

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
Campus Experimental do Litoral Paulista  
Unidade São Vicente**

**BIOACUMULAÇÃO DE METAIS PESADOS EM  
ESTRUTURAS CORPÓREAS DO CARANGUEJO-UÇÁ,  
*Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763) (CRUSTACEA,  
BRACHYURA, UCIDIDAE) E EM ESTÁGIOS FOLIARES  
DO MANGUE-VERMELHO, *Rhizophora mangle*  
LINNAEUS (ANGIOSPERMA: RHIZOPHORACEAE)**

**Pablo Pena Gandara e Silva**

**São Vicente – SP**

**2010**

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
Campus Experimental do Litoral Paulista  
Unidade São Vicente**

**BIOACUMULAÇÃO DE METAIS PESADOS EM  
ESTRUTURAS CORPÓREAS DO CARANGUEJO-UÇÁ,  
*Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763) (CRUSTACEA,  
BRACHYURA, UCIDIDAE) E EM ESTÁGIOS FOLIARES  
DO MANGUE-VERMELHO, *Rhizophora mangle*  
LINNAEUS (ANGIOSPERMA: RHIZOPHORACEAE)**

**Pablo Pena Gandara e Silva**

**Orientador: Prof. Dr. Marcelo Antonio Amaro Pinheiro**

**Co-orientador: Prof. Dr. Alaor Aparecido Almeida**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Campus do Litoral  
Paulista – UNESP, como parte dos  
requisitos para a obtenção do título de  
Bacharel em Ciências Biológicas, com  
habilitação em Biologia Marinha.

**São Vicente – SP**

**2010**

Silva, Pablo Pena Gandara e

Bioacumulação de metais pesados em estruturas corpóreas *de caranguejo-uçá, Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ucididae) e em estágios foliares do mangue-vermelho, *Rhizophora mangle* Linnaeus (Angiosperma: Rhizophoraceae). / Pablo Pena Gandara e Silva, São Vicente, 2010.  
xvii, 41 p.

Trabalho de conclusão (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Campus Experimental do Litoral Paulista.

Orientador: Marcelo Antonio Amaro Pinheiro

Co-orientador: Alaor Aparecido Almeida

1. Ecotoxicologia 2. Caranguejo-uçá

CDD 574.5222

Palavras-chaves: manguezal, metais pesados, *Rhizophora mangle*, *Ucides cordatus*.

Aos meus pais e avós, que sempre  
incentivaram os meus estudos

*“Não olhe pra trás e lamente o passado por não existir mais e não se aflita porque o futuro ainda está por vir. Viva no presente, e o torne tão bonito que valerá a pena ser lembrado.”*

*Ida Scott Taylor*

## AGRADECIMENTOS

Ao *Prof. Dr. Marcelo Antonio Amaro Pinheiro* por sua orientação, dedicação e competência. Agradeço por ter acreditado que eu seria capaz de realizar esse trabalho e nunca ter desistido, quando tudo parecia não dar certo. Agradeço também pela disponibilidade, ensinamentos e oportunidades de trabalho.

Aos meus pais, *José Paulo e Rosa*, por terem investido no meu futuro e por saberem que a melhor coisa que poderiam me deixar seria a educação.

Aos meus avós, *Nicanor e Maria*, que tiveram paciência para me ensinar quando era pequeno e por ter me ensinado valores que não se aprende numa sala de aula.

À minha irmã *Thaís*, que às vezes, sem um pouco de paciência, sempre me ajudou quando precisei.

Aos professores e funcionários da UNESP - Campus Experimental do Litoral Paulista, que contribuíram para a minha formação, em especial para a *Profª. Drª. Selma Dzimidas Rodrigues*, pela sua contribuição e disponibilidade para as dúvidas relacionadas à botânica e a *Sra. Maria da Conceição Gomes da Silva*, pela sua contribuição na revisão bibliográfica.

À FAPESP, pelo incentivo à pesquisa e por ter acreditado no meu potencial para a conclusão desse trabalho. Os recursos financeiros foram indispensáveis ao pagamento das despesas durante as coletas de campo e análises laboratoriais, sendo oriundos do Projeto Uçá III (Auxílio à Pesquisa - FAPESP Proc. # 2009/14725-1), do qual este subprojeto faz parte (Bolsa IC - FAPESP Proc. # 2010/05129-3). A concessão dessa bolsa de estudo permitiu a realização deste Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas - Habilitação em Biologia Marinha, como outro TCC que já está em desenvolvimento para defesa no final de 2011, junto a Habilitação em Gerenciamento Costeiro. As coletas também só foram possíveis devido à existência da camionete Toyota Hylux, obtida com recursos da FAPESP oriundos do Projeto Uçá II (Auxílio à Pesquisa - FAPESP Proc. #

2002/05614-2), bem como de equipamentos obtidos pelo Projeto Arenaeus (Auxílio à Pesquisa - FAPESP Proc. # 1995/09495-2) e nas duas fases anteriores do Projeto Uçá (Auxílio à Pesquisa - FAPESP Proc. # 1998/06055-0; e Proc. # 2002/05614-2).

Aos meus amigos da V Turma de Ciências Biológicas da UNESP/CLP, que além da amizade sempre levarei comigo os bons momentos vividos. Nunca esquecerei os jogos de futebol, os dias na praia, as festas da UNIFESP, as viagens, nossas festas e os churrascos. Vocês foram muito importantes para a minha formação, porque nem tudo se aprende numa sala de aula.

Aos demais amigos da IV, VI, VII, VIII e IX Turmas de Ciências Biológicas da UNESP/CLP, que sempre estiveram presentes nos momentos bons e naqueles que deles precisei. Vocês somaram muito à minha vida e entre vocês estão as pessoas que eu mais considero. Agradeço também por nunca deixarem eu desistir do TCC nos dias de sol.

Aos colegas do *Grupo de Pesquisa em Biologia de Crustáceos (CRUSTA)*, sem os quais este trabalho não estaria concluído. Foram bons momentos vividos, tanto no laboratório quanto no mangue... com certeza sem vocês o mangue seria muito pior. Agradeço pela ajuda até muito tarde abrindo caranguejos e pela força que me passaram.

## SUMÁRIO

	Pág
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
1.	
INTRODUÇÃO.....	1
1.1. A IMPORTÂNCIA DO MANGUEZAL.....	1
1.2. IMPACTOS ANTRÓPICOS NOS AMBIENTES COSTEIROS.....	2
1.3. METAIS PESADOS.....	4
1.4. BIOINDICADORES.....	6
1.5. CARANGUEJO-UÇÁ.....	7
2. OBJETIVOS.....	10
3. MATERIAIS & MÉTODOS.....	11
3.1. ÁREA DE ESTUDO.....	11
3.2. COLETA DOS CARANGUEJOS E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	12

3.3. COLETA DAS AMOSTRAS DE FOLHAS.....	13
3.4. ANÁLISE DOS DADOS.....	14
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>16</b>
4.1. <i>Rhizophora mangle</i> .....	16
4.2. ESTRUTURAS CORPÓREAS DE <i>UCIDES CORDATUS</i> .....	16
4.2.1. QUANTIFICAÇÃO DO COBRE.....	18
4.2.2. QUANTIFICAÇÃO DO CÁDMIO.....	19
4.2.3. QUANTIFICAÇÃO DE CROMO.....	20
4.2.4. QUANTIFICAÇÃO DE MANGANÊS.....	21
4.2.5. AVALIAÇÃO DA BIOACUMULAÇÃO.....	25
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>25</b>
5.1. <i>Rhizophora mangle</i> .....	25
5.2. <i>Ucides cordatus</i> .....	27
5.2.1. PADRÕES DE ACUMULAÇÃO NAS ESTRUTURAS CORPÓREAS.....	27
5.2.2. BIOACUMULAÇÃO.....	30
5.3. QUALIDADE DO CARANGUEJO PARA CONSUMO.....	31
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>33</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>34</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b> – Localização de Cubatão no Estado de São Paulo, Brasil.....	11
<b>FIGURA 2</b> – Imagem de satélite da área de estudo abrangendo o Litoral Centro Paulista (A) e as subáreas de estudo CUB-1 (B) e CUB-2 (C).....	12
<b>FIGURA 3</b> – Concentração de Cobre ( $\mu\text{g/g}$ ) nas estruturas corpóreas (brânquias, hepatopâncreas, músculo) do caranguejo-uçá ( <i>Ucides cordatus</i> ). Onde, o ponto corresponde a média, a caixa ao erro padrão da média e as linhas o intervalo de confiança da média a 5% de significância estatística.....	18
<b>FIGURA 4</b> – Concentração de Cádmio ( $\mu\text{g/g}$ ) nas estruturas corpóreas (brânquias, hepatopâncreas, músculo) do caranguejo-uçá ( <i>Ucides cordatus</i> ). Onde, o ponto corresponde à média, a caixa ao erro padrão da média e as linhas o intervalo de confiança da média a 5% de significância estatística.....	20
<b>FIGURA 5</b> – Concentrações de Cádmio (A), Cobre (B) e Manganês (C), em $\mu\text{g/g}$ , nas três estruturas corpóreas de <i>U. cordatus</i> (azul = brânquias, marrom = hepatopâncreas; e verde = musculatura) em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica em mm), acompanhado das linhas de regressão linear correspondentes.....	24

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1**– Médias de concentração ( $\mu\text{g/g}$ ) ( $\pm$  desvio padrão) de seis metais pesados (Cd, Pb, Hg, Cu, Cr e Mn), com base em amostras ( $n=2$ ) de *Rhizophora mangle* nos três estágios de maturação foliar (broto, verde do 3º ramo e senescente pré-abscisão). Para um mesmo metal, as médias seguidas por uma mesma letra não diferiram significativamente a 5% ( $p>0,05$ )..... 17
- TABELA 2** – Médias de concentração ( $\mu\text{g/g}$ ) dos seis metais pesados nas estruturas corpóreas do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*) e suas respectivas faixas de concentração (entre parênteses)..... 17
- TABELA 3** – Análise de Variância (ANOVA) para a concentração de Cobre ( $\mu\text{g/g}$ ) em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica em mm), estrutura corpórea (brânquia, musculatura e hepatopâncreas) e interação entre estas variáveis (LC\*Estrutura), onde gl = graus de liberdade, F = teste F de Snedecor e p = nível de significância estatística..... 18
- TABELA 4** – Médias da concentração de Cobre ( $\mu\text{g/g}$ ) ( $\pm$  desvio padrão) com base em amostras ( $n=9$ ) de três estruturas corpóreas (brânquias, musculatura e hepatopâncreas) de *Ucides cordatus*. Médias seguidas por uma mesma letra não diferenciaram significativamente a 5% ( $p>0,05$ )..... 19
- TABELA 5** – Análise de Variância (ANOVA) para a concentração de Cádmio ( $\mu\text{g/g}$ ) em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica em mm), estrutura corpórea (brânquia, musculatura e hepatopâncreas) e interação entre estas variáveis (LC\*Estrutura), onde gl = graus de liberdade, F = teste F de Snedecor e p = nível de significância estatística..... 19
- TABELA 6** – Médias da concentração de Cádmio ( $\mu\text{g/g}$ ) ( $\pm$  desvio padrão) com base em amostras ( $n=9$ ) de três estruturas corpóreas (brânquias, musculatura e hepatopâncreas) de *Ucides cordatus*. Médias seguidas por uma mesma letra não diferenciaram significativamente a 5% ( $p>0,05$ )..... 20

**TABELA 7** – Análise de Variância (ANOVA) para a concentração de Cromo ( $\mu\text{g/g}$ ) em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica em mm), estrutura corpórea (brânquia, musculatura e hepatopâncreas) e interação entre estas variáveis (LC\*Estrutura), onde gl = graus de liberdade, F = teste F de Snedecor e p = nível de significância estatística..... 21

**TABELA 8** – Análise de Variância (ANOVA) para a concentração de Manganês ( $\mu\text{g/g}$ ) em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica em mm), estrutura corpórea (brânquia, musculatura e hepatopâncreas) e interação entre estas variáveis (LC\*Estrutura), onde gl = graus de liberdade, F = teste F de Snedecor e p = nível de significância estatística... 21

**TABELA 9** – Coeficiente de correlação linear de Pearson dos quantitativos das concentrações de metais para as estruturas corpóreas (brânquias, hepatopâncreas, músculo) em função do tamanho (LC mm), onde t representa o valor de t-student e valor de p o valor de significância estatística..... 23

**TABELA 10** – Médias de concentração ( $\mu\text{g/g}$ ) dos seis metais pesados nas estruturas corpóreas do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*), suas respectivas faixas de concentração (entre parênteses) e concentrações máximas permitidas pela legislação em vigor..... 32

## RESUMO

O manguezal é um ecossistema costeiro extremamente produtivo, com relevante importância à reprodução de várias espécies animais, conferindo proteção à linha de costa, além de possibilitar fonte de alimento e subsistência às comunidades litorâneas. Em função do desenvolvimento e crescimento demográfico verificado nas cidades litorâneas, os manguezais têm sofrido intenso impacto pela implantação de indústrias, portos, marinas, entre outras atividades antrópicas. Entre elas, figura a emissão de metais pesados e sua liberação por via hídrica ou aérea, contaminando o ambiente e os organismos que nele habitam, os quais podem acumular esses poluentes. O caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*) e o mangue-vermelho (*Rhizophora mangle*) são elementos endêmicos de manguezal, sendo potenciais bioacumuladores de metais pesados. No caranguejo a absorção pode ocorrer pelas brânquias, através do contato com a água, ou pelo intestino, pela ingestão das folhas de mangue (serrapilheira) e do próprio sedimento. O presente estudo visa quantificar o acúmulo de seis metais pesados (Cd, Cu, Pb, Cr, Mn e Hg) por três estruturas corpóreas do caranguejo-uçá (musculatura, hepatopâncreas e brânquias), bem como em função do tamanho (60-70, 70-80 e 80-90mm de largura cefalotorácica), sendo o mesmo efetuado para três estágios foliares do mangue-vermelho (brotos, folhas verdes do 3º ramo e folhas senescentes em pré-abscisão). Os caranguejos e folhas foram obtidos em bosques de manguezal do Município de Cubatão (SP), sendo devidamente processados e suas amostras submetidas a protocolo específico, para posterior leitura em Espectrômetro de Absorção Atômica e quali-quantificação dos metais pesados. O acúmulo de metais nos estágios foliares de *R. mangle* foi avaliado por uma ANOVA (uma via), enquanto para o caranguejo-uçá os dados foram submetidos a uma ANOVA fatorial, para verificação do efeito da estrutura, tamanho e das interações entre estas variáveis independentes na acumulação. Na significância pelo teste F (Snedecor), as médias foram confrontadas “a posteriori” pelo teste de Tukey, ao nível de 5%. A associação entre a concentração dos metais presentes em cada estrutura corpórea, em função do tamanho, foi avaliada pelo coeficiente de correlação linear de Pearson ( $r$ ), ao nível de 5%. O Chumbo e Mercúrio apresentaram concentrações abaixo do

limite de detecção do equipamento, tanto para os estágios foliares como para as estruturas corpóreas, enquanto o mesmo ocorreu para o Cádmio, mas apenas para os estágios foliares. De modo geral, o maior acúmulo de metais nos estágios foliares de *R. mangle* ocorreu nas folhas verdes e nas senescentes, exceto para o Cobre, verificado em maiores concentrações nos brotos e folhas verdes. Para o caranguejo-uçá, apenas o Cádmio, Cobre, Cromo e Manganês foram registrados em concentração acima do limite de detecção, com principal acúmulo no hepatopâncreas (exceto o Cobre), seguido pelas brânquias. O Cobre apresentou comportamento oposto, acumulando-se principalmente nas brânquias, seguido pelo hepatopâncreas. Os padrões de bioacumulação diferem para cada metal, provavelmente devido aos requerimentos de cada organismo, no caso daqueles essenciais. Os estágios foliares de *R. mangle* mostraram-se eficazes ao monitoramento de metais pesados, o mesmo ocorrendo para *Ucides cordatus*, que pode atuar como importante bioindicador em áreas de manguezal sujeitas a contaminação por tais poluentes.

**Palavras-chave:** Manguezal, Metais Pesados, *Rhizophora mangle*, *Ucides cordatus*.

## ABSTRACT

The mangrove is a highly productive coastal ecosystem, with significant importance to the reproduction of various animal species, providing protection to the coastline, and a source of food and survival for coastal communities. Due to development and population growth occurred in the coastal cities, the mangroves have undergone intense impact by industries, ports, marinas, and other human activities. Among them figure the emission of heavy metals and their release in water and air, contaminating the environment and the organisms that inhabit it, which can accumulate these pollutants. The mangrove crab (*Ucides cordatus*) and red mangrove tree (*Rhizophora mangle*) are endemic mangrove elements and potential bio-accumulators of heavy metals. These metals are absorbed by gills (contact with water) or intestine during the ingestion of mangrove leaves (litter) and the sediment itself. This study aims to quantify the accumulation of six heavy metals (Cd, Cu, Pb, Cr, Mn and Hg) for three body structures (muscle, hepatopancreas and gills) and in function of size (60-70, 70-80 and 80-90mm carapace width) of *U. cordatus*, with the same for red mangrove leaves (buds, green leaves of the 3<sup>rd</sup> branch and pre-abscission senescent leaves). Crabs and leaves were obtained from mangroves forests in Cubatão (SP) and submitted to specific protocols to obtain samples for further reading on Atomic Absorption Spectrometer and registry of heavy metal concentrations. Data concerning to accumulation of metals in leaves were submitted to ANOVA (one way), while for crabs a factorial ANOVA was used to investigate the effect of the structure, size and interactions between these independent variables. In significance by F test (Snedecor), means were compared by Tukey test at 5%. The association between the concentrations of these metals in each body structure, depending on size, was evaluated by linear correlation coefficient of Pearson (r), at 5%. The Lead and Mercury concentrations were below the detection limit of the equipment for leaf stages as for the crab structures, while the same was true for Cadmium, but only for those leaf stages. In general, the higher accumulation of metals in *R. mangle* occurred in the senescent and green leaves, except for Copper which is found in highest concentrations in buds and green leaves. For the crab, only Cadmium, Copper, Chromium and Manganese were reported in concentration

above the detection limit, with high accumulation in hepatopancreas (except Copper), followed by the gills. Copper presented the opposite, accumulating mainly in the gills, followed by the hepatopancreas. Patterns of bioaccumulation differ for each metal, probably due to the specific requirements of each organism to essential metals. The stages of *R. mangle* leaf proved effective in monitoring heavy metals, the same happened to *Ucides cordatus*, which can act as an important bioindicator of the mangrove areas subject to contamination by these pollutants.

**Key words:** Heavy Metal, Mangrove, *Rhizophora mangle*, *Ucides cordatus*

## 1 – INTRODUÇÃO

### 1.1 – A Importância do Manguezal

O manguezal é um importante ecossistema de transição entre o ambiente marinho e terrestre, encontrado em áreas abrigadas de regiões tropicais e subtropicais, propiciando condições de alimentação, proteção e reprodução para diversas espécies animais (PINHEIRO *et al.*, 2008). É também considerado um ambiente de alta produtividade, com papel importante na transformação da matéria orgânica em nutrientes, os quais podem permanecer neste local ou serem transportados para outros ecossistemas costeiros adjacentes (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995; TWILLEY *et al.*, 1997).

Estes ambientes costeiros estão sujeitos à influência das marés, que alteram suas características em função de seu ciclo, com particular variação da salinidade de suas águas, propiciando condição de estresse para diversas espécies animais e vegetais morfo-fisiologicamente tolerantes. Nos manguezais brasileiros encontramos três gêneros de árvores halófitas (*Rhizophora*, *Avicennia* e *Laguncularia*), que no Estado de São Paulo são representadas por três espécies: *Rhizophora mangle* Linnaeus (mangue-vermelho), *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechman (mangue-preto) e *Laguncularia racemosa* Gaertn (mangue-branco). Entre as adaptações verificadas nestas espécies estão: a habilidade de extrair água doce da água do mar, órgãos especiais que propiciam a excreção do sal, pneumatóforos/lenticelas que aperfeiçoam a respiração, raízes escora/adventícias que sustentam a árvore em substratos movediços e propágulos flutuantes (SCHAEFFER-NOVELLI & CINTRÓN, 1986).

A zonação em áreas de manguezal varia com o grau de inundação, composição do solo, energia hídrica (influência de ondas, marés e rios) e salinidade, influenciando a distribuição das espécies arbóreas de manguezal e seus organismos. *R. mangle* é frequente nas margens de manguezal, onde o sedimento é mais inconsolidado e com impacto direto pelas marés, se sustentando por raízes escoras (que partem do tronco) e raízes adventícias (que partem dos galhos). *Avicennia schaueriana* prepondera na região intertidal

dos manguezais, sendo adaptada às altas salinidades e a extração mais eficiente do oxigênio atmosférico por suas raízes aéreas (pneumatóforos). *Laguncularia racemosa*, por sua vez, ocupa regiões de salinidade mais reduzida, possuindo pneumatóforos menores e em maior número do que *Avicennia schaueriana* (SCHAEFFER-NOVELLI & CINTRÓN, 1986; DAY JR. *et al.*, 1987; SILVA *et al.*, 2005).

Os manguezais também são de relevante papel sócio-econômico, pois diversas comunidades utilizam seus recursos naturais para sua sobrevivência (SPALDING *et al.*, 2010). Dentre os recursos explorados de manguezais destaca-se o uso de sua vegetação como lenha, na construção de moradias, utensílios de pesca, embarcações, acessórios, armadilhas, cercados, medicamentos, corantes, além de sua fauna ser apreciada como alimento humano e fonte de renda para muitas famílias (COSTA-NETO & GORDIANO LIMA, 2000; JORGE *et al.*, 2002; ALVES & NISHIDA, 2003; BEZERRA-SOUTO, 2007).

Esse ecossistema costeiro é também considerado um “berçário” para diversas espécies animais, sejam elas endêmicas ou de ambientes adjacentes, que para ali migram ou permanecem em parte ou todo o ciclo de suas vidas (ROBERTSON & DUKE, 1987). Entre estes animais figuram mamíferos, aves, répteis, peixes, moluscos e crustáceos, com destaque para os caranguejos, seja por sua abundância, ciclagem de nutrientes e aeração/bioturbação do solo.

Outro benefício dos manguezais é fornecer proteção à linha da costa contra a erosão, evitar o assoreamento do leito estuarino e funcionar como importante barreira biogeoquímica à exportação de metais (SILVA *et al.*, 1990; SOARES, 1997), que são retidos pelos tecidos vegetais das árvores.

## **1.2 – Impactos Antrópicos nos Ambientes Costeiros**

As maiores cidades mundiais estão localizadas próximas aos sistemas estuarinos, principalmente devido à elevada fertilidade de suas terras pelo aporte de matéria orgânica, facilidades na implantação de atividades antrópicas

(p. ex., polos industriais, áreas portuárias, marinas, etc.) e por constituírem importante via de acesso ao interior do continente (MIRANDA *et al.*, 2002).

Entre os problemas causados pelo crescimento dessas cidades está a degradação dos ambientes naturais, seja por contaminação das águas, desmatamentos e introdução de espécies exóticas, resultando em diminuição da diversidade de habitats e perda da biodiversidade (GOULART & CALLISTO, 2003).

A Região Metropolitana da Baixada Santista (RMBS), localizada no litoral-centro do Estado de São Paulo, detém elevado grau de degradação ambiental, particularmente os municípios de Cubatão, São Vicente e Santos, devido ao maior tempo de ocupação humana e dos impactos dela decorrentes. Cubatão possui um expressivo Polo Industrial, principalmente nas áreas da Siderurgia e Petroquímica, possuindo, também, proximidade do Complexo Portuário de Santos. O crescimento histórico de Santos se irradiou de forma rápida para Cubatão, onde hoje se concentram indústrias, das quais 30 são consideradas poluidoras. Em consequência dessa industrialização, esta região foi marcada, na década de 70, por uma expressiva emissão de poluentes para os ambientes costeiros, levando a CETESB a intensificar seu programa de monitoramento ambiental na década de 80 (PINHEIRO *et al.*, 2008).

A cidade de Cubatão sofre com a dispersão de poluentes atmosféricos, já que os ventos em direção ao continente são bloqueados pela Serra do Mar, o que traz graves consequências ambientais e de saúde pública (SÃO PAULO, 2010). Prova disso é o sedimento de Cubatão, que traz importante testemunho dessa contaminação e degradação ambiental. Observa-se, ainda, a gestão inadequada das atividades industriais e portuárias, além do elevado crescimento populacional, que somados à falta de infraestrutura de saneamento ambiental, têm aumento os níveis de poluição pelo descarte inadequado de resíduos nos sistemas hídricos (PERINA, 2006).

A cidade de Santos está localizada no mesmo complexo estuarino de Cubatão. Trata-se da principal cidade do litoral paulista, cujo crescimento sempre esteve intimamente relacionado ao desenvolvimento do Porto de Santos, que é o maior da América Latina. Devido ao intenso trânsito de

grandes navios, seu canal é constantemente dragado, atividade que revolve os sedimentos de fundo e resuspende detritos, metais pesados e diversos produtos químicos que ali sedimentaram, alterando enormemente a qualidade da água. Além disso, as águas de canais portuários são alvo potencial de vazamentos de óleo ou outros produtos químicos dos diversos navios que diariamente ali trafegam e atracam, com efeitos diretos sobre os manguezais (SÃO PAULO, 2010).

O sistema produtivo utiliza matéria-prima dos ecossistemas costeiros, gerando, em seu processo, rejeitos e efluentes que causam danos, muitas vezes irreversíveis (GOULART & CALLISTO, 2003). Além da poluição gerada pelo setor industrial, a elevada concentração demográfica contribui para o estabelecimento de favelas em áreas de proteção (p. ex., margem de rios e manguezais), com danos diretos aos ecossistemas aquáticos. Entre eles destaca-se o descarte inadequado de poluentes líquidos e sólidos, como o esgoto não tratado e do lixo, respectivamente, potencializando a veiculação de inúmeras doenças. Fatores como a desinformação dos moradores, falta de recursos e péssima condição de vida são as principais causas dessa degradação (GOULART & CALLISTO, *op. cit.*).

### **1.3 – Metais Pesados**

Os metais pesados podem ter origem natural, sendo oriundos do próprio sedimento e encontrados em reduzidas concentrações. No entanto, as atividades antrópicas têm promovido aumento dessas concentrações, que podem alcançar níveis tóxicos de contaminação, muitas vezes letais aos seus organismos.

Segundo SILVA *et al.* (1990), os manguezais são os ecossistemas costeiros com grande capacidade de retenção de metais pesados. Tal fato se deve ao seus sedimentos serem anóxicos e ricos em matéria orgânica, reduzindo a disponibilidade desses metais à vegetação e sua incorporação à cadeia trófica.

Dentre os principais agentes poluidores dos ambientes aquáticos destacam-se: 1) mineração; 2) construção de barragens/represas; 3) mudança do traçado de um rio; 4) lançamento de efluentes domésticos/industriais não tratados; 5) desmatamentos; e 6) uso inadequado do solo em regiões ripárias e planícies de inundação (GOULART & CALLISTO, 2003). Alguns deles podem causar a contaminação ambiental por metais pesados e químicos, que podem acumular na fauna residente e chegar ao homem pela cadeia trófica, além de gerar a diminuição da biodiversidade e várias doenças. Por este motivo, AMADO-FILHO *et al.* (2008) ressaltam a importância da implementação de um programa de monitoramento das concentrações de metais em organismos marinhos, haja vista seu consumo pela população e devido a contaminação química e petroquímica das áreas de onde eles provêm.

Muitos metais são essenciais à vida, ocorrendo em concentrações naturais adequadas e que asseguram a manutenção/sobrevivência das espécies residentes. Outros metais, no entanto, não exercem qualquer função conhecida ao ciclo biológico dos organismos animais e vegetais, passando a ser tóxicas quando extrapolam as concentrações normais encontradas naturalmente nos ambientes (TAVARES & CARVALHO, 1992). De acordo com estes autores, os metais podem reagir com ligantes difusores, macromoléculas e ligantes presentes nas membranas celulares, propiciando sua bioacumulação, biomagnificação na cadeia alimentar, distúrbios nos processos metabólicos e permanência no ambiente. A bioacumulação e biomagnificação são responsáveis por transformar as concentrações metálicas normais em tóxicas (TAVARES & CARVALHO, *op. cit.*), promovendo alterações na comunidade bentônica e redução na densidade total, riqueza e diversidade biológica (ABESSA, 2002).

A disponibilidade dos metais pesados no ambiente aquático pode ocorrer na forma solúvel (iônica ou por complexos orgânicos/inorgânicos) ou adsorvida (retidos às partículas coloidais, minerais ou orgânicas). Sua presença no ambiente aquático é resultado de efluentes do processo industrial, sendo os principais o Alumínio (Al), Cádmiio (Cd), Chumbo (Pb), Cromo (Cr), Cobalto (Co), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Mercúrio (Hg), Níquel (Ni) e Zinco (Zn), com efeitos deletérios à saúde humana. Entre eles destacam-

se as alterações enzimáticas, formação de tumores, danos neurológicos/musculares, rompimento de cromossomos, entre outros (ABESSA & AMBROZEVICIUS, 2008).

#### 1.4 – Bioindicadores

De acordo com RAINBOW (1995), a avaliação da contaminação por metais pesados em ambientes aquáticos pode ser realizada pelo uso de bioindicadores que absorvem os contaminantes metálicos na forma dissolvida, dissolvida/suspensa e incorporada aos sedimentos, pois esses organismos acumulam diferentes metais em diferentes concentrações. Assim, o uso de biomonitores específicos à diferentes zonas do ambiente aquático, possibilita maior eficiência às avaliações da contaminação ambiental (AMADO FILHO *et al.*, 2008).

*Ucides cordatus* pode ser utilizado como bioindicador de metais pesados em áreas de manguezal, pela avaliação dos níveis de contaminação em seus tecidos e correlação com aqueles encontrados no ambiente (JESUS *et al.*, 2003). Estudos utilizando essa espécie de caranguejo podem avaliar o grau de contaminação ambiental, bem como o possível risco pela ingestão de sua carne. Os metais pesados acumulam-se de forma diferente neste crustáceo, sendo alguns considerados essenciais (p. ex., Cu e Zn), acumulando-se normalmente em sua musculatura, enquanto outros não essenciais (p. ex., Fe), se depositam sob a forma de grânulos no hepatopâncreas (JESUS *et al.*, 2003). Para *U. cordatus*, nesta mesma estrutura morfológica, CORRÊA-JÚNIOR *et al.* (2000) encontraram grânulos de fosfato que propiciam o acúmulo de metais por interação com íons Ca, e outros cátions, que competem com esse mesmo sítio de ligação.

TOLEDO (2007) utilizou a frequência de células micronucleadas na hemolinfa de *Ucides cordatus* como um bioindicador de genotoxicidade dos manguezais, colaborando, desta forma, com o biomonitoramento ambiental. Segundo este mesmo autor, a análise da concentração de metais nos tecidos dos caranguejos é relevante em estudos sobre seu acúmulo no meio em que vivem. A importância do biomonitoramento também é ressaltada por PINHEIRO

& TOLEDO (2010), que evidenciaram malformação no quelípodo de um exemplar de *U. cordatus*, proveniente de uma área de manguezal sob intenso impacto antrópico, contaminada por arsênio, manganês, fenol, cádmio, mercúrio e hidrocarbonetos.

NUDI *et al.* (2007) enfatizam que *U. cordatus* é um excelente bioindicador de poluição por óleo, podendo ser utilizado no monitoramento da qualidade ambiental e em estimativas da biodisponibilidade desse poluente em áreas de manguezal. Outro exemplo de biomonitores são os mexilhões *Perna perna*, muito utilizados como bioindicadores da qualidade da água, pois filtram grandes quantidades de materiais orgânicos e inorgânicos, entre eles bactérias e metais pesados. Desta forma torna-se possível correlacionar as condições sanitárias dos mexilhões com a qualidade da água (JORGE *et al.*, 2002). Segundo CALLISTO & GONÇALVES (2002) o uso de macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores da qualidade da água se deve a sensibilidade destes organismos à poluição e mudanças no habitat, por figurarem na manutenção dos processos relacionados à matéria orgânica, terem ciclo de vida longo e por sua abundância e facilidade de amostragem.

A geração de poluição, tanto de origem doméstica quanto industrial e naval, causa danos à saúde da população, a todos os seres vivos e ao ecossistema local, além de prejuízos econômicos (JORGE *et al.*, 2002). Assim, a análise conjunta de elementos estruturais de um manguezal possibilita o conhecimento de seu estado de conservação, sendo cada vez mais usual o desenvolvimento de estudo que relacionam os efeitos observados no manguezal e a toxicidade dos organismos bentônicos (PERINA, 2006).

### **1.5 – Caranguejo-Uçá**

O *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), também conhecido como caranguejo-uçá, é um animal endêmico dos manguezais, realizando todo o seu ciclo neste ambiente. Trata-se de um crustáceo muito apreciado como alimento humano, possuindo valor comercial crescente, o que se deve ao seu porte avantajado e grande abundância (OLIVEIRA, 2006).

BRANCO (1993) observou uma maior atividade do caranguejo-uçá em temperaturas superiores a 15°C, causando elevadas mortalidades a partir de 10°C, o que restringe a distribuição dessa espécie para regiões de maior temperatura. Além disso, ele observou que este caranguejo possui forte comportamento territorial (um exemplar por galeria), que sua maior atividade alimentar ocorre durante as marés vazantes, quando sai a procura de folhas frutos e sementes das árvores de manguezal, disponíveis sobre o sedimento.

As folhas e propágulos são os principais itens da dieta natural do caranguejo-uçá (CHRISTOFOLETTI, 2005), valendo ressaltar que a quantidade disponível sobre o sedimento, bem como a diferença nutricional das folhas das principais espécies arbóreas de manguezal (*R. mangle*, *A. schaueriana* e *L. racemosa*), contribuem para o crescimento e engorda desta espécie. Este mesmo autor verificou que existe uma grande interação entre os estágios de maturação foliar e o quantitativo de macro e micronutrientes, o que é objeto de seleção pelo caranguejo ao forragear. Segundo este autor verificou, os quantitativos de nitrogênio, fósforo e potássio são encontrados em maior quantidade nas folhas jovens (brotos), do que nas senescentes, bem como que o valor nutricional de *A. schaueriana* foi superior ao de *Rhizophora mangle* e *Laguncularia racemosa*, ocorrendo nesta última espécie arbórea os menores quantitativos.

As folhas de *R. mangle* apresentam aumento do teor de Cálcio com a maturação foliar, ocorrendo o mesmo para *A. schaueriana* em relação ao Magnésio (CHRISTOFOLETTI, 2005). No período que antecede a muda, estes dois nutrientes tornam-se indispensáveis ao enrijecimento do novo exoesqueleto de *U. cordatus* (formação dos carbonatos), especialmente nos manguezais, onde ele é escasso. Trabalhos realizados por este autor em campo não mostraram preferência alimentar do caranguejo-uçá quanto ao estágio de maturação foliar, embora rejeite as senescentes em laboratório, possivelmente devido ao fato de possuírem altos teores de polifenóis (tanino)

De acordo com as estimativas de PINHEIRO *et al.* (2005), o tamanho comercial de *U. cordatus* (80mm de largura cefalotorácica) é atingido somente após cerca de 10 anos de idade, o que se deve ao pobre conteúdo nutricional

das folhas senescentes, seu principal item alimentar. Por ser uma espécie de crescimento lento e elevada longevidade (PINHEIRO *et al.*, 2005), favorece estimativas confiáveis para análises de acúmulo dos metais pesados, sendo uma das mais indicadas em biomonitoramentos ambientais.

O caranguejo-uçá possui íntima relação com bosques de *Rhizophora mangle*, onde são encontrados indivíduos em menor densidade, embora de maior porte, particularmente em relação a bosques com predomínio de *L. racemosa*, onde a densidade é extremamente elevada, mas composta por animais de menor porte (HATTORI, 2006).

Segundo o Código Florestal Brasileiro (Lei nº 4.771/1965), os manguezais são considerados Áreas de Preservação Permanente (APPs), com importância ecológica patente sobre o ciclo de vida de várias espécies animais. O caranguejo-uçá figura entre estas espécies, sendo explorada comercialmente em várias regiões do Brasil, especialmente no norte e nordeste, onde já se observa a redução de seus estoques e de seu tamanho de captura (ARAÚJO & CALADO, 2008; SILVA, 2008). Esta espécie consta do Anexo II da Instrução Normativa nº 5, de 21 de maio de 2004 (BRASIL, 2004), juntamente com o caranguejo guaiamú (*Cardisoma guanhumi*), o siri-azul (*Callinectes sapidus*) e outras espécies de invertebrados e peixes sobre-explotados ou ameaçados de sobre-exploração.

## 2 – OBJETIVOS

O presente estudo (Bolsa IC – FAPESP, Processo # 2010/05129-3) é parte integrante do Projeto Uçá III (Auxílio à Pesquisa – FAPESP, Processo # 2009/14725-1), o qual tem como pretensão avaliar a biologia da conservação do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*) em 15 áreas de manguezal do Estado de São Paulo, a partir de janeiro de 2010.

Neste sentido, o presente projeto compreende um “screening” (rastreamento) da acumulação de seis metais pesados (Cd, Cu, Pb, Cr, Mn e Hg) no caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), em relação a três estruturas corpóreas (musculatura, hepatopâncreas e brânquias), bem como em função de três classes de tamanho (60-70, 70-80 e 80-90mm de largura cefalotorácica). O mesmo procedimento de rastreamento avaliou o acúmulo desses mesmos metais pesados sobre o mangue-vermelho, *Rhizophora mangle* Linnaeus, para três estágios de maturação foliar (brotos, folhas verdes maduras do terceiro ramo e folhas amarelas senescentes nos ramos).

Os resultados, obtidos com base nesses levantamentos expeditos, possibilitarão a escolha da melhor estrutura corpórea/estágio foliar em estudos de monitoramento desses metais, com a finalidade de poupar tempo e investimentos na condução do projeto mais abrangente, anteriormente citado.

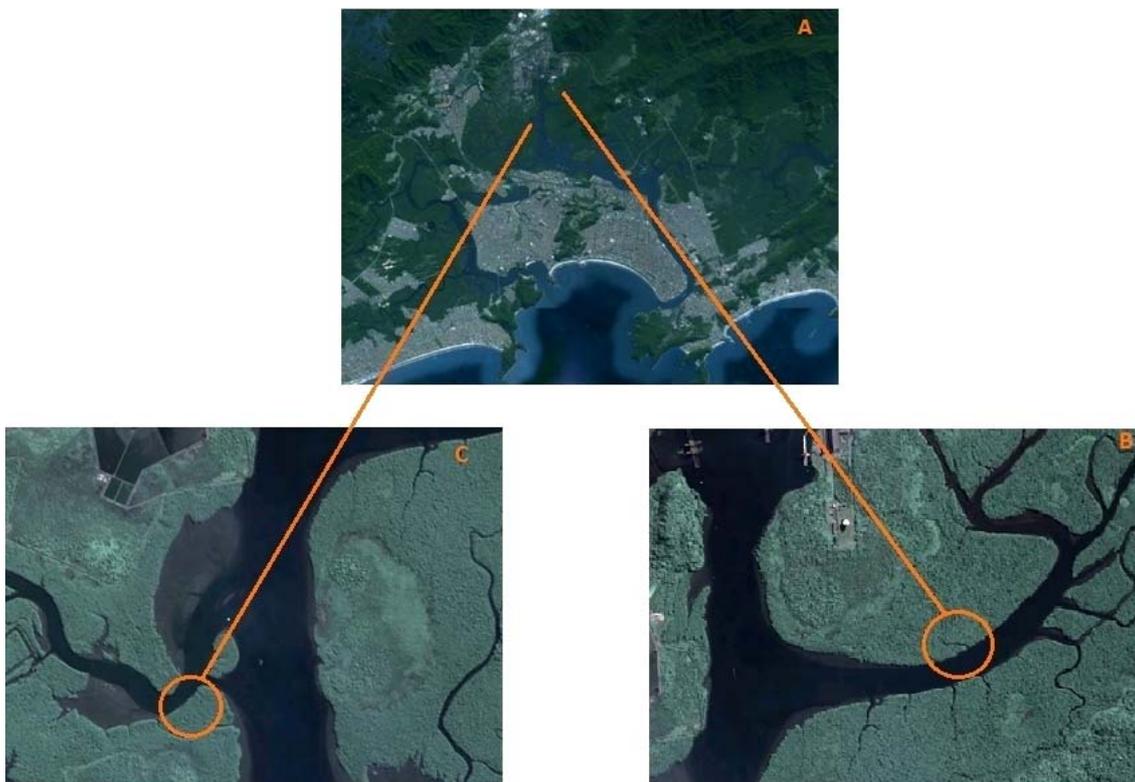
### 3 – MATERIAIS & MÉTODOS

#### 3.1 – Área de Estudo

As coletas foram realizadas no Município de Cubatão (SP), em duas subáreas com forte influência da USIMINAS-COSIPA (Companhia Siderúrgica Paulista), localizadas próximo ao Canal de Piaçaguera (Figura 1). Os bosques de manguezal selecionado apresentam predomínio arbóreo do mangue-vermelho (*Rhizophora mangle*). A coleta dos exemplares de caranguejo-uçá (*U. cordatus*) foi realizada nas subáreas CUB-2 ( $23^{\circ}54'2,4''\text{S}$  -  $46^{\circ}22'56,9''\text{W}$ ), enquanto a coleta dos estágios foliares foi realizada na subárea CUB-1 ( $23^{\circ}53'2,4''\text{S}$  -  $46^{\circ}21'55,6''\text{W}$ ), no dia 11/08/2010.



**Figura 1** - Localização de Cubatão no Estado de São Paulo, Brasil.



**Figura 2** - Imagem de satélite da área de estudo abrangendo o Litoral Centro Paulista (A) e as subáreas de estudo CUB-1 (B) e CUB-2 (C).

### 3.2 – Coleta dos Caranguejos e Obtenção das Amostras

Em maré baixa foram coletados apenas exemplares machos de *Ucides cordatus* em estágio de intermuda (PINHEIRO & FISCARELLI, 2001), utilizando duas técnicas distintas: 1) “braceamento”, que consiste na captura direta dos animais pelo catador com a introdução do braço diretamente nas galerias; ou 2) “redinha”, que é uma armadilha confeccionada artesanalmente pelos catadores de caranguejo, utilizando fios de sacos de rafia (nylon), os quais são atados entre dois ramos de árvores. Maiores informações sobre estes dois modos de captura poderão ser obtidos em PINHEIRO & FISCARELLI (*op. cit.*).

Após terem sido capturados, os exemplares de *U. cordatus* foram individualizados em sacos plásticos e depositados em uma caixa térmica com gelo picado, para transporte até o Laboratório de Biologia de Crustáceos (LBC) da UNESP/CLP. Cada indivíduo foi cuidadosamente lavado e escovado para a retirada da lama, sendo dispostos sobre uma bancada para a biometria e remoção das estruturas em análise.

Cada animal teve sua largura cefalotorácica (LC) medida com paquímetro de precisão (0,05mm) e dispostos em classes de tamanho de 10mm (50-60, 60-70, 70-80, 80-90mm), compreendendo a seguinte distribuição: um exemplar para a classe de 50-60mm, três para as classes de 60-70 e 70-80mm e quatro para a classe de 80-90 mm.

Em laboratório foi registrado o peso úmido de cada animal em balança digital (0,01g), sendo, posteriormente, dissecados para a retirada de amostras das três estruturas corpóreas (musculatura dos quelípodos, hepatopâncreas e brânquias), utilizando tesouras e pinças esterilizadas. As amostras retiradas foram dispostas em frascos plásticos do tipo *Eppendorf* (2mL), previamente descontaminados. Em cada frasco foi disposto um tecido de cada indivíduo, totalizando 33 amostras, que foram congeladas e transportadas em caixas térmicas com gelo picado até o Centro de Assistência Toxicológica (CEATOX), do IB/UNESP Botucatu, para quali-quantificação dos seis metais pesados (Cd, Cu, Pb, Cr, Mn e Hg).

Cada amostra foi submetida ao método de mineralização por via úmida com ácido nítrico (HNO<sub>3</sub> 65%), segundo BASSET *et al.* (1981), com uso do forno Provecto Analítica (DGT-100 Plus) e interpretação por programa específico para solo/sedimento e materiais. As análises foram otimizadas pelo uso de lâmpadas de cátodo oco (LCO), específicas para cada elemento metálico, bem como pelo uso de equipamento para a leitura da amostras, conforme recomendado pelo fabricante do Espectrômetro de Absorção Atômica GBC-932 AA (ATHANASOPOULOS, 1993).

### **3.3 – Coleta das Amostras de Folhas**

As amostras de folhas de *R. mangle* (brotos, verdes do terceiro ramo e senescentes pré-abscisão) compreenderam cerca de 20 folhas, obtidas na subárea CUB-1, com o auxílio de tesouras de poda, mantidas em sacos plásticos devidamente etiquetados até o transporte ao laboratório.

Em laboratório as folhas de cada estágio foliar foram devidamente lavadas, conforme segue: 1) água corrente; 2) água com detergente neutro a

5%; 3) água corrente (segunda lavagem); 4) solução de água destilada saturada com HCl; e 5) água destilada em abundância. Posteriormente, as folhas foram secas com panos limpos, mantidas sob refrigeração (no máximo por 48h), desidratadas em estufa de ventilação forçada de ar (60°C por 72h) e submetidas à moagem em um moinho de facas. O pó resultante de cada estágio foliar (cerca de 20g) foi então disposto em frascos plásticos devidamente etiquetados e descontaminados até serem transportados ao CEATOX (IB/UNESP Botucatu), sendo tais amostras submetidas aos mesmos procedimentos já citados para as amostras de estruturas corpóreas de *U. cordatus*.

### 3.4 – Análise dos Dados

Os dados de quantificação de metais pesados foram submetidos a testes estatísticos específicos disponíveis em SOKAL & ROLF (1995) e ZAR (1999), calculados com o auxílio dos pacotes estatísticos *Statistica*<sup>®</sup> v. 7.0 e *BioEstat*<sup>®</sup> v. 5.0 (AYRES *et al.*, 2007).

Para verificar o acúmulo de cada um dos metais pesados (Cd, Cu, Cr, Hg, Mn e Pb) em função dos estágios foliares de *R. mangle* (brotos foliares, folhas verdes do 3º ramo e folhas senescentes), os metais que apresentaram concentração acima do limite de detecção do equipamento tiveram seus dados submetidos a uma ANOVA de uma via, com verificação da significância estatística do teste F (Snedecor) ao nível de 5%. Nos casos com significância estatística, que evidenciou o efeito dos estágios foliares na acumulação de determinado metal, as médias de concentração ( $\mu\text{g/g}$ ) para cada um dos estágios foliares foram confrontadas pelo Teste de Tukey “a posteriori”, também sob um nível de significância estatística a 5%.

Para os caranguejos, os dados obtidos para cada um dos metais anteriormente citados e, com limite acima do nível de detecção do equipamento, foram submetidos a uma ANOVA fatorial composta por duas variáveis independentes (largura cefalotorácica e estruturas corpóreas), visando avaliar o efeito do tamanho (LC, largura cefalotorácica – estabelecida por três classes de tamanho: 60-70, 70-80 e 80-90mm), da estrutura corpórea

(brânquias, hepatopâncreas e musculatura) e da interação entre estas variáveis (LC x Estruturas). A significância estatística do teste F foi averiguada ao nível de 5% para cada uma das variáveis e sua interação e, para os casos (metais) onde a significância foi confirmada, foi realizado o confronto das médias de concentração pelo teste de Tukey, também a 5%.

Para os metais com dados acima do nível de detecção do equipamento, a média de concentração ( $\mu\text{g/g}$ ) decorrente das duas réplicas de cada exemplar ( $n=11$ ), foram associadas ao seu tamanho (LC) para cada uma das estruturas corpóreas do caranguejo-uçá, com cálculo do coeficiente de correlação linear de Pearson ( $r$ ) e estabelecimento de sua significância estatística a 5% por análise do teste-t (ZAR, 1999). O objetivo foi verificar a existência de acúmulo significativo para cada metal em função do tamanho nas estruturas corpóreas de referência. Os dados obtidos para cada metal, nas estruturas corpóreas de referência também foram plotados em gráficos de dispersão de pares ordenados e submetidos a uma análise de regressão linear simples ( $y=a+bx$ ), para verificação das tendências verificadas para as linhas de regressão resultantes.

Para verificar a associação das concentrações obtidas para um mesmo metal, entre as estruturas corpóreas combinadas duas a duas (Brânquia x Hepatopâncreas; Hepatopâncreas x Musculatura; e Brânquia x Musculatura), adotou-se procedimento similar ao realizado anteriormente.

## 4 – RESULTADOS

### 4.1 – *Rhizophora mangle*

O Chumbo, Cádmio e Mercúrio apresentaram concentrações ( $\mu\text{g/g}$ ) abaixo do limite de detecção do espectrômetro de absorção atômica (Tabela 1), permitindo apenas a avaliação do acúmulo de Cobre, Cromo e Manganês entre os estágios de maturação foliar. Em relação aos três metais com concentrações acima do limite de detecção, independente do estágio foliar, a variação foi de: 0,79 a 4,41  $\mu\text{g/g}$  (Cobre), 0,15 a 0,51  $\mu\text{g/g}$  (Cromo) e de 183,2 a 371,8  $\mu\text{g/g}$  (Manganês).

Foi verificada diferença estatística entre as médias de concentração de Cobre ( $F=84,5$ ;  $p=0,0023$ ) e Manganês ( $F=127,3$ ;  $p=0,0013$ ), o que não ocorreu com o Cromo ( $F=9,100$ ;  $p=0,0532$ ). Na tabela 1 verifica-se que o Cobre tem uma acumulação significativamente maior no broto foliar de *Rhizophora mangle* ( $p<0,05$ ), que se reduz com a maturação foliar, embora sem diferença significativa entre o estágio foliar verde e senescente ( $p>0,05$ ). Para o Manganês, houve maior acúmulo no estágio intermediário de maturação (verde), seguido pelas folhas senescentes e com menor acúmulo nos brotos foliares ( $p<0,05$ ). Para o Cromo não houve diferença significativa da concentração entre os estágios foliares ( $p<0,05$ ).

A concentração de Cromo não diferiu significativamente entre os estágios foliares ( $p>0,05$ ), embora a significância estatística estivesse próxima ao limiar de 5% ( $F=9,10$ ;  $p=0,053$ )

### 4.2 – Estruturas Corpóreas de *Ucides cordatus*

O Chumbo e Mercúrio apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção do espectrômetro de absorção atômica, sendo  $<0,05$  e  $<0,001$   $\mu\text{g/g}$ , respectivamente, independente da estrutura corpórea analisada (Tabela 2). Portanto, dos seis metais analisados apenas o Cobre, Cádmio, Cromo e Manganês apresentaram concentrações passíveis de avaliação quanto ao acúmulo em função do tamanho corpóreo (LC, largura cefalotorácica), tipo de

estrutura corpórea (brânquia, musculatura e hepatopâncreas) e a interação entre estas variáveis.

**Tabela 1** – Médias de concentração ( $\mu\text{g/g}$ ) ( $\pm$  desvio padrão) de seis metais pesados (Cd, Pb, Hg, Cu, Cr e Mn), com base em amostras ( $n=2$ ) de *Rhizophora mangle* nos três estágios de maturação foliar (broto, verde do 3<sup>o</sup> ramo e senescente pré-abscisão). Para um mesmo metal, as médias seguidas por uma mesma letra não diferiram significativamente a 5% ( $p>0,05$ ).

Metal	Estágio Foliar	Concentração ( $\mu\text{g/g}$ )		
		Mín.	Máx	Média $\pm$ Desvio Padrão
<b>Cádmio</b>	Todos	<0,05	<0,05	< 0,05
<b>Chumbo</b>	Todos	<0,05	<0,05	< 0,05
<b>Mercúrio</b>	Todos	< 0,001	< 0,001	< 0,001
<b>Cobre</b>	Broto	3,81	4,41	4,11 $\pm$ 0,042 a
	Verde	1,72	1,94	1,83 $\pm$ 0,16 b
	Senescente	0,79	0,80	0,79 $\pm$ 0,01 b
<b>Cromo</b>	Broto	0,15	0,17	0,16 $\pm$ 0,01 a
	Verde	0,37	0,46	0,42 $\pm$ 0,06 a
	Senescente	0,36	0,51	0,44 $\pm$ 0,11 a
<b>Manganês</b>	Broto	183,2	194,4	191,30 $\pm$ 11,46 c
	Verde	358,9	371,8	365,35 $\pm$ 9,12 a
	Senescente	293,4	310,8	302,10 $\pm$ 12,30 b

**Tabela 2** – Médias de concentração ( $\mu\text{g/g}$ ) dos seis metais pesados nas estruturas corpóreas do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*) e suas respectivas faixas de concentração (entre parênteses).

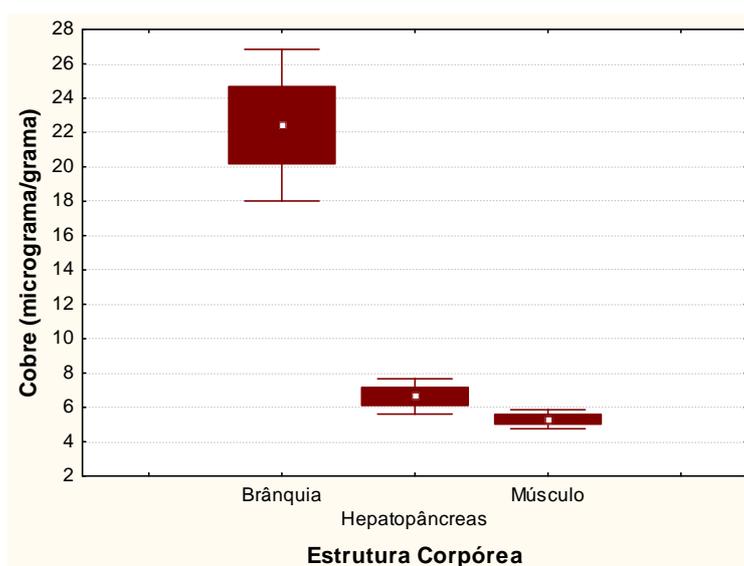
Estruturas Corpóreas	Concentração de Metais ( $\mu\text{g/g}$ )					
	Cu	Pb	Cd	Cr	Mn	Hg
<b>Brânquias</b>	23,11 (11,43-40,49)	<0,05	0,12 (0,06-0,33)	0,44 (<0,05-0,94)	7,26 (2,83-12,85)	<0,001
<b>Musculatura</b>	5,40 (3,77-7,34)	<0,05	0,09 (<0,05-0,16)	0,31 (<0,05-0,59)	4,37 (0,92-8,92)	<0,001
<b>Hepatopâncreas</b>	6,48 (3,83-8,93)	<0,05	0,14 (0,07-0,29)	0,58 (<0,05-1,99)	7,72 (1,99-18,65)	<0,001

#### 4.2.1 – Quantificação do Cobre

Como observado na tabela 3, não houve efeito significativo da concentração de Cobre em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica), o que ocorreu entre as estruturas analisadas ( $p < 0,05$ ). Na tabela 4 e figura 3 estão apresentadas as médias de concentração do cobre nas estruturas corpóreas em análise, evidenciando uma maior concentração nas brânquias em relação à musculatura e hepatopâncreas ( $p < 0,05$ ), cujo quantitativo, por sua vez, não diferiu significativamente entre si ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 3** – Análise de Variância (ANOVA) para a concentração de Cobre ( $\mu\text{g/g}$ ) em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica em mm), estrutura corpórea (brânquia, musculatura e hepatopâncreas) e interação entre estas variáveis (LC\*Estrutura), onde gl = graus de liberdade, F = teste F de Snedecor e p = nível de significância estatística.

Variáveis e Interações	gl	F	p
Intercepto	1	241,03	0,000
LC	2	1,55	0,239
Estrutura	2	55,49	0,000
LC*Estrutura	4	1,36	0,288



**Figura 3** – Concentração de Cobre ( $\mu\text{g/g}$ ) nas estruturas corpóreas (brânquias, hepatopâncreas, músculo) do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*). Onde, o ponto corresponde a média, a caixa ao erro padrão da média e as linhas o intervalo de confiança da média a 5% de significância estatística.

**Tabela 4** – Médias da concentração de Cobre ( $\mu\text{g/g}$ ) ( $\pm$  desvio padrão) com base em amostras ( $n=9$ ) de três estruturas corpóreas (brânquias, musculatura e hepatopâncreas) de *Ucides cordatus*. Médias seguidas por uma mesma letra não diferenciaram significativamente a 5% ( $p>0,05$ ).

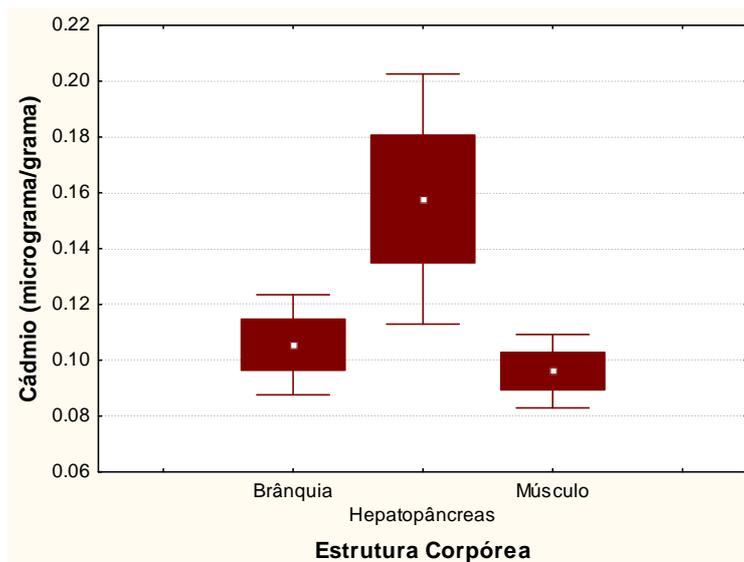
<b>Estrutura Corpórea</b>	<b>Concentração de Cobre (<math>\mu\text{g/g}</math>)</b>
Brânquias	22,43 $\pm$ 6,75 a
Hepatopâncreas	6,64 $\pm$ 1,57 b
Musculatura	5,31 $\pm$ 0,85 b
Total	11,46 $\pm$ 8,82

#### 4.2.2 – Quantificação do Cádmio

Como observado na tabela 5, não houve efeito significativo da concentração de Cádmio em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica), o que ocorreu entre as estruturas analisadas ( $p<0,05$ ). Na tabela 6 e figura 4 estão apresentadas as médias de concentração do Cádmio nas estruturas corpóreas em análise, evidenciando uma maior concentração no hepatopâncreas em relação às brânquias e músculo ( $p<0,05$ ), cujo quantitativo, por sua vez, não diferiu significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

**Tabela 5** – Análise de Variância (ANOVA) para a concentração de Cádmio ( $\mu\text{g/g}$ ) em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica em mm), estrutura corpórea (brânquia, musculatura e hepatopâncreas) e interação entre estas variáveis (LC\*Estrutura), onde gl = graus de liberdade, F = teste F de Snedecor e p = nível de significância estatística.

<b>Variáveis e Interações</b>	<b>gl</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Intercepto	1	197,36	0,000
LC	2	1,06	0,366
Estrutura	2	5,06	0,018
LC*Estrutura	4	0,93	0,467



**Figura 4** – Concentração de Cádmiu ( $\mu\text{g/g}$ ) nas estruturas corpóreas (brânquias, hepatopâncreas, músculo) do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*). Onde, o ponto corresponde à média, a caixa ao erro padrão da média e as linhas o intervalo de confiança da média a 5% de significância estatística.

**Tabela 6** – Médias da concentração de Cádmiu ( $\mu\text{g/g}$ ) ( $\pm$  desvio padrão) com base em amostras ( $n=9$ ) de três estruturas corpóreas (brânquias, musculatura e hepatopâncreas) de *Ucides cordatus*. Médias seguidas por uma mesma letra não diferenciaram significativamente a 5% ( $p>0,05$ ).

Estrutura Corpórea	Concentração de Cádmiu ( $\mu\text{g/g}$ )
Brânquias	0,11 $\pm$ 0,03 b
Hepatopâncreas	0,16 $\pm$ 0,07 a
Musculatura	0,096 $\pm$ 0,02 b
Total	0,12 $\pm$ 0,05

#### 4.2.3 – Quantificação do Cromo

Como observado na tabela 7, não houve efeito significativo da concentração de Cromo em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica), o que também não ocorreu entre as estruturas corpóreas analisadas ( $p>0,05$ ).

**Tabela 7** - Análise de Variância (ANOVA) para a concentração de Cromo ( $\mu\text{g/g}$ ) em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica em mm), estrutura corpórea (brânquia, musculatura e hepatopâncreas) e interação entre estas variáveis (LC\*Estrutura), onde gl = graus de liberdade, F = teste F de Snedecor e p = nível de significância estatística.

Variáveis e Interações	gl	F	p
Intercepto	1	27,41	0,000
LC	2	1,28	0,303
Estrutura	2	1,16	0,335
LC*Estrutura	4	0,58	0,677

#### 4.2.4 – Quantificação de Manganês

Como observado na tabela 8, não houve efeito significativo da concentração de Manganês em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica), o que também não ocorreu entre as estruturas corpóreas analisadas ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 8** - Análise de Variância (ANOVA) para a concentração de Manganês ( $\mu\text{g/g}$ ) em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica em mm), estrutura corpórea (brânquia, musculatura e hepatopâncreas) e interação entre estas variáveis (LC\*Estrutura), onde gl = graus de liberdade, F = teste F de Snedecor e p = nível de significância estatística.

Variáveis e Interações	gl	F	p
Intercept	1	140,10	0,000
LC	2	3,16	0,066
Estrutura	2	3,45	0,054
LC*Estrutura	4	1,10	0,388

#### 4.2.5 – Avaliação da Bioacumulação

Na tabela 9 encontram-se representados, para cada um dos seis metais analisados, os coeficientes de correlação linear de Pearson para a relação de suas concentrações nas três estruturas corpóreas (brânquias, hepatopâncreas

e musculatura) em função do tamanho (LC), bem como entre estas concentrações entre as estruturas corpóreas.

Os únicos metais que apresentaram associação entre sua concentração nas brânquias e o tamanho do animal foram o Cádmio e o Cobre, evidenciando uma redução significativa de suas concentrações com o aumento do tamanho.

Para um mesmo metal também ocorreram algumas associações positivas e significativas entre as concentrações de algumas estruturas corpóreas, como foram o caso do Cádmio (hepatopâncreas x músculo), Cobre (brânquia x hepatopâncreas) e Manganês (entre todas as estruturas combinadas duas a duas). O único metal que não apresentou qualquer associação significativa entre as concentrações nas estruturas corpóreas foi o Cromo.

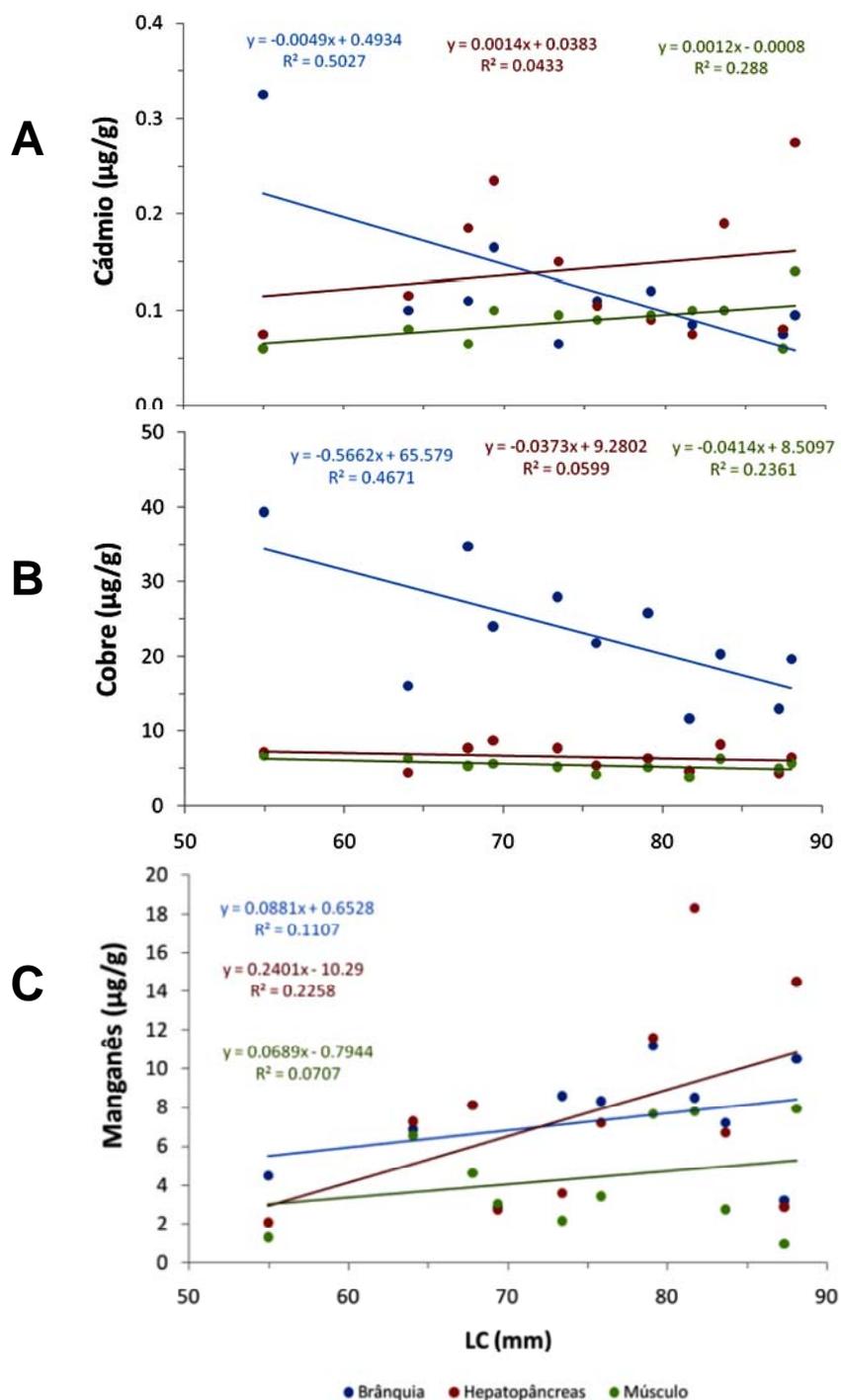
Comparando-se os gráficos da figura 5, verifica-se um comportamento similar entre os metais Cádmio (Fig. 6-A) e Cobre (Fig. 6-B) em relação à linha de regressão linear que relaciona a redução significativa de suas concentrações nas brânquias com o tamanho, bem como o paralelismo entre as linhas de regressão linear das concentrações desses metais no hepatopâncreas e musculatura em função do tamanho. O mesmo paralelismo entre as linhas de regressão linear também são verificados para o Manganês (Fig. 6-C).

**Tabela 9** – Coeficiente de correlação linear de Pearson dos quantitativos das concentrações de metais para as estruturas corpóreas (brânquias, hepatopâncreas, músculo) em função do tamanho (LC mm), onde t representa o valor de t-student e valor de p o valor de significância estatística.

Metais	Relações (n=11)	r (Pearson)	t	Valor de p
<b>CÁDMIO</b>	Brânquia x LC	<b>-0,71</b>	<b>-2,94</b>	<b>0,016</b>
	Hepatopâncreas x LC	0,21	0,58	0,575
	Músculo x LC	0,54	1,88	0,093
	Brânquia x Hepatopâncreas	-0,17	-0,47	0,648
	Brânquia x Músculo	-0,36	-1,21	0,256
	Hepatopâncreas x Músculo	<b>0,64</b>	<b>2,48</b>	<b>0,035</b>
<b>COBRE</b>	Brânquia x LC	<b>-0,68</b>	<b>-2,81</b>	<b>0,020</b>
	Hepatopâncreas x LC	-0,24	-0,76	0,468
	LC x Músculo	-0,49	-1,67	0,130
	Brânquia x Hepatopâncreas	<b>0,64</b>	<b>2,525</b>	<b>0,033</b>
	Brânquia x Músculo	0,44	1,46	0,179
	Hepatopâncreas x Músculo	0,42	1,38	0,200
<b>CROMO</b>	Brânquia x LC	-0,45	-1,51	0,165
	Hepatopâncreas x LC	0,17	0,51	0,621
	LC x Músculo	0,06	0,19	0,853
	Brânquia x Hepatopâncreas	0,13	0,40	0,697
	Brânquia x Músculo	-0,26	-0,82	0,434
	Hepatopâncreas x Músculo	0,40	1,30	0,226
<b>MANGANÉS</b>	Brânquia x LC	0,33	1,06	0,3175
	Hepatopâncreas x LC	0,48	1,62	0,1395
	Músculo x LC	0,27	0,83	0,4292
	Brânquia x Hepatopâncreas	<b>0,72</b>	<b>3,08</b>	<b>0,0131</b>
	Brânquia x Músculo	<b>0,72</b>	<b>3,09</b>	<b>0,0128</b>
	Hepatopâncreas x Músculo	<b>0,89</b>	<b>5,89</b>	<b>0,0002</b>

\*:  $p < 0,05$

ns:  $p > 0,05$



**Figura 5** – Concentrações de Cádmio (A), Cobre (B) e Manganês (C), em  $\mu\text{g/g}$ , nas três estruturas corpóreas de *U. cordatus* (azul = brânquias, marrom = hepatopâncreas; e verde = musculatura) em função do tamanho (LC, largura cefalotorácica em mm), acompanhado das linhas de regressão linear correspondentes.

## 5 – DISCUSSÃO

### 5.1 – *Rhizophora mangle*

*Rhizophora mangle* é uma espécie arbórea halófita sal excludente (SCHOLANDER *et al.*, 1962), característica essa que rege a concentração de certos metais na planta. No entanto, MACFARLANE *et al.* (2007) demonstraram que não há diferença de bioacumulação entre espécies secretoras e não secretoras para alguns metais, possivelmente devido ao sedimento deste ecossistema ser o principal reservatório de metal pesado, agindo como eficiente barreira biogeoquímica ao transporte de metais pesados para áreas adjacentes (SILVA *et al.*, 1990).

Os resultados obtidos no presente estudo revelaram que o Cobre acumula-se em maior quantidade nos brotos foliares, enquanto o Cromo acumula-se de forma igual nas três estruturas foliares em estudo. Tal distinção certamente está associada ao uso desses metais pelos vegetais em seu metabolismo, existindo, portanto, aqueles essenciais e outros não essenciais.

O Cobre é um metal essencial por ser utilizado na síntese da clorofila e de algumas enzimas, tendo nas raízes de *R. mangle* a principal estrutura de entrada, onde se concentram mais do que em suas folhas (SILVA *et al.*, 1990). As raízes de *R. mangle* possuem concentrações de Cobre próximas àquelas do sedimento adjacente, enquanto nas folhas a concentração tende a ser menor do que a metade daquela das raízes, o que evidencia sua baixa mobilidade da raiz para as folhas pelo uso em processos metabólicos da planta, o que já ocorre com os metais não essenciais (MACFARLANE *et al.*, 2007). Dessa forma, o Cobre tende a se acumular em tecidos perenes (raízes) em relação aos tecidos decíduos (folhas).

Por ser um micronutriente vegetal, as concentrações de Cobre em *R. mangle* são baixas, como verificadas pelos resultados obtidos. Não foi verificada uma diferença expressiva no acúmulo deste metal entre os estágios foliares, mas apenas sua translocação para outras regiões da planta,

particularmente perceptível quando está para ocorrer a abscisão das folhas senescentes.

Devido a forte ligação do Cobre com as paredes celulares, sua translocação das raízes para as brotações é lenta. O mecanismo de exclusão de sal, presente em *R. mangle*, evita a entrada de metais pesados como o Fe, Zn e Cu, promovendo sua menor concentração no tecido foliar (LACERDA *et al.*, 1985; BERNINI *et al.*, 2006).

O Cromo não é um micronutriente vegetal e, conseqüentemente, não se trata de um elemento essencial à planta. Devido a isso, sua concentração no tecido foliar é menor, ocorrendo o inverso em tecidos perenes (FRUEHAUF, 2005). WEN-JIAOL *et al.* (1997) registraram reduzidas concentrações de Cromo para outras espécies de *Rhizophora sp.*, fato este constatado no presente estudo para os estágios foliares de *R. mangle*. Os dados obtidos mostram, inclusive, que a concentração de Cromo não diferiu significativamente entre os estágios foliares ( $p > 0,05$ ), embora ele esteja muito próximo ao limiar de 5% ( $F=9,10$ ;  $p=0,053$ ), com indícios de maior acúmulo na folha senescente em relação aos demais estágios.

O Manganês é um micronutriente utilizado em poucas enzimas vegetais, uma delas responsável pela lise das moléculas de água no fotossistema II e, por isso, utilizado em reduzidas concentrações pelo metabolismo vegetal. Este metal, a exemplo do que ocorre com o Ferro, é facilmente translocado das raízes para as folhas através do xilema (HORST, 1976), embora difira do Ferro, Cobre e Zinco por ser incorporado ou imobilizado nas folhas, não podendo ser mais retranslocado para outras partes da planta quando as folhas estão em pré-abscisão (WOOD *et al.*, 1986). Os dados obtidos se coadunam com a literatura, pois o Manganês encontra-se em menor concentração nos brotos foliares, maior concentração nas folhas verdes e em concentração intermediária nas folhas senescentes.

Estudos desenvolvidos por SCHMIDT *et al.* (1998) mostraram que as maiores concentrações de Manganês ocorreram em *R. mangle*, quando confrontadas com as de *A. schaueriana* e *L. racemosa*. LACERDA (1997) explica tal fato em função do ambiente anóxico que caracteriza as áreas de

ocorrência de *R. mangle*, onde a grande maioria dos metais pesados se precipitam sob a forma de sulfetos e são adsorvidos ao sedimento, estando, portanto, indisponíveis às plantas. Como o Manganês não forma sulfetos estáveis, torna-se mais disponível à vegetação do que os demais metais que formam sulfetos (BERNINI *et al.*, 2006), vindo a se concentrar de forma elevada nas folhas (SILVA *et al.*, 1990), o que confirma os dados obtidos no presente estudo.

Para o Chumbo e o Mercúrio as concentrações ficaram abaixo do limite de detecção, tanto para as folhas quanto para os tecidos de *Ucides cordatus*. Tais dados indicam que o local de coleta das amostras em Cubatão não apresenta contaminação por estes metais, denotando sucesso na supressão das emissões de poluentes desta natureza a partir da década de 80, quando os órgãos ambientais implantaram programas específicos a este fim (PINHEIRO *et al.*, 2008).

Provavelmente deve haver algum mecanismo que regule a entrada do Cádmiio na *R. mangle*, ou que essa entrada pelas raízes não seja translocada para as folhas. Por ser um metal essencial, o Cádmiio deve ser utilizado pelos tecidos perenes deste vegetal em processos metabólicos.

## **5.2 – *Ucides cordatus***

### **5.2.1 – Padrões de Acumulação nas Estruturas Corpóreas**

Os metais pesados podem ser classificados em essenciais, participando de processos metabólicos (formação de proteínas, enzimas e vitaminas) e aqueles não essenciais, sem qualquer função neste sentido. Entre os metais essenciais ao metabolismo dos crustáceos figuram o Cobre, Cromo e Manganês e, entre aqueles não essenciais, o Cádmiio, Chumbo e Mercúrio.

A entrada de metais pesados nos caranguejos pode ocorrer através da ingestão de alimento contaminado, que é absorvido no intestino do animal, ou pelo contato com a água, através de estruturas permeáveis, como as brânquias (RAINBOW, 1997; AHEARN *et al.*, 2004). Em seguida, tornam-se disponíveis

nas estruturas corpóreas do organismo, onde desempenham papel metabólico ou, no caso de se encontrarem em concentrações acima do normal, são alocados para regiões específicas, onde seus efeitos tóxicos são minimizados (RAINBOW, 2007). Segundo este autor, o excesso de concentração de certos metais é direcionado para “áreas de sacrifício”, limitando sua dispersão para outras regiões relevantes, permanecendo ali armazenado temporária ou permanentemente. Assim, a toxicidade é diretamente relacionada à sua concentração metabolicamente disponível, ocorrendo quando a taxa de absorção de metais excede a taxa de excreção e detoxificação.

São conhecidos diversos caminhos de detoxificação para a redução dos metais que circulam na hemolinfa, como alguns mecanismos de regulação fisiológica intracelular que controlam o trânsito dos metais nas células (entrada/saída), a exemplo das metalotioneínas (BAYNE *et al.*, 1988; AHEARN *et al.*, 2004). Essas proteínas de baixo peso molecular (6-8000 D) são produzidas pelas células em resposta à presença de altos níveis de Cu, Zn, Cd e Hg (ENGEL & ROESIJADI, 1987; BAYNE *et al.*, 1988; VIARENGO, 1989), ligando-se ao cátion desses metais, transformando-os em formas atóxicas e reduzindo seus efeitos deletérios (ROESIJADI, 1992; VIAREGO & NOTT, 1993; HAMER, 1996). Outro mecanismo é a eliminação da concentração excedente de metais pelos lisossomos e o seqüestro de metais por vacúolos específicos (AHEARN *et al.*, 2004).

O Cobre é um metal essencial aos crustáceos, sendo amplamente encontrado em sua hemolinfa por ser elemento integrante do pigmento respiratório (hemocianina), responsável pelo transporte de gases nestes organismos. Como as brânquias são a estrutura responsável pela hematose e, portanto, com elevada irrigação por hemolinfa, apresenta alta concentração deste metal, fato este confirmado no presente estudo. Os reduzidos teores de Cobre verificados nas folhas de *R. mangle*, um dos itens alimentares da espécie, evidencia que o ambiente não está contaminado por este metal, não ocorrendo seu armazenamento em órgãos de detoxificação, como o hepatopâncreas. Neste sentido, as concentrações de Cobre foram mais baixas nessa estrutura e na musculatura de *U. cordatus*, não havendo diferença estatística significativa entre tais estruturas corpóreas.

Por ser um metal não essencial, o Cádmio entra no organismo por difusão passiva pelas brânquias, envolvendo proteínas de transporte com tamanho similar ao Cálcio, utilizando, portanto, as mesmas vias de absorção desse elemento (RAINBOW & BLACK, 2005). O estudo demonstrou que as maiores concentrações de Cádmio ocorreram no hepatopâncreas, o principal órgão de detoxificação, não existindo diferença significativa entre os teores encontrados nas brânquias e musculatura, implicando que a alimentação seja a principal via de entrada deste metal no organismo. De modo similar, VIRGA (2006) encontrou as maiores concentrações de Cádmio no hepatopâncreas em siris do gênero *Callinectes*.

A concentração de Cromo não evidencia diferença significativa entre os três tecidos de *U. cordatus*, embora os dados apresentados na tabela 10 evidenciem que os exemplares analisados apresentam contaminação por este metal, inviabilizando seu consumo como alimento. A ausência de maior acúmulo no hepatopâncreas foi inesperada, embora isso encontre explicação no uso deste metal essencial em processos metabólicos nas brânquias e musculatura, bem como por uma possível ausência de mecanismos eficazes de detoxificação.

O acúmulo de Manganês em *U. cordatus* ocorreu independentemente da estrutura corpórea e do tamanho, sendo importante ressaltar sua absorção em menor quantidade pelas brânquias (água) e maior pelo intestino (alimentação). De acordo com CHRISTOFOLETTI (2005), o principal item alimentar dessa espécie seria a serrapilheira (p. ex., folhas de *R. mangle*) e o próprio sedimento, que também figurou nas análises de conteúdo estomacal. BADEN & ERIKSSON (2006) mencionam como principais locais de acúmulo desse metal o hepatopâncreas e as proteínas da hemolinfa (hemocianina). O acúmulo de Manganês ocorre de maneira lenta no hepatopâncreas de alguns crustáceos, com concentração permanecendo constante na musculatura, apesar de seu ciclo de muda. O transporte do Manganês pela hemolinfa para outras estruturas corpóreas do caranguejo-uçá parece ser a explicação mais plausível para que não seja estocado permanentemente no hepatopâncreas, haja vista ser um metal essencial.

Os quantitativos de Chumbo e Mercúrio, abaixo do limite de detecção nos estágios foliares de *R. mangle* e nas estruturas corpóreas de *U. cordatus*, indica que o ambiente de onde as amostras foram obtidas não está contaminado por estes metais.

### 5.2.2 – Bioacumulação

A concentração de Cobre nas brânquias diminuiu significativamente com o aumento da largura cefalotorácica do animal. Estudos com outras espécies de crustáceos evidenciam este fato, sendo explicado por diferentes necessidades metabólicas dependentes de seu desenvolvimento (VIRGA, 2006). A diminuição na concentração desse metal pode ocorrer por absorção intensa de água no período de muda (ecdise), o que não influenciou os resultados obtidos, pois todos os exemplares capturados estavam em intermuda. Durante a fase de pós-muda, o estoque de cobre é utilizado para sintetizar hemocianina e auxiliar o processo de endurecimento do exoesqueleto (ENGEL E BROUWER, 1991; KETELES & FLEEGER, 2001).

Por ser um metal essencial, o Cobre não sofre com o processo de desintoxicação pelo organismo, apenas em casos de elevadas concentrações e níveis de toxicidade. Desta maneira, o Cobre não é armazenado em órgãos de detoxificação, acumulando de maneira igual no hepatopâncreas e nos músculos. Como aparentemente os caranguejos coletados não estão contaminados com o Cobre, este não é acumulado, sendo usado para suprir suas necessidades metabólicas. Assim, o aumento da concentração desse metal no hepatopâncreas e músculo é pouco evidente.

O Cádmio apresentou sua concentração nas brânquias diminuindo com o aumento da largura cefalotorácica e um aumento no hepatopâncreas e músculos com o aumento da largura cefalotorácica. Este não é um metal essencial, desta forma deve ser acumulado em órgão detoxificação, como o hepatopâncreas, sendo esperado que sua concentração aumente com o tamanho do animal, devido ao maior tempo de exposição. O músculo é um tecido caracterizado por elevado número de mitocôndrias, que também

participam do seqüestro de metais (AHEARN *et al.*, 2004). Desta forma, podemos supor que os músculos também estão acumulando Cádmiio, a exemplo do que ocorre com o hepatopâncreas.

Para o Manganês observamos que se aumentar a concentração em um dos tecidos com o aumento da largura cefalotorácica também aumentará nos demais. Assim a entrada desse metal no organismo irá acumular-se nos tecidos sem qualquer prioridade, aumentando com o tamanho do animal e, conseqüentemente, com o tempo de exposição ao metal.

### 5.3 – Qualidade do Caranguejo para Consumo

A tabela 10 mostra uma comparação dos teores de metais pesados com os limites permissíveis pela legislação em vigor no Brasil. Desde 1965 o Brasil vem regulamentado as concentrações máximas de metais em alimentos através do Decreto nº 55.871-65, publicado em 27/03/1965. Esses limites foram reafirmados para a maioria dos metais através de tratados internacionais como o estabelecido pelo Mercosul/GMC 102-94 e por órgãos brasileiros como a ANVISA, através da Portaria nº 685, publicada em 27/8/1998. Os valores encontram-se em µg/g, que é unidade equivalente a ppm e mg/Kg. Não existe uma legislação para o Manganês no Brasil.

O caranguejo-uçá é utilizado na alimentação de seres humanos, sendo em muitas comunidades a principal fonte de proteínas famílias (ALVES & NISHIDA, 2003; BEZERRA-SOUTO, 2007; COSTA-NETO & GORDIANO LIMA, 2000; JORGE *et al.*, 2002). A estrutura utilizada para alimentação de seres humanos é a musculatura do *Ucides cordatus*, desta forma é necessário uma comparação dos valores obtidos para a musculatura do *Ucides cordatus* com a legislação brasileira para peixes e produtos de pesca para avaliar a qualidade e a contaminação do caranguejo-uçá quanto a sua ingestão.

Os resultados mostram que o caranguejo-uçá da área amostradas está impróprio para o consumo humano, apresentando indivíduos amostrados com teores de Cromo acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira, sendo a média de Cromo encontrado na musculatura de 0,31 µg/g, com valores

máximos encontrados de 0,59 µg/g e mínimos abaixo de 0,05 µg/g, sendo que o limite máximo permitido pela legislação é de 0,1 µg/g.

**Tabela 10** – Médias de concentração (µg/g) dos seis metais pesados nas estruturas corpóreas do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*), suas respectivas faixas de concentração (entre parênteses) e concentrações máximas permitidas pela legislação em vigor.

Estruturas Corpóreas	Concentração de Metais (µg/g)					
	Cu	Pb	Cd	Cr	Mn	Hg
<b>Brânquias</b>	23,11 (11,43-40,49)	<0,05	0,12 (0,06-0,33)	0,44 (<0,05-0,94)	7,26 (2,83-12,85)	<0,001
<b>Musculatura</b>	5,40 (3,77-7,34)	<0,05	0,09 (<0,05-0,16)	0,31 (<0,05-0,59)	4,37 (0,92-8,92)	<0,001
<b>Hepatopâncreas</b>	6,48 (3,83-8,93)	<0,05	0,14 (0,07-0,29)	0,58 (<0,05-1,99)	7,72 (1,99-18,65)	<0,001
<b>Legislação</b>	<b>30</b>	<b>2,0</b>	<b>1,0</b>	<b>0,1</b>	*	<b>0,5</b>

\* Ausência de informação na legislação em vigor.

Não é possível avaliar se existe uma contaminação de Manganês, pois não existe uma legislação brasileira para valores os quais os pescados e produtos de pesca estejam contaminados para esse metal.

Para os demais metais avaliados os valores médios e a maior concentração obtida em todas as classes de tamanho encontra-se abaixo do limite máximo permitido pela legislação.

A alta exposição oral de cromo nos seres humanos produz efeitos mais prevalentes em nível hepático e renal (SILVA & PEDROZO, 2001).

## 6 – CONCLUSÕES

*Ucides cordatus* mostrou-se um bom bioindicador para metais pesados, pela sua capacidade de absorver estes químicos presentes na água e no sedimento, através de acúmulo pela vegetação que lhe serve de alimento.

Existe uma elevada importância quanto ao monitoramento deste animal, já que este recurso gera renda para muitas famílias, além de seu consumo pela população. Os animais coletados na região de Cubatão apresentam-se impróprios para o consumo humano devido à contaminação por Cromo.

Os metais pesados com concentrações acima do limite de detecção, em média acumularam-se principalmente no hepatopâncreas (exceto o Cobre), seguido pelas brânquias. O cobre apresentou comportamento oposto, acumulando-se principalmente nas brânquias, seguido pelo hepatopâncreas.

Os padrões de bioacumulação diferem para cada metal, provavelmente devido às necessidades do organismo quanto a sua utilização.

Os estágios foliares de *R. mangle* mostraram eficácia ao biomonitoramento de metais pesados, pois servem de alimento para várias espécies animais e, portanto, integram a cadeia trófica e podem indicar contaminação ambiental.

Em geral os metais apresentaram concentrações acima do limite de detecção, acumulando-se mais nos estágios foliares mais maduros (verde 3º ramo e senescente pré-abscisão), exceto para o Cobre, que se acumulou em maior quantidade nos brotos e folhas verdes.

## 7 – BIBLIOGRAFIA

ABESSA, D.M.S. (2002). **Avaliação da qualidade de sedimentos do sistema estuarino de Santos, SP, Brasil**. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico. 340 p.

ABESSA, D.M.S.; AMBROZEVICIUS, A.P. (2008). Poluição aquática e tratamentos de esgotos. In: OLIVEIRA, A.J.F.C.; PINHEIRO, M.A.A.; FONTES, R.F.C. **Panorama Ambiental da Baixada Santista**. 1ª ed. São Vicente: Universidade Estadual Paulista, Campus Experimental do Litoral Paulista. p.41-54.

AHEARN, G.A.; MANADAL, P.K.; MANDAL, A. (2004). Mechanisms of heavy-metal sequestration and detoxification in crustaceans: a review. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 174, p. 439-452.

ALVES, R.M.N.; NISHIDA, A.K. (2003). Aspectos socioeconômicos e percepção ambiental dos catadores de caranguejo-uçá *Ucides cordatus* (L. 1763) (Decapoda, Brachyura) do estuário do Rio Mamanguape, nordeste do Brasil. **Interciência**, v. 28, n. 1, p. 36 - 43.

AMADO-FILHO, G.M., SALGADO, L.T., REBELO, M.F., REZENDE, C.E., KAREZ, C.S.; PFEIFFER, W.C. (2008). Heavy metals in benthic organisms from Todos os Santos Bay, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 1, p. 95-100.

ARAÚJO, M.S.L.C. ; CALADO, T.C.S. (2008). Bioecologia do caranguejo-uçá *Ucides cordatus* (Linnaeus) no Complexo Estuarino Lagunar Mundáú/Manguaba (CELMM), Alagoas, Brasil. **Revista de Gestão Costeira Integrada**, v. 8, n. 2, p.169-181.

ATHANASOPOULOS, N. (1993). **Flame methods manual for atomic absorption**. Victoria: GBC Scientific Equipment PTY LTD. p.1-11.

BADEN, S.P.; ERIKSSON, S.P. (2006). Role, routes and effects of manganese in crustaceans. **Oceanography and Marine Biology: An Annual Review**, v. 44, p. 61-83.

BASSET, J., DENNEY, R.C., JEFFERY, G.H.; MENDHAN, J. (1981). **Vogel: análise inorgânica quantitativa**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara. 690 p.

BAYNE, B.L., CLARKE, K.R.; GRAY, J.S. (1988). MEPS special-biological effects of pollutants: results of a practical workshop. **Marine Ecology Progress Series**, v. 46, p.278.

BERNINI, E.; SILVA, M.A.B.; CARMO, T.M.S. (2006). Composição química do sedimento e de folhas das espécies do manguezal do estuário do Rio São Mateus, Espírito Santo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, n. 4, p. 689-699.

BEZERRA-SOUTO, F.J. (2007). Uma abordagem etnoecológica da pesca do caranguejo, *Ucides cordatus*, Linnaeus, 1763 (Decapoda: Brachyura), no manguezal do Distrito de Acupe (Santo Amaro-BA). **Biotemas**, v. 20, n. 1, p. 69-80.

BRANCO, J.O. (1993). Aspectos bioecológicos do caranguejo *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Decapoda) do Manguezal do Itacorubi, Santa Catarina, BR. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 36, n.1, p. 133-148.

BRASIL (2004). Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº 5, de 21 de maio de 2004. **Diário Oficial da União** - Seção 1. Brasília, DF, 28 mai. 2004.

CALLISTO, M.; GONCALVES, J. (2002.) A vida nas águas das montanhas. **Ciência Hoje**, v. 31, n.182, p. 68 – 71.

CHRISTOFOLETTI, R.A. (2005). **Ecologia trófica do caranguejo-uçá *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Ocypodidae) e o fluxo de nutrientes em bosques de mangue, na região de Iguape (SP)**. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 139 p.

CORRÊA-JUNIOR, J.D.; ALLODI, S.; AMADO-FILHO, G.M.; FARINA, M.(2000). Zinc accumulation in phosphate granules of *Ucides cordatus*

hepatopancreas. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 2, p. 217-221.

COSTA-NETO, E.M.; GORDIANO-LIMA, K.L. (2000). Contribuição ao estudo da interação entre pescadores e caranguejos (Crustacea, Decapoda, Brachyura): considerações etnobiológicas em uma comunidade pesqueira do estado da Bahia, Brasil. **Actualidades Biológicas**, v. 22, n. 73, p.195-202.

DAY JR, J.W.; CONNER, W.H.; LEY-LOU, F.; DAY, R.H.; NAVARRO, A.M. (1987). The productivity and composition of mangrove forests, Laguna de Terminos, Mexico, **Aquatic Botany**, v. 27, n. 3, p. 267–284.

ENGEL, D.W.; ROESIJADI, G. (1987). Metallothioneins: a monitoring tool. *In*: VERNBERG, W.B., CALABREZE, A., THURBERG, F.P. & VERNBERG, F.J. (eds). University of South Carolina Press, Columbia, Belle W.Baruch Library in Marine Science. **Pollution Physiology of Estuarine Organism**, v. 17 p. 421-438.

ENGEL, D.W.; BROUWER, M. (1991). Short Metallothionein And Cooper Changes In Blue Crabs At Ecdysis. **The Biological Bulletin**, v. 180, n. 3, p. 447-452.

FRUEHAUF, S.P. (2005) - ***Rhizophora mangle* (mangue vermelho) em áreas contaminadas de manguezal na baixada santista**. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 223 p.

GOULART, M.; CALLISTO, M. (2003). Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Revista da FAPAM**, ano 2, n. 1.

HAMER, D.H. (1996). Methallothionein. **Annual Review of Biochemistry**, v. 55, p. 913-951.

HORST, W. (1976). **Einfluss von Silizium auf die Mangan-Toleranz von Buschbohnen (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Dissertação (Mestrado) - Technische Universität Berlin, Berlin.

JESUS, H.C.; FERNANDES, L.F.L.; ZANDONADE, E.; ANJOS JR, E.E.; GONÇALVES, R.F.; MARQUES, F.C.; REIS, L.A.; ROMANO, C.T.; TEIXEIRA, R.D.; SANTOS SAD, C.M. (2003). **Avaliação da contaminação por metais pesados em caranguejos e sedimentos de áreas de manguezal do sistema estuarino de Vitória - ES**. Relatório Técnico - Projeto FACITEC/PMV-ES, contrato nº 4985717/2001, 40 p.

JORGE, L.C.; GARCIA, L.M.; MARTINS, V.B.; KOSAWA, A.; PAULS, E. (2002). Interações dos processos sócio-ambientais nas bacias das Enseadas de Icaraí e São Francisco, Niterói (RJ). 2. Organismos aquáticos como bioindicadores da qualidade ambiental com enfoque no mexilhão *perna perna* (Linnaeus, 1798), em Niterói-RJ. **Mundo & Vida**, v. 3, n. 2, p. 108-116.

KETELESS, K.A.; FLEEGER, J.W. (2001). The Contribution Of Ecdysis To The Fate Of Cooper, Zinc And Cadmium In Grass *Shrimp palaemonetes* Pugio Holthius. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, n. 12, p. 1397-1402.

LACERDA, L.D.; RESENDE, C.E.; JOSE, D.V.; WASSERMAN, J.C.; FRANCISCO, M.C. (1985). Mineral Concentrations in leaves of mangrove trees. **Biotropica**, v. 17, n. 3, p. 260-262.

LACERDA, L.D. (1997). Trace metals in mangrove plantas: why such low concentrations? In: KJERFVE, B.; LACERDA, L.D.; DIOP, H.S. **Mangrove ecosystem studies in Latin America and Africa**. Paris: UNESCO, p.171-178.

MACFARLANE, G.R.; KOLLER, C.E.; BLOMBERG, S.P. (2007). Accumulation and partitioning of heavy metals in mangroves: a synthesis of field-based studies. **Chemosphere**, v. 69, p. 1454–1464.

MIRANDA, L.B.; CASTRO, B.M.; KJERFVE, B. (2002). **Princípios de oceanografia física de estuários**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo. 427 p.

NUDI, A.H.; WAGENER, A.L.R.; FRANCIONI, E.; SCOFIELD, A.L.; SETTE, C.B.; VEIGA, A. (2007). Validation of *Ucides cordatus* as a bioindicator of oil contamination and bioavailability in mangroves by evaluating sediment and crab PAH records. **Environment International**, v. 33, p. 315–327.

OLIVEIRA, D.A.F. (2006). **Revisão sobre a biologia do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae).** Trabalho de conclusão de curso. (Bacharelado em Ciências Biológicas – habilitação em gerenciamento costeiro). Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” (UNESP). Campus do Litoral Paulista, São Vicente. 71 p.

PERINA, F.C. (2006). **Comparação entre os efeitos da toxicidade de sedimentos sobre invertebrados bentônicos e vegetação das áreas internas do Sistema Estuarino de Santos e São Vicente.** Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Campus Experimental do Litoral Paulista, São Vicente. 90 p.

PINHEIRO, M.A.A.; FISCARELLI, A.G. (2001). **Manual de apoio à fiscalização do Caranguejo-Uçá (*Ucides cordatus*).** Itajaí: CEPsul/IBAMA, 43 p.

PINHEIRO, M.A.A.; FISCARELLI, A.G.; HATTORI, G.Y. (2005). Growth Of The Mangrove Crab *Ucides Cordatus* (Brachyura, Ocypodidae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 25, n. 2, p. 293–301.

PINHEIRO, M.A.A.; HATTORI, G.Y. (2006). Relative Growth of the Mangrove Crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae) at Iguape, São Paulo, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 49, n. 5 , p. 813-823.

PINHEIRO, M.A.A.; OLIVEIRA, A.J.F.C.; FONTES, R.F.C. (2008). Introdução ao Panorama Ambiental da Baixada Santista. In: OLIVEIRA, A.J.F.C.; PINHEIRO, M.A.A.; FONTES, R.F.C. **Panorama Ambiental da Baixada Santista**. 1. ed. São Vicente: Universidade Estadual Paulista, Campus Experimental do Litoral Paulista. p. 1-5.

PINHEIRO, M.A.A.; TOLEDO, T.R. (2010). Malformation in the crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae), in São Vicente, state of São Paulo, Brazil. **Revista CEPsul - Biodiversidade e Conservação Marinha**, v.1, n.1, p. 61-65.

RAINBOW, P.S. (1995). Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 31, n. 4-12, p. 183-192.

RAINBOW, P.S. (1997). Ecophysiology of trace metal uptake in crustaceans. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 44, p. 169-175.

RAINBOW, P.S.; BLACK, W.H. (2005). Cadmium, zinc and uptake of calcium by two crabs, *Carcinus maenas* and *eriocheir sinensis*. **Aquatic Toxicology**, v. 72, p. 45-65.

RAINBOW, P.S. (2007). Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity. **Environment International**, v. 33, p. 576-582.

ROBERTSON, A.I.; DUKE, N.C. (1987) Mangroves as nursery sites: comparisons of the abundance and species composition of fish and crustaceans in mangroves and other nearshore habitats in tropical Australia. **Marine Biology**, v. 96, n. 2, p.193-205.

ROESIJADI, G. (1992). Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. **Aquatic Toxicology**, v. 22, p. 81-113.

SÃO PAULO (2010). Secretaria do Meio Ambiente. **Parque Estadual Xixová-Japuí – Plano de Manejo – Volume principal**. Instituto Florestal. São Paulo, 572 p.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. ; CINTRÓN, G. (1986). **Guia para Estudo de Áreas de Manguezal: Estrutura, função e flora**. São Paulo. São Paulo: Caribbean Ecological Research, 150 p.

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

SCHMIDT, G.; SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; ADAIME, R.R. (1998). Ferro e manganês em folhas de mangue em decomposição no Estuário de Cananéia, SP. In: SIMPÓSIO DE ECOSSISTEMAS BRASILEIROS, 4., Águas de Lindóia. **Anais...** p. 95-101.

SCHOLANDER, P.F., HAMMEL, H.T., HEMMING-SEN, E.; GAREY, W. (1962). Salt balance in mangroves. **Plant Physiology**, v. 37 p. 722-729.

SILVA, C.A.R.; LACERDA, L.D.; REZENDE C.E. (1990). Metals reservoir in a red mangrove. **Biotropica**, v. 22, n. 4, p. 339-345.

SILVA, C.S.; PEDROZO, M.F.M. (2001). **Ecotoxicologia do cromo e seus compostos**. Salvador: CRA. 100 p. (Cadernos de referência ambiental, v. 5)

SILVA, M.A.B.; BERNINI, E.; CARMO, T.M.S. (2005). Características estruturais de bosques de mangue do estuário do rio São Mateus, ES, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.19, n. 3, p.465-471.

SILVA, M.M.T. (2008). **Bioecologia e produção comercial do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus* Linnaeus, 1763) em Quatipurú, Pará**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. 119 p.

SOARES, M.L.G. (1997). **Estudo da biomassa na área de manguezais do sudeste do Brasil – Análise demodelos**. Tese (Doutorado) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 560 p.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. (1995). **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research**. 3. ed. New York: W. H. Freeman and Company. 850p.

SPALDING, M.; KAINUMA, M.; COLLINS L. (2010). **World atlas of mangrove**. London: Earthscan Publications. 336 p.

TAVARES, T.M.; CARVALHO, F.M. (1992). Avaliação de exposição humana a metais pesados no ambiente: exemplos do recôncavo baiano. **Química nova**, v. 15, n. 2, p.147-152.

TOLEDO, T. R. (2007). **Avaliação do impacto genotóxico em *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Brachyura, Ocypodidae) em dois manguezais do sudeste brasileiro**. Trabalho de conclusão de curso

(Bacharelado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Campus Experimental do Litoral Paulista, São Vicente. 36 p.

TWILLEY, R.R.; POZO, M.; GARCIA, V.H.; RIVERA-MONROY, V.H.; ZAMBRANO, R.; BODERO, A. (1997) Litter dynamics in riverine mangrove forests in the Guayas River estuary, Ecuador. **Oecologia**, v. 111, n. 1, p. 109-122.

VIARENGO, A. (1989). Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. **CRC Critical Reviews in Aquatic Sciences**, v. 1, p. 295-317.

VIARENGO, A.; NOTT, J.A. (1993). Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.104C, p. 355-372.

VIRGA, R.H.P. (2006). **Análise quantitativa de metais pesados (Cd, Cr, Cu, Pb, E Zn) em siris-azuis do gênero *callinectes sp.* (Crustacea, Portunidae) provenientes do Rio Cubatão, Cubatão, São Paulo, Brasil.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Católica de Santos, Programa de Saúde Coletiva. 105 p.

WEN-JIAOL, Z.; XIAO-YONG, C.; PENG, L. (1997). Accumulation and biological cycling of heavy metal elements in *Rhizophora stylosa* mangroves in Yingluo Bay, China. **Marine Ecology Progress Series**, v.159, p. 293-301.

WOOD, L.J.; MURRAY, B.J.; OKATAN, Y.; NOODÉN, L.D. (1986). Effect of petiole phloem distribution on starch and mineral distribution in senescing soybean leaves. **American Journal of Botany**, v. 73, p. 1377-1383.

ZAR, J.H. (1999). **Biostatistical Analysis**. 4<sup>th</sup> Ed. New Jersey: Prentice Hall. 663 p.