

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

**MAYARA DOS SANTOS RODRIGUES**

ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO DE ESTUÁRIOS SUBTROPICAIS  
BRASILEIROS UTILIZANDO COMO PARÂMETROS A DETECÇÃO  
DE METAIS EM PEIXES E NO AMBIENTE

CURITIBA  
2022

MAYARA DOS SANTOS RODRIGUES

ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO DE ESTUÁRIOS SUBTROPICAIS  
BRASILEIROS UTILIZANDO COMO PARÂMETROS A DETECÇÃO  
DE METAIS EM PEIXES E NO AMBIENTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

Orientador: Prof. Dr. Luís Fernando Fávaro  
Coorientador: Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi

CURITIBA  
2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO  
(CIP)UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Rodrigues, Mayara dos Santos.

Análise da contaminação de estuários subtropicais brasileiros utilizando como parâmetros a detecção de metais em peixes e no ambiente. / Mayara dos Santos Rodrigues. – Curitiba, 2022.

1 recurso on-line : PDF.

Orientador: Luís Fernando Fávaro.

Coorientador: Marco Tadeu Grassi.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação.

1. Toxicologia ambiental. 2. Metais – Biodegradação. 3. Ecologia dos estuários. 4. Saúde ambiental. 5. Ecotoxicologia. 6. Qualidade Ambiental. I. Título. II. Fávaro, Luís Fernando. III. Grassi, Marco Tadeu. IV. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação.

Bibliotecária: Rosilei Vilas Boas CRB-9/939



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ECOLOGIA E  
CONSERVAÇÃO - 40001016048P6

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **MAYARA DOS SANTOS RODRIGUES** intitulada: **Análise da contaminação de estuários subtropicais brasileiros utilizando como parâmetros a detecção de metais, em peixes e no ambiente**, sob orientação do Prof. Dr. LUIS FERNANDO FÁVARO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 29 de Agosto de 2022.

Assinatura Eletrônica

31/08/2022 15:08:04.0

LUIS FERNANDO FÁVARO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

01/09/2022 09:46:08.0

CIRO ALBERTO DE OLIVEIRA RIBEIRO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

31/08/2022 13:18:26.0

NEDIA DE CASTILHOS GHISI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ)

---

Centro Politécnico - Setor de Ciências Biológicas - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531980 - Tel: (41) 3361-1595 - E-mail: ecologia@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 219181

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 219181

**“Muito romântico  
Meu ponto pacífico  
Fica no Atlântico”**

Leminski

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Dr. Luis Fernando Fávoro, que desde 2017 vem contribuindo para meu crescimento profissional e pessoal. Obrigada pela paciência, companheirismo e amizade em todos esses anos.

Ao meu coorientador, Dr. Marco Tadeu Grassi, por me acolher em seu laboratório e me dar autonomia e segurança para iniciar em uma nova área do conhecimento.

Ao Prof. Dr. Mauricio Moura pelo auxílio na elaboração dos testes estatísticos. Obrigada pela paciência e disponibilidade.

Aos pescadores Romildo, Adalto, Ximbica e sua esposa Wanda pelo auxílio na coleta dos peixes e das amostras ambientais, e pela troca de conhecimentos durante os breves encontros.

À Bianca, Bruna, Clara e Flávia pela ajuda nas coletas e pela companhia nas viagens de carro.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Hedda Kolm e a Fernanda do CEM/UFPR pelo empréstimo do Van Veen e cordas para a coleta de sedimentos.

A todos os colegas do Laboratório de Reprodução e Comunidade de Peixes, em especial ao Ciro, Felipe, Larissa e Thara por me auxiliarem na coleta dos peixes, na interpretação dos resultados, e principalmente pela companhia e apoio ao longo desses anos.

A todos os integrantes do Grupo de Química Ambiental, em especial ao Rafael pelas dicas e conhecimentos passados durante as conversas de bancada, e principalmente a Mayara Padovan por todo tempo e auxílio disponibilizado durante o processamento químico das amostras, pela paciência e amizade adquirida durante esse período.

Aos amigos que fiz no período do mestrado, em especial ao Bryan, Diego, Juliana, Kaitlyn e Laryssa, pela amizade e apoio emocional prestados nesses dois anos. Mesmo atravessando uma pandemia, isolamento social e aulas remotas, vocês tornaram o fardo da pós graduação mais leve e divertido.

Aos meus amigos Alana, Ayrton, Beatriz, Clara, Júlia, Karina, Marcela e Tamiris, que compartilham da minha paixão por Cananéia. Obrigada pela amizade, e por tornarem meus dias de isolamento mais coloridos e ensolarados.

À Amanda, Carol, Luana Viana, Luana Surdi e Mariana Perez pela amizade e companheirismo que persistem mesmo com o passar dos anos e das etapas da vida. Obrigada por estar comigo em todos os momentos, dos mais tristes aos mais felizes.

Aos meus pais, minha irmã e minhas primas pelo amor, força, compreensão e apoio emocional ofertados nesse período. Obrigada por acreditarem em mim. Agradeço a toda a minha família, em especial ao meu vózinho amado.

Aos professores e demais integrantes do PPG Ecologia e Conservação, em especial à secretária Juliana Leão pelo auxílio prestado em diversos momentos.

Aos integrantes da banca examinadora titular e suplente, Dr<sup>a</sup>. Nédia de Castilhos Ghisi, Dr. Ciro Alberto de Oliveira Ribeiro, Dr<sup>a</sup>. Helena Cristina da Silva de Assis e Dr. Elton Celton de Oliveira. Obrigada por aceitar compor a banca e pelos apontamentos necessários.

Ao Israel, Jacqueline, Profa. Dra. Carolina Camargo de Oliveira e demais responsáveis pelo Centro de Tecnologias Avançadas em Fluorescência (CTAF) pelo auxílio durante a obtenção das fotografias das lâminas histológicas.

À UFPR pela infraestrutura, salas de aula e laboratórios.

À CAPES pelo apoio financeiro.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Mapa da área onde foram obtidos os exemplares de *A. brasiliensis*, *C. spixii* e *S. testudineus*, nos estuários de Cananéia (A - círculos não preenchidos), Paranaguá (B - círculos preenchidos) e da Babitonga (C - triângulos). .....21
- Figura 2: Efeito da interação estuário:profundidade na concentração de Al (A), Cu (B), Fe (C) e Ni (D) quantificados em amostras de água superficiais em profundidades rasas e fundas dos estuários de Cananéia, Paranaguá e Babitonga. Linha pontilhada = região rasa, e a linha contínua = funda. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre estuários e regiões de coleta ( $p < 0.05$ ). Dados apresentados em log. ....30
- Figura 3: Efeito do estuário na concentração de Al (A), Cr (B), Cu (C) e Fe (D) quantificados em amostras de sedimento coletadas nos estuários de Cananéia, Paranaguá e Babitonga. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre estuários. Dados apresentados em log. ....33
- Figura 4: Efeito da profundidade na concentração de Al (A), Cr (B), Cu (C) e Fe (D) quantificados em amostras de sedimento coletadas em regiões rasas e fundas. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre regiões de coleta. Dados apresentados em log. ....33
- Figura 5: Efeito da interação entre estuário:espécie na concentração de Cd (A) e Cu (B) no tecido de peixes da espécie *S. testudineus* (linha pontilhada), *C. spixii* (linha contínua) e *A. brasiliensis* (linha tracejada), nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os estuários e as espécies ( $p < 0.05$ ). Resultados apresentados em log. ....37
- Figura 6: Efeito do estuário (A) e da espécie (B) na concentração de Al no tecido das espécies *S. testudineus*, *C. spixii* e *A. brasiliensis* coletados nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga. Resultados apresentados em log. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os estuários e as espécies, separadamente ( $p < 0.05$ ). ....38
- Figura 7: Efeito da espécie na concentração de Co (A), Cr (B), Fe (C), Pb (D) e Zn (E) no tecido de *S. testudineus*, *C. spixii* e *A. brasiliensis* coletados nos diferentes estuários analisados. Resultados apresentados em log. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre as espécies ( $p < 0.05$ ). ....39



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Limites de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) dos elementos analisados. ....24

Tabela 2: A- Quantificação da concentração de metais lábeis em amostras de água superficial, coletadas em áreas rasas e fundas, nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga; B- considerando as profundidades agrupadas; C- considerando os estuários agrupados. Valores expressos em µg/L. ....29

Tabela 3: Resultado da ANOVA de duas vias para os efeitos do estuário, da profundidade e da interação estuário:profundidade na concentração de metais da fração lábil de amostras de águas superficiais coletadas em profundidades rasas e fundas nos estuários de Cananéia, Paranaguá e da Babitonga. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ ). ....29

Tabela 4: A- Quantificação da concentração de metais em amostras de sedimentos coletados em áreas rasas e fundas nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga; B- considerando as profundidades agrupadas; C- considerando os estuários agrupados. Os valores máximos permitidos na legislação (CONAMA, 2012) estão indicados. Valores expressos em mg/kg. ....31

Tabela 5: Resultado da ANOVA de duas vias para os efeitos do estuário e da região de coleta na concentração de Al, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn em amostras de sedimentos coletadas em profundidades rasas e fundas nos estuários de Cananéia, Paranaguá e da Babitonga. O \* indica diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ ). ....32

Tabela 6: Concentração de metais em amostras biológicas de *S. testudineus*, *C. spixii* e *A. brasiliensis* coletados nos estuários de Cananéia (Ca), de Paranaguá (Pa) e da Babitonga (Ba). A coluna Total = a média da concentração total dos metais detectados. Os valores máximos permitidos na legislação brasileira (ANVISA, 2013) estão indicados para Cd e Pb. \* = músculo úmido. Para cada tecido/órgão de cada espécie, os maiores valores individuais e totais encontram-se em negrito. Valores expressos em mg/kg. Valores em itálico e sublinhados estão acima dos limites da legislação brasileira .....35

Tabela 7: Valor médio total da quantificação de metais em amostras biológicas de *S. testudineus*, *C. spixii* e *A. brasiliensis* coletados nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga. Análise considerou tecidos/órgãos e espécies agrupados para cada estuário. Para cada tecido/órgão de cada espécie, os maiores valores individuais e totais encontram-se em negrito. Valores expressos em mg/kg. ....36

Tabela 8: Resultado da ANOVA de duas vias para os efeitos do estuário, da espécie e da interação estuário:espécie na concentração de Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Pb e Zn em tecidos de peixes das espécies *S. testudineus*, *C. spixii*, *A. brasiliensis* coletadas nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga. O \* indica diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ ). ....36

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	11
<b>ABSTRACT</b> .....	12
<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	13
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	15
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	21
<b>Área de Estudo</b> .....	21
<b>Coleta de Água e Sedimento</b> .....	22
<b>Coleta de Material Biológico</b> .....	23
<b>Obtenção dos Dados</b> .....	24
<u>Água</u> .....	24
<u>Sedimento</u> .....	26
<u>Material biológico</u> .....	26
<b>Análise dos dados</b> .....	27
<b>RESULTADOS</b> .....	27
<u>Água</u> .....	30
<u>Sedimento</u> .....	35
<u>Material biológico</u> .....	34
<b>DISCUSSÃO</b> .....	40
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	44
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	45

## RESUMO

A fim de verificar a qualidade ambiental dos estuários de Cananéia (São Paulo, Brasil), de Paranaguá (Paraná, Brasil) e da Babitonga (Santa Catarina, Brasil), foi quantificado a concentração de metais nas amostras de água, sedimento e diferentes tecidos/órgãos de *Sphoeroides testudineus*, *Cathorops spixii* e *Atherinella brasiliensis*. Na água, foi determinada a fração lábil dos metais por DGT. No sedimento, foi feita a digestão ácida parcial e extração dos metais adsorvidos na matriz. Os tecidos foram submetidos a digestão ácida e extração da fração total dos analitos. A quantificação foi feita por ICP-OES. Para verificar a o efeito do estuário e profundidade (água e sedimento) ou espécie (tecidos) foi feita uma ANOVA de duas vias, seguida de análises posteriores com os pacotes lsmmeans e multcomp, no RStudio. Em amostras de água, foram observadas maiores concentrações das coletadas em áreas rasas (no estuário de Cananéia), enquanto que para sedimento foram quantificadas concentrações mais expressivas em amostras de regiões mais profundas. Nos tecidos/órgãos, houve diferença entre estuários (Cananéia e Paranaguá) e maiores concentrações em *C. spixii* para a maioria dos elementos. Em todo o estudo, somente o Pb no músculo úmido ultrapassou o limite permitido pela legislação. A avaliação dos biomarcadores utilizados nesse estudo foi importante para avaliar a saúde ambiental dos estuários, sendo suficientes para indicar a presença de metais nos diferentes estuários, provavelmente relacionados com as atividades antrópicas realizadas no entorno de cada região.

**Palavras-chave:** qualidade ambiental; ecotoxicologia; saúde ambiental.

## ABSTRACT

To verify the environmental quality of the estuaries of Cananéia, Paranaguá, and Babilonga, the concentration of metals in samples of water, sediment and different tissues and organs of *S. testudineus*, *C. spixii*, and *A. brasiliensis* was quantified. In water, the labile fraction of metals was determined by DGT. In the sediment, partial acid digestion and extraction of metals adsorbed in the matrix were performed. Tissues were subjected to acid digestion and extraction of the total fraction of analytes. Quantification was performed by ICP-OES. To verify the effect of estuary and depth (water and sediment) or species (tissues), a two-way ANOVA was performed followed by further analysis with the `lsmeans` and `multcomp` packages in RStudio. Total metal content was highest in shallow waters from Cananéia, and highest in sediment in deep locations, with Paranaguá being the most polluted estuary in terms of sediment. In tissues/organs, there was a difference between estuaries (Cananéia and Paranaguá), and the highest concentrations were found in *C. spixii* for most elements. In this study, only Pb in the wet muscle exceeded the limit allowed by Brazilian legislation. The evaluation of the biomarkers used in this study was important to assess the environmental health of the estuaries, being sufficient to indicate the presence of metals in the different estuaries, probably related to the anthropic activities carried out in the surroundings of each region.

**Keywords:** environmental quality; ecotoxicology; environmental health.

## REVISÃO DE LITERATURA

Ecosistemas estuarinos são ambientes de transição entre águas continentais e oceânicas. Essas regiões apresentam fortes gradientes de salinidade, fluxo de correntes, e extensa zona entre marés (Potter et al. 2010; Day et al. 2012; Neto et al. 2019). Estes fatores associados com a proximidade de manguezais, proporcionam intenso fluxo de nutrientes, sedimentos e organismos, e contribui para a sustentação de uma complexa rede trófica, que confere alta produtividade a estes ambientes (Day et al. 2012; Machado et al. 2016; Neto et al. 2019).

A variação dos fatores ambientais confere diversidade biológica única aos estuários, por fornecerem diversas possibilidades de habitats para os organismos em suas etapas do ciclo de vida, tornando-os imprescindíveis para a manutenção e dinâmica de muitas espécies (Day et al. 2013; Machado et al. 2016). As espécies residentes estuarinas devem ser capazes de aclimatar-se à estas condições variáveis (O'Mara et al. 2017) e muitas delas servem de recursos pesqueiros para pescadores locais.

Além da pesca, outras atividades antrópicas são realizadas nos estuários e/ou no seu entorno, e contribuem para a importância paisagística, social e comercial destes ecossistemas. No que se refere à importância paisagística, os estuários proporcionam recursos alimentares, meios de transporte e recreação (Neto et al. 2019; Hader et al. 2020). A atividade pesqueira, principalmente artesanal, atribui alta importância social pois assim contribui ao sustento e movimentação da economia de comunidades tradicionais. Já a importância comercial destes ambientes está relacionada com estruturas portuárias instaladas nas proximidades, além de outras atividades ligadas à extração de recursos, aquicultura e desenvolvimento urbano (Baruaem et al. 2012; Neto et al. 2019; Angeli et al. 2020).

Pelas várias possibilidades de ações humanas em áreas estuarinas, estes ambientes vêm se tornando extremamente vulneráveis às pressões antropogênicas (Neto et al. 2019). A contaminação aquática é um grande problema ambiental e reflete a crescente influência antrópica sobre estes ambientes. Embora sejam essenciais para o desenvolvimento e economia regional e mundial, as regiões portuárias podem representar uma ameaça para o ambiente aquático por serem fontes de entrada e propagação de

contaminantes orgânicos e inorgânicos, como os metais (Claessens et al. 2011; Baruaem et al. 2012; Lin et al. 2013; Zampieri et al. 2020).

As fontes de metais no ambiente podem ser naturais, provenientes principalmente de lixiviação de sedimento e rochas (Mohammed et al. 2011), ou antrópicas, resultantes do processo de mineração, agricultura, atividade urbana, industrial e portuária (Baruaem et al. 2012; González-Acevedo et al. 2018). No ambiente aquático, esses contaminantes se comportam de maneira diferente frente a variações das condições ambientais. Sob a influência da variação de pH, salinidade e temperatura (Machado et al. 2016; Garcia et al. 2018), os metais podem estar em sua forma de íon livre ou ligado a complexos orgânicos e inorgânicos, ou ainda adsorvidos na superfície de partículas que podem flutuar na coluna d'água ou estarem associadas ao sedimento (Linnik et al. 2018; Wijesiri et al. 2019; Martinez et al. 2020).

Em estudos de monitoramento ambiental, a detecção de metais na água e no sedimento é essencial para entender o comportamento desses elementos no ambiente. No entanto, os organismos aquáticos, como os peixes, podem refletir a presença desses elementos, tornando-se bioindicadores da contaminação ambiental (Yarsan e Yipel 2013; Souza et al. 2013; Marinovic et al. 2021). Embora alguns metais sejam essenciais para o funcionamento dos sistemas biológicos, altas concentrações destes contaminantes podem ser tóxicas para os organismos (Tchounwou et al. 2012).

A avaliação do efeito da contaminação aquática nos peixes pode ser feita direta ou indiretamente. A primeira refere-se à quantificação da carga metálica diretamente nos tecidos, enquanto que a investigação de alterações genéticas, bioquímicas e histopatológicas podem refletir a presença de tais contaminantes no indivíduo (Gusso-Choueri et al. 2016; Salgado et al. 2019; Rubio-Vargas et al. 2021; Gusso-Choueri et al. 2022).

Quando se realiza um estudo diretamente no campo, analisando diferentes matrizes, como água, sedimento e material biológico, muitas vezes não se torna possível inferir precisamente sobre o contaminante causador de alterações na biologia dos organismos. Ainda, é importante salientar que no ambiente, diferentes compostos podem interagir e atuar de maneira distinta do composto simples, podendo assim, amplificar, reduzir ou até neutralizar a sua atividade. Entretanto, mesmo nessa situação, considerando a complexidade

ecológica dos estuários, é possível avaliar a saúde desses ambientes (Fernandez et al. 2011; Yarsan e Yipel 2013; Salgado et al. 2019; Kamim e Risjani 2022). Considerando o descrito acima, a escolha das espécies bioindicadoras é uma etapa fundamental na investigação da qualidade ambiental.

Considerando que os ambientes estuarinos acabam proporcionando o encontro de cargas provenientes de ambientes terrestres e marinhos (Claessens et al. 2011; Cole et al. 2011; Holmes et al. 2014) e que essas regiões sofrem a ação de marés, ondas e ventos, contribuindo e impactando diretamente na movimentação e regime deposicional dos contaminantes e partículas presentes na água (Browne et al. 2010; Bessa et al. 2018), é fundamental o estudo e monitoramento desse ecossistema.

A partir dessa problemática, essa dissertação tem como objetivo avaliar a qualidade ambiental nos estuários de Cananéia (sudeste do Brasil), de Paranaguá e da Babitonga (sul do Brasil). Para responder essa questão utilizamos como parâmetros a quantificação de metais na água, sedimento e diferentes tecidos de peixe das espécies *Spherooides testudineus*, *Cathorops spixii* e *Atherinella brasiliensis*.

## REFERÊNCIAS

- Angeli, J. L. F.; Kim, B. S. M.; Paladino, I. M.; Nagai, R. H.; Martins, C. C.; Mahiques, M. M.; Figueira, R. C. L. Statistical assessment of background levels for metal contamination from a subtropical estuarine system in the SW Atlantic (Paranaguá Estuarine System, Brazil). **Journal of Sedimentary Environments**, v. 5, n. 1, p. 137-150, 2020. <https://doi.org/10.1007/s43217-020-00008-5>
- Baruaem, L. M.; Hortellani, M. A.; Sarkis, J. E.; Costa-Lotufo, L. V.; Abessa, D. M. S. Contamination of port zone sediments by metals from Large Marine Ecosystems of Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n.3, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.01.017>
- Bessa, F.; Barría, P.; Neto, J. M.; Frias, J. P. G. L.; Otero, V.; Sobral, P.; Marques, J. C. Occurrence of microplastics in comercial fish from a natural estuarine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 128, p. 575-584, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.044>
- Browne, M. A.; Galloway, T. S.; Thompson, R. C. Spatial patterns of plastic debris along estuarine shorelines. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 9, p. 3404-3409, 2010. <https://doi.org/10.1021/es903784e>

Claessens, M.; Meester, S. D.; Landuyt, L. V.; Clerck, K. D.; Janssen, C. R. Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 10, p. 2199-2204, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.030>

Cole, M.; Lindeque, P.; Halsband, C.; Galloway, T. S. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 12, p. 2588-2597, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>

Day, J. W.; Yáñez-Arancibia, A.; Kemp, W. M.; Chump, B. C. Introduction to Estuarine Ecology. **Estuarine Ecology**, p. 1-18, 2012. <https://doi.org/10.1002/9781118412787.ch1>

Fernandez, W. S.; Dias, J. F.; Ribeiro, C. A. O.; Azevedo, J. S. Liver damages and nuclear abnormalities in erythrocytes of *Atherinella brasiliensis* (Actynopterigii, Atherinopsidade) from two beaches in southeast of Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 59, n. 2, p. 163-169, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1679-87592011000200005>

Garcia, J. R.; Lopes, A. B.; Silvestre, A. K. C.; Grabowski, R. C.; Barioto, J. G.; Costa, R. C.; Castilho, A. L. Environmental characterization of the Cananéia coastal área and its associated estuarine system (São Paulo state, Brazil): considerations for three penaeoidean shrimp species. **Regional Studies in Marine Science**, v. 19, p. 9-16, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.rsma.2018.02.010>

González-Acevedo, Z. I.; García-Zarate, M. A.; Nuñez-Zarco, E. A.; Anda-Martín, B. I. Heavy metal sources and anthropogenic enrichment in the environment around the Cerro Prieto Geothermal Field, Mexico. **Geothermics**, v. 72, p. 170-181, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.geothermics.2017.11.004>

Gusso-Choueri, P. K.; Choueri, R. B.; Araújo, G. S.; Cruz, A. C. F.; Stremel, T. R. O.; Campos, S. X.; Abessa, D. M. S.; Ribeiro, C. A. O. Univariate or multivariate approaches for histopathological biomarkers in the contexto of environmental quality assessments? **Marine Pollution Bulletin**, v. 191, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113828>

Gusso-Choueri, P. K.; Choueri, R. B.; Santos, G. S.; Araújo, G. S.; Crux, A. C. F.; Stremel, T.; Campos, S. X.; Cestari, M. M.; Ribeiro, C. A. O.; Abessa, D. M. S. Assessing genotoxic effects in fish from a marine protected área influenced by former mining activities and Other stressors. **Marine Pollution Bulletin**, v. 104, n. 1-2, p. 229-239, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.025>

Hader, D. P.; Banaszak, A. T.; Villafane, V. E.; Narvarte, M. A.; González, R. A.; Helbling, E. W. Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: Emerging problems with global implications. **Science of The Total Environment**, v. 713, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136586>

Holmes, L. A.; Turner, A.; Thompson, R. C. Interactions between trace metals and plastic production pellets under estuarine conditions. **Marine Chemistry**, v. 167, p. 25-32, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2014.06.001>



Kadim, M. K.; Risjani, Y. Biomarker for monitoring heavy metal pollution in aquatic environment: Na overview toward molecular perspectives. **Emerging Contaminants**, v. 8, p. 195-205, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2022.02.003>

Lin, Y. C.; Chang, Chien, G. P.; Chiang, P. C.; Chen, W. H.; Lin, Y. C. Multivariate analysis of heavy metal contaminations in seawater and sediments from a heavily industrialized harbor in Southern Taiwan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 76, p. 266-275, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.08.027>

Linnik, P. N.; Zhezherya, V. A.; Kinnik, R. P. Lability of Metals in Surface Waters as the Main Characteristics of Their Potential Bioavailability (a Review). **Hydrobiological Journal**, v. 54, n. 6, p. 3-26, 2018. <https://doi.org/10.1615/HydrobJ.v54.i6.10>

Machado, A. A. S.; Spencer, K.; Kloas, W.; Toffolon, M.; Zarfl, C. Metal fate and effects in estuaries: A review and conceptual model for better understanding of toxicity. **Science of The Total Environment**, v. 541, p. 268-281, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.045>

Marinovic, Z.; Milkanovic, B.; Urbanyi, B.; Lujiv, J. Gill histopathology as a biomarker for discriminating seasonal variations in water quality. **Applied Sciences**, v. 11, n. 20, 2021. <https://doi.org/10.3390/app11209504>

Mohammed, A. S.; Kapri, A.; Goel, R. Heavy metal pollution: source, impact and remedies. In: Khan, M. S.; Zaidi, A.; Goel, R.; Mmusarrat, J. (eds). Biomangement of metal-contaminated soils. **Springer Netherlands**, v. 20, n. 1, p. 1-28, 2011. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1914-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1914-9_1)

Neto, J. M.; Caçador, I.; Caetano, M.; Chainho, P.; Costa, L. Gonçalves, A. M. M.; Pereira, L.; Pinto, L.; Ramos, J.; Seixas. Estuários. In: Feio, M. J.; Ferreira, V. (Eds) Rios de Portugal: Comunidades, processos e alterações. Universidade de Coimbra, p. 381-421, 2019. [https://doi.org/10.14195/978-989-26-1624-7\\_16](https://doi.org/10.14195/978-989-26-1624-7_16)

O'Mara, K.; Miskiewicz, A.; Wong, M. Y. L. Estuarine characteristics, water quality and heavy metal contamination as determinants of fish species composition in intermittently open estuaries. **Marine & Freshwater Research**, v. 68, n. 5, p. 941-953, 2017. <https://doi.org/10.1071/MF15409>

Potter, I. C.; Chuwen, B. M.; Hoeksema, S. D.; Elliott, M. The concept of an estuary: A definition that incorporates systems which can become closed to the ocean and hypersaline. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 87, n. 3, p. 497-500, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2010.01.021>

Rubio-Vargas, D. A.; Ribeiro, C. A. O.; Filipak Neto, F.; Cordeiro, A. L.; Cestari, M. M.; Souza, A. C.; Martins, C. C.; Silva, C. P.; Campos, S. X.; Garcia, J. R. E. Exposure to pollutants present in Iguaçú River Southern Brazil affect the health of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758): assessment histological, genotoxic and biochemical. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 87, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103682>

Salgado, L. D.; Marques, A. E. M. L.; Kramer, R. D.; Oliveira, F. G.; Moretto, S. L.; Lima, B. A.; Prodocimo, M. M.; Cestari, M. M.; Azevedo, J. C. R.; Assis, H. C. S. Integrated assessment of sediment contaminant levels and biological responses in sentinel fish species *Atherinella brasiliensis* from a sub-tropical estuary in South Atlantic. **Chemosphere**, v. 219, p. 15-27, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.204>

Souza, I. C.; Duarte, I. D.; Pimentel, N. Q.; Rocha, I. d.; Morozesk, M.; Bonomo, M. M.; Azevedo, V. C.; Pereira, C. D. S.; Monferrán, M. V.; Milanez, C. R. D.; Matsumoto, S. T.; Wunderlin, D. A.; Fernandes, M. N. Matching metal pollution with bioavailability, bioaccumulation and biomarkers response in fish (*Centropomus parallelus*) residente in neotropical estuaries. **Environmental Pollution**, v. 180, p. 136-144, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.05.017>

Tchounwou, P. B.; Yedjou, C. G.; Patlolla, A. K.; Sutton, D. J. Heavy metals toxicity and the environment. **Experintia Supplementum**, p. 133-164, 2012. [http://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4\\_6](http://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6)

Wijesiri, B.; Liu, A.; He, B.; Yang, B.; Zhao, X.; Ayoko, G.; Goonetilleke, A. Behaviour of metals in na urban river and the pollution of estuarine environment. **Water Research**, v. 164, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114911>

Yarsan, E.; Yipel, M. The Important Terms of Marine Pollution “Biomarkers and Biomonitoring, Bioaccumulation, Bioconcentration, Biomagnification”. **Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis**, 2013. <https://doi.org/10.4172/2155-9929.S1-003>

Zampieri, B. D. B.; Andrade, V. C.; Chinellato, R. M.; Garcia, C. A. B.; Oliveira, M. A.; Brucha, G.; Oliveira, A. J. F. C. Heavy metal concentrations in Brazilian port áreas and their relationships with microorganisms: can pollution in these áreas change the microbial community? **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08413-z>

## INTRODUÇÃO

A contaminação aquática é um grande problema ambiental e reflete a crescente influência antrópica sobre estes ambientes. Ela é reflexo da pressão gerada pelo desenvolvimento industrial e urbano que ocorre próximo aos corpos d'água, resultando no lançamento de compostos orgânicos e inorgânicos nesses ambientes (Gonçalves et al. 2013; Kiani e Rahimpour, 2020). Quando alcançam os rios, os contaminantes podem ser transportados até os estuários (Wijerisi et al. 2019).

Os ambientes estuarinos são importantes para a economia por diferentes atividades realizadas, como a pesca, comércio local, turismo e os grandes sistemas portuários instalados nessas regiões (Neto et al. 2019; Angeli et al. 2020; Cicero et al. 2020). Por serem áreas de transição entre as águas continentais e oceânicas, há grande variação de fatores ambientais, principalmente na salinidade e pH da água, que podem afetar as características químicas e físicas de contaminantes, como, por exemplo, os metais (Souza et al. 2013; Machado et al. 2016; Garcia et al. 2018; Wijesiri et al. 2019).

Apesar de parte dos metais presentes nos ambientes estuarinos ser de origem natural, uma porção significativa é liberada devido a fontes antropogênicas (Machado et al. 2016; Azevedo et al. 2019; Couto et al. 2019). Em águas superficiais, os metais podem estar na forma de íons livres, associados a complexos orgânicos e inorgânicos ou adsorvidos em partículas suspensas (Linnik et al. 2018). A diferença de salinidade, característica nas regiões estuarinas, causa a floculação desse material em suspensão e sua consequente sedimentação (Borges et al. 2011; Linnik et al. 2018).

A contaminação metálica nos estuários é uma ameaça para as espécies que ali residem (Sanders 2017; Gusso-Choueri et al. 2018; Bordon et al. 2020). A fração lábil ou reativa, caracterizada pelos íons metálicos livres e por complexos iônicos fracos, é considerada como biodisponível e pode ser absorvida por organismos aquáticos (Mason 2013; Umbría-Salinas et al. 2021). Devido sua capacidade de acumular grandes cargas metálicas, os sedimentos podem ser fontes constantes desses contaminantes para a água, devido ao processo de dessorção dos metais presentes na matriz sedimentar, principalmente durante a ressuspensão dessas partículas na água (Voigt et al. 2015; Umbría-Salinas et al. 2021).

O processo de dragagem realizado em regiões portuárias, responsável pela manutenção da profundidade de áreas de acesso ao porto, pode aumentar a concentração de metais disponíveis na água, por conta da movimentação das partículas sedimentadas (Murta et al. 2019; Angeli et al. 2021). Portanto, organismos associados ao sedimento são expostos a esse tipo de contaminante (Voigt et al. 2015; Feng et al. 2020).

Quantificar as frações metálicas presentes na água e no sedimento é importante para compreender e monitorar o grau de comprometimento desses contaminantes no ambiente. Entretanto, devido à complexidade biológica dos ecossistemas estuarinos, é preciso também avaliar a presença dos metais em organismos aquáticos, que neste caso são denominados de bioindicadores (Yarsan e Yipel 2013; Parmar et al. 2016; Marinovic et al. 2021). Neste tipo de análise, os peixes são muito utilizados por estarem em contato direto com o ambiente e podem responder as mudanças na qualidade da água (Souza et al. 2013; Ghisi et al. 2016).

Os peixes absorvem os metais presentes na água e sedimento por processos de bioconcentração. Além da absorção branquial, por meio da respiração, os peixes podem internalizar grandes porções de metais por meio da alimentação (Yarsan e Yipel 2013; Feng et al. 2020). Neste caso, além da intoxicação pela fração lábil, os peixes estão suscetíveis à ingestão de partículas plásticas, detritos orgânicos, além dos organismos bentônicos contaminados (Brennecke et al. 2016; Gao et al. 2019; Feng et al. 2020).

Órgãos como fígado, gônada e músculo são frequentemente utilizados em estudos de análise de biomarcadores em peixes sob pressão de contaminação de metais (Voigt et al. 2015; Hauser-Davis et al. 2016; Franco-Fuentes et al. 2021). De maneira geral esses tecidos e/ou órgão são avaliados por responderem quanto à saúde do peixe por suas atuações nos processos de desintoxicação e metabolização de xenobióticos, aspectos reprodutivos (Gabriel et al. 2020; Iffkhar et al. 2022). Ainda, pelo uso dos animais na dieta alimentar humana, o tecido muscular é frequentemente utilizado para determinação de limites máximos de metais previstos em normas e legislações. Assim, esse estudo teve como objetivo avaliar a saúde ambiental de diferentes estuários através da quantificação de metais na água, sedimento e material biológico.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de Estudo

A obtenção de amostras de água, sedimento e material biológico (*Atherinella brasiliensis*, *Cathorops spixii* e *Sphoeroides testudineus*) ocorreu nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga (Fig. 1), durante o verão, período de janeiro a março de 2021. O acesso às áreas de amostragem foi realizado de barco, com auxílio de pescadores artesanais residentes em cada região.

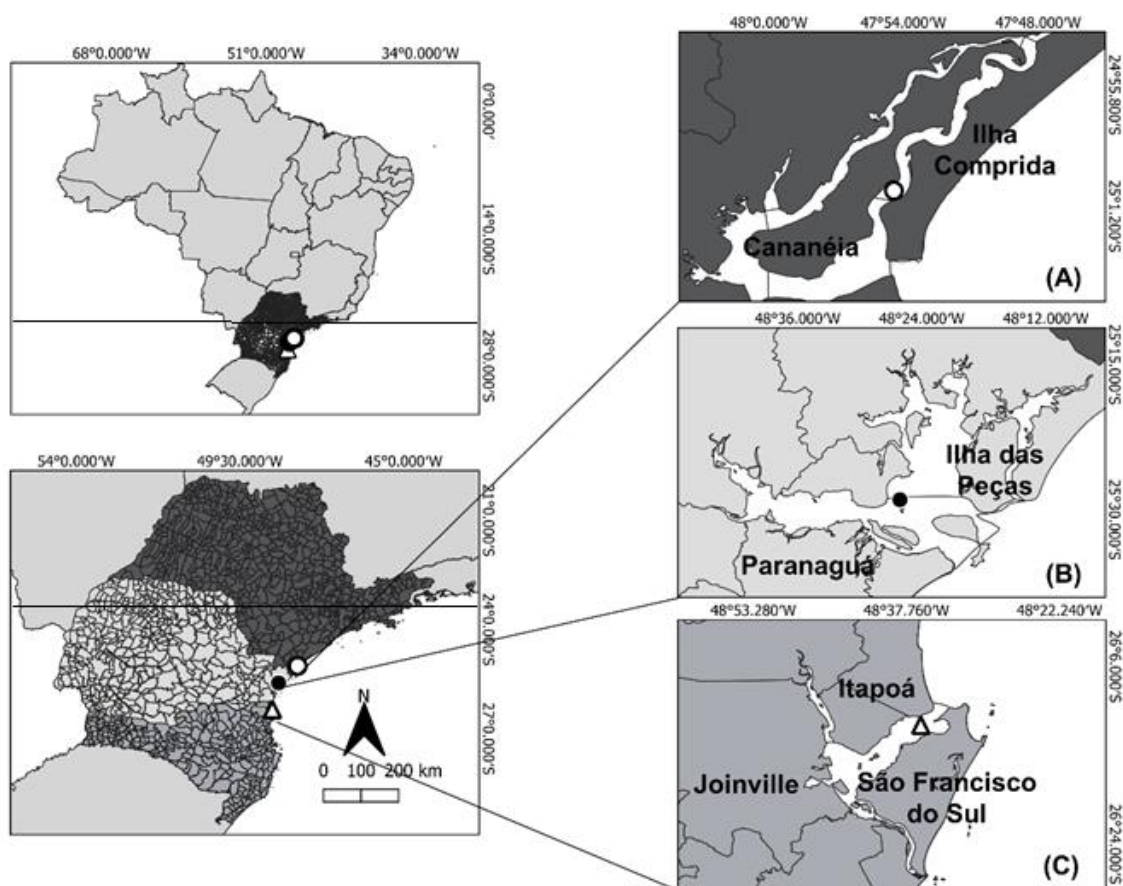


Figura 1: Mapa da área onde foram obtidos os exemplares de *A. brasiliensis*, *C. spixii* e *S. testudineus*, nos estuários de Cananéia (A - círculos não preenchidos), Paranaguá (B - círculos preenchidos) e da Babitonga (C - triângulos).

O estuário de Cananéia encontra-se localizado em uma área de proteção ambiental, no litoral sul do estado de São Paulo, região sudeste do Brasil, sob as coordenadas 25°0'4.07" S e 47°54'25.51" W. A região é cercada pelas ilhas do Cardoso, Cananéia e Ilha Comprida, territórios com baixa urbanização. No entanto, a região do Vale do Ribeira, onde a cidade de Cananéia está inserida,

é industrializada e comportou uma região de intensa mineração no passado, resultando no acúmulo de rejeito próximas ao rio Ribeira de Iguape, que desagua na região norte do estuário (Azevedo et al. 2012; Gusso-Choueri et al. 2016).

O estuário de Paranaguá, localizado no extremo norte do litoral do estado do Paraná, sul do Brasil, sob as coordenadas 25°28'4.37"S e 48°26'6.00"W, abriga importantes polos econômicos regionais, principalmente nas cidades de Paranaguá e Antonina. Na cidade de Paranaguá está situado o terceiro maior sistema portuário do país, o porto de Paranaguá (Possatto et al. 2014; Périco e Silva 2020).

O estuário da Babitonga encontra-se localizado no estado de Santa Catarina, sul do Brasil, sob as coordenadas 26°11'58.26"S e 48°36'17.79"W. O estuário contribui com as atividades de exportação brasileiras, pois abriga uma extensa estrutura portuária, e está ligado a um dos maiores polos industriais do estado, instalado nas proximidades da cidade de Joinville (Gerhardinger et al. 2021).

Para possibilitar a avaliação dos estuários, as espécies de peixes escolhidas para esse estudo são classificadas como estuarinas residentes e desenvolvem todo o seu ciclo de vida nos estuários. Os exemplares de *A. brasiliensis* são encontrados em áreas rasas, geralmente associados a regiões de manguezais (Fávaro, Oliveira e Verani 2007; Carvalho e Spach 2015). São onívoros generalistas e dentre os itens alimentares utilizados estão os crustáceos, moluscos, algas e insetos (Contente, et al. 2011; Alves et al. 2016). Os bagres da espécie *C. spixii* são forrageadores bentônicos generalistas, se alimentando de presas associadas ao substrato, principalmente invertebrados (Dantas et al. 2012; Denadai et al. 2013; Gusso-Choueri et al. 2016). Os baiacus *S. testudineus* possuem baixa capacidade de natação, e assim favorecem os estudos de biomonitoramento, pois ficam expostos a contaminantes locais (Pimentel et al. 2016; Gonçalves et al. 2020). Por ter fortes mandíbulas, sua dieta inclui organismos maiores e revestidos de conchas calcárias (Fagundes et al. 2016).

### **Coleta de Água e Sedimento**

As coletas de água superficial e sedimento foram realizadas em quatro (4) pontos em regiões rasas (máximo 1,5 m), e quatro (4) em regiões fundas (de

3 a 11 m) de profundidade, em cada estuário, nos mesmos locais onde os exemplares de peixes foram capturados.

As amostras de água foram obtidas por meio da imersão de frascos opacos de polietileno de alta densidade (PEAD) a alguns centímetros da superfície da água tanto nos pontos rasos, quanto nos de maior profundidade. Após a coleta de 500 mL de água, os frascos foram lacrados e armazenados sob refrigeração. A amostragem de água precedeu à de sedimento, a fim de diminuir a contaminação das amostras com partículas de sedimento em suspensão.

Em regiões rasas, o sedimento foi coletado por sucção gerada através de um equipamento cilíndrico de policloreto de vinila (PVC), e em áreas fundas foi utilizado o Van Veen. Em ambos os casos, o material sedimentar foi armazenado em sacos de polietileno de baixa densidade (PEBD) e mantido sob refrigeração. Foram totalizadas 24 amostras de água e 24 de sedimento. Em laboratório as amostras foram mantidas sob refrigeração.

### **Coleta de Material Biológico**

Os exemplares de peixes foram adquiridos através da utilização de diferentes petrechos de pesca, de acordo com pescadores artesanais de cada região, que auxiliaram na obtenção dos animais. Os exemplares de *S. testudineus* foram amostrados por rede de arrasto no estuário de Cananeia, por armadilhas (tipo covó) no estuário de Paranaguá e por rede de caceio (4 m) no estuário da Babitonga. Os espécimes de *C. spixii* foram obtidos por rede de arrasto no estuário de Cananeia, por linha de pesca no estuário de Paranaguá e por rede de caceio (4 m) no estuário da Babitonga. Para a obtenção de *A. brasiliensis* foram utilizadas tarrafas (malha de 2 mm) nos três estuário analisados.

Foram capturados 30 indivíduos de cada espécie, em cada um dos estuários, totalizando 90 animais por espécie. Após a coleta, os peixes foram congelados e enviados ao laboratório para tomada de dados morfométricos de comprimento total e peso total, e coleta dos órgãos destinados às análises. A licença permanente para a realização da coleta de material zoológico, nº 14683, foi emitida Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio).

## Obtenção dos Dados

Para evitar contaminação prévia, todo o material utilizado no processamento químico foi previamente lavado com água, sabão e acetona diluída, enxaguadas com água deionizada, submetidas ao banho de ultrassom no equipamento modelo USC 1800A (Unique, Brasil), e ao banho de ácido nítrico ( $\text{NHO}_3$ ) 10% (v/v).

Em todos os tipos de matrizes, a quantificação dos metais ocorreu em um espectrômetro de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) marca Thermo Scientific, modelo iCAP 6500 com vista axial. As curvas analíticas foram construídas a partir de solução padrão multielementar de 1000 mg/L marca AccuStard (New Haven, USA) contendo os analitos. A faixa de calibração do equipamento foi de 10,0 – 6000  $\mu\text{g/L}$ . Todas as curvas apresentaram um coeficiente de correlação acima de 0,999 para todos os elementos.

A fim de manter o padrão de confiabilidade do método para realizar as análises estatísticas foram considerados apenas os resultados com valores que estivessem acima do limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) de cada elemento (Tab. 1), e dentro da curva de calibração do equipamento utilizada no momento da leitura das amostras.

Tabela 1: Limites de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) dos elementos analisados.

Elemento	LOD ( $\mu\text{g/L}$ )	LOQ ( $\mu\text{g/L}$ )
Prata (Ag)	0,4516	1,5053
Alumínio (Al)	1,0283	3,4276
Cádmio (Cd)	0,1080	0,3600
Cobalto (Co)	0,2426	0,8087
Cromo (Cr)	0,4262	1,4208
Cobre (Cu)	0,4437	1,4789
Ferro (Fe)	0,6629	2,2096
Níquel (Ni)	0,5676	1,8921
Chumbo (Pb)	1,4791	4,9302
Zinco (Zn)	1,5290	5,0968

## Água

A fim de determinar a concentração de metais lábeis na água, a qual corresponde o que está disponível para a biota, o processamento das amostras



se deu através da aplicação da técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT), baseada no estudo de Davison e Zhang (2016).

Para a montagem de cada dispositivo, foi utilizada uma membrana filtrante com porosidade de 0,45 µm, uma fase difusiva de hidrogel de 1,5% m/v agarose com 0,8 mm de espessura, e uma fase ligante de 1,0 mm composta pela combinação da resina comercial Chelex-100 e agarose, ambas com 2,5 de diâmetro. Cada amostra de água (500 mL) recebeu dois dispositivos completos, totalizando 48 dispositivos montados. A fim de simular a movimentação natural da água no ambiente, as amostras foram submetidas a agitação de 60 rpm em agitador orbital modelo SL-222 (Solab, Brasil), durante 52 horas, com temperatura constante de 22°C.

A eluição da fase ligante ocorreu com adição de  $\text{NHO}_3$  concentrado sob os discos em tubos Falcon, seguida de agitação vigorosa dos fracos até completa solubilização das fases, e adição água deionizada até completar o volume de 10 mL. Em seguida, os tubos foram submetidos à centrifugação em equipamento modelo SL-700 (Solab, Brasil) a 3500 rpm, durante 5 minutos, e lidos pelo ICP. A solução final teve acidez de  $\text{HNO}_3$  1% (v/v).

A determinação da massa de metal acumulada na camada ligante foi obtida pela equação 1 (DAVISON; ZHANG, 2016).

$$M = \frac{Ce(V^{bl} + V_e)}{f_e} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde: M = massa do elemento (µg); Ce = concentração do elemento medida pelo ICP (µg/L);  $V^{bl}$  = volume da camada de ligação (mL);  $V_e$  = volume de ácido eluente utilizado (mL);  $f_e$  = fator de eluição do ácido.

Em seguida, foi estimada a concentração de metais no ambiente por meio da Equação 2 (DAVISON; ZHANG, 2016). O coeficiente de difusão de cada elemento foi fornecido pela DGT Research Ltd. (2022), considerando a temperatura de 22°C.

$$C_{DGT} = \frac{M\Delta g}{D^{mdl}A_p t} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:  $C_{DGT}$  = (µg/mL); M = massa do elemento (µg);  $\Delta g$  = (cm);  $D^{mdl}$  = coeficiente de difusão( $\text{cm}^2/\text{s}$ );  $A_p$  = ( $\text{cm}^2$ ); t = (s)

Os resultados foram apresentados em µg/L. Não foi realizada a comparação dos resultados com a legislação vigente, nacional e internacional,

pelo fato dos documentos considerar, para fins regulatórios, somente a fração total dos metais.

### Sedimento

Com o intuito de retirar a umidade do material, amostras de 2,0 g de sedimento foram liofilizadas em liofilizador modelo Liotop L101 (Liobras, Brasil) durante 3 dias, e mantidas em um dessecador até o início do processamento. A metodologia utilizada para o processamento foi baseada no método 3050A disponibilizado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (USEPA) (1992).

Para padronização do tamanho do grão, o sedimento foi macerado e peneirado em peneira de aço com malhas de nylon com 100 µm de abertura de poro. Em seguida, cerca de 1 g de amostra foi submetida à digestão pela combinação de  $\text{NH}_4\text{OH}$  concentrado, Peróxido de Hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 30% e Ácido Clorídrico (HCL) concentrado. O digesto foi filtrado em papel filtro Unifil de 150 mm, e em seguida diluído para o volume de 100 mL. A solução final apresentou acidez de 5 % (v/v) para  $\text{NH}_4\text{OH}$  e 5 % (v/v) de HCL. Os resultados foram apresentados em mg/kg e comparados com os valores máximos permitidos dos contaminantes no sedimento, conforme proposto pela resolução nº 454/2012 do CONAMA (2012).

### Material biológico

Após a coleta, os tecidos de gônadas, fígado e músculo (seco e úmido) foram armazenados individualmente em microtubos novos e mantidos em freezer com temperatura de aproximadamente  $-20^\circ\text{C}$ . No entanto, por conta da baixa massa de tecido coletada, foi necessário unir os indivíduos em pools de tecido, separados de acordo com o sexo dos indivíduos, totalizando 2 pools por sexo, para cada uma das espécies, em cada um dos estuários, totalizando 36 pools. Cada amostra agregada foi homogeneizada e armazenada em tubos Falcon novos, e mantidas congeladas a temperatura de  $-20^\circ\text{C}$  até o início do processamento.

A fim de retirar toda água e outros solventes presentes na amostra biológica, os pools dos diferentes tecidos foram submetidos ao processo de liofilização no equipamento modelo Liotop L101 (Liobras, Brasil), durante o

período de 3 a 5 dias. Uma parte do pool de tecido muscular foi mantida úmida para ser comparada com a legislação vigente referente ao consumo de pescado, disponibilizada pela Organização das Nações Unidas para Alimentos e Agricultura (FAO, 1983) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na resolução nº 42/2013 (ANVISA, 2013).

As amostras foram submetidas à digestão por HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Após o completo consumo das reações, foi realizada a extração de gordura por n-Hexano, e a solução foi diluída para o volume de 10 mL, com acidez final da solução de HNO<sub>3</sub> 1% (v/v). Os valores foram expressos em mg/kg.

### **Análise dos dados**

Nas amostras de água e sedimento, para cada elemento foi feita uma média do valor quantificado nos quatro pontos coletados em cada profundidade, em cada estuário. Ao final, foi calculada uma média do valor de todos os elementos, sendo obtido um único valor médio total para cada profundidade, em cada estuário. A mesma metodologia foi empregada para análise dos tecidos a fim de determinar a concentração de cada elemento nos quatro pools de cada tecido, para todas as espécies, em todos os estuários. Ainda, para cada análise foi determinado um valor médio total de todos os elementos foi obtido para cada tecido/órgão, de cada espécie, em cada estuário.

A fim de verificar o efeito das variáveis preditoras na resposta de cada elemento, foi ajustado um modelo que melhor explicasse essa variação. O modelo que melhor se ajustou aos dados considerava somente estuário e espécie. Portanto, o efeito do tecido foi desconsiderado de todas as análises estatísticas. Após a escolha do modelo, foi realizada uma ANOVA de duas vias. Para cada efeito significativo, comparações par a par foram aplicadas a *posteriori*, para cada variável resposta com o pacote lsmeans e multcomp (Hothorn, Bretz e Westfall, 2008; Lenth, 2016). Os testes estatísticos foram realizados no ambiente RStudio.

## **RESULTADOS**

### Água

A análise dos metais lábeis, quantificados em amostras de água superficial em profundidades rasas e fundas dos diferentes estuários (Tab. 2-A),

demonstrou, de maneira geral, que as maiores concentrações ocorreram no estuário de Cananéia, exceto para Zn, cujo maior valor foi observado no estuário da Babitonga. Para alguns elementos foi observada variação na concentração em relação a profundidade. O Cr foi detectado somente no estuário de Cananéia e os elementos Ag, Cd, Co e Pb não foram encontrados disponíveis na água, por não ocorrerem ou por não atingirem a concentração mínima necessária para a detecção.

Quando analisados os estuários, com as profundidades agrupadas, observamos o mesmo padrão descrito anteriormente. O estuário de Cananéia obteve a maior concentração total de metais lábeis, devido ao predomínio nas concentrações de Al, Cr, Fe e Ni (Tab. 2-B). Ainda, quando analisadas as profundidades rasa e funda, com os estuários agrupados, evidenciamos as maiores concentrações de metais lábeis em áreas rasas (Tab. 2-C).

Os metais Ag, Cd, Co e Pb por não terem sido detectados na água e o Cr, detectado somente na profundidade rasa do estuário de Cananéia, foram retirados da análise estatística. A ANOVA (Tab. 3) indicou que o Zn não mostrou diferença significativa para nenhuma das variáveis. Entretanto, a concentração de Al, Cu, Fe e Ni variou na interação entre as profundidades e estuário e que os valores obtidos para as profundidades rasas e fundas dependem do estuário analisado.

Através da análise gráfica da interação estuário:profundidade (Fig. 2), pode-se observar que para os metais testados, a região rasa de Cananéia demonstrou valores discrepantes em relação às profundidades dos outros estuários e, com exceção do Cu, apresentou os maiores valores de concentração dos metais.

Tabela 2: A- Quantificação média da concentração de metais lábeis em amostras de água superficial, coletadas em áreas rasas e fundas, nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga; B- Valor médio considerando as profundidades agrupadas; C- Valor médio considerando os estuários agrupados. Dados não apresentados indicam valores menores que o Limite de Quantificação (LOQ). Valores expressos em µg/L.

Parte A												
Estuários	Profundidade	Ag	Al	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn	Total
Cananéia	Raso		0,0184			0,0038	0,0009	0,0139	0,0036		0,0134	0,0090
	Fundo		0,0076				0,0019	0,0033	0,0003		0,0115	0,0049
Paranaguá	Raso		0,0083				0,0020	0,0015	0,0013		0,0120	0,0050
	Fundo		0,0080				0,0019	0,0062	0,0004		0,0102	0,0053
Babitonga	Raso		0,0117				0,0019	0,0024	0,0005		0,0134	0,0059
	Fundo		0,0117				0,0019	0,0022	0,0009		0,0167	0,0067

Parte B												
Estuários	Profundidade	Ag	Al	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn	Total
Cananéia			0,0130			0,0037	0,0014	0,0086	0,0019		0,0125	0,0069
Paranaguá			0,0081				0,0019	0,0038	0,0008		0,0111	0,0052
Babitonga			0,0117				0,0019	0,0023	0,0007		0,0151	0,0063

Parte C												
Estuários	Profundidade	Ag	Al	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn	Total
	Raso		0,0128			0,0038	0,0016	0,0059	0,0018		0,0129	0,0065
	Fundo		0,0091				0,0019	0,0039	0,0005		0,0128	0,0056

Tabela 3: Resultado da ANOVA de duas vias para os efeitos do estuário, da profundidade e da interação estuário:profundidade na concentração de metais da fração lábil de amostras de águas superficiais coletadas em profundidades rasas e fundas nos estuários de Cananéia, Paranaguá e da Babitonga. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

Elemento	Estuário		Profundidade		Estuário:Profundida	
	F	p	F	P	F	p
Al	4.54	0.026*	8.40	0.009*	7.16	0.005*
Cu	2.87	0.103	2.48	0.145	6.84	0.013*
Fe	3.94	0.039*	1.54	0.240	5.45	0.014*
Ni	9.31	0.006*	2.80	0.128	7.87	0.010*
Zn	0.53	0.596	0.00	0.993	0.283	0.756

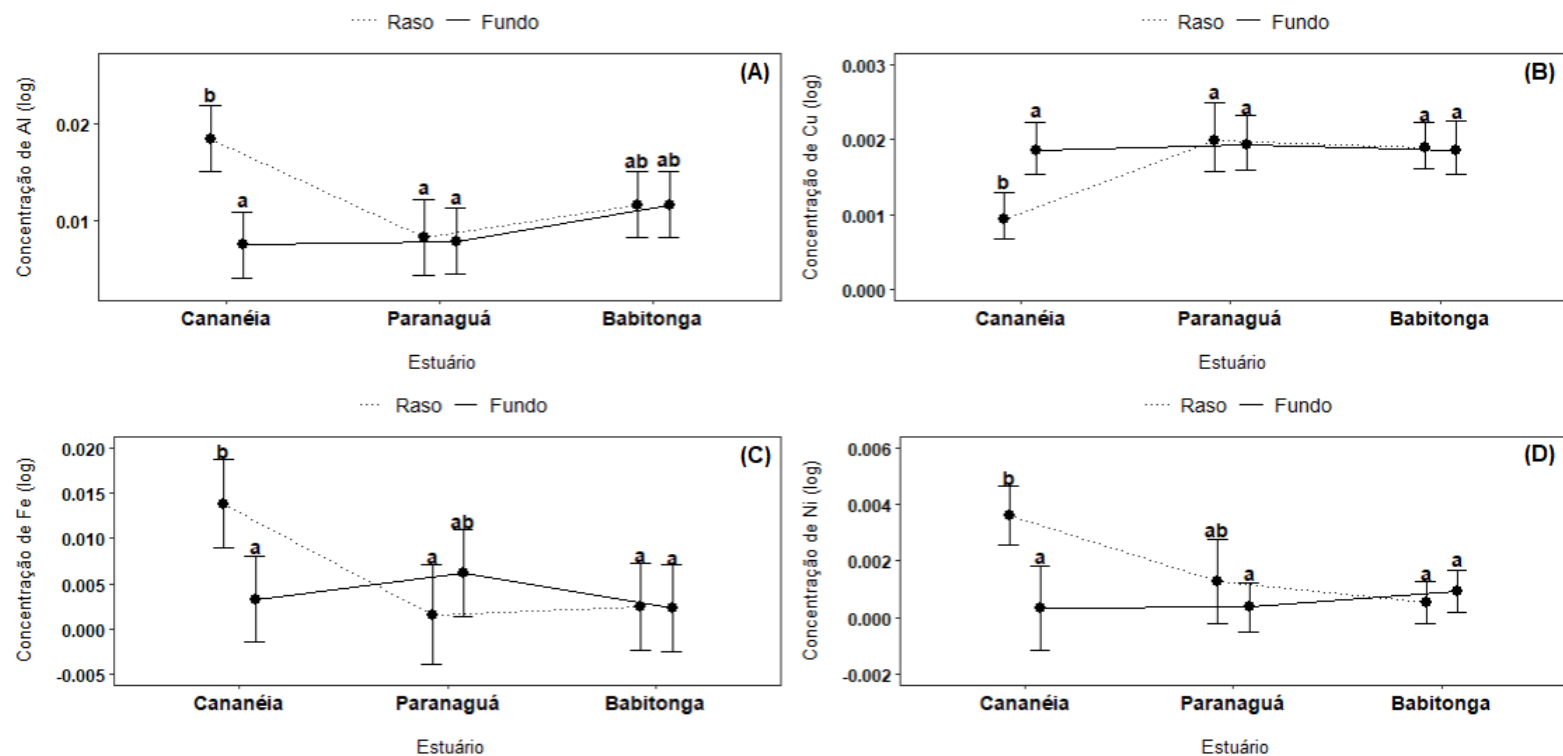


Figura 2: Efeito da interação estuário:profundidade na concentração de Al (A), Cu (B), Fe (C) e Ni (D) quantificados em amostras de água superficiais em profundidades rasas e fundas dos estuários de Cananéia, Paranaguá e Babitonga. Linha pontilhada = região rasa, e a linha contínua = funda. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre estuários e regiões de coleta ( $p < 0.05$ ). Dados apresentados em log.

### Sedimento

A análise de metais nos sedimentos, em áreas rasas e fundas dos diferentes estuários, permitiu verificar que todos os metais detectados apresentaram as maiores concentrações no estuário de Paranaguá, exceto para o Ni que teve a maior concentração detectada no estuário de Cananéia. Assim, o estuário de Paranaguá obteve a maior concentração total de metais quando comparado com os outros estuários. A variação na concentração de metais, quando comparada as áreas rasas e fundas, foi expressiva para alguns elementos (Al, Fe, Cr) e com menor valor de variação para outros (Tab. 4-A). Os metais Ag e Cd não foram detectados nos sedimentos.

Quando analisamos os diferentes estuários, com as profundidades agrupadas, observamos o mesmo padrão descrito acima, com as maiores concentrações no estuário de Paranaguá, exceto para o Ni, que teve a maior concentração no estuário de Cananéia (Tab.4-B). A verificação da concentração de metais nas diferentes profundidades, considerando os estuários agrupados,

demonstrou que para todos os elementos detectados as maiores concentrações ocorrem nas maiores profundidades (Tab. 4-C). Dos elementos que compõem lista regulatória (CONAMA, 2012), nenhum esteve acima do permitido para amostras sedimentares.

Tabela 4: A- Quantificação média da concentração de metais em amostras de sedimentos coletados em áreas rasas e fundas nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga; B- Valor médio considerando as profundidades agrupadas; C- Valor médio considerando os estuários agrupados. Os valores máximos permitidos na legislação (CONAMA, 2012) estão indicados. Dados não apresentados indicam valores menores que o Limite de Quantificação (LOQ). Valores expressos em mg/kg.

<b>Parte A</b>												
<b>Estuários</b>	<b>Profundidade</b>	<b>Ag</b>	<b>Al</b>	<b>Cd</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>	<b>Total</b>
Cananéia	Raso		1328,62	0,73	3,08	0,68	1154,25		1,22	3,27	355,97	
	Fundo		1617,74	1,01	4,13	1,00	1579,68	3,03	1,85	3,31	401,47	
Paranaguá	Raso		1922,93	1,20	6,47	1,00	2995,52	0,81	1,54	4,79	<b>616,78</b>	
	Fundo		4840,59	2,17	17,89	1,65	7443,15	1,61	3,17	10,51	<b>1540,09</b>	
Babitonga	Raso		613,26		1,74		650,37				1,83	316,80
	Fundo		1123,55	0,83	2,92	0,60	1213,45	0,80	1,04	3,14	293,29	
<b>CONAMA (2012)</b>		-	-	<b>1,2<sup>2</sup></b>	-	<b>81<sup>2</sup></b>	<b>34<sup>2</sup></b>	-	<b>20,9<sup>2</sup></b>	<b>46,7<sup>2</sup></b>	<b>150<sup>2</sup></b>	
<b>Parte B</b>												
<b>Estuários</b>	<b>Profundidade</b>	<b>Ag</b>	<b>Al</b>	<b>Cd</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>	<b>Total</b>
Cananéia			1473,18	0,87	3,61	0,84	1366,96	3,03	1,53	3,29	356,66	
Paranaguá			3381,76	1,69	12,18	1,33	5219,33	1,21	2,36	7,65	<b>1078,44</b>	
Babitonga			868,41	0,83	2,33	0,60	931,91	0,80	1,04	2,49	226,05	
<b>CONAMA (2012)</b>		-	-	<b>1,2<sup>2</sup></b>	-	<b>81<sup>2</sup></b>	<b>34<sup>2</sup></b>	-	<b>20,9<sup>2</sup></b>	<b>46,7<sup>2</sup></b>	<b>150<sup>2</sup></b>	
<b>Parte C</b>												
<b>Estuários</b>	<b>Profundidade</b>	<b>Ag</b>	<b>Al</b>	<b>Cd</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Zn</b>	<b>Total</b>
	Raso		1288,27	0,97	3,77	0,84	1600,04	0,81	1,38	3,30	362,42	
	Fundo		2527,29	1,34	8,31	1,09	3412,09	1,82	2,02	5,65	<b>744,95</b>	
<b>CONAMA (2012)</b>		-	-	<b>1,2<sup>2</sup></b>	-	<b>81<sup>2</sup></b>	<b>34<sup>2</sup></b>	-	<b>20,9<sup>2</sup></b>	<b>46,7<sup>2</sup></b>	<b>150<sup>2</sup></b>	

Os metais Ag e Cd, por não terem sido detectados nas amostras de sedimento, foram retirados da análise estatística. A ANOVA (Tab. 5) evidenciou diferença significativa na concentração de Al, Cr, Cu e Fe, separadamente para estuários e profundidade. Entretanto, não indicou diferença significativa na concentração de nenhum elemento para a interação estuário:profundidade. Os metais Co, Ni, Pb e Zn não diferiram em profundidade e nem nos estuários ( $p < 0.05$ ).

Tabela 5: Resultado da ANOVA de duas vias para os efeitos do estuário e da região de coleta na concentração de Al, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn em amostras de sedimentos coletadas em profundidades rasas e fundas nos estuários de Cananéia, Paranaguá e da Babitonga. O \* indica diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

Elemento	Estuário		Profundidade	
	F	p	F	p
Al	8.43	0.002*	5.34	0.031*
Co	2.68	0.128	2.93	0.124
Cr	10.81	0.0006*	5.76	0.026*
Cu	4.71	0.039*	7.015	0.026*
Fe	9.56	0.001*	6.03	0.023*
Ni	1.30	0.349	0.79	0.414
Pb	2.94	0.098	4.77	0.05
Zn	6.92	0.06	3.73	0.067

Através da análise gráfica da quantificação de metais no sedimento em cada estuário (Fig. 3), pode-se observar que a concentração de Al, Cr, Cu e Fe de amostras de Paranaguá foram estatisticamente diferentes das amostras coletadas em Cananéia e no estuário da Babitonga, com exceção do Cu que não diferiu entre amostras coletadas em Paranaguá e Cananéia. Ainda, através da análise gráfica da concentração de metais no sedimento foi observado que a concentração de Al, Cr, Cu e Fe diferiu estatisticamente em profundidades rasa e funda (Fig. 4), com as maiores concentrações nas maiores profundidades.



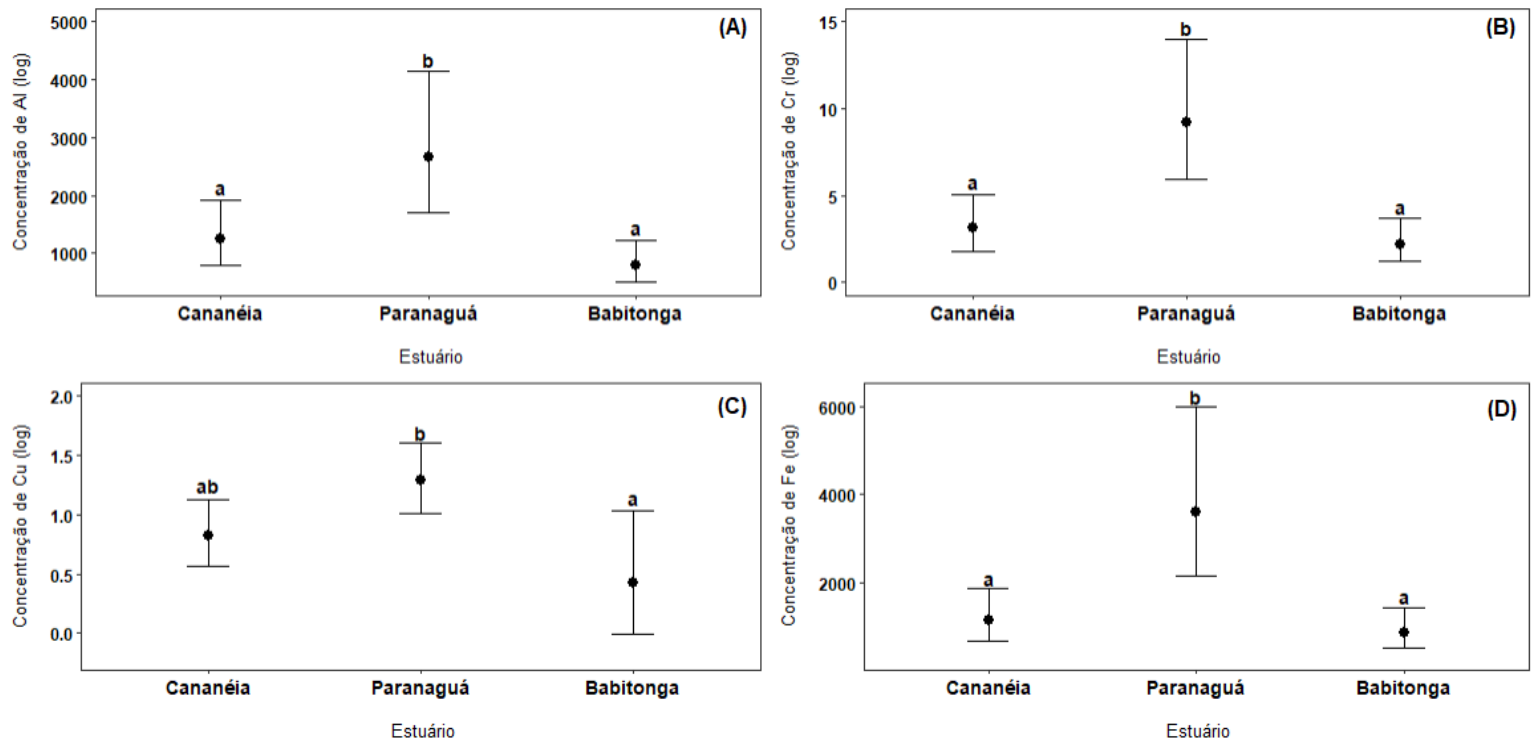


Figura 3: Efeito do estuário na concentração de Al (A), Cr (B), Cu (C) e Fe (D) quantificados em amostras de sedimento coletadas nos estuários de Cananéia, Paranaguá e Babitonga. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre estuários. Dados apresentados em log.

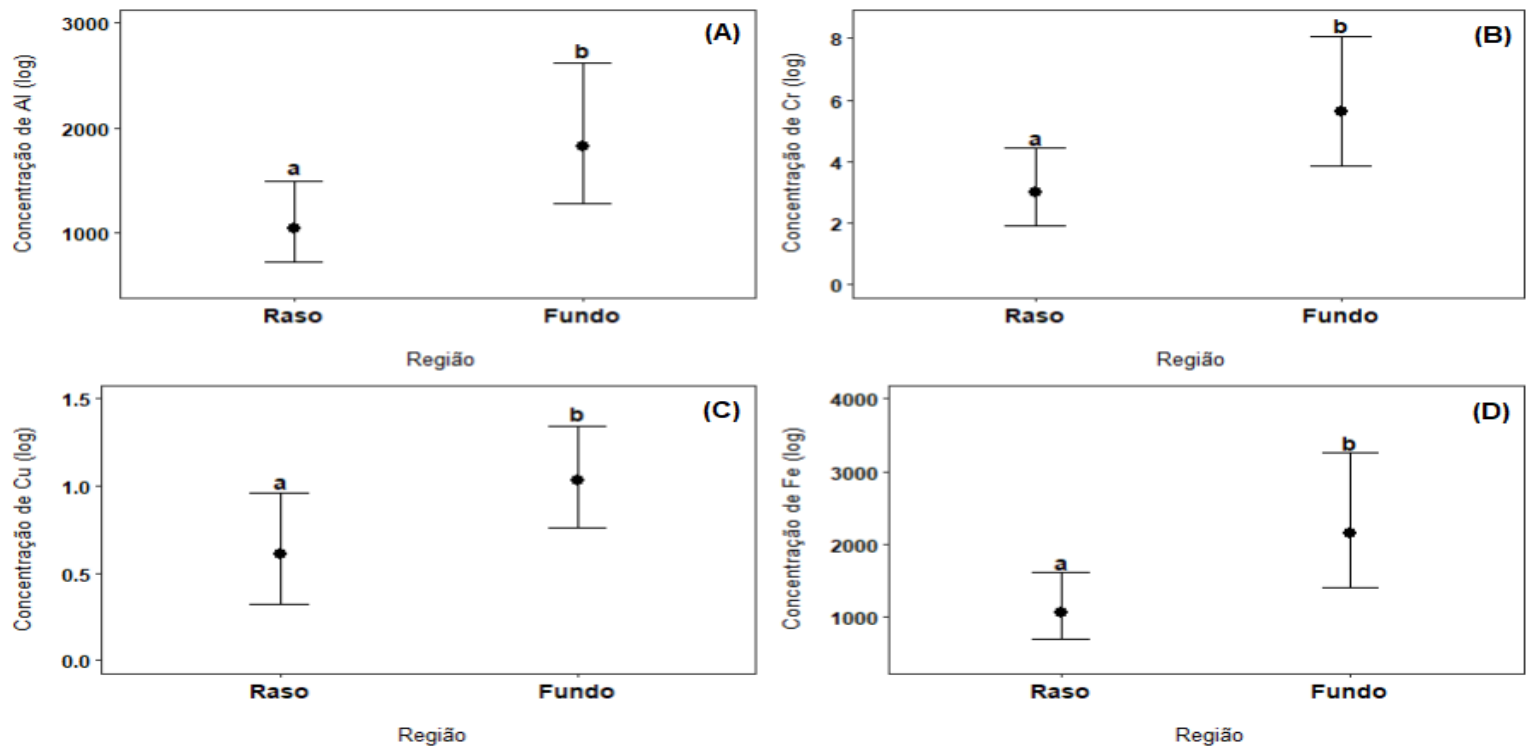


Figura 4: Efeito da profundidade na concentração de Al (A), Cr (B), Cu (C) e Fe (D) quantificados em amostras de sedimento coletadas em regiões rasas e fundas. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre regiões de coleta. Dados apresentados em log.

### Material biológico

A análise da concentração de metais em tecidos/órgãos, realizadas para as espécies *S. testudineus*, *C. spixii* e *A. brasiliensis*, nos três estuários estudados (Tab. 6) revelou que para *S. testudineus* (estuário de Cananéia) as gônadas e músculo úmido apresentaram as maiores concentrações totais (média da concentração de todos os metais detectados), enquanto no estuário de Paranaguá foi observada a maior concentração no fígado.

Os exemplares de *C. spixii* apresentaram os maiores valores da concentração total nas gônadas e fígado (estuário de Cananéia), sendo estes valores superiores aos das demais espécies considerando os vários estuários. A maior concentração para o músculo seco foi obtida no estuário de Paranaguá.

Os espécimes de *A. brasiliensis* apresentaram os maiores valores de concentração total de metais nas gônadas (estuário da Babitonga), no fígado e no músculo seco e úmido (estuário de Cananéia). A concentração evidenciada no tecido muscular foi superior a detectada para as outras espécies, nos diferentes estuários.

Apesar de não ser detectado nas amostras de água e sedimento, a Ag e o Cd foram detectados no fígado dos exemplares de *C. spixii* nos três estuários analisados, e o Cd foi detectado no fígado de *A. brasiliensis* (estuário de Cananéia) O Pb foi quantificado nas amostras de músculo seco (*S. testudineus*), gônadas, fígado, músculo seco e úmido (*C. spixii* e *A. brasiliensis*), com valores acima do permitido pela legislação brasileira no músculo úmido de *C. spixii* (Paranaguá e Babitonga) e *A. brasiliensis* (Babitonga).

A análise da concentração média total dos metais para cada estuário, considerando as espécies e os tecidos/órgãos agrupados (Tab. 7), permitiu observar que o estuário de Cananéia apresentou a maior concentração, seguido pelos estuários de Paranaguá e da Babitonga. Ainda, a análise individualizada dos metais demonstrou que o estuário de Cananéia apresentou as maiores concentrações para a maioria dos metais, exceto para o Co e Fe, cujas concentrações foram maiores no estuário de Paranaguá, e para o Ni que apresentou a maior concentração no estuário da Babitonga.

Tabela 6: Concentração média de metais em amostras biológicas de *S. testudineus*, *C. spixii* e *A. brasiliensis* coletados nos estuários de Cananeia (Ca), de Paranaguá (Pa) e da Babitonga (Ba). A coluna Total = a média da concentração total dos metais detectados. Os valores máximos permitidos na legislação brasileira (ANVISA, 2013) estão indicados para Cd e Pb. \* = músculo úmido. Para cada tecido/órgão de cada espécie, os maiores valores individuais e totais encontram-se em negrito. Dados não apresentados indicam valores menores que o Limite de Quantificação (LOQ). Valores expressos em mg/kg. Valores em itálico e sublinhados estão acima dos limites da legislação brasileira.

Espécie/Estuário	Tecido	Ag	Al	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn	Total
<i>S. testudineus</i> /Ca	Gônada		<b>740,16</b>			0,84	4,27	<b>341,44</b>			<b>394,10</b>	<b>296,16</b>
<i>S. testudineus</i> /Pa	Gônada		25,63	<b>0,24</b>	<b>1,80</b>		<b>9,23</b>	112,02	<b>1,38</b>	<b>28,31</b>	357,29	66,98
<i>S. testudineus</i> /Ba	Gônada		37,44				5,05	99,88		1,49	219,16	72,60
<i>S. testudineus</i> /Ca	Fígado		<b>7,15</b>	0,06	0,11	0,06	1,29	<b>271,49</b>		<b>1,51</b>	90,51	46,52
<i>S. testudineus</i> /Pa	Fígado		6,67	0,08	<b>0,14</b>	<b>0,17</b>	2,12	222,20		0,72	<b>147,04</b>	<b>47,39</b>
<i>S. testudineus</i> /Ba	Fígado		6,89	<b>0,29</b>	0,09	0,08	<b>2,55</b>	247,93		0,38	57,03	39,40
<i>S. testudineus</i> /Ca	Músculo		<b>21,66</b>		<b>0,06</b>	0,68	1,29	<b>28,69</b>	<b>0,42</b>		50,21	14,72
<i>S. testudineus</i> /Pa	Músculo		6,66			0,81	2,24	28,03		0,42	<b>59,45</b>	<b>16,27</b>
<i>S. testudineus</i> /Ba	Músculo		10,03			<b>0,97</b>	<b>2,72</b>	24,19		<b>1,41</b>	56,72	16,01
<i>S. testudineus</i> /Ca	Músculo*		<b>68,16</b>					<b>36,92</b>			9,75	<b>38,28</b>
<i>S. testudineus</i> /Pa	Músculo*		20,14				<b>0,90</b>	16,31			<b>11,94</b>	12,32
<i>S. testudineus</i> /Ba	Músculo*		12,26					7,28			9,82	9,79
<i>C. spixii</i> /Ca	Gônada		80,45				23,87	249,45			1547,84	<b>475,40</b>
<i>C. spixii</i> /Pa	Gônada		135,56		<b>1,23</b>		10,99	<b>726,64</b>		1,02	1965,78	473,54
<i>C. spixii</i> /Ba	Gônada		<b>136,81</b>			<b>0,34</b>	<b>30,51</b>	456,49		<b>12,07</b>	<b>2130,52</b>	461,12
<i>C. spixii</i> /Ca	Fígado	0,18	<b>224,40</b>	<b>0,52</b>	<b>0,41</b>	<b>0,26</b>	13,73	1256,92		0,61	<b>1649,84</b>	<b>349,65</b>
<i>C. spixii</i> /Pa	Fígado	0,14	19,78	0,35	0,31	0,12	18,64	<b>1939,38</b>	<b>10,41</b>	0,41	431,51	242,11
<i>C. spixii</i> /Ba	Fígado	<b>0,28</b>	69,22	0,42	0,34	0,25	<b>25,51</b>	964,33		<b>0,66</b>	388,08	161,01
<i>C. spixii</i> /Ca	Músculo		12,26			<b>0,83</b>	<b>2,62</b>	31,44		1,15	55,56	17,31
<i>C. spixii</i> /Pa	Músculo		12,06		<b>0,09</b>	0,77	2,10	<b>55,26</b>		1,40	76,61	<b>21,18</b>
<i>C. spixii</i> /Ba	Músculo		<b>14,45</b>		0,08	0,72	2,08	32,80		<b>1,49</b>	<b>89,97</b>	20,23
<i>C. spixii</i> /Ca	Músculo*		53,44				1,43	31,89			<b>52,06</b>	<b>34,70</b>
<i>C. spixii</i> /Pa	Músculo*		12,97				1,25	<b>80,02</b>		<u><b>0,57</b></u>	30,25	25,01
<i>C. spixii</i> /Ba	Músculo*		<b>92,75</b>				<b>2,72</b>	49,74		<u><b>0,43</b></u>	21,24	33,38
<i>A. brasiliensis</i> /Ca	Gônada		<b>104,46</b>				<b>33,08</b>	96,19			47,33	70,26
<i>A. brasiliensis</i> /Pa	Gônada		100,75				4,39	<b>135,26</b>		3,18	208,17	90,35
<i>A. brasiliensis</i> /Ba	Gônada		49,77				12,91	97,66		<b>43,77</b>	<b>296,00</b>	<b>100,02</b>
<i>A. brasiliensis</i> /Ca	Fígado	<b>1,26</b>	84,57	<b>1,00</b>	0,02	<b>1,09</b>	<b>6,99</b>	<b>382,82</b>		<b>80,32</b>	<b>136,76</b>	<b>77,20</b>
<i>A. brasiliensis</i> /Pa	Fígado		<b>138,71</b>			0,12	2,31	187,34		1,53	83,80	68,97
<i>A. brasiliensis</i> /Ba	Fígado	0,04	8,96	0,03	<b>0,04</b>	0,09	2,98	86,34	<b>9,25</b>		44,35	16,89
<i>A. brasiliensis</i> /Ca	Músculo		<b>48,31</b>			<b>2,60</b>	<b>7,97</b>	<b>29,37</b>			47,33	<b>27,12</b>
<i>A. brasiliensis</i> /Pa	Músculo		8,16			0,92	1,85	28,73		1,02	<b>87,40</b>	21,35
<i>A. brasiliensis</i> /Ba	Músculo		12,07			1,31	2,85	15,05		<b>1,34</b>	43,98	12,77
<i>A. brasiliensis</i> /Ca	Músculo*		<b>59,43</b>									<b>59,43</b>
<i>A. brasiliensis</i> /Pa	Músculo*		17,93			<b>0,27</b>	1,01	<b>15,21</b>			<b>12,18</b>	9,32
<i>A. brasiliensis</i> /Ba	Músculo*		29,47				<b>1,45</b>	6,85		<u><b>0,44</b></u>	8,60	9,36
<b>ANVISA (2013)*</b>			-	<b>0,05</b>	-	-	-	-	-	<b>0,30</b>	-	-

Tabela 7: Valor médio total da quantificação de metais em amostras biológicas de *S. testudineus*, *C. spixii* e *A. brasiliensis* coletados nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga. Análise considerou tecidos/órgãos e espécies agrupados para cada estuário. Para cada tecido/órgão de cada espécie, os maiores valores individuais e totais encontram-se em negrito. Valores expressos em mg/kg.

Estuário	Ag	Al	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn	Total
Cananéia	<b>0,72</b>	<b>125,371</b>	<b>0,53</b>	0,15	<b>0,91</b>	<b>9,65</b>	250,60	0,42	<b>20,90</b>	<b>371,03</b>	<b>78,03</b>
Paranaguá	0,14	41,08	0,21	<b>0,40</b>	0,62	4,75	<b>295,53</b>	5,89	3,86	289,28	64,28
Babitonga	0,16	40,01	0,25	0,14	0,54	8,30	174,04	<b>9,25</b>	6,35	280,46	51,95

Os metais Ag e Ni, por não serem amplamente detectados nos tecidos/órgãos analisados, foram retirados da ANOVA (Tab. 8). Para o Cd e o Cu a concentração verificada para cada espécie depende do estuário analisado, sendo evidenciada diferença significativa na interação estuário:espécie. Somente para o Al foi evidenciada diferença entre os estuários, enquanto todos os elementos analisados mostraram diferenças significativas para espécies.

Tabela 8: Resultado da ANOVA de duas vias para os efeitos do estuário, da espécie e da interação estuário:espécie na concentração de Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Pb e Zn em tecidos de peixes das espécies *S. testudineus*, *C. spixii*, *A. brasiliensis* coletadas nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga. O \* indica diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

Elemento	Estuário		Espécie		Estuário:Espécie	
	F	p	F	P	F	P
Al	3.70	0.027*	5.73	0.004*	0.75	0.559
Cd	0.35	0.705	12.42	0.0005*	12.10	0.0002*
Co	1.68	0.206	9.49	0.0009*	0.21	0.887
Cr	2.17	0.122	3.73	0.029*	2.44	0.056
Cu	1.85	0.161	9.11	0.0002*	3.16	0.017*
Fe	1.60	0.204	8.38	0.0003*	1.71	0.150
Pb	1.25	0.295	3.61	0.044*	1.98	0.114
Zn	0.77	0.464	10.05	< 0.0001*	0.53	0.708

Através da análise gráfica da interação estuário:espécie para o Cd e Cu (Fig. 5) foi verificado que no estuário de Cananéia a concentração de Cd

apresentou diferença significativa para *S. testudineus* em relação as demais espécies. A mesma situação foi verificada pra a concentração de Cu. No estuário de Paranaguá as concentrações de Cd e Cu não diferiram entre as espécies e no estuário da Babitonga a concentração de Cd diferiu entre *A. brasiliensis* e *C. spixii* e a concentração de Cu não diferiu entre as espécies. Quando analisadas as espécies entre os estuários, verificamos que a concentração de Cd apresentou diferença significativa somente para *A. brasiliensis*, não ocorrendo diferença na concentração de Cu.

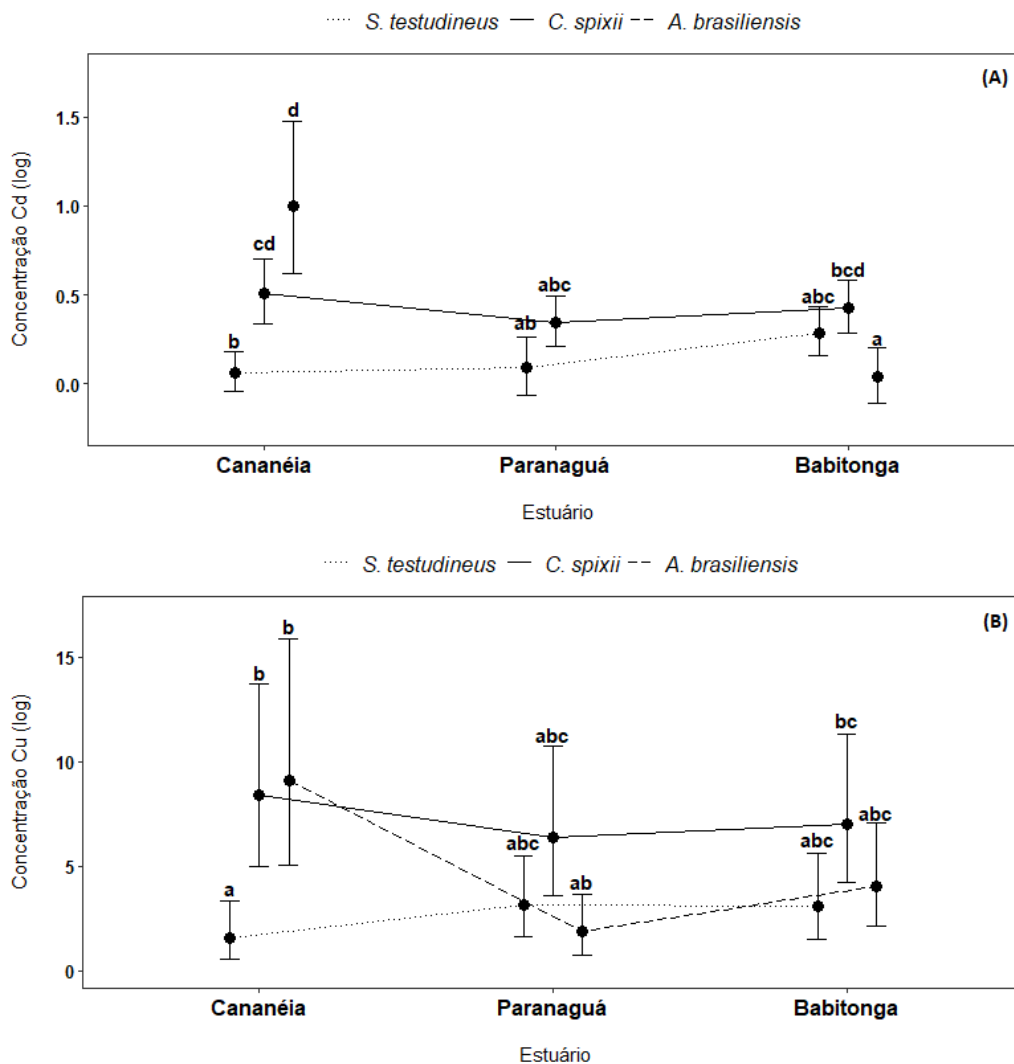


Figura 5: Efeito da interação entre estuário:espécie na concentração de Cd (A) e Cu (B) no tecido de peixes da espécie *S. testudineus* (linha pontilhada), *C. spixii* (linha contínua) e *A. brasiliensis* (linha tracejada), nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os estuários e as espécies ( $p < 0.05$ ). Resultados apresentados em log.

Em relação a concentração de Al, verificamos que o estuário de Cananéia difere do estuário de Paranaguá e que a espécie *S. testudineus* difere das demais espécies (Fig. 6).

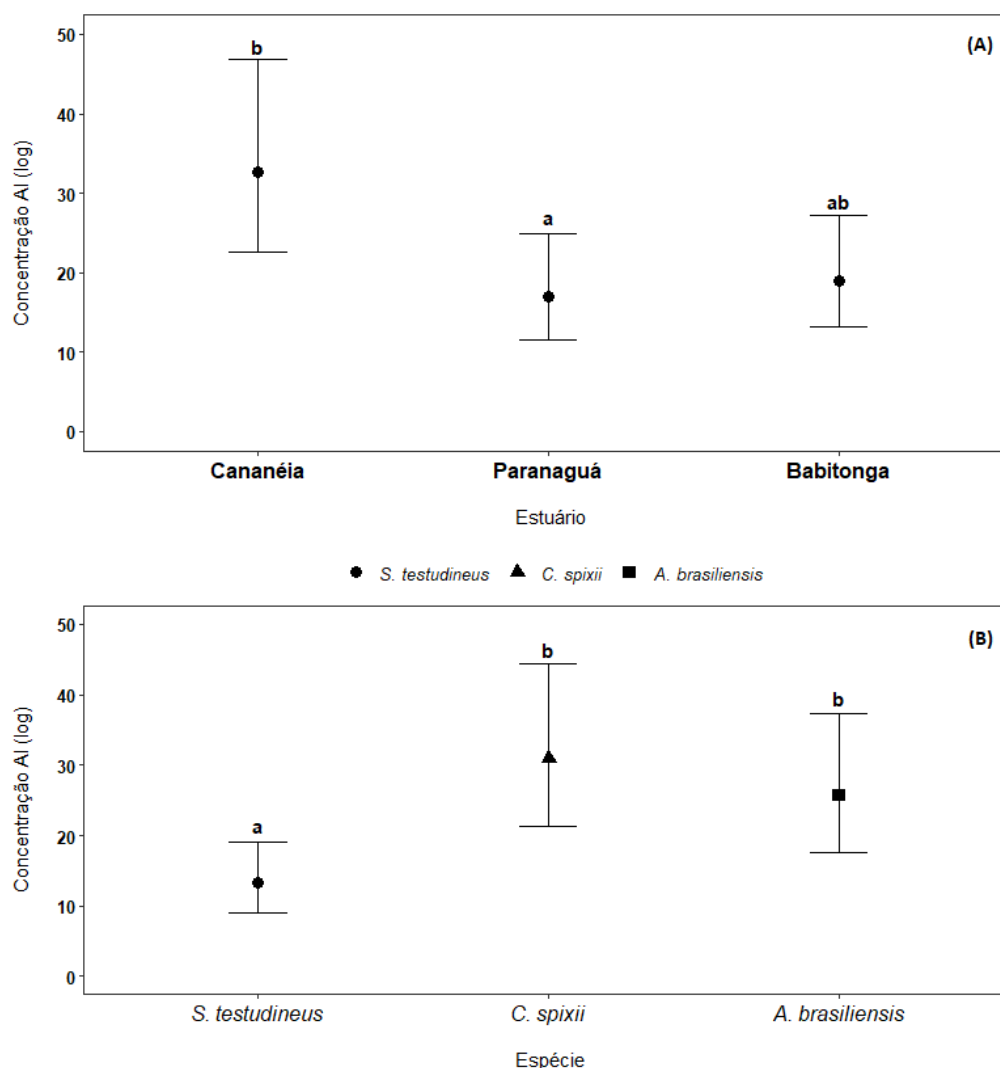


Figura 6: Efeito do estuário (A) e da espécie (B) na concentração de Al no tecido das espécies *S. testudineus*, *C. spixii* e *A. brasiliensis* coletados nos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga. Resultados apresentados em log. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os estuários e as espécies, separadamente ( $p < 0.05$ ).

A variação da concentração de Co, Fe, e Zn apresentou diferença significativa entre *C. spixii* e as demais espécies. A concentração de Cr diferiu entre *C. spixii* e *A. brasiliensis*. Em relação a concentração de Pb, a análise gráfica não demonstrou diferença entre as espécies, entretanto, permitiu verificar uma grande variação entre *A. brasiliensis* e as demais espécies (Fig. 7). Provavelmente, essa grande variação na concentração de Pb fez com que o  $p$

valor (0,044), obtido na ANOVA, demonstrasse a diferença significativa entre as espécies.

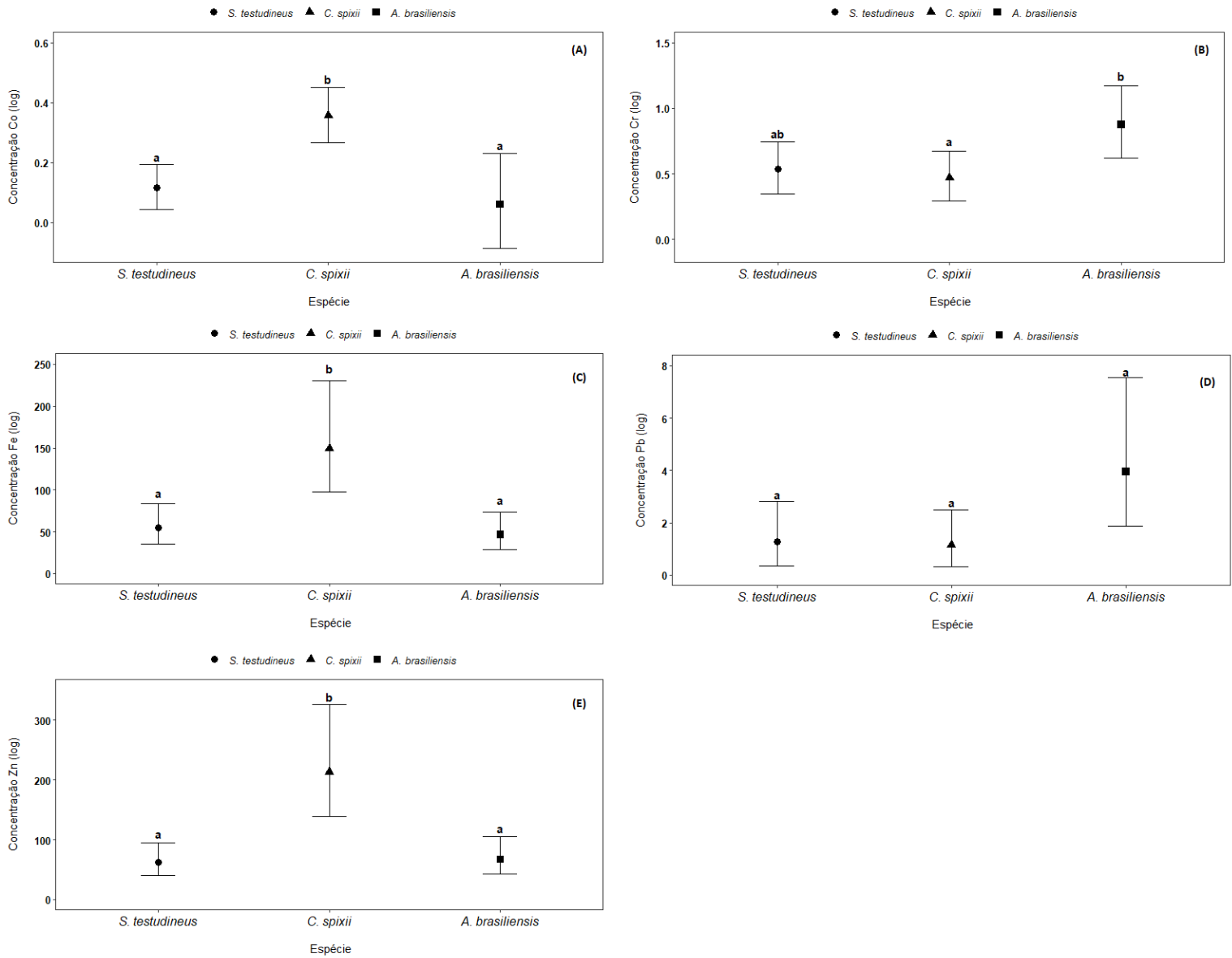


Figura 7: Efeito da espécie na concentração de Co (A), Cr (B), Fe (C), Pb (D) e Zn (E) no tecido de *S. testudineus*, *C. spixii* e *A. brasiliensis* coletados nos diferentes estuários analisados. Resultados apresentados em log. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre as espécies ( $p < 0.05$ ).

## DISCUSSÃO

Os resultados apresentados indicam a presença de metais nas diferentes matrizes avaliadas nesse estudo. A presença e comportamento desses elementos no ambiente estuarino e em organismos aquáticos é motivo de investigação em muitos estudos (Fernandez-Maestre et al. 2018; Vieira et al. 2020; Rubalingeswari et al. 2021; Umbría-Salinas et al. 2021). A perturbação desses ecossistemas pode impactar severamente a diversidade biológica local e as atividades humanas que dependem desses ambientes, como a pesca e o turismo (Day et al. 2013; Machado et al. 2016; Angeli et al. 2020)

Nosso estudo foi realizado em um único período amostral, no verão, e por isso não temos o registro da variação sazonal nas concentrações dos metais detectados. O dispositivo que utilizamos na detecção dos metais foi o DGT, o qual é utilizado também em vários estudos realizados diretamente em ambientes naturais (Costa e Wallner-Kersanach 2013; Cindric et al. 2020; Umbría-Salinas et al. 2021). O uso do DGT consiste em uma técnica robusta, que detecta os tipos e a concentração dos metais no momento da análise (Caetano et al. 2022), não sendo influenciado pelas variações sazonais dos fatores ambientais que ocorrem ao longo do tempo, tais como a salinidade, pH e temperatura, condições que afetam a disponibilidade e a dinâmica dos metais que são amostrados pelo dispositivo (Borges et al. 2011; Mason 2013; Guibal et al. 2019).

A quantificação da fração lábil (análise da água) é importante por ser a porção disponível para a biota, sendo influenciado por condições ambientais (Borges et al. 2011; Mason 2013; Umbría-Salinas et al. 2021). O período de amostragem desse estudo ocorreu no verão, época do ano caracterizado por maior quantidade de chuvas no litoral sul e sudeste do Brasil. Nesse período, ocorre variação da salinidade e do pH da água, pois aumenta a vazão das águas continentais que ao entrar no estuário, durante o processo de escoamento superficial, carrega os contaminantes provenientes de atividades antrópicas do entorno, como por exemplo, os rejeitos de antigas atividades de mineração (Mahiques et al. 2012), como o ocorrido na área do entorno do estuário de Cananéia onde era realizada no passado esse tipo de atividade. Esses fatores, associado com a falta de tratamento de esgoto doméstico na cidade de Cananéia e comunidades adjacentes (Azevedo e Salgado 2019), podem ter efeito na disponibilidade dos metais, aumentando a fração lábil na água superficial da



região. É importante considerar que a concentração dos metais no ambiente varia tanto pelas oscilações das condições, mas também pela proximidade com fontes contaminantes (Barletta et al. 2019).

Quando não estão em sua forma de íon livre, ou fracamente ligados a outros compostos, os metais podem estar adsorvidos em partículas suspensas na água, que sedimentam com o aumento da salinidade, causando a contaminação dos sedimentos (Borges et al. 2011; Linnik et al. 2018).

Em relação ao sedimento, as maiores cargas metálicas foram detectadas e quantificadas no estuário de Paranaguá, quando comparado aos demais estuários analisados. Essa região abriga um dos maiores portos do país, com intenso tráfego de navios e manuseio de produtos químicos potencialmente tóxicos como fertilizantes, combustíveis e compostos inorgânicos (Martins et al. 2010; Angeli et al. 2020; Périco e Silva 2020), podendo ser fontes possíveis de contaminação metálica na região.

Outro sistema portuário importante para economia do sul do Brasil, está localizado no estuário da Babitonga, região que, além do complexo portuário, desenvolve intensa atividade industrial e turística, que podem ser fonte de contaminação orgânica e inorgânica (Noernberg et al. 2020; Gerhardinger et al. 2021). Entretanto, apesar de presente nas amostras ambientais e biológicas consideradas neste estudo, as cargas metálicas encontradas na Babitonga foram menores do que as quantificadas nos demais locais de estudo. Isso pode indicar que outros componentes do ambiente podem estar envolvidos no sequestro dos íons metálicos da água e sedimento, como a matéria orgânica em suspensão vinda dos grandes rios que desaguam no estuário, e a extensa área de manguezais na região, que representa 75% da área total de mangue do estado de Santa Catarina, onde o estuário da Babitonga está localizado (Borges et al. 2011; Sanders 2017; Linnik et al. 2018; Gueretz et al. 2019; Gerhardinger et al. 2021).

É comum que em regiões portuárias ocorra o processo de dragagem, para manutenção da profundidade das áreas de acesso ao porto (Murta et al. 2019). Entretanto, essa prática causa a remobilização e redistribuição de partículas sedimentares potencialmente contaminadas (Costa e Wallner-Kersanach 2013), tornando-as disponíveis para ingestão e absorção em organismos de diferentes espécies, pericialmente as que vivem e/ou forrageiam

no fundo dos estuários. A biodisponibilidade e a consequente absorção dos elementos pelos organismos dependem de vários parâmetros físico-químicos e biológicos (Cindric et al. 2020), característicos de cada espécie.

Alguns metais como a Ag e o Cd foram quantificados no tecido hepático dos peixes, mas não foram detectados nas matrizes ambientais de água e sedimento. Esse resultado indica que apesar de se encontrarem em reduzidas concentrações no ambiente, os organismos acumulam esses metais. Provavelmente, uma das fontes de contaminação possa ser a alimentação. A importância da análise dos hábitos alimentares, para determinação da bioacumulação nos tecidos de peixes, é bem discutida na literatura, principalmente para organismos associados ao sedimento (Mason 2013; Voigt et al. 2015; Feng et al. 2020).

Dentre as espécies analisadas neste estudo, *C. spixii* foi a que apresentou maiores concentrações da maioria dos metais nos tecidos, se comparado a *S. testudineus* e *A. brasiliensis*. Forrageadores bentônicos, como *C. spixii*, costumam apresentar maiores concentrações de metais em seus tecidos por estarem mais suscetíveis a ingerir partículas sedimentares e outros organismos contaminados, o que resulta em maiores valores de FBC (Voigt et al. 2015; Feng et al. 2020; Gabriel et al. 2020).

Foram detectados metais, em diferentes concentrações, em todos os tecidos de peixes analisados neste estudo. Alguns metais são essenciais para o funcionamento dos organismos, como o Fe, Zn e Cu, porém em altas concentrações podem ser tornar tóxicos (Rajkowska e Protasowicki 2012; Cruz et al. 2015; Azevedo e Salgado 2019). Entretanto, metais sem função biológica conhecida foram quantificados nos tecidos, como o Pb e o Cd (Kaoud e El-Dahsham 2010; Azevedo e Salgado 2019).

Nesse sentido, se desconsiderarmos os essenciais, a concentração dos demais metais indica que foram excedidas a capacidade de armazenamento e metabolização pelo fígado e a excreção pelos órgãos excretores, resultando no acúmulo de metais em outros tecidos (Gabriel et al. 2020; Iffikhar et al. 2022). Como os peixes podem ser utilizados na alimentação humana, a concentração de Pb no tecido muscular úmido dos peixes avaliados neste estudo, sinaliza com preocupação a contaminação do ambiente e do recurso pesqueiro, pois a

concentração observada foi maior do que o permitido pela legislação (ANVISA, 2013).

Essas análises mostraram que o tipo e a concentração dos metais não obedecem um padrão, variando entre as espécies e entre os estuários, mostrando que a contaminação está relacionada com as diferentes atividades realizadas em cada estuário ou no seu entorno.

Nosso estudo demonstrou que a utilização de uma única matriz para avaliar o ambiente, possivelmente, não seja suficiente para obter resultados robustos. A utilização de diferentes matrizes (água, sedimento e material biológico) além da determinação do FBC e FBA se mostrou eficiente para avaliar a qualidade ambiental dos estuários.

Nossos resultados permitem concluir que as espécies avaliadas apresentaram concentrações diferentes de metais e que todos os ambientes se encontram comprometidos, em diferentes graus. Ainda, é importante salientar que a legislação brasileira se mostra insuficiente para avaliar com eficiência a situação ambiental, sendo necessário uma reformulação que contemple a concentração de outros metais e também parâmetros para avaliar as frações lábeis da água.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Com base nos parâmetros ambientais e biológicos investigados neste estudo, é possível sugerir que a qualidade ambiental dos estuários de Cananéia, de Paranaguá e da Babitonga está, em diferentes níveis, ameaçada pela contaminação aquática relacionada com as atividades antrópicas realizadas no entorno de cada região. Os critérios selecionados para avaliar cumpriram de maneira satisfatória os objetivos propostos.

No que se refere à análise dos metais, foi constatada a presença desses contaminantes na água e no sedimento, coletados em diferentes profundidades dos estuários, e em vários tecidos e órgãos de espécies de peixes associadas a diferentes níveis da coluna d'água. Os resultados evidenciam que até mesmo regiões próximas a áreas protegidas e com baixa urbanização nas margens do estuário, podem apresentar altas cargas metálicas nas matrizes ambientais e nos organismos. Áreas com intensa atividade portuária e industrial podem ser uma ameaça tanto para a descarga de contaminantes inorgânicos (como os metais analisados), quanto para contaminantes não avaliados, como os orgânicos.

Além do impacto ecológico causado pela contaminação das diferentes matrizes estuarinas analisadas, há efeito significativo na economia regional, na saúde pública e na área social, por meio da geração de renda de comunidades tradicionais, presente em todos os estuários analisados. Este trabalho soma-se aos demais estudos realizados ao longo do tempo e evidencia a necessidade de reformulação de políticas públicas e legislações ambientais, principalmente no que se refere ao limite máximo permitido de contaminantes inorgânicos nas amostras ambientais e no tecido muscular de peixes, sugerindo a consideração de frações lábeis e estabelecimento de limites máximos para outros elementos metálicos tóxicos.

## REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) – Ministério da Saúde – BRASIL. **Resolução – RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013**. Dispõe sobre o regulamento técnico Mercosul sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos.

Alves, V. E. N.; Dolbeth, P. M.; Pessanha, A.; Palma, A. R. T.; Dantas, E. W.; Vendel, A.L. Do different degrees of human activity affect the diet of Brazilian silverside *Atherinella brasiliensis*? **Journal of Fish Biology**, v. 89, n. 2, p. 1239-1257, 2016. <https://doi.org/10.1111/jfb.13023>

Angeli, J. L. F.; Kim, B. S. M.; Paladino, I. M.; Nagai, R. H.; Martins, C. C.; Mahiques, M. M.; Figueira, R. C. L. Statistical assessment of background levels for metal contamination from a subtropical estuarine system in the SW Atlantic (Paranaguá Estuarine System, Brazil). **Journal of Sedimentary Environments**, v. 5, n. 1, p. 137-150, 2020. <https://doi.org/10.1007/s43217-020-00008-5>

Azevedo, J. S.; Sarkis, J. E. S.; Hortellani, M. A.; Ladle, R. J. Are Catfish (Arridae) Effective Bioindicators for Pb, Cd, Hg, Cu and Zn? **Water, Air & Soil Pollution**, v. 223, p. 3911-3922, 2012. <https://doi.org/10.1007/s11270-012-1160-2>

Baruaem, L. M.; Hortellani, M. A.; Sarkis, J. E.; Costa-Lotufo, L. V.; Abessa, D. M. S. Contamination of port zone sediments by metals from Large Marine Ecosystems of Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n.3, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.01.017>

Bessa, F.; Barría, P.; Neto, J. M.; Frias, J. P. G. L.; Otero, V.; Sobral, P.; Marques, J. C. Occurrence of microplastics in commercial fish from a natural estuarine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 128, p. 575-584, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.044>

Browne, M. A.; Galloway, T. S.; Thompson, R. C. Spatial patterns of plastic debris along estuarine shorelines. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 9, p. 3404-3409, 2010. <https://doi.org/10.1021/es903784e>

Carvalho, B. M.; Spach, H. L. Habitat use by *Atherinella brasiliensis* (Qhoy & Gaimard, 1825) in intertidal zones of a subtropical estuary, Brazil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 37, n. 2, p. 177-184, 2015. <https://doi.org/10.4025/actascibiols.v37i2.25205>

Claessens, M.; Meester, S. D.; Landuyt, L. V.; Clerck, K. D.; Janssen, C. R. Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 10, p. 2199-2204, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.030>

Cole, M.; Lindeque, P.; Halsband, C.; Galloway, T. S. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 12, p. 2588-2597, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>

Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA – Ministério do Meio Ambiente – BRASIL. **Resolução nº 454, de 1 de novembro de 2012**. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional. 2012.

Contente, R. F.; Stefanoni, M. F.; Spach, H. L. Feeding ecology of the Brazilian silverside *Atherinella brasiliensis* (Atherinopsidae) in a sub-tropical estuarine ecosystem. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 91, n. 6, p.1197-1205, 2011. <http://doi.org/10.1017/s0025315410001116>

Dantas, D. V.; Barletta, M.; Ramos, J. A. A.; Lima, A. R. A.; Costa, M. F. Seasonal Dieta Shifts and Overlap Between two Sympatric Catfishes in a Estuarine Nursery. **Estuaries and Coasts**, v. 36, n. 2, p. 237-256, 2012. <https://doi.org/10.1007/s12237-012-9563-2>

Davison, W.; Zhang, H. Introduction do DGT. In: Davison, W. (Ed.). Diffusive Gradients in Thin-Films for Environmental Measurements. **Cambridge Environmental Chemistry Series**. p.1-9, 2016.

Day, J. W.; Yáñez-Arancibia, A.; Kemp, W. M.; Chump, B. C. Introduction to Estuarine Ecology. **Estuarine Ecology**, p. 1-18, 2012. <https://doi.org/10.1002/9781118412787.ch1>

Denadai, M.; Pombo, M.; Santos, F. B.; Bessa, E.; Ferreira, A.; Turra, A. Population Dynamics and Dieta of the Madamango Sea Catfish *Cathorops spixii* (Agassiz, 1829) (Siluriformes: Ariidae) in a Tropical Bight in Southeastern Brazil. **Plos One**, v. 8, n. 11, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081257>

DGT Research LTD. **Tabela de coeficientes de difusão**. Lancaster, 2022. Disponível em: <<https://www.dgtresearch.com/diffusion-coefficients/>>, acesso em 13 de maio de 2022.

Fagundes, K. R. C.; Rotundo, M. M.; Mari, R. B. Morphological and histochemical characterization of the digestive tract of the puffer fish *Sphoeroides testudineus* (Linnaeus 1758) (Tetraodontiformes: Tetraodontidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 3, p. 1615-1624, 2016. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201620150167>

Fávaro, L. F.; Oliveira, E. C.; Verani, N. F. Estrutura da população e aspectos reprodutivos do peixe-rei *Atherinella brasiliensis* (Quoy & Gaimard) (Atheriniformes, Atherinopsidae) em áreas rasas do complexo estuarino de Paraguá, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, n. 4, p. 1150-1156, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0101-81752007000400036>

Fernandez, W. S.; Dias, J. F.; Ribeiro, C. A. O.; Azevedo, J. S. Liver damages and nuclear abnormalities in erythrocytes of *Atherinella brasiliensis* (Actynopterigii, Atherinopsidae) from two beaches in southeast of Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 59, n. 2, p. 163-169, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1679-87592011000200005>

Food and Agriculture Organization (FAO). Compilation of legal limits for hazardous substances in fish and fishery products. **Fisheries Circular**, v. 764, 102, 1983.

Garcia, J. R.; Lopes, A. B.; Silvestre, A. K. C.; Grabowski, R. C.; Barioto, J. G.; Costa, R. C.; Castilho, A. L. Environmental characterization of the Cananéia coastal área and its associated estuarine system (São Paulo state, Brazil): considerations for three penaeoidean shrimp species. **Regional Studies in Marine Science**, v. 19, p. 9-16, 2018. <http://doi.org/10.1016/j.rsma.2018.02.010>

Gerhardinger, L. C.; Herbst, D. F.; Carvalho, F. G.; Freitas, R. R.; Vila-Nova, D.; Cunha, S.; Cremer, M. J.; Pfuetzenreuter, A.; Haak, L. Diagnóstico socioambiental do Ecossistema Babitonga. **Biodiversidade e Conservação Marinha**, v. 10, 2021. <https://doi.org/10.37002/revistacepsul.vol10.830e2021002>

Gonçalves, A. R. N.; Marinsek, G. P.; Abessa, D. M. S.; Mari, R. B. Adaptive responses of myenteric neurons of *Spherooides testudineus* to environmental pollution. **NeuroToxicology**, v. 76, p. 84-92, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2019.10.008>

González-Acevedo, Z. I.; García-Zarate, M. A.; Nuñez-Zarco, E. A.; Anda-Martín, B. I. Heavy metal sources and anthropogenic enrichment in the environment around the Cerro Prieto Geothermal Field, Mexico. **Geothermics**, v. 72, p. 170-181, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.geothermics.2017.11.004>

Gusso-Choueri, P. K.; Choueri, R. B.; Santos, G. S.; Araújo, G. S.; Crux, A. C. F.; Stremel, T.; Campos, S. X.; Cestari, M. M.; Ribeiro, C. A. O.; Abessa, D. M. S. Assessing genotoxic effects in fish from a marine protected área influenced by former mining activities and Other stressors. **Marine Pollution Bulletin**, v. 104, n. 1-2, p. 229-239, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.025>

Gusso-Choueri, P. K.; Choueri, R. B.; Araújo, G. S.; Cruz, A. C. F.; Stremel, T. R. O.; Campos, S. X.; Abessa, D. M. S.; Ribeiro, C. A. O. Univariate or multivariate approaches for histopathological biomarkers in the contexto of environmental quality assessments? **Marine Pollution Bulletin**, v. 191, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113828>

Hader, D. P.; Banaszak, A. T.; Villafane, V. E.; Narvarte, M. A.; González, R. A.; Helbling, E. W. Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: Emerging problems with global implications. **Science of The Total Environment**, v. 713, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136586>

Holmes, L. A.; Turner, A.; Thompson, R. C. Interactions between trace metals and plastic production pellets under estuarine conditions. **Marine Chemistry**, v. 167, p. 25-32, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2014.06.001>

Kadim, M. K.; Risjani, Y. Biomarker for monitoring heavy meal pollution in aquatic environment: Na overview toward molecular perspectives. **Emerging Contaminants**, v. 8, p. 195-205, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2022.02.003>

Lin, Y. C.; Chang, Chien, G. P.; Chiang, P. C.; Chen, W. H.; Lin, Y. C. Multivariate analysis of heavy metal contaminations in seawater and sediments from a heavily industrialized harbor in Southern Taiwan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 76, p. 266-275, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.08.027>

Linnik, P. N.; Zhezherya, V. A.; Kinnik, R. P. Lability of Metals in Surface Waters as the Main Characteristics of Their Potential Bioavailability (a Review). **Hydrobiological Journal**, v. 54, n. 6, p. 3-26, 2018. <https://doi.org/10.1615/HydrobJ.v54.i6.10>

Machado, A. A. S.; Spencer, K.; Kloas, W.; Toffolon, M.; Zarfl, C. Metal fate and effects in estuaries: A review and conceptual model for better understanding of toxicity. **Science of The Total Environment**, v. 541, p. 268-281, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.045>

Marinovic, Z.; Milkanovic, B.; Urbanyi, B.; Lujiv, J. Gill histopathology as a biomarker for discriminating seasonal variations in water quality. **Applied Sciences**, v. 11, n. 20, 2021. <https://doi.org/10.3390/app11209504>

Mohammed, A. S.; Kapri, A.; Goel, R. Heavy metal pollution: source, impact and remedies. In: Khan, M. S.; Zaidi, A.; Goel, R.; Mmusarrat, J. (eds). Biomanagement of metal-contaminated soils. **Springer Netherlands**, v. 20, n. 1, p. 1-28, 2011. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1914-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1914-9_1)

Neto, J. M.; Caçador, I.; Caetano, M.; Chainho, P.; Costa, L. Gonçalves, A. M. M.; Pereira, L.; Pinto, L.; Ramos, J.; Seixas. Estuários. In: Feio, M. J.; Ferreira, V. (Eds) Rios de Portugal: Comunidades, processos e alterações. Universidade de Coimbra, p. 381-421, 2019. [https://doi.org/10.14195/978-989-26-1624-7\\_16](https://doi.org/10.14195/978-989-26-1624-7_16)

O'Mara, K.; Miskiewicz, A.; Wong, M. Y. L. Estuarine characteristics, water quality and heavy metal contamination as determinants of fish species composition in intermittently open estuaries. **Marine & Freshwater Research**, v. 68, n. 5, p. 941-953, 2017. <https://doi.org/10.1071/MF15409>

Périco, A. E.; Silva, G. R. Port performance in Brazil: A case study using data envelopment analysis. **Case Studies on Transport Policy**, v. 8, n. 1, p. 31-38, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cstp.2020.01.002>

Pimentel, M. F.; Damasceno, E. P.; Jimenez, P. C.; Araújo, P. F. R.; Bezerra, M. F.; Morais, P. C. V.; Cavalcante, R. M.; Loureiro, S.; Lotufo, L. V. C. Endocrine disruption in *Spherooides testudineus* tissues and sediments highlights contamination in a northeastern Brazilian estuary. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 298, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5300-9>

Possatto, F. E.; Spach, H. L.; Cattani, A. P.; Lamour, M. R.; Santos, L. O.; Cordeiro, N. M. A.; Broadhurst, M. K.; Marine debris in a World Heritage Listed Brazilian estuary. **Marine Pollution Bulletin**, v. 91, n. 2, p. 548-553, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.09.032>



United States Environmental Protection Agency, USEPA. **Method 3050A**: acid digestion of sediments, sludges and soils. Revision 1, 1992.

Potter, I. C.; Chuwen, B. M.; Hoeksema, S. D.; Elliott, M. The concept of an estuary: A definition that incorporates systems which can become closed to the ocean and hypersaline. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 87, n. 3, p. 497-500, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2010.01.021>

Rubio-Vargas, D. A.; Ribeiro, C. A. O.; Filipak Neto, F.; Cordeiro, A. L.; Cestari, M. M.; Souza, A. C.; Martins, C. C.; Silva, C. P.; Campos, S. X.; Garcia, J. R. E. Exposure to pollutants present in Iguaçú River Southern Brazil affect the health of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758): assessment histological, genotoxic and biochemical. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 87, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103682>

Salgado, L. D.; Marques, A. E. M. L.; Kramer, R. D.; Oliveira, F. G.; Moretto, S. L.; Lima, B. A.; Prodocimo, M. M.; Cestari, M. M.; Azevedo, J. C. R.; Assis, H. C. S. Integrated assessment of sediment contaminant levels and biological responses in sentinel fish species *Atherinella brasiliensis* from a sub-tropical estuary in South Atlantic. **Chemosphere**, v. 219, p. 15-27, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.204>

Souza, I. C.; Duarte, I. D.; Pimentel, N. Q.; Rocha, I. d.; Morozesk, M.; Bonomo, M. M.; Azevedo, V. C.; Pereira, C. D. S.; Monferrán, M. V.; Milanez, C. R. D.; Matsumoto, S. T.; Wunderlin, D. A.; Fernandes, M. N. Matching metal pollution with bioavailability, bioaccumulation and biomarkers response in fish (*Centropomus parallelus*) resident in neotropical estuaries. **Environmental Pollution**, v. 180, p. 136-144, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.05.017>

Tchounwou, P. B.; Yedjou, C. G.; Patlolla, A. K.; Sutton, D. J. Heavy metals toxicity and the environment. **Experientia Supplementum**, p. 133-164, 2012. [http://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4\\_6](http://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6)

Wijesiri, B.; Liu, A.; He, B.; Yang, B.; Zhao, X.; Ayoko, G.; Goonetilleke, A. Behaviour of metals in an urban river and the pollution of estuarine environment. **Water Research**, v. 164, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114911>

Yarsan, E.; Yipel, M. The Important Terms of Marine Pollution “Biomarkers and Biomonitoring, Bioaccumulation, Bioconcentration, Biomagnification”. **Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis**, 2013. <https://doi.org/10.4172/2155-9929.S1-003>

Zampieri, B. D. B.; Andrade, V. C.; Chinellato, R. M.; Garcia, C. A. B.; Oliveira, M. A.; Brucha, G.; Oliveira, A. J. F. C. Heavy metal concentrations in Brazilian port areas and their relationships with microorganisms: can pollution in these areas change the microbial community? **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08413-z>