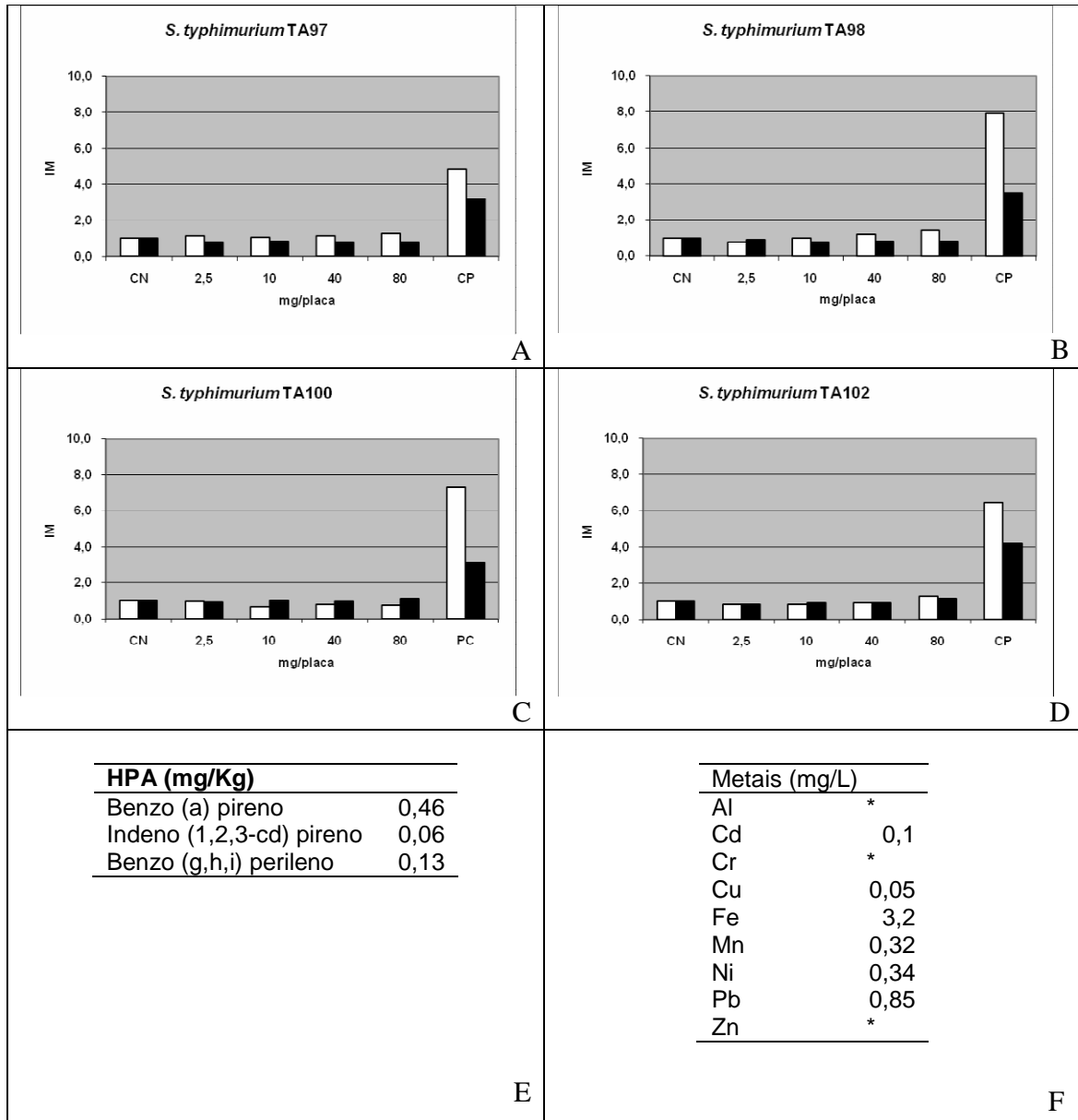


Figura 15- Resultados obtidos em M1. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microsuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. Três HPA identificados entre os dezesseis prioritários indicados pela EPA (mg/Kg equivalente de sedimento). F. Média dos valores de metais na água intersticial (mg/L); *amostras com impurezas.

VERÃO – M2V

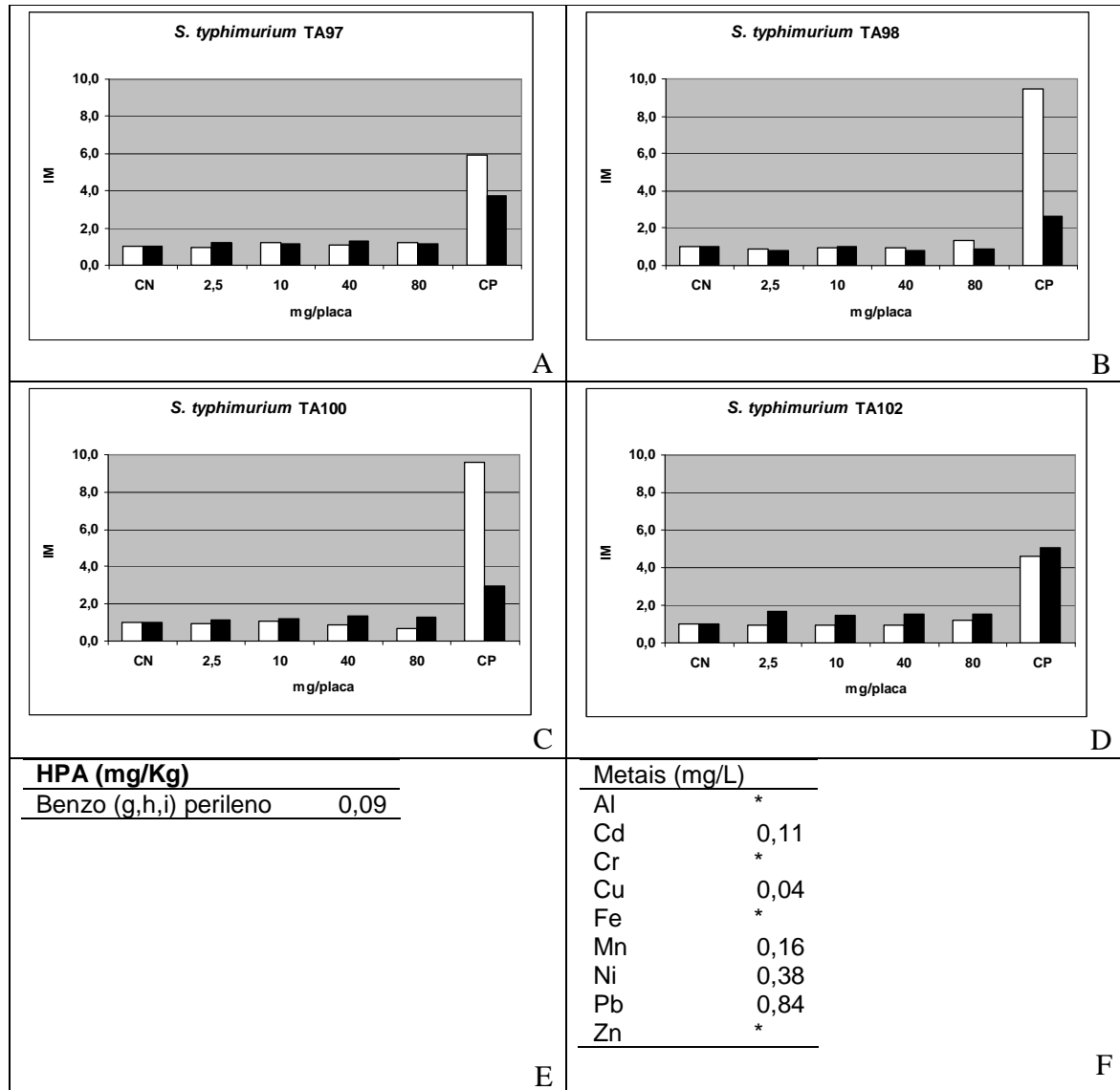


Figura 16- Resultados obtidos em M2. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microsuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. Um HPA identificados entre os dezesseis prioritários indicados pela EPA (mg/Kg equivalente de sedimento). F. Média dos valores de metais na água intersticial (mg/L); *amostras com impurezas.

VERÃO – M3V

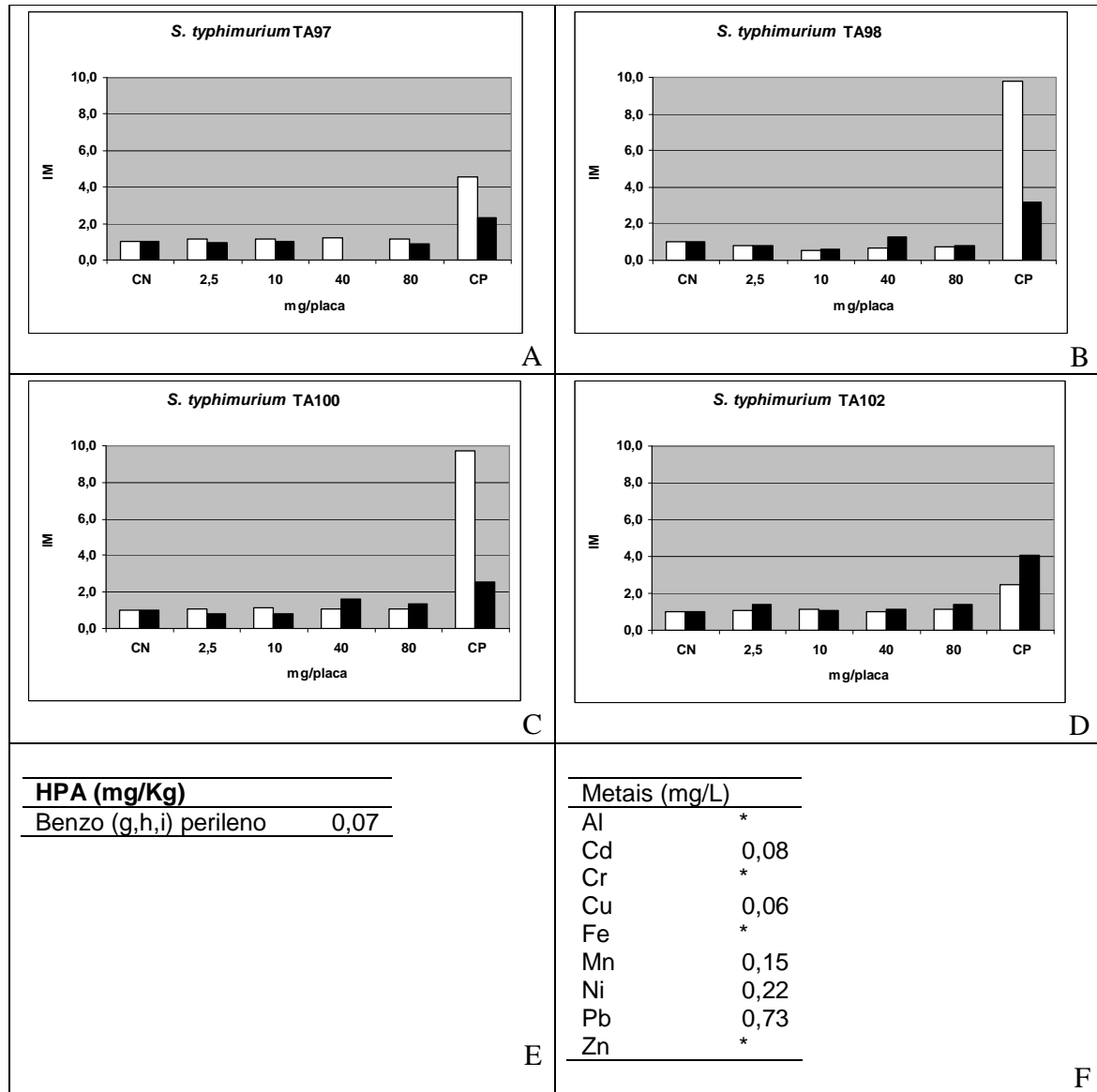


Figura 17- Resultados obtidos em M3. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microssuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. Um HPA identificados entre os dezesseis prioritários indicados pela EPA (mg/Kg equivalente de sedimento). F. Média dos valores de metais na água intersticial (mg/L); *amostras com impurezas.

VERÃO – M4V

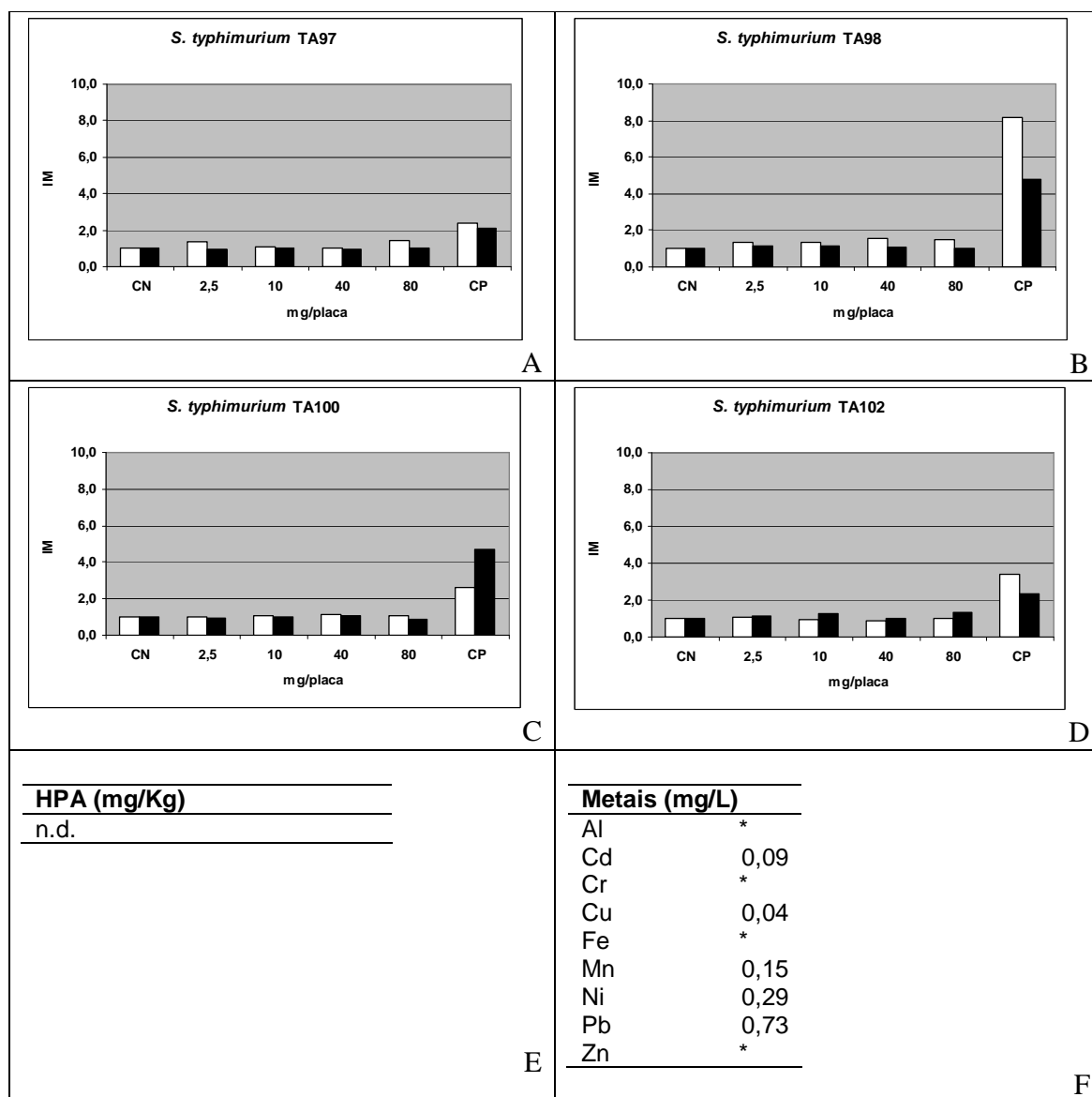


Figura 18- Resultados obtidos em M4. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microssuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. n.d. não detectados HPA entre os dezesseis prioritários indicados pela EPA. F. Média dos valores de metais na água intersticial (mg/L); *amostras com impurezas.

VERÃO – M5V

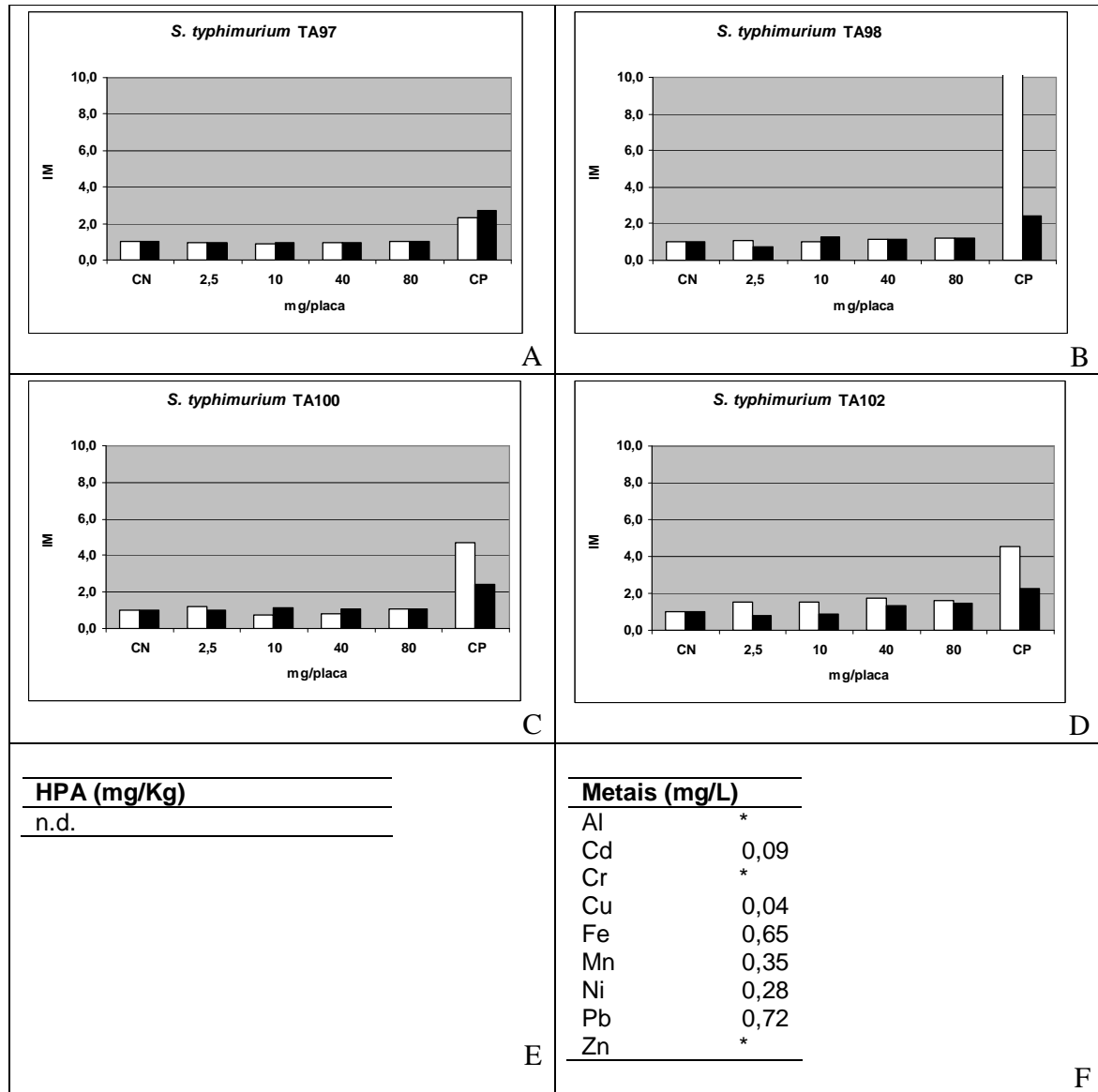


Figura 19- Resultados obtidos em M5. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microssuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. n.d. não detectados HPA entre os dezesseis prioritários indicados pela EPA. F. Média dos valores de metais na água intersticial (mg/L); *amostras com impurezas.

5.4.3 Outono

As figuras 20-24 apresentam os resultados para mutagenicidade (IM), o HPA detectado (mg/Kg) e a quantificação de metais (mg/Kg equivalente de sedimento) durante a campanha amostral de Outono, nos cinco pontos. Não foram observadas respostas positivas mutagênicas nem citotóxicas na detecção de compostos orgânicos com as linhagens de *S. thiphymurium*. Os valores absolutos de número de revertentes e porcentagem de sobrevivência estão disponíveis no apêndice C (Tabela 11).

Detectamos quatro concentrações de metais (Cd, Pb, Cu e Ni) acima do estabelecido como referência de qualidade (1,0 em M5; 17,0 em M5; 42,3 em M3 e 16,2 em M1, respectivamente), e dois metais (Cd e Cu) com concentrações acima do valor de prevenção para solos (1,6 em M1 e 66,8 em M2, respectivamente) (CETESB) e acima do *TEL*, porém não ultrapassam valores de *PEL* (Níveis 1 e 2, respectivamente, CONAMA).

OUTONO – M10

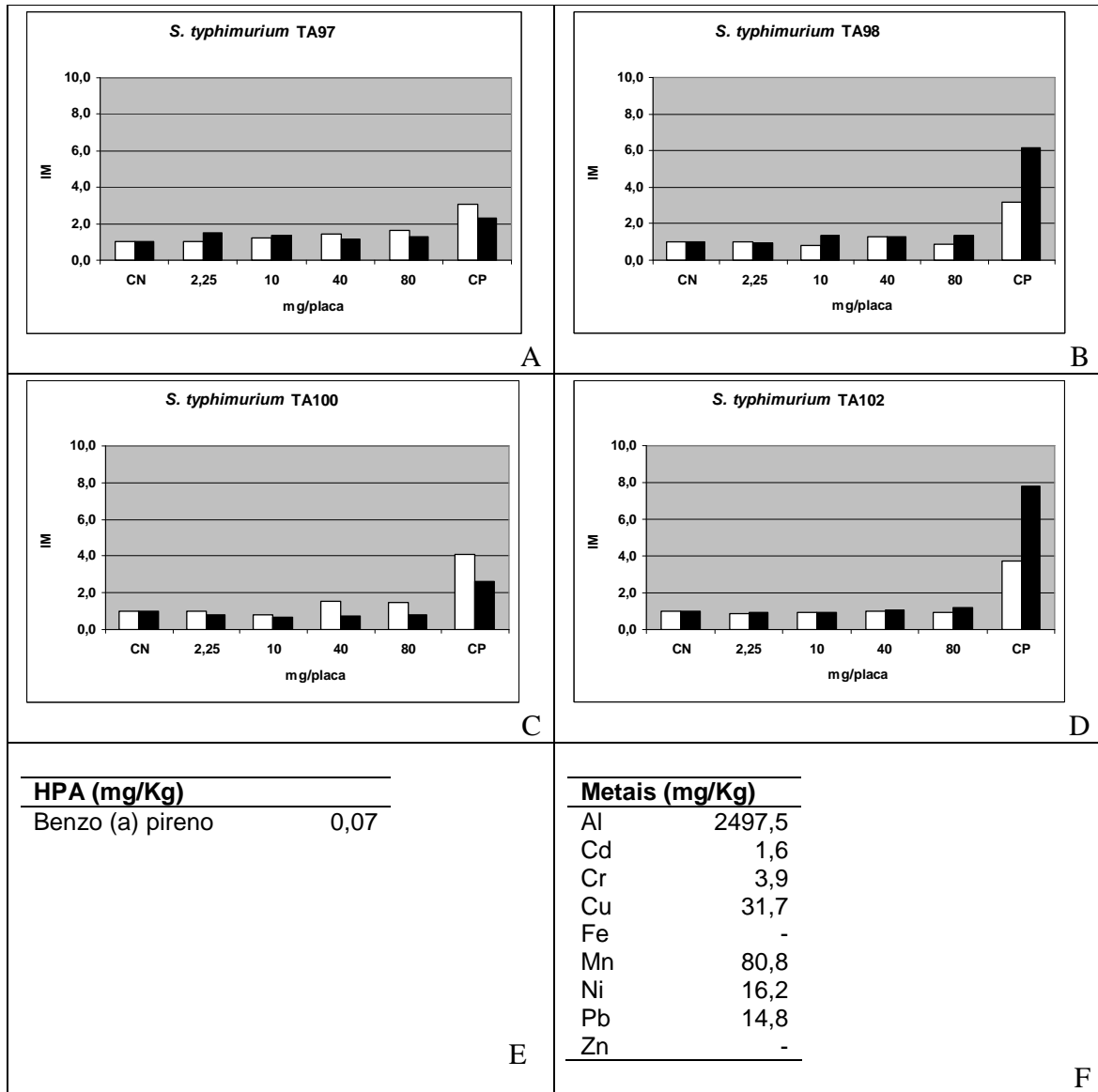


Figura 20- Resultados obtidos em M1. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microssuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. HPA detectado entre os dezesseis prioritários indicados pela EPA. F. Média dos valores quantificados dos metais no sedimento (mg/Kg). -: não quantificado.

OUTONO – M20

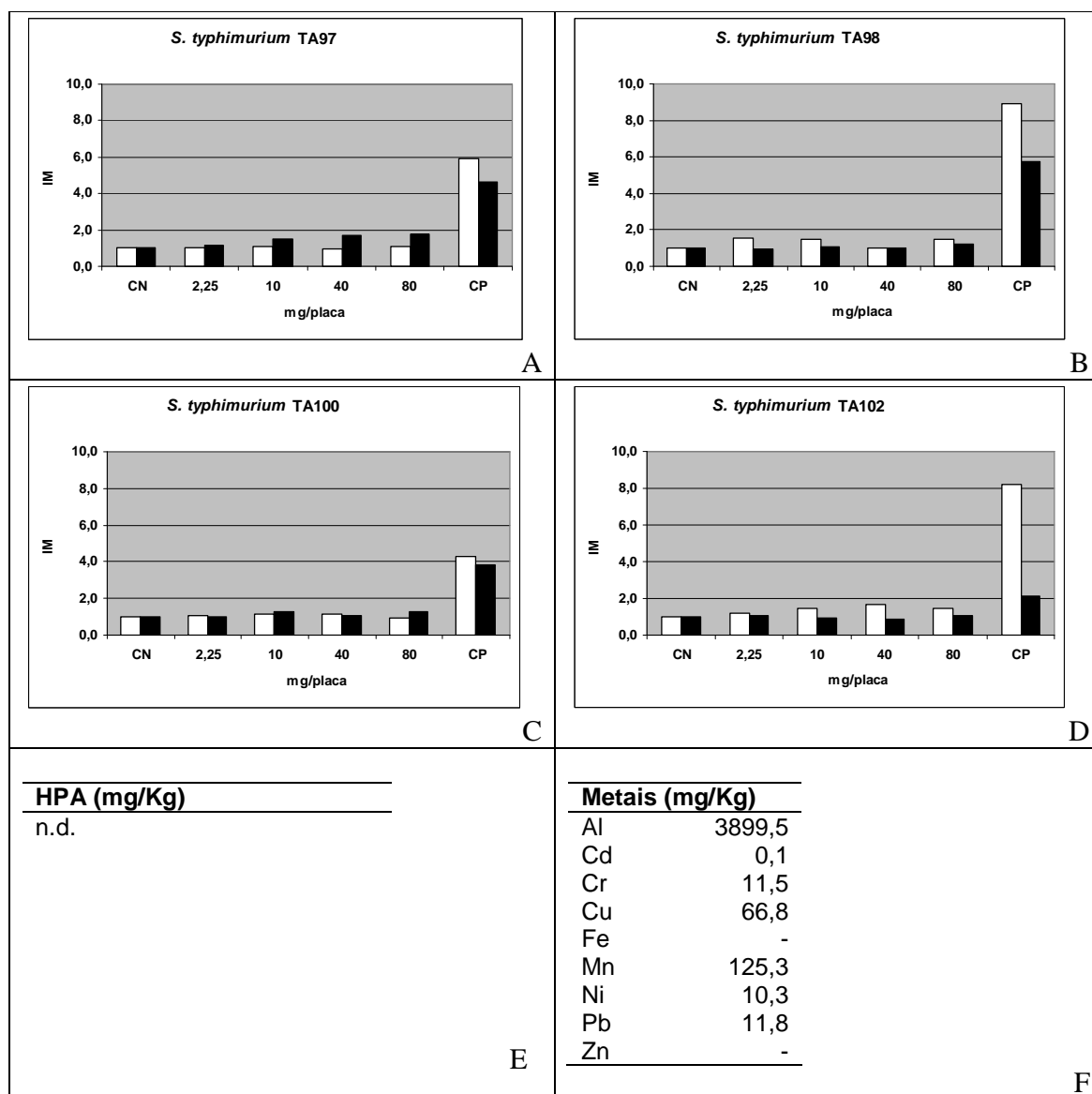


Figura 21- Resultados obtidos em M2. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microssuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E n.d. não detectados. F. Média dos valores quantificados dos metais no sedimento (mg/Kg). -: não quantificado.

OUTONO – M30

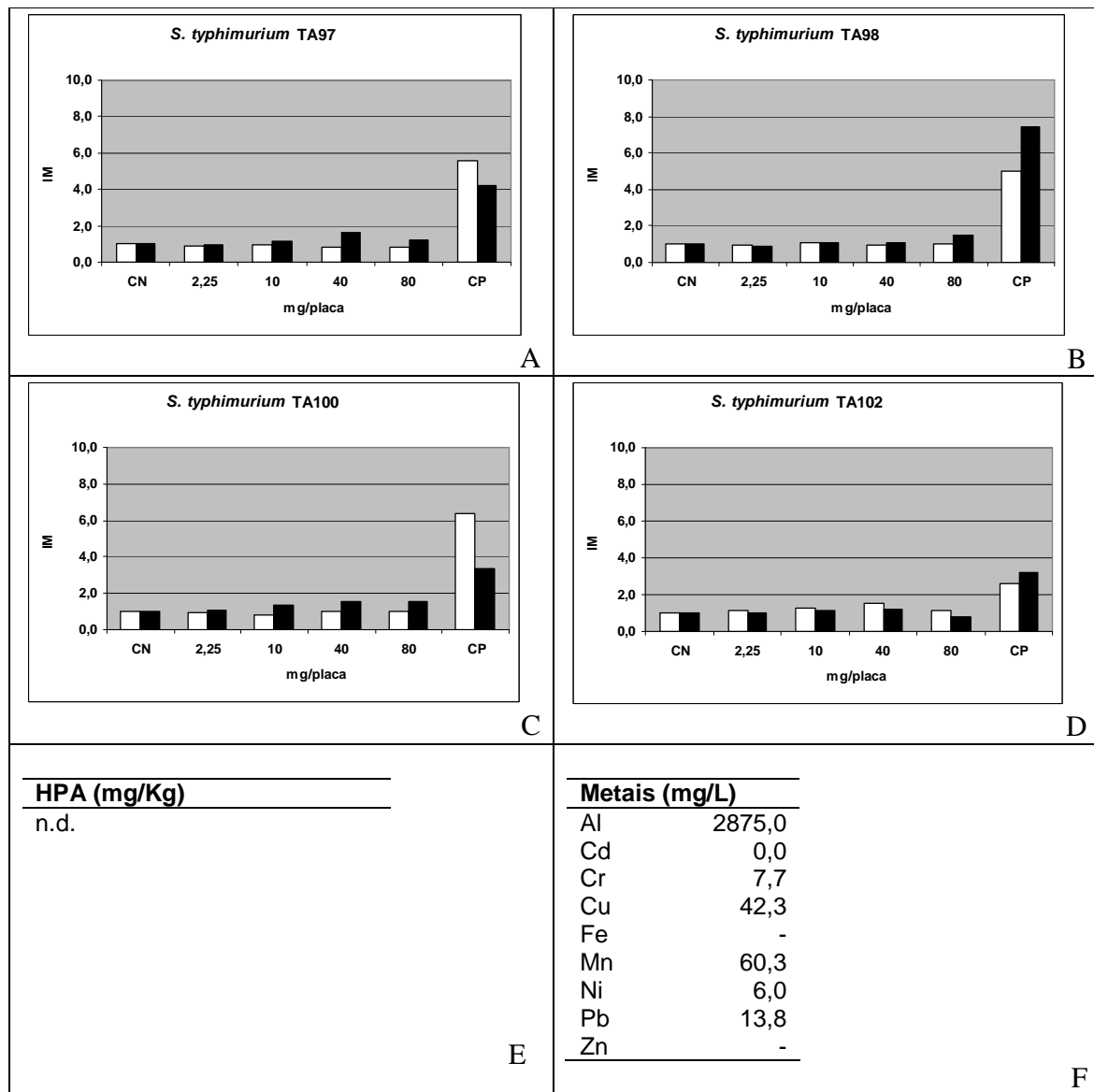


Figura 22- Resultados obtidos em M3. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microsuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E n.d. não detectados. F. Média dos valores quantificados dos metais no sedimento (mg/Kg). -: não quantificado.

OUTONO – M40

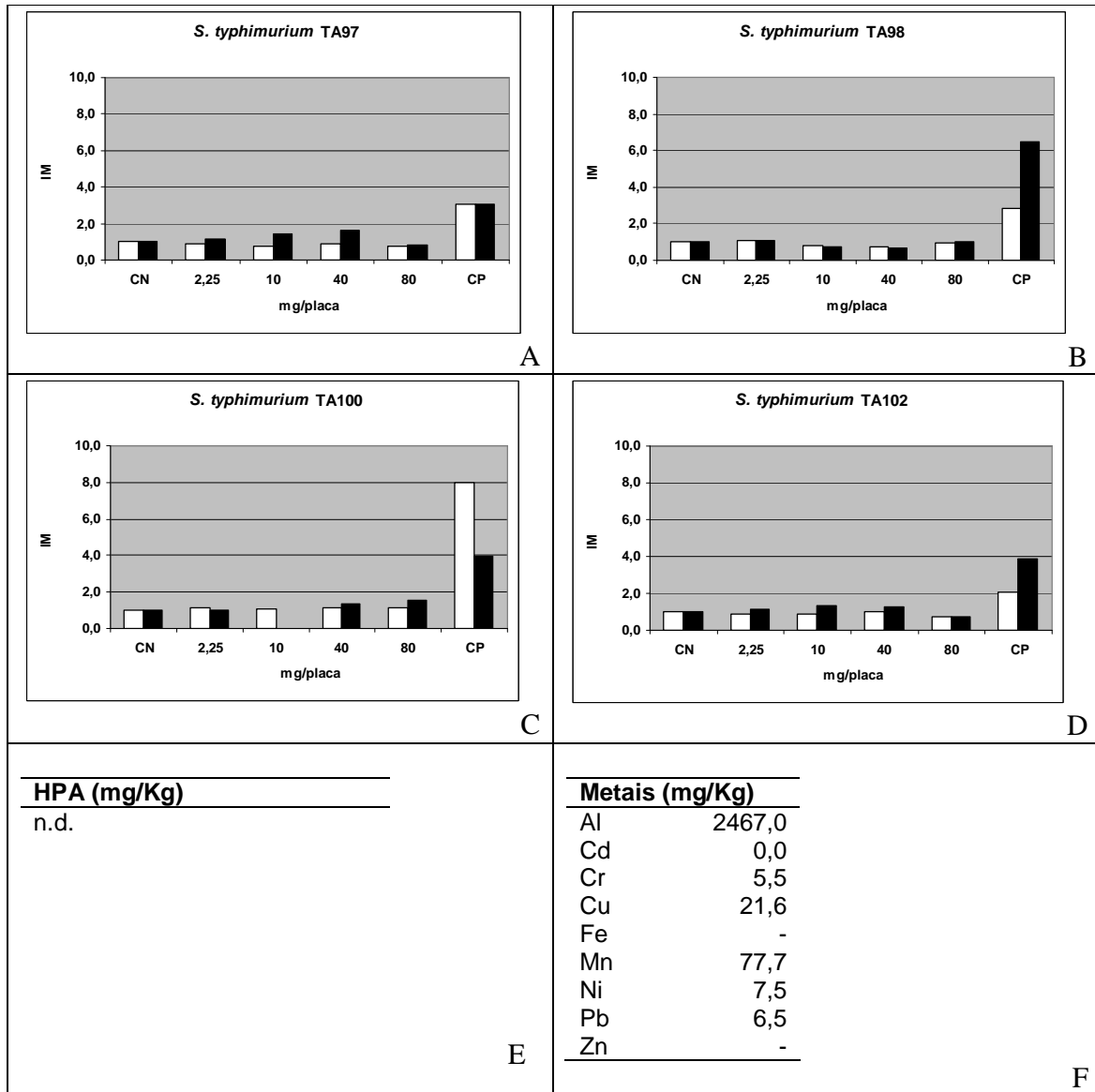


Figura 23- Resultados obtidos em M4. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microssuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. n.d. não detectados. F. Média dos valores quantificados dos metais no sedimento (mg/Kg). -: não quantificado.

OUTONO – M50

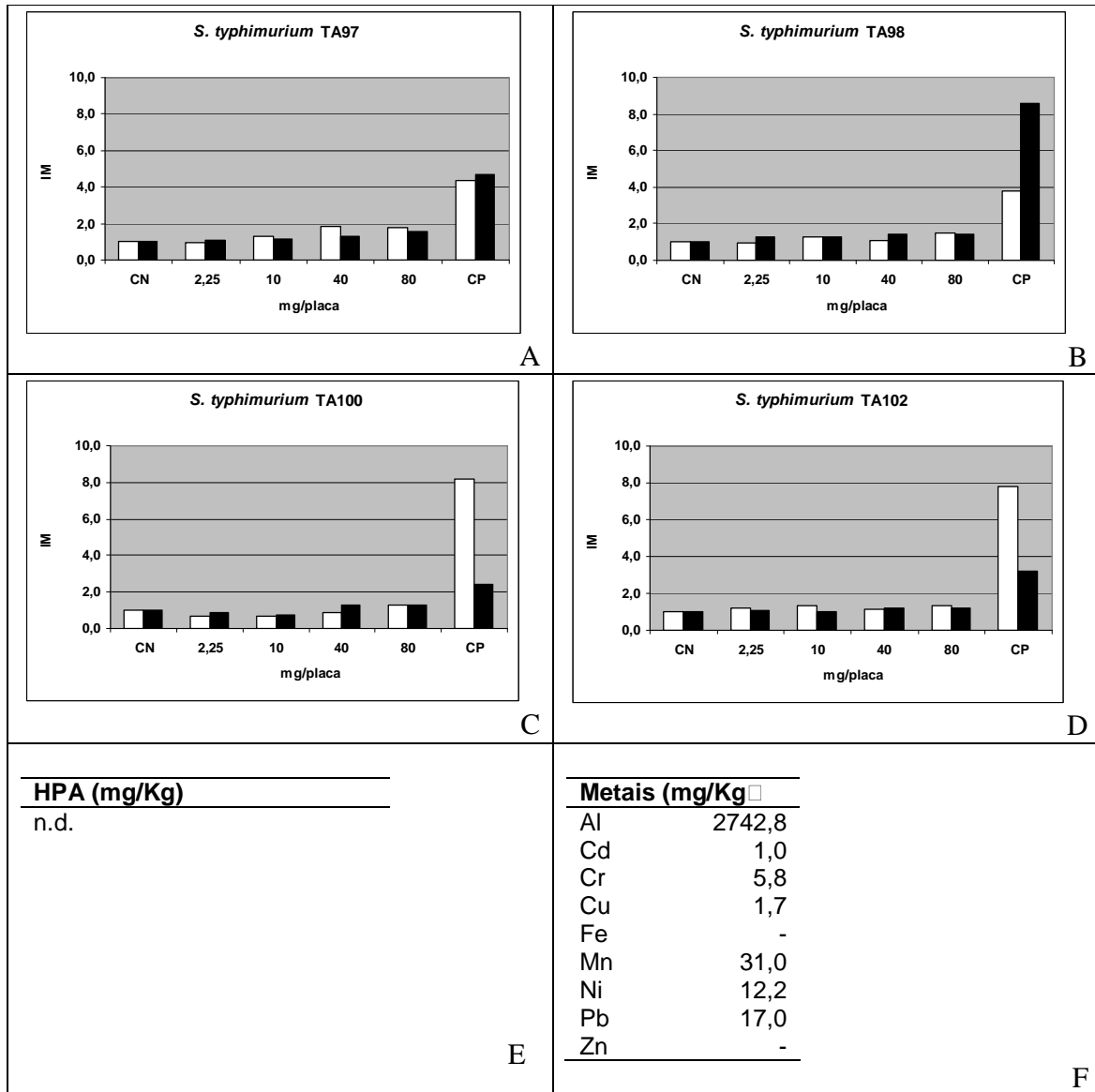


Figura 24- Resultados obtidos em M5. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microssuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. n.d. não detectados. F. Média dos valores quantificados dos metais no sedimento (mg/Kg). -: não quantificado.

5.4.3 Primavera II

As figuras 25-29 apresentam igualmente resultados negativos para mutagenicidade (IM) e citotoxicidade, detectadas através das cepas TA97, TA98, TA100 e TA102 (na ausência e na presença de S9 mix), para M1, M2 e M5. Somente foram realizados ensaios na presença de S9 mix (com as quatro cepas) nos pontos M3 e M4. Os valores de número de revertentes e sobrevivência celular (%) encontram-se detalhados no apêndice D (Tabela 12).

Na Primavera II foram identificados quatro valores de Cd acima da referência de qualidade (CETESB), mas abaixo de *TEL*, encontrados em todos os pontos, com exceção de M5. Dentre os HPA avaliados, não observamos a presença destes compostos em nenhum ponto desta campanha amostral.

PRIMAVERA II - M1PII

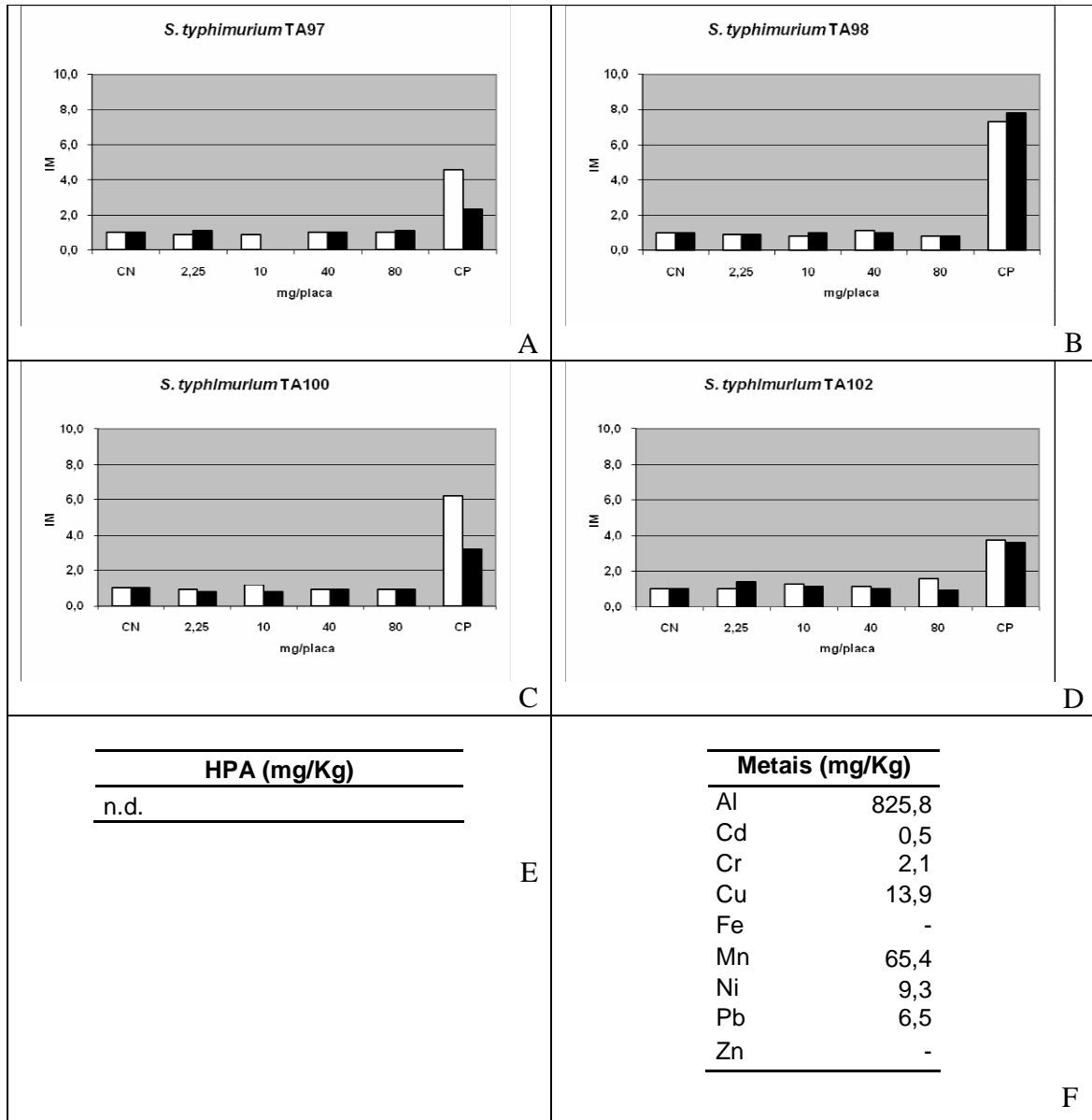


Figura 25- Resultados obtidos em M1. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microsuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. n.d.: não detectado. F. Quantificação dos metais na água intersticial (mg/Kg). -: não quantificado.

PRIMAVERA II – M2PII

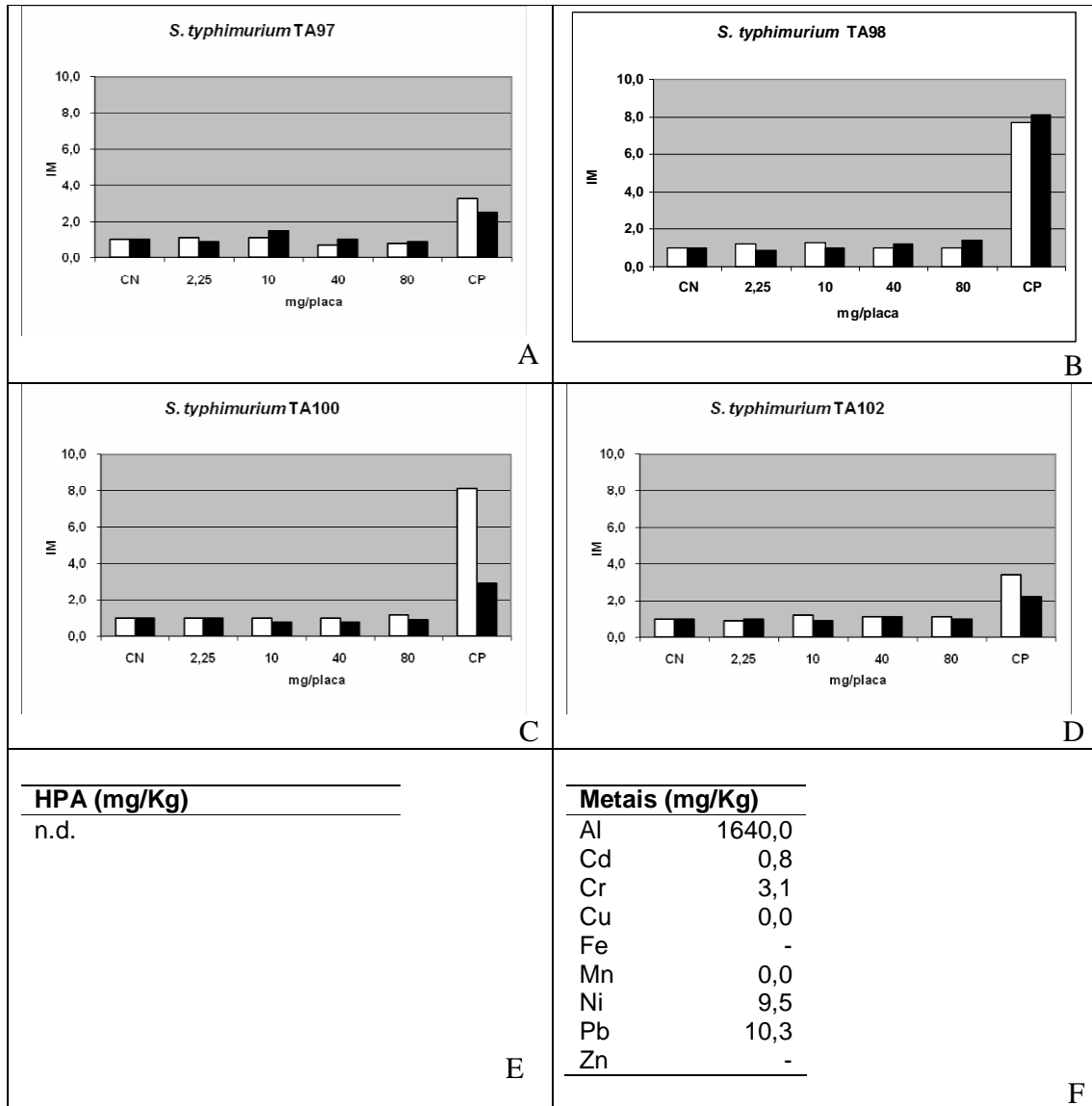


Figura 26- Resultados obtidos em M2. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microsuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. n.d.: não detectado. F. Quantificação dos metais na água intersticial (mg/Kg). -: não quantificado.

PRIMAVERA II – M3PII

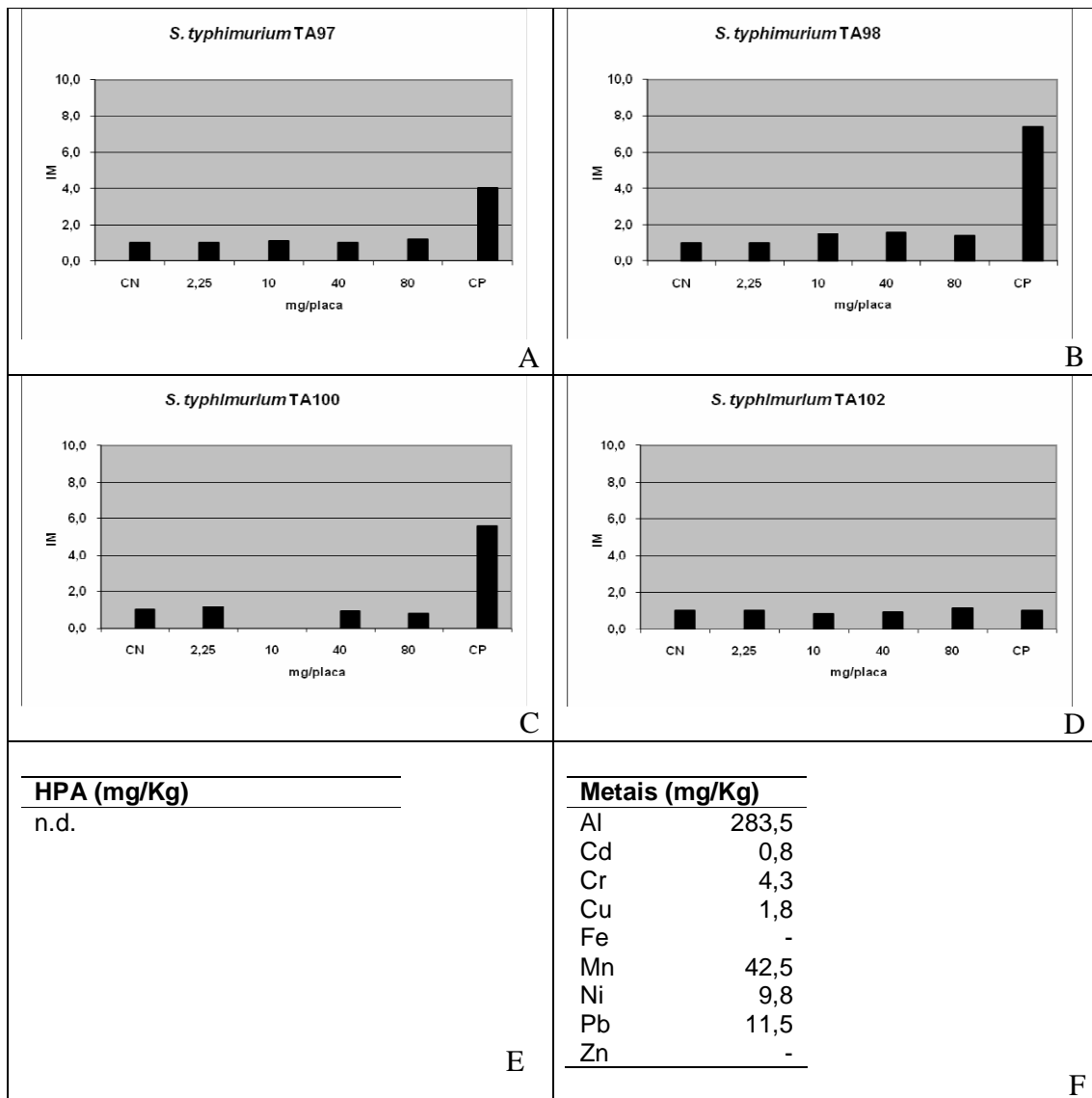


Figura 27- Resultados obtidos em M3. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microsuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. n.d.: não detectado. F. Quantificação dos metais na água intersticial (mg/Kg). -: não quantificado.

PRIMAVERA II – M4PII

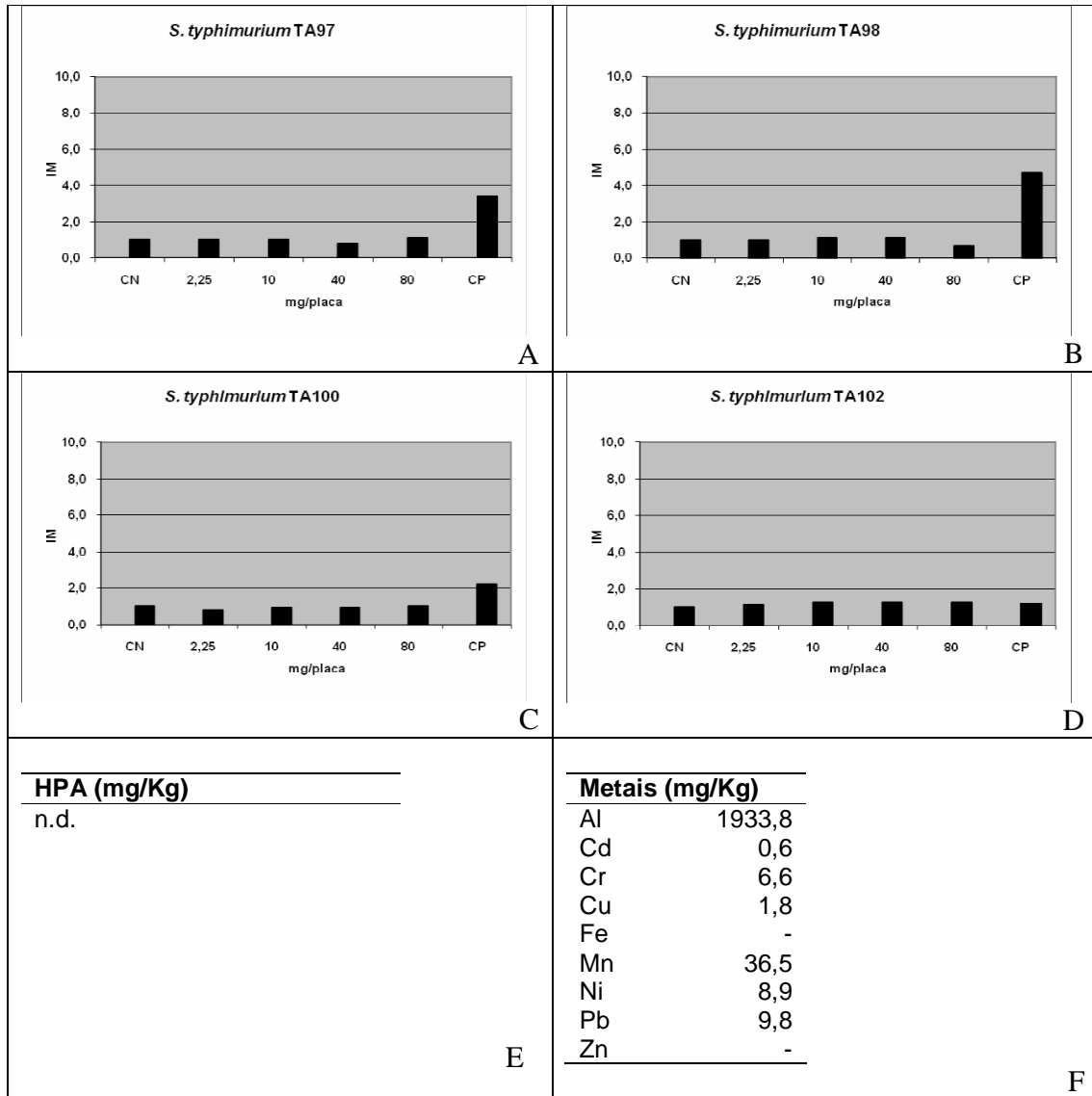


Figura 28- Resultados obtidos em M4. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microsuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. n.d.: não detectado. F. Quantificação dos metais na água intersticial (mg/Kg). -: não quantificado.

PRIMAVERA II – M5PII

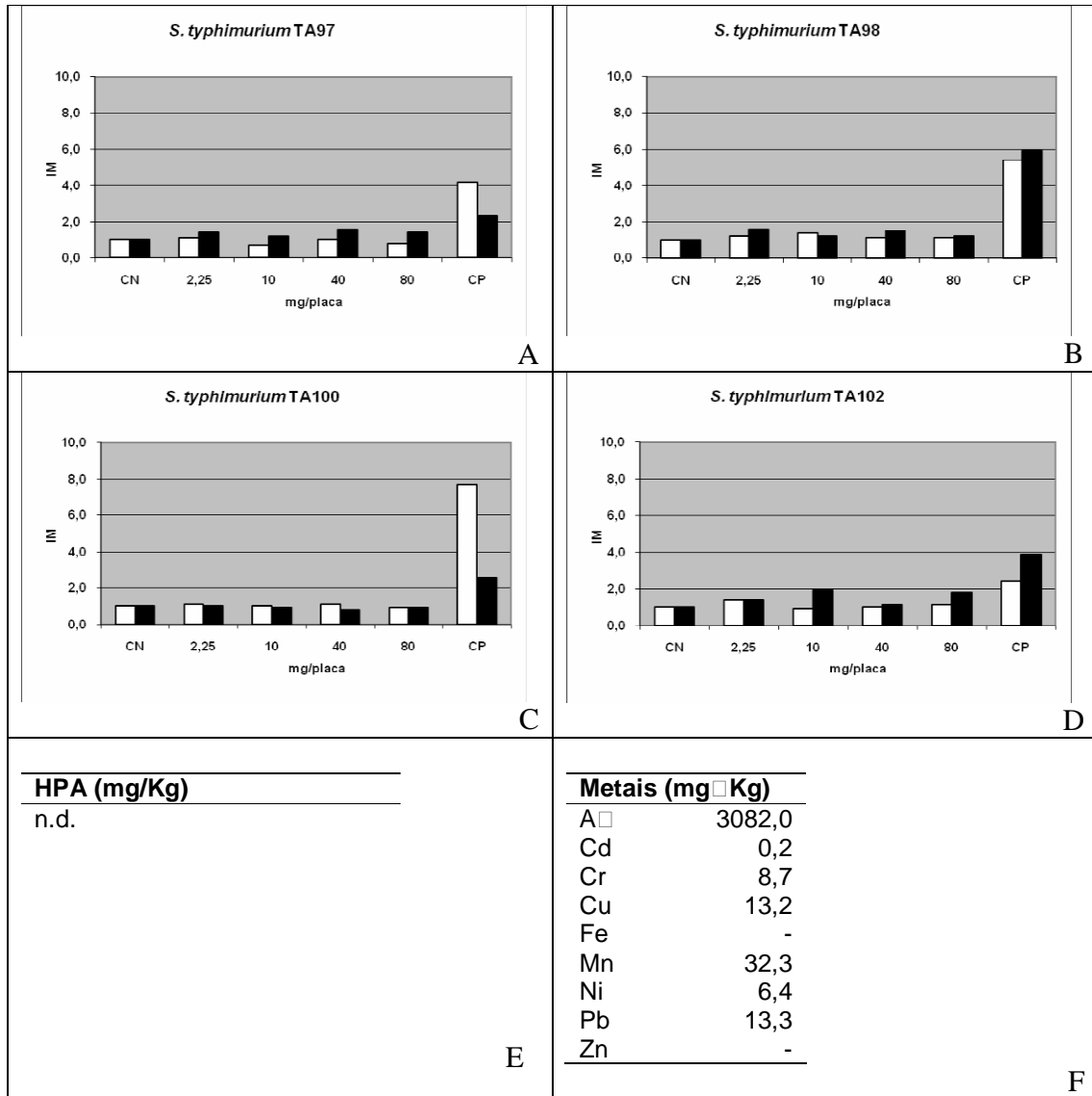


Figura 29- Resultados obtidos em M5. A-D. Avaliação de mutagenicidade do extrato orgânico do sedimento – Teste de Microsuspensão – (A) *Salmonella typhimurium* TA97, (B) TA98, (C) TA100 e (D) TA102, na ausência (colunas brancas) e na presença (colunas pretas) de ativação metabólica (4%). I.M. índice de mutagenicidade. CN: controle negativo (DMSO, 5µL/placa). CP: controle positivo - ensaios sem S9 mix: TA97 e TA98, 4NQO - 0.5 µg/placa ; TA100, AS -5.0 µg/placa; TA102, MitC -1.0 µg/placa e os com S9 mix: 2AA (5.0 µg/placa) para TA97, TA98 e TA100; 2AA (10.0 µg/placa) para TA102. E. n.d.: não detectado. F. Quantificação dos metais na água intersticial (mg/Kg). -: não quantificado.

6 DISCUSSÃO

6.1 Do objeto de estudo

O Saco do Mamanguá foi objeto de interesse, pois abriga provavelmente os manguezais mais bem desenvolvidos e preservados do Rio de Janeiro, que ainda poderiam servir como indicadores de referência para outras áreas similares. Ao mesmo tempo, este peculiar ecossistema é cientificamente pouco conhecido e vem sendo cada vez mais explorado desordenadamente. Com o crescimento populacional e conseqüente expansão da demanda de recursos, a localidade está suscetível a sérios impactos ambientais. Segundo informações fornecidas pela administração da REJ, existem cerca de 2.000 pessoas vivendo nesta região, entretanto, o número de visitantes chega a 20.000 por ano, principalmente nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro.

Para que um estudo de caracterização ambiental seja representativo, é indicado que se obtenha dados a cada estação do ano, ao longo de pelo menos um ano de uma determinada área (Vargas, 2008) [comunicação pessoal]. Segundo Hortellani *et al.*, 2008, como os sedimentos são levados pelos rios para outro curso de água ou para o mar, a análise do sedimento em vários pontos de uma região de interesse serve para rastrear fontes de contaminação ou monitorar rotas de dispersão destes contaminantes.

Buscando caracterizar a região de estudo com relação aos níveis naturais de ocorrência de substâncias potenciais causadoras de danos genéticos (contaminantes antrópicos e/ou constituintes naturais), foi importante a avaliação nos cinco pontos (M1-M5) e nas quatro campanhas amostrais. Por motivos de força maior não pode ser realizada a amostragem de Inverno, que compunha a proposta inicial do desenho experimental. Por isso, apesar de não obtermos os dados de Inverno, uma quarta amostragem foi realizada buscando compor dados mais substanciais que foram apresentados por campanha, sendo então PI, V, O e PII.

Com relação aos procedimentos de coleta, manipulação e armazenagem de amostras, de acordo com recomendações do manual técnico EPA 823 (2001), consideramos suficientemente satisfatórios os procedimentos adotados. Atenção especial foi dedicada a este item, pois se tratando de local e amostra potencialmente “limpa” (ou não poluída), evitamos ao máximo o contato da amostra com quaisquer interferentes orgânicos ou inorgânicos que os materiais e/ou a instrumentação usada pudessem carrear para a mesma. Cuidados especiais com a armazenagem

de amostras contendo níveis traço de determinado analito também precisam ser observados. Os problemas com preservação de amostras envolvem mudança de composição onde a toxicidade pode ser alterada, sofrer degradação ao longo do tempo, adsorção dos analitos nos frascos utilizados, além da influência da variação do pH durante a estocagem (Mathiasson, 2009). Uma questão fundamental neste sentido foi conhecer o tipo de matriz a ser avaliada e saber o que se queria determinar na amostra, para aplicar as metodologias apropriadas com a acurácia e a precisão necessárias.

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) pretende implementar uma normativa específica de Controle e Garantia da Qualidade de Amostra, que trate da preservação, acondicionamento e transporte de amostras ambientais. Para junho de 2011 é esperada a publicação para Amostragem de Solo por Grupo de Substâncias (Alves, 2009).

6.2 Granulometria

O protocolo para análise granulométrica, realizado antes do início oficial das amostragens, durou aproximadamente dois meses para ser desenvolvido em sua totalidade. Entre os fatores que contribuíram para prolongar o trabalho, destaca-se a remoção inicial dos sais e a eliminação da MO (abundantemente presentes nas amostras), seguidas da eliminação do carbonato.

A nomenclatura para a descrição dos tamanhos dos grãos é importante porque a distribuição granulométrica é uma característica física básica dos sedimentos. Em geral, a fração fina do sedimento é a que concentra os maiores teores de metais, já nas frações grossas as concentrações de metais decrescem porque estas frações são predominantemente formadas por compostos de quartzo com baixos teores de metais (Seelinger & Cordazzo, 1988). Em recente tese desenvolvida por Teixeira (2009) em vários pontos da Baía de Ilha Grande, a enseada que apresentou maior média de teor de argila foi o Saco do Mamanguá, provavelmente devido às características da área que proporciona baixa circulação de água e conseqüentemente deposição de partículas mais finas.

O ponto M5 apresentou diferença notória entre os demais pontos na composição textural do sedimento. A granulometria mais grossa identificada no ponto M5 poderia estar relacionada à localização do mesmo, o qual fica mais próximo à saída do manguezal do SM, e, portanto, mais sujeito a movimentação dos sedimentos provenientes da enseada e do oceano (hidrodinamismo).

M5 também apresentou os menores valores proporcionais de conteúdo de MO e carbonato. Todos os outros quatro pontos apresentaram composição de 99,8% de lama (dividida em silte e argila) e somente 0,2% de areia. De acordo com Satpathy *et al.* (2010), diferenças de textura podem ser atribuídas à mistura vigorosa estuarina, suspensão e ressuspensão, e processos de floculação e defloculação, processos que aparentemente não ocorrem no fundo do SM.

A fração de tamanho de partícula $<63\mu\text{m}$ é a mais importante para a análise dos contaminantes (Salomons & Föstner, 1984). Todos os materiais argilosos, bem como a matéria orgânica e os minerais de granulometria fina como quartzo, feldspato e carbonatos, são encontrados nessa fração. Camadas de hidróxidos de ferro e manganês são comuns. As propriedades dessas partículas finas (por exemplo, grandes áreas específicas e alta capacidade de troca iônica) fazem com que possam atuar como agentes de limpeza eficientes dos contaminantes descarregados nos sistemas aquáticos (SedNet, 2009).

Esses dados são similares aos recentemente relatados por Teixeira (2009), que avaliou diversas enseadas da Baía de Ilha Grande e especificamente 23 pontos ao longo da do Saco do Mamangá. A mesma relatou que a Enseada apresentou a maior média do teor de argila, provavelmente devido às características da área que proporciona baixa circulação de águas e conseqüentemente deposição de partículas mais finas, como sugerido neste trabalho. Ainda no trabalho de Teixeira (2009), não foi observada correlação significativa dos metais avaliados com a granulometria, indicando que a deposição e distribuição destes metais e da matéria orgânica não está diretamente associada às frações mais finas do sedimento.

6.3 Dados físico-químicos

Os sedimentos são de grande importância na avaliação do nível de contaminação dos ecossistemas aquáticos. Isso se deve, não só a sua capacidade em acumularem poluentes, mas também por serem reconhecidos como transportadores e possíveis fontes de contaminação (Lima *et al.*, 2001; Jesus *et al.*, 2004). Tais espécies podem ser transportadas por ressuspensão de partículas do próprio sedimento geralmente liberadas devido a alterações nas condições ambientais e físico-químicas do meio - pH, potencial redox e ação microbiana, entre outras - podendo contaminar a água e outros sistemas ambientais em forma de bioacumulação e/ou transferência na cadeia trófica (Lima *et al.*, 2001; Cotta *et al.* 2006).

As características dos sedimentos podem ser modificadas devido à maior ou menor contribuição da vegetação para a matéria orgânica e de condições abióticas, como precipitação pluvial, marés, correntes, ondas, influência de rios, tormentas e ventos fortes (Schaeffer-Novelli *et al.*, 2001). A rizosfera pode também afetar a atividade microbiana e as condições físico-químicas da água nos poros (por exemplo, potencial redox e de acidez) (Gueiros *et al.*, 2003).

Os parâmetros físico-químicos dos cinco pontos variaram a cada amostragem, conforme apresentado na tabela 8. A natureza ligeiramente ácida dos sedimentos é encontrada em parte devido a redução de sulfato (SO_4^{2-}) para sulfetos de ferro e, em parte, resulta da decomposição da MO e da hidrólise de tanino em plantas de mangue, lançando vários tipos de ácidos orgânicos no sedimento (Satpathy *et al.*, 2010).

Com relação à temperatura, os horários de verificação dos dados no campo foram aproximadamente os mesmos em cada ponto, já que foi obedecida a ordem M1-M5 e sempre chegamos ao local para iniciar as coletas no mesmo horário. Isto permitiu que fossem detectados valores decrescentes de temperatura seguindo a ordem de amostragem V, PII e O.

Em todas as amostragens foram identificados valores predominantemente redutores entre os pontos, mantidos pela decomposição microbiana de MO nos sedimentos. Neste tipo de metabolismo, os microrganismos promovem a redução de íons sulfato a sulfeto, os quais promovem a precipitação de metais pesados nos sedimentos na forma de polisulfetos, greigita, monossulfato de ferro e pirita (Clark *et al.*, 1998; Lacerda, 1998). A diminuição do potencial redox poderia estar relacionada a uma baixa drenagem e conseqüente estagnação da água intersticial, o que geraria condições anóxicas e maiores concentrações de sulfetos. Esta condição é observada em M1, M2, M3 e M4 principalmente. O ponto M5, parcela mais externa do SM, foi o único que apresentou valores levemente oxidantes, normalmente relacionados a topografias mais elevadas e mangues mais maduros.

Segundo Ponnampertuma (1972) o Eh é um dos mais importantes atributos físico-químicos que caracteriza os solos inundados, dando uma idéia de como o meio se comporta na tendência de doar ou receber elétrons. Em ambientes naturais, comumente o valor medido do Eh é uma medida integradora que corresponde a um potencial total, o qual inclui a coexistência de vários sistemas redox. É conhecido que em ambientes de manguezais ocorrem variações de valores de Eh oscilando entre escala positiva (valores iguais e superiores a 100 mV), sugerindo ambientes de sedimentos oxidantes e escala negativa (por volta de -160 mV), sugerindo

sedimentos redutores, nas regiões superficiais do solo, em profundidades abaixo de 30 cm (Souza *et al.*, 2003).

A salinidade traduz o teor de sais dissolvidos ou em suspensão em uma determinada porção de água, podendo ser destacados os seguintes: cloretos de sódio, magnésio e cálcio, os sulfatos de magnésio, potássio e cálcio e os carbonatos e nitratos de cálcio e magnésio (CONAMA, 1986). Os valores de salinidade representam elevada concentração de sais, atribuída a proximidade do oceano, o que conseqüentemente acarretou em maior aporte de água salina aos pontos, embora existam contribuições de pequenos rios nas proximidades.

6.4 Micronúcleo

Foram apresentados os resultados do ensaio do MN com representantes machos adultos das amostragens PI, V e PII. Nos crustáceos braquiúros, a forma do abdômen permite a distinção do sexo, sendo o macho com abdômen estreito, como formato de “T” invertido, enquanto que a fêmea possui quatro segmentos móveis com forma semicircular, quando madura, e triangular quando imatura (Ribeiro-Costa & Rocha, 2002).

Na campanha de Outono não foram encontrados caranguejos no manguezal, provavelmente devido ao período de muda ou ecdise, no qual o caranguejo permanece entocado (Moura & Coelho, 2004; Igarashi, 2007).

Fossi *et al.* (2000) avaliaram experimentalmente a exposição do caranguejo *Carcinus aestuarii* ao benzo(a)pireno e descrevem resultados positivos de exposição, valores iguais ou acima de 4 MN/1000 células.

Os danos genotóxicos observados nos animais da amostragem V não foram correlatos às análises de mutagênese no sedimento, mas poderão ser discutidos com os dados de caracterização química dos HPA ou até mesmo dos metais desta mesma coleta.

Apesar de ter se mostrado ineficiente como biomarcador de HPA em *U. cordatus* (Nudi, 2005; Wagener *et al.*, 2010), o ensaio do MN, juntamente com o ensaio Cometa, é amplamente utilizado para acesso a genotóxicos em misturas complexas, especialmente para espécies aquáticas como bivalves, peixes e caranguejos (Wagener *et al.*, 2006; Monserrat *et al.*, 2007). O aumento na frequência de MN em *Perna perna*, a partir de 0,3 mg/Kg foi relatado por Wagener *et al.* (2006) embora com aumento significativo para Σ HPA maior do que 1,0 mg/Kg. Com

relação à concentração de B(a)P, Fossi *et al.* (2000) relataram que 11 MN/1000 células foram identificados quando os animais foram expostos a 1 ppm (ou 1 mg/Kg).

A exposição de peixes a Pb II não apresentou diferença significativa em relação à frequência basal de MN em eritrócitos, embora tenham sido identificadas alterações nucleares significativas (Ferraro *et al.*, 2004). Em outro estudo, mas relacionado à presença de Cr na água, Gonsebatt (2003) encontrou correlação significativa com a frequência de MN.

É esperada, em sistemas biológicos naturais, a heterogeneidade genética em animais da mesma população, tendo como consequência variáveis respostas geradas sob similares exposições químicas, evidenciada pelos altos valores de desvio padrão (Figura 9). Como a formação de micronúcleos diz respeito a produtos de biotransformação que eventualmente podem formar ligações covalentes com a molécula de DNA, limitações vinculadas a propriedades fisiológicas, estresse alimentar dentre outros, podem justificar diferentes respostas de metabolizações e estabelecimentos de danos genéticos (Wagener *et al.*, 2010).

6.5 Extrações

De acordo com Ankley & Schubauer-Berigan (1994), é recomendável que a água intersticial para testes e/ou análises de toxicidade seja obtida por centrifugação (de preferência a 10.000 x g), sem posterior filtração. A obtenção da água no presente estudo foi realizada de acordo com a metodologia citada, mas a etapa de filtração teve que ser realizada antes da leitura das amostras em EAA. O procedimento de separação da AI foi satisfatório com bom rendimento. Por questões de prioridade e tempo, não foram realizados ensaios de mutagenicidade com essa matriz, apesar de as primeiras análises químicas de metais terem sido feitas com a mesma.

Entre as diversas técnicas de extrações utilizadas para HPA e/ou outros compostos orgânicos, os métodos mais utilizados são Soxhlet, ultrassom e agitação mecânica, apesar de serem aplicadas técnicas tipo extração por fluido supercrítico (SFE), por solvente pressurizado (PSE) e extração por microondas, geralmente com custos mais elevados (Cavalcante *et al.*, 2008). De acordo com Vargas *et al.* (2004), é adequada a utilização do solvente diclorometano para acessar as frações moderadamente polares de compostos orgânicos como os HPA em matriz ambiental.

O presente estudo optou pela utilização da metodologia de ultrassom (solvente diclorometano), depois de ter sido feita a comparação inicial com extração via agitação mecânica com acetona e diclorometano (1:1) (Le Curieux *et al.*, 2008) e Soxhlet com diferentes combinações de solventes e tempo (EPA Método 3540C). A escolha definitiva da técnica foi devido a sua praticidade, uma vez que ambas as técnicas apresentam similares resultados (dados não apresentados).

6.6 Mutagenicidade: extratos orgânicos

As linhagens de *S. typhimurium* foram usadas para avaliação mutagênica e citotóxica dos extratos. O uso das cepas derivadas YG1041 e YG1042, comum em análises de solo e sedimento (DeMeo *et al.*, 2008; Vargas & da Silva Junior., 2009) não se justifica, pois não havia indícios da presença de nitroarenos (compostos nitroaromáticos que requerem atividade das nitroredutases e acetiltransferases para sua mais elevada mutagênese).

Os HPA no ambiente marinho têm recebido considerável atenção, em parte pela sua carcinogenicidade e em parte pela sua facilidade de detecção em amostras ambientais (Zitko, 2000). Dentre as substâncias orgânicas investigadas quimicamente, foi observado que nas concentrações identificadas, embora fossem representativas ao longo da distribuição dos pontos, não há capacidade de indução de mutações em *S. typhimurium*. Segundo *Environmental Contaminants Encyclopedia* (1997), de 2-3 µg/placa de Indeno(1,2,3-cd)pireno, por exemplo, produz resultados positivos em TA98 e TA100 para o ensaio de mutação reversa *Salmonella*/microsoma. Este é um valor acima do que os extratos analisados no SM apresentou, em peso equivalente de sedimento testado. Nossos resultados individuais para o Dibenzo(a,h)antraceno (0,22 mg/Kg) e Benzo(g,h,i)perileno (0,34 mg/Kg) também estão abaixo dos valores relatados como potenciais causadores de danos genéticos em *S. typhimurium* (EPA).

A maioria das publicações que utilizam o Teste de Ames (e suas variações metodológicas) para acessar mutagenicidade em solos e sedimentos não fazem correlação específica com concentração de uma única substância quantificada quimicamente. Este é o caso dos HPA, que quando quantificados nestes estudos de mutagênese ambiental, são apresentados através do somatório dos 16 prioritários (Chen & White, 2004; Le Curieux *et al.*, 2008).

Extratos brutos de sedimento marinho avaliados por La Rocca *et al.* (1996), apresentaram concentrações de HPA totais entre 0,06 e 0,46 mg/Kg com resultados negativos para o ensaio *Salmonella*/microsoma (Teste de Ames), no entanto, em altas concentrações (48,0 mg/Kg), a resposta mutagênica foi positiva. De modo similar a La Rocca *et al.* (1996), nossos maiores somatórios para os dezesseis HPA analisados foram 0,65; 0,87 e 1,3 mg/Kg em M1V, M2PI e M1PI, respectivamente, levando a resposta mutagênica negativa.

O valor detectado para B(a)P utilizando GC/EM, para a campanha amostral V, não foi suficiente para gerar resposta mutagênica positiva em *S. typhimurium* (TA100, +S9mix), uma vez que a maior concentração de sedimento testada foi 80 mg/placa. Seriam necessários 10 gramas de sedimento contendo 0,46 mg de Benzo(a)pireno/Kg para identificar o B(a)P como mutagênico positivo.

O valor detectado de B(a)P está acima do indicado para prevenção e utilização agrícola (0,052 e 0,4 mg/Kg, respectivamente) conforme normativa da CETESB para solos já referenciada. A NOAA sugere, para sedimentos marinhos, que abaixo 0,08 mg/Kg raramente são observados efeitos tóxicos à biota (*TEL*) e abaixo de 0,43 pequenos efeitos (*ERL*) são esperados. Desta forma, a concentração de B(a)P identificada na área de estudo, ultrapassando 0,76 mg/Kg (*PEL*), passa a ter prováveis efeitos tóxicos à biota.

As análises iniciais dos metais (PI) apresentaram interferência de compostos orgânicos nos resultados, segundo a equipe técnica do Laboratório de Caracterização Instrumental II do Instituto de Química. Provavelmente, a acidificação indicada (HNO₃ 5%), não foi suficiente para eliminar interferentes como ânions próprios e muito presentes em água salina, como Na, Mg, Ca, K e Cl e SO₄, por exemplo (Silva-Filho *et al.*, 2010). Outra falha, que limitou a interpretação dos dados, foi a ausência de “branco” e réplicas de uma mesma amostragem as quais foram corrigidas na campanha seguinte. Contudo, ressaltamos a presença de Pb e Mn, identificados em concentrações próximas ao limite estabelecido pelo CONAMA para água de abastecimento público e efluentes (CONAMA 357/05).

Com relação à quantificação dos metais, as amostras de água intersticial da amostragem V continuaram apresentando impurezas e compostos orgânicos apesar da adaptação metodológica (digestão ácida forte), o que poderia aumentar a incerteza dos valores apresentados (Fig. 15E – 18E), além de ter impedido a quantificação do alumínio. O Pb foi detectado em todos os pontos acima dos padrões estipulados na CONAMA 357. Sobre os valores negativos, verificados no

presente estudo para Cr, Fe e Zn, Mathiasson (2009) observou que o branco já tem determinados metais (por conta dos reagentes utilizados, mesmo em seu maior grau de pureza) e que outro problema claro é que diante de menores concentrações, aumentam as incertezas dos resultados.

Íons orgânicos podem afetar a especiação e disponibilidade dos metais formando precipitados. Fosfato, cloreto, arsenato e sulfato causam a precipitação de metais-traço essenciais (Hughes & Poole, 1991) diminuindo sua disponibilidade para os organismos. No ambiente um dos principais formadores de complexos inorgânicos é o íon Cl^- . Em concentrações de até mesmo $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ deste íon, os metais tendem a ficar na forma de cloretos (Salomons & Forstner, 1984). Sugerimos que ensaios futuros incluam a análise de íons orgânicos como forma indireta de discussão sobre a biodisponibilidade de metais em diferentes frações do sedimento, já que essa dinâmica regula a concentração de metais na água.

As análises realizadas a partir do sedimento (O e PII) forneceram dados comparáveis à maioria dos estudos de metais traço e puderam ser interpretados em peso equivalente de sedimento seco, conforme referências da CETESB para solos e CONAMA para sedimentos dragados. Os valores de Cu detectados de M1-M4O (21,6 a 66,8 mg/kg) são similares às medianas da concentração de Cu (extraídos em solução concentrada de HNO_3) para sedimentos de manguezais na baía de Guanabara (52,0 mg/Kg) (Perin *et al.* 1997) e próximos aos relatados para concentrações extraídas em água régia diluída (32-58 mg/g (Machado *et al.*, 2002; Borges *et al.*, 2007). Em comparação com estudo de área de referência em Ilha Grande, nossos valores dos metais são inferiores, com exceção do Cu, levemente acima do avaliado por Mozeto e DePaula (2001) e do Ni. O Ni foi detectado no SM acima do que é referido para a grande maioria dos manguezais do Estado (Farias, 2006), mas abaixo dos valores de prevenção indicados.

Contrariamente à literatura, que indicou resultados mutagênicos na ausência de metabolização exógena para Cd (Brusick *et al.*, 1976; Mandel & Roser, 1984), e também relaciona este elemento a danos tipo *framemeshift* (TA97 acrescida me metabolização) em solos contaminados (Vargas & da Silva Júnior, 2009), nosso estudo não detectou qualquer tipo de dano apesar dos valores quantificados (0,5-1,6 mg/Kg em PII e O respectivamente). O Pb também já foi reportado como influente para mutações em trabalhos anteriores, bem como o Al e o Fe (Nestman *et al.*, 1979; Pagano & Zeiger, 1992; Vargas & da Silva Júnior, 2009). Vargas *et al.* (2009b) concluíram em estudo comparativo de metodologias, que extratos ácidos sob agitação mecânica (*Shaker*) são mais efetivos para extrair compostos mutagênicos de origem inorgânica.

Diante dos valores discutidos, pode-se sugerir que entre os metais e HPA analisados quanto ao potencial efeito genotóxico, Benzo(a)pireno é a única substância que poderia ser sugerida como contribuinte para a ocorrência de micronúcleos na campanha de Verão, significativamente maior do que as frequências verificadas nas outras duas amostragens. Entre os fatores que se pode citar como contribuintes para o aumento de B(a)P no verão, está a queima de combustíveis provenientes da maior atividade do turismo e uma maior incidência no material particulado que acaba sendo depositado.

É importante citar que nas análises de HPA ocorreram diversos picos nos cromatogramas que são derivados de HPA, como os alquil HPA e nitro HPA. Entretanto a identificação e a quantificação foram prejudicadas em função da ausência de padrões cromatográficos.

O presente trabalho demonstra a dificuldade de se realizar uma avaliação de contaminação por substâncias potencialmente mutagênicas em sedimentos de manguezais, principalmente quando os níveis de contaminação são baixos. Embora tenhamos observado um resultado genotóxico positivo na análise de MN, consideramos a área avaliada como potencial para referência, desde que tenhamos medidas governamentais imediatas para conter o crescimento populacional e a degradação do ecossistema.

7 CONCLUSÕES

- Diferenças sazonais nas condições físico-químicas do ambiente são sugeridas para o Saco do Mamanguá, tanto em águas superficiais e intersticiais como em sedimentos. Mudanças significativas nos níveis de pH (predominantemente ácidos na Primavera, Verão e Outono) e Eh (ambiente mais redutor do que oxidante) foram consideradas, juntamente as variações geoquímicas, fatores reguladores das variações encontradas;
- Os testes de mutagenicidade apresentaram respostas negativas indicando que naquele ambiente não havia nas amostras substâncias em concentrações potencialmente mutagênicas capazes de induzir danos pontuais de adição, deleção ou substituição de pares de bases;
- A segunda metodologia adotada para MN em *Goniopsis cruentata* apresentou melhores respostas em relação à visualização de hemócitos e, conseqüentemente, de detecção de MN indicando que a região analisada possui algum componente capaz de induzir quebras cromossomiais neste modelo biológico, sendo provavelmente o BaP;
- Foi estabelecido protocolo para avaliação de dano genotóxico com o ensaio do Micronúcleo em hemolinfa de crustáceos no Laboratório de Mutagênese Ambiental (LABMUT/IBRAG/UERJ) e
- A quantificação química de compostos orgânicos (HPA) e inorgânicos (metais) do referido ecossistema corroborou na definição de área de estudo como potencial referência para sedimento de mangue no Estado do Rio de Janeiro.
- Sugerimos valores de referencia para manguezais (Ilha Grande, valores mais altos observados):

HPA (mg.Kg ⁻¹)		Metais (mg.Kg ⁻¹)	
Naftaleno	n.e.	Alumínio	3899,5
Acenaftileno	n.e.	Cádmio	1,6
Acnafteno	n.e.	Chumbo	17,0
Fluoreno	n.e.	Cobre	66,8
Fenantreno	n.e.	Cromo	11,5
Antraceno	n.e.	Ferro	*
Fluoranteno	n.e.	Manganês	125,3
Pireno	n.e.	Níquel	0,45
Benzo (a) antraceno	0,07	Zinco	*
Criseno	0,04		
Benzo (b) fluoranteno	0,11		
Benzo (k) fluoranteno	0,12		
Benzo (a) pireno	0,46		
Indeno (1,2,3-cd) pireno	0,27		
Dibenzo (a,h) antraceno	0,22		
Benzo (g,h,i) perileno	0,34		

n.e.: não encontrado; *: acima da faixa ótima de trabalho do aparelho

Quadro 1: Valores de referência – Baía de Ilha Grande

REFERÊNCIAS

AIUB, C.; PINTO, L.F.R., FELZENSZWALB, I. Standardization of conditions for the metabolic activation of N-nitrosodiethylamine in mutagenicity tests. *Genetics and Molecular Research*, v. 3, 2 ed., pp. 264–272, 2004.

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

ALONGI, D. M. *et al.* The influence of stand age on benthic decomposition and recycling of organic matter in managed mangrove forests of Malaysia. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, v. 225, pp. 197–218, 1998.

ALONGI, D. M. Mangrove forests: resilience, protection from tsunamis, and responses to global climate change. *Estuarine and Coastal Shelf Science*, n° 76, pp. 1-13, 2007.

ALVES, C. J. Seminário sobre Gerenciamento de Áreas Contaminadas - INEA. 2009. Rio de Janeiro.

ANKLEY, G. T.; SCHUBAUER-BERIGAN, M. K.. Comparison of techniques for the isolation of sediment pore water for toxicity testing. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 27, n° 4, pp. 507-512, 1994.

BAEK, S. O. *et al.* “Review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons, fate and behavior” *Water Air Soil Pollution*, v. 60, pp. 279 – 300, 1991.

BARCELLOS, R. L. Distribuição da material orgânica sedimentar atual do sistema estuarino – lagunar de Cananéia-Iguape. Tese (Doutorado em Oceanografia). Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, USP, São Paulo, SP, 2005, 185p.

BAUMGARTEN, M. da G. Z.; NIENCHESKI, L. F. H.; VEECK, L. Nutrientes na coluna da água e na água intersticial de sedimentos de uma enseada rasa estuarina com aportes de origem antrópica (RS–Brasil). *Atlântica*, Rio Grande, cap. 23, pp. 101-116, 2001.

BORGES, A.C. *et al.* Distribuição espacial de ferro cobre e chumbo, em sedimento de manguezal em um gradiente de degradação na Baía de Guanabara (Estado do Rio de Janeiro). *Quim. Nova*, v. 30, 366 p, 2007.

BOTELHO, E. R. de O.; ANDRADE, C. E. R. de; SANTOS, M. do C. F. Estudo da população de aratu-do-mangue, *Goniopsis cruentata* (LATREILLE, 1803) (Crustacea, decapoda, grapsidae) no estuário do Rio Camaragibe (Alagoas – Brasil). *Bol. Tec. Cient. CEPENE*, n° 12(1) pp. 91-98, 2004.

BRASIL. Lei n° 4.771, de 15 de setembro de 1965. Institui o novo código florestal. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res04/res34404.xml>>. Acesso em: 16 out. 2009.

BRUNK, B. K.; JIRKA, G. H., LION, L. W. Effects of salinity changes and the formation of dissolved organic matter coating on the sorption of phenantrene to colloidal particles: implications for pollutant trapping in estuaries. *Environ. Sci. Technol.*, v. 31, pp. 119-125, 1997.

BRUSICK, D. *et al.* The mutagenic activity of ferrous sulfate for *Salmonella typhimurium*. *Mutation Research*, v. 45, pp. 111-114, 1976.

CAVALCANTE, R. M., *et al.* Técnicas de extrações e procedimentos de *clean-up* para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) em sedimentos da costa do Ceará. *Química Nova*, v.31, n. 6, pp. 1371-1377, 2008.

CCME-Canadian Council of Ministers of the Environment . Protocol for derivation of Canadian sediment guidelines for protection of aquatic life. Ottawa: Environment Canadian Guidelines Division, 35 p., 1995.

CETESB. Disponível em: <

http://www.cetesb.sp.gov.br/emergencia/acidentes/vazamento/oleo/a_toxicologicos.asp> Acesso em 29 de jun 2009.

CF/88 – Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Senado, 1988.

CHEN, G.; WHITE, P. A. The mutagenic hazards of aquatic sediments: a review. *Mutation Research*, v. 567, pp. 151-225, 2004.

CLARK M. W.; McCONCHIE D.; LEWIS D. W.; SAENGER P. Redox stratification and heavy metal partitioning in *Avicennia*-dominated mangrove sediments: a geochemical model. *Chemical Geology*, v.149, n. 3-4, pp. 147-171, 1998.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente (Brasil). Resolução nº 86 de 20 de 18 de Junho de 1986. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res86/res2086.html>>

_____. Resolução nº 003 de 28 de Junho de 1990. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res90/res0390.html>>

_____. Resolução nº 344 de 25 de Março de 2004. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res04/res34404.xml>>. Acesso em: 16 out. 2009.

_____. Resolução nº 357 de 17 de Março de 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: jan. 2007.

_____. Resolução nº 369 de 28 de Março de 2006. Disponível em: < http://www.sigam.ambiente.sp.gov.br/Sigam2/Repositorio/222/Documentos/RES_CONAMA_2006_369.pdf>

_____. Resolução nº 420 de 28 de Dezembro de 2009. Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=620>>

Constituição Estadual RJ. Disponível em: <<http://alerjln1.alerj.rj.gov.br>>

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

CREED, J. C.; PIRES, D. O.; FIGUEIREDO, M. A. O. (Orgs.). Biodiversidade Marinha da Baía da Ilha Grande. Brasília, MMA, 417 p, 2007.

DE FLORA, S. *et al.* Mutagenicity of sediments along the Po River and genotoxicity biomarkers in fish from polluted áreas. Mutation Research, nº 515, pp. 125-134, 2002.

DE MÉO, M. *et al.* Evaluation of the Genotoxicity of River Sediments From Industrialized and Unaffected Areas Using a Battery of Short-Term Bioassays. Environmental and Molecular Mutagenesis, n. 49, pp. 283-299, 2008.

DIAS, A. C. F. Diversidade de Bactérias do Sedimento de Manguezal da Ilha do Cardoso Cananéia - São Paulo. São Paulo, 61 p. Dissertação (mestrado em Biotecnologia). USP/Instituto Butantan/IPT, 2008.

FAO, 2008. Disponível em: <<http://www.fao.org/newsroom/en/news/2008/1000776/index.html>>. Acesso em: 2 Ago 2010.

FARIAS, C. O. Avaliação da degradação de óleo em sedimento de manguezal: Estudo de caso, Baía de Guanabara, RJ. 298 f. Tese (Doutorado em química) – Departamento de química, PUC-Rio, 2006.

FERRARO, M. V., *et al.* Mutagenic effects of tributyltin (TBT) and inorganic lead (PbII) on the fish *H. malabaricus* as evaluated using the comet assay, piscine micronucleus and chromosome aberrations tests. Genetics and Molecular Biology, 27 ed., n. 1, pp. 103–107, 2004.

FÖRSTNER, U.; SALOMONS, W.; STIGLIANI, W. M. Biogedynamics of Pollutants in Soils and Sediments, 1 ed., Berlim: Springer, cap.11, 1995.

FOSSI, M.C. *et al.* Biomarker responses at different levels of biological organization in crabs (*Carcinus aestuarii*) experimentally exposed to benzo[a]pyrene. Chemosphere, v. 40, pp. 861–874, 2000.

GERBER, G. B.; LÉONARD, A.; HANTSON, Ph. Critical Reviews in Oncology/Hematology, v. 42, nº 1, pp. 25-34, 2002.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no meio ambiente. In Quim. Nova, v. 30, p. 695-706, 2007.

GIRI, C. *et al.* Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data. Global Ecology and Biogeography, 6 p, 2010.

- GOLDHABER, M. B. Sulfur-rich Sediments. *In*: HOLLAND, H. D.; TUREKIAN, K. K. (Eds.) *Treatise on Geochemistry*. Elsevier publishers, n° 7, pp. 257-288, 2003.
- GONSEBATT, M. E. Potassium dichromate increases the micronucleus frequency in the crayfish *Procambarus clarkia*. *Environmental Pollution*, n 126, pp. 367-370, 2003.
- GRANT, A.; BRIGGS, A. D. Toxicity of sediments from around a North Sea oil platform: are metals or hydrocarbons responsible for ecological impacts? *Marine Environmental Research*, n° 53, pp 95-116, 2002.
- GRIFFITHS, A. J. F. *et al.* *Introdução à Genética*. Guanabara Koogan, 7. ed. Rio de Janeiro (RJ), 794 p, 2002.
- GRIFOLL, M.; SOLANAS, A.M.; BAYONA, J.M. Characterization of Genotoxic Components in Sediments by Mass Spectrometric Techniques Combined with *Salmonella/Microsome* Test. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. Cap. 19, pp. 175-184, 1990.
- GUEIROS, B. B. *et al.* Manganese Behavior at the Sediment-Water Interface in a Mangrove Dominated Area in Sepetiba Bay, SE, Brazil. *Journal of Coastal Research* 19, pp. 550-559, 2003.
- GUERRA, A. T.; GUERRA, A.Y. T.. *Novo dicionário geológico geomorfológico*. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 2001.
- HOLGUIN, G.; VAZQUEZ, P.; BASHAN, Y. The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. *Biology and Fertility of Soils*, v. 33, n° 4, pp. 265-278, 2001.
- HORN, R. C.; ROCHA, J. A. V.; VARGAS, V. M. F. Determination of sediment mutagenicity and cytotoxicity in an area subjected to petrochemical contamination. *Mutagenesis*, v. 19, n° 6, pp 445-451, 2004.
- HORTELLANI, M. A. *et al.* Integrative ecotoxicological assessment of a complex tropical estuarine system. *In*: T.N. Hoffer, Editor, *Marine Pollution: New Research*, Nova Science Publishers, Inc., New York, USA, pp. 1-36, 2008.
- HUGHES, M. N.; POOLE, R. K. Metal speciation and microbial growth – the hard (and soft) facts. *J. Gen. Microbiol.*, 137, pp. 725-734, 1991.
- HYPOLITO, R.; FERRER L. M.; NASCIMENTO S. C. Comportamento de espécies de mercúrio no sistema sedimento-água do mangue no município de Cubatão, São Paulo. *Águas subterrâneas*, v. 19, n° 1, pp. 15-24, 2005.
- IGARASHI, M. A. Sinopse da situação atual, perspectivas e condições de cultivo para lagostas Palinuridae. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 8, n. 2, pp. 155-166, 2007.

Inea – Instituto Estadual do Ambiente. Disponível em:

<<http://www.inea.rj.gov.br/inea/sobre.asp>> Acesso em 4 de janeiro de 2011.

JESUS, H. C. *et al.* Distribuição de metais pesados em sedimentos do sistema estuarino da Ilha de Vitória-ES. *Química Nova*, v. 27, n. 3, p. 378-386, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422004000300004&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em 17 out. 2009.

KADO, N. Y; LANGLEY, D.; EISENSTADT, E.A. A simple modification of the *Salmonella* liquid incubation assay. Increased sensitivity for detecting mutagens in human urine. *Mutat. Res.*, n° 121, pp.25–32, 1983.

LA ROCCA, C., *et al.* PAH content and mutagenicity of marine sediments from the Venice lagoon, *Ecotoxicol. Environ. Safety*, v. 33, pp. 236– 245, 1996.

LACERDA, L. D. Trace metals biogeochemistry and diffuse pollution in mangrove ecosystems .Okinawa: International society for mangrove ecosystems, 65 p, 1998.

LACERDA, L. D. *et al.* Manguezais do Nordeste Brasileiro e mudanças ambientais. *Ciência Hoje*, vol 39 n° 229, 29 p., 2006.

LE CURIEUX, F., *et al.* Mutagenic potency in *Salmonella tiphymurium* of organic extracts of soil samples originating from urban, suburban, agricultural, forest and natural areas. *Mutation Research / Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 653, pp 1-5, 2008.

LEMOES, A. T. *et al.* Mutagenicity assessment in a river basin influenced by agricultural, urban and industrial sources. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, n° 72, pp. 2058-2065, 2009.

LIANG, Jun-Bin, *et al.* Recovery of novel bacterial diversity from mangrove sediment. *Mar. Biol.*, n° 150, pp. 739–747, 2007.

LIMA, S. C. Estudo sedimentológico, textura, mineralógico e geoquímico dos sedimentos superficiais e do material em suspensão na Baía da Ribeira, Angra dos Reis – RJ. Niterói. Dissertação (Mestrado em Geociências – Geoquímica) – Universidade Federal Fluminense, 150 p, 1985.

LIMA, M. C. *et al.* Especificação de cobre e chumbo em sedimento do Rio Tubarão (SC) pelo método Tessier. *Química Nova*, v. 24, n° 6, pp. 734-742, 2001.

LIU, K. *et al.* “Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) emissions from coal fired pilot FBC system” *Journal of Hazardous Materials*, 84 ed., pp. 175-188, 2001.

LUGO & SNEDAKER, S. C. The ecology of mangroves, *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, ed. 5 ed., pp. 39–65, 1974.

MABESSONE, J. M. *Sedimentologia*. 2ª ed. Recife: Ed. Universitária-Universidade Federal de Pernambuco, 475 p, 1983.

- MACHADO, W. T. V. Acumulação de metais pesados em sedimentos de ecossistemas de manguezal de Jardim Gramacho, baía de Guanabara. 63 f. Dissertação (Mestrado em Geoquímica) – Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, 2000.
- MACHADO, W. T. V., *et al.* Mercury, zinc, and copper accumulation in mangrove sediments surrounding a large landfill in southeast Brazil. *Environmental Pollution*, n° 120, pp. 455-461, 2002.
- MACIEL, D. C. & ALVES, Â. G. C. Conhecimentos e práticas locais relacionados ao aratu *Goniopsis cruentata* (Latreille, 1803) em Barra de Sirinhaém, litoral sul de Pernambuco, Brasil. *Biota Neotrop.*, vol.9, n°4, pp. 29-36, 2009.
- MANDEL, R.; RYSER, H. J. P. Mutagenicity of cadmium in *Salmonella typhimurium* and its synergism with two nitrosamines. *Mutation Research*, v. 138, pp. 9-16, 1984.
- MARGESIN, R.; SCHINNER, F. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, n° 56, pp.650–663, 2001.
- MARON, D. M.; AMES, B. N. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, v. 113, pp. 173-215, 1983.
- MARTÍNEZ-GÓMEZ, C. *et al.* A guide to toxicity assessment and monitoring effects at lower levels of biologicals, organization following marine oil spills in European waters. *Journal of Marine Science*, n° 67, pp 1105-1118, 2010.
- MATHIASSEN, L. Curso Avançado em Preparo de Amostras Ambientais para Análise por GC-MS e LC-MS. 2009. Rio de Janeiro.
- MATSUMOTO, S. T. *et al.* Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. *Genet. Mol. Biol.*, vol.29, n°1, pp. 148-158, 2006.
- MELO, G.A.S. Manual de identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do litoral brasileiro. Plêiade/FAPESP Ed., São Paulo, 604 p, 1996.
- MENDONÇA, M. L. T. G.. Metodologia para determinação de metais em sedimentos utilizando microondas com frasco fechado e análise estatística multivariada das concentrações de metais em sedimentos da bacia de Campos. 181 f. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2006.
- MENICONI, M.D. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos no meio ambiente: diferenciação de fontes em sedimentos e metabólitos em bile de peixe. Tese (Doutorado em Química) Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2007, Natal, RN. Sem paginação.

- MEYERS, P. A.; ISHIWATARI, R. Lacustrine organic geochemistry – an overview of indicators of organic matter sources diagenesis in lake sediments. *Organic Geochemistry*, nº 20, pp. 867-900, 1993.
- MEYERS, P. A. Organic geochemical proxies of paleoceanography, paleolimnologic and paleoclimatic processes. *Organic Geochemistry*, nº 27, pp. 213-250, 1997.
- MICHALOPOULOS, G. D. *et al.* Liver regeneration studies with rat hepatocytes in primary culture. *Cancer Res.*, nº 42, pp. 4673-4682, 1982.
- MIRANDA, V.J.M. Degradação de naftaleno, fenantreno e benzoapireno em solos e sedimentos de ambientes costeiros, oceânicos e antárticos. Tese (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Viçosa, MG, sem paginação, 2008.
- MOLISANI, M. M. *et al.* Environmental changes in Sepetiba Bay, SE Brazil. *Reg. Environ. Change*, nº 4, pp. 17-27, 2004.
- MONSERRAT, J. M. *et al.* Pollution biomarkers in estuarine animals: Critical review and new perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 146, c. 1-2, pp. 221-234, 2007.
- MOURA, N.F.O.; COELHO, P.A.. Maturidade sexual fisiológica em *Goniopsis cruentata* (Latreille) (Crustacea, Brachyura, Grapsidae) no estuário do Paripe, Pernambuco, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, Curitiba, v. 21, n. 4, pp. 1011-1015, 2004.
- MOZETO, A. A.; DEPAULA, F. C. F. Biogeochemical evolution of trace elements in a pristine watershed in the Brazilian southeastern coastal region. *Applied Geochemistry*, n. 16, pp. 1139-1151, 2001.
- NANNI, H. C.; NANNI, S. M. Preservação dos manguezais e seus reflexos. XII SIMPEP - Bauru, SP, Brasil, sem paginação, 2005.
- NESNOWA, S. *et al.* Mechanistic linkage between DNA adducts, mutations in oncogenes and tumorigenesis of carcinogenic environmental polycyclic aromatic hydrocarbons in strain A/J mice. *Toxicology*, v. 105, nº 2-3, pp. 403-413, 1995.
- NOAA – National Oceanic and Atmospheric Administration, U.S. Department of Commerce. Report of the NOAA Panel on Contingent Valuation, 1993.
- _____. Sound Exposure and Southern Resident Killer Whales (*Orcinus orca*): A Review of Current Knowledge and Data Gaps. 2008.
- NUDI, A. H. Avaliação da contaminação de manguezais da Baía de Guanabara utilizando caranguejos *Ucides cordatus* como bioindicador de poluentes de petróleo e desenvolvimento de metodologias de análises. PUC-Rio, Rio de Janeiro, Brazil, D. Sci. Thesis, 233 p, 2005.

- PAGANO, D.A.; ZEIGER, E. Conditions for detecting the mutagenicity of divalent metals in *Salmonella typhimurium*. *Environ. Mol. Mutagen.*, n. 19, pp. 139–146, 1992.
- PEREIRA, J. C. *et al.* Distribuição, fracionamento e mobilidade de elementos traço em sedimentos superficiais. *Química Nova*, v.30, nº 5, pp. 1249-1255, 2007.
- PERIN, G. *et al.* Five-year study on the heavy-metal pollution of Guanabara Bay sediments (Rio de Janeiro, Brazil) and evaluation of the metal bioavailability by means of geochemical speciation. *Water Research*, v. 31, pp. 3017–3028, 1997.
- PONNAMPERUMA, F.N. The chemistry of submerged soils. *Adv. Agron.*, nº 24, pp. 29-96, 1972.
- QUEIROZ, A. F. de S. *et al.* Anais do 3º Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás. Contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) de baixa massa molecular em sedimentos superficiais de manguezais da Baía de todos os santos. Bahia. 2005.
- REGATTIERI, S. M. C. B. Geoquímica das águas e sedimentos da Bacia do Ribeirão Tatu, Limeira- São Paulo. 161 f. Dissertação (Mestrado em Geociências) – Instituto de Geociências, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2007.
- RIBEIRO-COSTA, C.S., ROCHA, R.M. Invertebrados: manual de aulas práticas. Ribeirão Preto, Holos, 226 p, 2002.
- SALOMONS, W.; FÖRSTNER, U.; *Metals in the Hydrocycle*. Springer Verlag: Heidelberg, n. 37079, 349 p., 1984.
- SANFORD, M. P. Valuating Mangrove Ecosystems as Coastal Protection in Post-Tsunami South Asia. *Natural Areas Journal*, v. 29, c. 1, pp. 91-95, 2009.
- SATPATHY, K. K., *et al.* Acid leachable trace metals in sediment cores from Sunderban Mangrove Wetland, India: an approach towards regular monitoring. *Ecotoxicology*, v. 19, n. 2, pp. 405-418, 2010.
- SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; CINTRÓN, G. Guia para Estudos de Áreas de manguezal: estrutura, função & flora. São Paulo, Caribbean Ecol. Research, 150 p, 1986.
- _____. Brazilian mangroves: a historical ecology. *Ciênc. e Cult. Journal Brazil. Assoc. for the Advance. Sci.*, v.51, nº 3, pp. 274-286, 1999.
- SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; JÚNIOR, C. C.; TOGNELLA-de-ROSA, M. Manguezais. São Paulo: Ática, 48 p, 2001.
- SEDNET – European Sediment Network. Disponível em:
<http://www.sednet.org/download/Sednet_booklet_final.pdf>. Acesso em: 12 out. 2009.
- SEDNET CONFERENCE, 2004, Venice. European sediment regulations: Gaps and bridges.

SEELINGER, U.; CORDAZZO, C.A. Guia ilustrado da vegetação costeira no extremo sul do Brasil. Rio Grande, Ed. da FURG, 275 p, 1988.

SILVA-FILHO, E. V., *et al.* Geochemical behavior and dissolved species control in acid sand pit lakes, Sepetiba sedimentary basin, Rio de Janeiro, SE – Brazil. *Journal of South American Earth Sciences*, n. 30, pp. 176-188, 2010.

SILVA JÚNIOR, F. M. R. & VARGAS, V. M. F. Using the *Salmonella* assay to delineate the dispersion routes of mutagenic compounds from coal wastes in contaminated soil. *Mutation Research / Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v.673, pp 116-123, 2009.

_____; *et al.* Extraction parameters in the mutagenicity assay of soil samples. *Science of the Total Environment*, v. 407, pp. 6017-6023, 2009.

SILVEIRA, G.N.; BRANDÃO, H.B. Aspectos da gestão da reserva ecológica da Juatinga sob a luz da legislação ambiental considerando a ocupação por comunidades caiçaras. Tese Reserva da Juatinga – IEF/RJ e COPPE/UFRJ, 2009.

SOARES, M. L.G. Estudo da biomassa aérea de manguezais do sudeste do Brasil – análise de modelos. Tese (Doutorado em Oceanografia) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 294 f, 1997.

SOARES, M. L. G. *et al.* Diversidade Estrutural de Bosques de Mangue e sua Relação com Distúrbios de Origem Antrópica: o caso da Baía de Guanabara (Rio de Janeiro). *Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ*, v. 26, 2003.

SOUZA, A. F. *et al.* Propriedades físicas e químicas dos solos de manguezais em São Caetano de Odivelas – Pará. Livro de resumos expandidos do IX Congresso Brasileiro de Geoquímica, Belém – PA, nº 6, pp. 561-563, 2003.

SOUZA-JUNIOR, V. S. *et al.* Evolução quaternária, distribuição de partículas nos solos e ambientes de sedimentação em manguezais do estado de São Paulo. *Rev. Bras. Ciênc. Solo*, Viçosa – MG, v. 31, 2007. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832007000400016&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 19 Set 2008.

SUGUIO, K. Introdução à sedimentologia. São Paulo, Edgard Blucher, 317 p, 1973.

TAGLIARI, K. C. *et al.* Mutagenicity of sediment and biomarkers of oxidative stress in fish from aquatic environments under the influence of tanneries. *Mutation Research*, nº 501, pp. 101-117, 2004.

_____; *et al.* Mutagenicity of chorium VI using the *Salmonella* microsuspension bioassay. *Rev. Bras. Toxicol*, v. 17, nº 2, pp. 45-50, 2004.

TEIXEIRA, C. L. Caracterização do sedimento superficial das enseadas da Baía de Ilha Grande-RJ, com ênfase na distribuição espacial de metais. Dissertação (Mestrado em Geociências – Geoquímica) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, 150 p, 2009.

TOMLINSON, P. B. The botany of mangroves. Cambridge University Press, Cambridge , England, 413 p, 1986.

TUCKER, S. A. *et al.* Spectroscopic Properties of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Effect of Solvent Polarity on the Fluorescence Emission Behavior of Select Fluoranthene, Fluorenochrysene, Indenochrysene, and Indenopyrene Derivatives. *Applied Spectroscopy*, v. 45, nº 10, pp. 1699-1705, 1991.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. Disponível em: <<http://www.epa.gov/waterscience/cs/aboutcs/sources.html>>. Acesso em: 7 abr. 2010.

_____. Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual. EPA 823-B-01-002. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC. 2001.

_____. Method 3540c, Soxhlet extraction. Revision 3, 8 p., Dez, 1996.

VARGAS, V. M. F.; MOTTA, V. E. P.; HENRIQUES, J. A. P. Mutagenic activity detected by Ames test in river water under influence of petrochemical industries. *Mutation Research*, v. 319, pp. 31-45, 1993.

_____; *et al.* Genotoxicity assessment in aquatic environments under the influence of heavy metals and organic contaminants. *Mutation Research*, nº 490, pp. 141-158, 2001.

VOGEL, A. Química Analítica Qualitativa, 5 ed., 666 p, 2005.

WAGENER, A. de L. R., *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbon in inter-tidal mussel *Perna perna*: Space-time observations, source investigation and genotoxicity. *Science of the Total Environment*, v. 372, c. 2-3, pp. 515-531, 2006.

_____; *et al.* Biomarkers of PAHs exposure in crabs *Ucides cordatus*: Laboratory assay and field study. *Environmental Research*, nº 110, pp.137-145, 2010.

WALSH, G.E. Mangroves: a review. *In*: REIMOLD, R.J. & QUEEN, W.H.(Eds.). *Ecology of halophytes*. Academic Press, New York, pp. 51-174, 1974.

WANG, J.; *et al.* Pollution survey of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water of Hangzhou, China. *Chemosphere*, v. 56, nº 11, pp. 1085-1095, 2004.

WETLER, R.M.C. Prospecção de microrganismos responsáveis pela degradação de compostos de petróleo no sedimento de um manguezal localizado no sul da Bahia (BRASIL). Tese de mestrado Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA, 2006.

WHITEHOUSE, B.G. The effects of temperature and salinity on the aqueous solubility of polynuclear aromatic hydrocarbons. *Marine Geochemistry*, v. 14, pp. 319-332, 1984.

WHITMAN, W. B.; COLEMAN, D. C., WIEBE, W. J. Prokaryotes: the unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 95, pp. 6578-6583, 1998.

ZITKO, V. Marine pollution. In: Wangersky, P. (Ed.). *The Handbook of Environmental Chemistry*, Springer Verlag, Heidelberg, 2000. v. 5, Part D. pp. 75-109. Disponível em:
<<http://www.springerlink.com/content/5yf5rwwgwyxwn19y/fulltext.pdf>> Acesso em 16 jun 2009.

Continuação da tabela 9

	TA 97			TA 98			TA 100			TA 102		
	rev/pla	IM	Sobr (%)	rev/pla	IM	Sobr (%)	rev/pla	IM	Sobr (%)	rev/pla	IM	Sobr (%)
			100			100			100			100
	CN	1,0	100	31,0 ± 1,4	1,0	100	206,5 ± 13,4	1,0	100	421,0 ± 9,9	1,0	100
	1	1,2	100	26,0 ± 11,3	0,8	100	181,0 ± 41,0	0,9	100	452,0 ± 18,4	1,1	100
	-S9	1,3	100	22,5 ± 6,4	0,7	89	205,5 ± 6,4	1,0	100	412,0 ± 62,2	1,0	100
	3	1,4	100	40,5 ± 12,0	1,3	70	192,5 ± 36,8	0,9	98	402,0 ± 53,7	1,0	94
	4	1,5	100	22,5 ± 4,9	0,7	88	198,0 ± 52,3	1,0	99	462,0 ± 17,0	1,1	74
	CP	5,4	100	231,0 ± 29,7	7,5	37	968,0 ± 8,5	4,7	88	3421,0 ± 295,6	8,1	17
M5PI												
	CN	1,0	100	66,5 ± 2,1	1,0	100	177,0 ± 1,4	1,0	100	400,0 ± 8,5	1,0	100
	1	0,9	100	65,0 ± 15,6	1,0	100	192,0 ± 7,1	1,1	100	434,0 ± 17,0	1,1	75
	+S9	0,9	100	56,5 ± 9,2	0,8	100	185,0 ± 12,7	1,0	100	477,0 ± 11,3	1,2	91
	3	1,1	100	70,0 ± 26,9	1,1	100	189,5 ± 3,5	1,1	100	428,5 ± 27,6	1,1	90
	4	1,2	100	60,0 ± 11,3	0,9	100	204,5 ± 13,4	1,2	87	318,5 ± 37,5	0,8	100
	CP	4,8	100	415,5 ± 55,9	6,2	100	937,0 ± 24,0	5,3	52	2640,0 ± 339,4	7,1	22

Continuação da tabela 10

	TA97			TA 98			TA 100			TA 102		
	rew/pla	IM	Sobr (%)	rew/pla	IM	Sobr (%)	rew/pla	IM	Sobr (%)	rew/pla	IM	Sobr (%)
	CN	78,0 ± 16,1	1,0	20,7 ± 1,2	1,0	100	118,3 ± 10,0	1,0	100	291,0 ± 22,6	1,0	100
	1	74,7 ± 9,5	1,0	22 ± 1,4	1,1	100	142 ± 22,6	1,2	100	448,7 ± 27,0	1,5	100
	-S9 2	70,0 ± 5,7	0,9	21 ± 4,4	1,0	100	86 ± 74,8	0,7	100	441,3 ± 19,0	1,5	100
	3	72,0 ± 8,5	0,9	24 ± 7,0	1,2	100	98,7 ± 88,8	0,8	100	499,7 ± 15,0	1,7	100
	4	82,0 ± 8,5	1,1	25,5 ± 2,1	1,2	100	129,3 ± 5,0	1,1	100	456,0 ± 38,6	1,6	100
	CP	181,5 ± 4,9	2,3	210,7 ± 48,3	10,2	100	553,7 ± 53,1	4,7	100	1314,0 ± 136,5	4,5	100
	M5V											
	CN	66,0 ± 1,4	1,0	45,0 ± 2,6	1,0	100	143,0 ± 23,4	1,0	100	257,3 ± 74,5	1,0	100
	1	61,5 ± 3,5	0,9	34,0 ± 10,5	0,8	100	139,3 ± 13,1	1,0	100	203,5 ± 0,7	0,8	100
	+S9 2	63,0 ± 1,0	1,0	58,0 ± 6,2	1,3	100	164,3 ± 0,6	1,1	100	203,5 ± 55,9	0,8	100
	3	62,0 ± 3,6	0,9	52,0 ± 7,0	1,2	100	158,0 ± 19,9	1,1	100	319,0 ± 20,0	1,3	100
	4	69,0 ± 1,4	1,0	55,3 ± 2,9	1,2	100	152,7 ± 21,1	1,1	100	368,0 ± 9,6	1,5	100
	CP	178,5 ± 23,3	2,7	110,0 ± 23,1	2,4	100	343,3 ± 32,0	2,4	100	597,3 ± 29,9	2,3	100

Continuação da tabela 11

	TA97			TA 98			TA 100			TA 102			
	rew/pla	IM	Sobr (%)	rew/pla	IM	Sobr (%)	rew/pla	IM	Sobr (%)	rew/pla	IM	Sobr (%)	
	CN	88,0 ± 18,5	1,0	100	24,3 ± 6,5	1,0	100	91,0 ± 18,4	1,0	100	275,7 ± 18,0	1,0	100
	1	85,0 ± 9,6	1,0	89	23,7 ± 3,5	1,0	100	64,0	0,7	83	330,7 ± 53,3	1,2	100
	-S9	111,0 ± 16,1	1,3	95	31,0 ± 8,5	1,3	96	61,0	0,7	95	364,5 ± 48,8	1,3	100
	3	160,3 ± 50,0	1,8	85	26,7 ± 6,7	1,1	91	80,3 ± 19,4	0,9	79	320,7 ± 17,0	1,2	100
	4	154,0 ± 29,1	1,8	78	36,3 ± 19,1	1,5	99	116,3 ± 7,6	1,3	92	367,5 ± 46,0	1,3	100
	CP	385,0 ± 62,6	4,4	11	92,0 ± 36,4	3,8	2	747,3 ± 44,3	8,2	71	2142,0 ± 104,7	7,8	100
	M50												
	CN	132,7 ± 10,2	1,0	100	31,5 ± 2,1	1,0	100	126,3 ± 7,0	1,0	100	425,3 ± 21,8	1,0	100
	1	143,7 ± 23,0	1,1	77	40,0 ± 12,7	1,3	73	110,0 ± 21,2	0,9	67	461,0 ± 15,6	1,1	100
	+S9	157,0 ± 33,4	1,2	100	41,5 ± 2,1	1,3	82	91,5 ± 6,4	0,7	100	427,7 ± 94,2	1,0	100
	3	174,0 ± 27,8	1,3	100	45,7 ± 11,2	1,4	100	159,0 ± 37,0	1,3	64	520,7 ± 22,1	1,2	88
	4	211,3 ± 8,5	1,6	95	45,0	1,4	100	159,5 ± 17,7	1,3	85	520,3 ± 49,1	1,2	64
	CP	619,7 ± 140,5	4,7	100	270,0 ± 46,9	8,6	100	302,0 ± 5,7	2,4	70	1354,7 ± 157,8	3,2	74

Continuação da tabela 12

		TA97			TA 98			TA 100			TA 102		
		rew/pla	IM	Sobr (%)	rew/pla	IM	Sobr (%)	rew/pla	IM	Sobr (%)	rew/pla	IM	Sobr (%)
	CN	121,3 ± 15,5	1,0	100	33,0 ± 7,2	1,0	100	158,0 ± 13,1	1,0	100	239,3 ± 43,7	1,0	100
	1	133,3 ± 12,9	1,1	100	39,0 ± 10,4	1,2	100	170,6 ± 9,8	1,1	100	323,3 ± 29,2	1,4	100
	-S9 2	84,0 ± 9,6	0,7	74	47,7 ± 5,9	1,4	58	159,0 ± 19,8	1,0	100	215,0 ± 16,1	0,9	62
	3	117,0 ± 26,9	1,0	96	31,7 ± 8,3	1,1	-	176,0 ± 21,2	1,1	100	230,0 ± 38,2	1,0	100
	4	102,0 ± 12,5	0,8	96	37,0 ± 5,6	1,1	100	145,0 ± 10,1	0,9	100	261,7 ± 4,2	1,1	100
	CP	513,3 ± 148,3	4,2	71	178,0 ± 39,3	5,4	20	1222,0 ± 313,9	7,7	100	577,0 ± 42,6	2,4	100
	M5PII												
	CN	309,7 ± 20,6	1,0	100	18,0 ± 3,5	1,0	100	203,0 ± 69,2	1,0	100	264,0 ± 71,7	1,0	100
	1	431,0 ± 75,5	1,4	100	29,0 ± 12,1	1,6	92	195,0 ± 27,2	1,0	89	368,3 ± 37,0	1,4	100
	+S9 2	362,0 ± 56,5	1,2	100	21,5 ± 3,5	1,2	100	187,0 ± 7,0	0,9	86	496,0 ± 44,5	1,9	100
	3	481,0 ± 79,8	1,6	100	27,0 ± 8,5	1,5	71	172,5 ± 26,1	0,8	100	291,0 ± 83,4	1,1	100
	4	441,0 ± 89,4	1,4	47	22,0 ± 5,7	1,2	88	181,6 ± 7,7	0,9	100	480,0 ± 135,7	1,8	62
	CP	702,0 ± 25,5	2,3	70	108,0 ± 15,4	5,9	69	527,7 ± 34,9	2,6	100	1041,5 ± 149,2	3,9	100



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 22323-1	Data da Emissão: 27/01/2010 19:28
Dados do titular	
Nome: Ana Maria Azevedo Velho	CPF: 001.262.050-51
Título do Projeto: Caracterização da toxicidade ambiental em áreas de manguezais do Estado do Rio de Janeiro	
Nome da Instituição : UERJ - UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 33.540.014/0001-57

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	AMOSTRAGEM SEDIMENTO (TRIMESTRAL)	01/2010	02/2011
2	AMOSTRAGEM CARANGUEJO (TRIMESTRAL)	01/2010	02/2011

De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto.

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização não exige o titular e a sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
3	Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico.
7	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constantes de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexplotadas ou ameaçadas de sobreexplotação.

Outras ressalvas

1	Os dados gerados pela pesquisa deverão ser encaminhados a esta U.C..
---	--

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Mário Luiz Gomes Soares	co orientador de projeto	997.179.647-34	04841371-0 IFP-RJ	Brasileira
2	Gustavo Calderucio Duque Estrada	colaborador	097.065.357-30	133080317 DETRAN-RJ-RJ	Brasileira
3	Daniel Medina Corrêa Santos	colaborador	094.094.297-65	11812936-0 IFP-RJ	Brasileira
4	Filipe de Oliveira Chaves	colaborador	070.297.857-46	098692759 IFP-RJ	Brasileira
5	Viviane Fernandez Cavalcanti	colaboradora	087.718.087-36	208077719 DETRAN-RJ	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		RJ	AREA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DE CAIRUÇU	UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Goniopsis cruentata
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Goniopsis cruentata

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 48642758





Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 22323-1	Data da Emissão: 27/01/2010 19:28
------------------------	--

Dados do titular

Nome: Ana Maria Azevedo Velho	CPF: 001.262.050-51
Título do Projeto: Caracterização da toxicidade ambiental em áreas de manguezais do Estado do Rio de Janeiro	
Nome da Instituição : UERJ - UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 33.540.014/0001-57

3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Goniopsis cruentata (*Qtde: 20)
* Qtde. de indivíduos por espécie/localidade/unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.		

Material e métodos

1	Método de captura/coleta (Invertebrados Aquáticos)	Coleta manual, Captura manual
---	--	-------------------------------

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UERJ - UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO	criadouro científico

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 48642758





GOVERNO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
SECRETARIA DE ESTADO DO AMBIENTE – SEA
INSTITUTO ESTADUAL DO AMBIENTE - INEA

AUTORIZAÇÃO DE PESQUISA CIENTÍFICA INEA Nº 008 /2010

**AUTORIZAÇÃO PARA PESQUISA CIENTÍFICA
EM UNIDADE DE CONSERVAÇÃO**

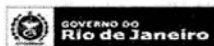
O Diretor de Biodiversidade e Áreas Protegidas do Instituto Estadual do Ambiente – INEA, no uso de suas atribuições legais, considerando a Portaria IEF/RJ/PR nº 227, de 18/12/2007 e considerando ainda o que consta no procedimento administrativo E-07/501.206/2010, **AUTORIZA** a pesquisadora **ANA MARIA AZEVEDO VELHO**, vinculada à Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ, e sua equipe Gustavo Duque Estrada, Daniel Medina Correa, Viviane Fernandez e Mario Luis Gomes Soares, a obter dados na Reserva Ecológica da Juatinga - REJ, com vistas à execução do projeto de pesquisa “**Caracterização da toxicidade ambiental em áreas de manguezais do Estado do Rio de Janeiro**”, devendo ser observadas as condições discriminadas no verso deste documento e ainda aquelas previstas na Portaria supracitada.

A presente autorização tem validade de **01 (um) ano** a partir da data de sua assinatura.

Rio de Janeiro, 03 de *março* de 2010.

André Ilha

Diretor de Biodiversidade e Áreas Protegidas



inea instituto estadual
do ambiente



Condicionantes desta autorização:

1 - A pesquisadora fica autorizada a coletar, durante todo o projeto:

(a) 20 (vinte) indivíduos da espécie de caranguejo *Goniopsis cruentata*;

(b) 04 (quatro) quilos de sedimento superficial de mangue.

2 - Após a coleta de hemolinfa, a pesquisadora deverá realizar a eutanásia dos animais por meio de procedimento direcionado a este grupo taxonômico, ou solicitar ao INEA autorização para uso dos animais em outra(s) atividade(s) de pesquisa.

3 - A pesquisadora deverá entrar em contato com o Serviço de Planejamento e Pesquisa da Diretoria de Biodiversidade e Áreas Protegidas, pelo telefone (21) 2332-5515, bem como com o administrador da unidade de conservação para agendamento das atividades, pelos telefones (24) 3371-9654 ou (24) 8596-5192;

4 - A pesquisadora deverá apresentar ao INEA relatórios parciais semestrais da atividade de pesquisa, e também um relatório final ao término desta, além das publicações e qualquer outro material produzido relativo ao trabalho de pesquisa na referida unidade de conservação;


5 - Ao término da pesquisa científica deverão ser encaminhadas ao INEA duas cópias impressas assinadas do relatório final de pesquisa e uma cópia em meio digital, em formato pdf, não podendo ser ultrapassado, para tanto, o prazo máximo de 03 (três) meses após o término da pesquisa, bem como duas cópias das publicações científicas e quaisquer outros materiais produzidos a partir dos dados obtidos.

6 - A pesquisadora deverá dar entrada no pedido de renovação da Autorização de Pesquisa 30 (trinta) dias antes de seu término, caso necessite dar continuidade à mesma;

7 - Fica a pesquisadora comprometida a apresentar a Autorização de Pesquisa, acompanhada de um documento de identificação, quando estiver em trabalho de campo dentro da unidade de conservação, sempre que solicitada por servidor do INEA;

8 - Fica a pesquisadora comprometida a executar exclusivamente o que foi previsto no projeto de pesquisa aprovado pelo INEA, e a comunicar qualquer alteração do projeto antes de sua execução, devidamente justificada, para prévia aprovação;

9 - A inobservância das determinações relacionadas, bem como qualquer intervenção não autorizada na unidade de conservação em questão, implicará na suspensão total ou parcial da referida Autorização, e na aplicação de sanções administrativas previstas na Lei 3.467/2000 e na Lei 9.605/1998.





Paraty, 25 de fevereiro de 2010.

PARECER TÉCNICO 02/2010

Objeto: Projeto de Pesquisa “*Caracterização da toxicidade ambiental em áreas de manguezais do Estado do Rio de Janeiro*”

Pesquisadora: Ana Maria A. Velho

Após análise do projeto de dissertação de mestrado apresentado ao INEA pela pesquisadora Ana Maria A. Velho, consideramos ambiental e cientificamente relevante a realização da pesquisa no Saco da Mamangá.

Na oportunidade solicitamos à pesquisadora que:

Reúna-se com a equipe da REJ para a troca de informações sobre a pesquisa como um todo, seu andamento e os produtos;

Entregue à administração da REJ cópia dos relatórios parciais de pesquisa e cópia da dissertação, quando concluída;

Sugerimos ainda à pesquisadora que:

1. Uma vez que, no Saco do Mamangá, do lado da Reserva Ecológica da Juatinga, existem cinco comunidades caiçaras e, na outra margem, que faz parte da Área de Proteção Ambiental do Cairuçu, existem mais cinco comunidades, com um grande número de crianças e de adolescentes em idade escolar, sejam realizadas algumas atividades nas duas escolas da localidade, sobre o tema pesquisado. As atividades poderão ser realizadas durante as expedições na REJ para coleta. A construção, planejamento e organização dessas atividades poderão ser feitos entre a pesquisadora e professores, ficando a equipe da REJ responsável por esta interlocução e apoio à realização das atividades.

2. De acordo com o projeto apresentado, os resultados encontrados, no saco do Mamangá, servirão como valores de referência para ensaios de genotoxicidade em sedimento de mangue, pelo fato da área abranger extensos manguezais bem desenvolvidos e preservados. Seria bastante importante para os órgãos ambientais, ter resultados de toxicidade para os manguezais localizados entre Boa Vista e Rio dos Meros, também no município de Paraty. Nesta região, concentram-se as marinas e o lixão do município. Dessa forma, resultados sobre essas áreas podem servir como importantes subsídios para o INEA, especialmente para a SUPBIG, que trabalha sobre licenciamentos das marinas, de condomínios e outros empreendimentos, bem como para a APA do Cairuçu (ICMBio), que abrange também esta área, e para a Secretaria Municipal de Meio Ambiente.

Iliana Salgado
Bióloga – matrícula 390379-6



inea instituto estadual
do ambiente





COMISSÃO DE ÉTICA PARA O CUIDADO E USO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº **CEA/014/2010** sobre "**Caracterização da toxicidade ambiental em áreas de manguezais do Estado do Rio de Janeiro**", sob a responsabilidade de **Israel Felzenswalb**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética Para o Cuidado e Uso de Animais Experimentais do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes da UERJ (CEA), em **01/03/2010**. Este certificado expira em **01/03/2014**.

Rio de Janeiro, 01 de Março de 2010.

Profa. Patricia Cristina Lisboa
CEA/IBRAG/UERJ

*"Dra. Patricia Cristina Lisboa da Silva
Adj. do Depto. Ciências Fisiológicas / IBRAG / UERJ
Matricula 34765-8*

Prof. Alex Christian Manhães
CEA/IBRAG/UERJ

*Prof. Alex Christian Manhães
Chefe do Deptº de Ciências Fisiológicas
IBRAG/UERJ-Mat. 33303-9*

/ass