

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**AVALIAÇÃO *IN SITU* DA CONTAMINAÇÃO E DOS EFEITOS DE EFLUENTES
DOMÉSTICOS SOBRE BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS EM OSTRA DO
PACÍFICO *Crassostrea gigas* NA BAÍA NORTE DA ILHA DE SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aqüicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE.

Orientador: Prof. Dr. Afonso Celso Dias Bainy

FABRÍCIO FLORES NUNES

Florianópolis
2008

Nunes, Fabrício Flores

Avaliação *in situ* da contaminação e dos efeitos de efluentes domésticos sobre biomarcadores bioquímicos em ostra do Pacífico *Crassostrea gigas* na Baía Norte da Ilha de Santa Catarina / Fabrício Flores Nunes – 2008.

55 f.:grafs., tabs.

Orientador: Afonso Celso Dias Bainy

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura.

1. Ambiente costeiro; 2. Esgoto doméstico; 3. Biomarcadores; 4. Contaminantes orgânicos; 5. *Crassostrea gigas*.

Avaliação *in situ* da contaminação e dos efeitos de efluentes domésticos sobre biomarcadores bioquímicos em ostra do Pacífico *Crassostrea gigas* na Baía Norte da Ilha de Santa Catarina.

Por

FABRÍCIO FLORES NUNES

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura.

Prof. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo, Dr.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Dr. Afonso Celso Dias Bainy - *Orientador*

Dr. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo

Dr. Felipe Matarazzo Suplicy

*"Sem a curiosidade
que me move,
que me inquieta,
que me insere na Busca,
não aprendo nem ensino".*

(Paulo Freire)

*Dedico este trabalho aos meus pais e a minha
Família, minha querida companheira e amiga Leli e
minha amada filha Maria Catarina. Amo vocês!*

Agradecimentos

Em primeiro lugar a Deus, por me dar Saúde, Força, Luz e Discernimento por todo o meu CAMINHO, guiando-me e abençoando-me sempre. Obrigado, Senhor!

À minha esposa e filha, Leli e Maria Catarina, pelo amor, amizade, compreensão, dedicação e (muitos!) ensinamentos.

Aos meus pais, Gelson e Lenecí, por serem sempre um exemplo de persistência e objetividade. Muito obrigado por estarem sempre comigo na minha CAMINHADA, me orientando sempre que necessário.

Às minhas irmãs, Pati e Sandra, e cunhados, Xande e Luis, por sempre estarem se fazendo presentes e nos dando todo o apoio para que, com calma e tranqüilidade, consigamos alcançar nossos objetivos. Amo vocês!

Aos meus padrinhos, Dilson e Mauren, pelo apoio tecnológico (lembra daquele bicho chamado "*Pendraiv*"?). Muito obrigado pela evolução!

Ao Amigo e Orientador Afonso, por ter me aceitado como orientando, pelo carinho, pelos ensinamentos, pela humildade, pelos finais de semanas de descontração, churrascos e "alguns" chopp's e cervejas. Minha casa é sua casa!

Ao Irmão, Amigo, "Co-orientador", Companheiro de Laboratório, Pesquisas, Idéias e "Viagens" Moleculares, Juliano Zanette, que com muito desprendimento e paciência sempre esteve comigo em todas as etapas desta fase de minha vida! Muito obrigado pelas orientações, gargalhadas, estatísticas nos finais de semana, churras e gelas, algumas sessões de surf e muitos litros de chimarrão!

Ao Amigo Colorado Carlito, uma das figuras mais humanas do Depto. de Aqüicultura e que, sem dúvida, foi peça fundamental no meu ingresso ao Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura, sempre me atendendo pacientemente e muito disposto a dirimir todas minhas dúvidas. *Tu és um monstro!!*

A toda a Família LABICAI, aos "*Afonsoboys and Risogirls*", ao pessoal do "esgoto" e do "camarão", pelos ensinamentos, companheirismo, paciência, amizade e carinho. Vocês são mais que uma Equipe! Senti-me dentro de um TIME!

Ao Amigo Pesquisador Fábio Daura Jorge, pela atenção dispensada nas análises estatísticas multivariadas (PCA e CCA). Muito Obrigado por tudo!

Aos pesquisadores do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, Márcia Bicego, Rosalinda Montone, Satie Taniguchi e Silvio Sasaki pelas análises realizadas.

Ao CNPq - Conselho Nacional para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo financiamento através dos editais CTHIDRO (Processo 500088/2006-3) e UNIVERSAL (Processo 484328/2006-9), que viabilizaram este estudo.

Ao Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina, na figura do Prof. Dr. Cláudio Manoel Rodrigues de Melo, pelas ostras utilizadas nos experimentos.

Ao Laboratório de Oceanografia Costeira da Universidade Federal de Santa Catarina, na figura do Prof. Dr. Jarbas Bonetti, pelas coletas de campo e localizações geográficas dos pontos de monitoramento

Ao Centro de Informação de Recursos Ambientais e de Hidrometeorologia de Santa Catarina (CLIMERH/ EPAGRI), na figura da Sra. Vera Lúcia, pelas informações meteorológicas da região durante o período dos experimentos.

A TODOS os Professores da Pós-Graduação em Aqüicultura, pelo conhecimento adquirido, pela amizade verdadeira, pelo respeito e por estarem sempre preocupados em diminuir a distância entre o professor e o aluno.

Especialmente ao Professor Elpídio Beltrame (*in memoriam*). Obrigado por tudo!

Aos colegas de sala de aula, em especial aos amigos Tureck, Pancho, Marcão, Gustavo, Rafinha, Talita, Rodrigo, Neiva, Márcia, Patrícia, Kenzo, Maurício e Fred, pelas conversas descontraídas e informais, almoços no RU e algumas boas sessões de surf madrugadores antes das aulas.

Ao Amigo Djan Porrua de Freitas, Químico responsável da empresa QMC Saneamento Ltda., meu “Parceiro de Cooperação Científica”, que quando o procurei para falar sobre minhas idéias em relação a um projeto que gerasse informações sobre a água e o sedimento de rios e áreas de cultivos de São José – Baía Norte topou e viabilizou o Projeto Baía Limpa.

À Prefeitura Municipal de São José, através da Secretaria de Educação, que teve a feliz iniciativa de criar um Centro de Educação Ambiental, onde pude obter minha experiência com o Ensino e suas respectivas práticas pedagógicas. Onde pude dar início as minhas pesquisas ambientais através do Projeto Baía Limpa, primeiramente para conhecer a região que estaria trabalhando e poder repassar para os alunos, informações da situação local atual, e que acabou por servir como base de dados na eleição dos locais de monitoramento utilizados neste projeto de mestrado.

Aos funcionários do Centro Municipal de Educação Ambiental Escola do Mar, que por todo o período desta etapa estiveram convivendo por 40 horas semanais comigo, me ensinando como encarar a VIDA sempre com Esperança. Obrigado a todos: Cléber, Rudmar, “Seu” Osmarino, Dariane, Sandra, Bruno, Renan, Carlos, Adalberto, Neno, Isaac, Nina, Zé Roberto, Dirlei, Émerson, Patrícia, Preta, Vicente, Belline, Marcelinho, Eduardo, Rita, Valdete, Suelen, “Seu” Sebastião, Giovane “Gibran”, André e Aron.

Aos Amigos do Peito, Andrey e Sid, por me apoiarem e, pacientemente, suportarem minhas “viagens” enzimáticas e reações bioquímicas em meio aos churrascos, geladas e algumas boas ondas surfadas. *Dás um banho, mô querido!!!*

E ao PENSAR, que me impulsiona e me mantém vivo e que, ao mesmo tempo, me consome e me renova durante todos os momentos desta minha LONGA CAMINHADA.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	10
1.1 Impactos Ambientais no Ecossistema Costeiro.....	10
1.2 A Malacocultura em Santa Catarina.....	11
1.3 A Utilização de Moluscos Bivalves em Programas de Monitoramento Ambiental.....	12
1.4 Os Biomarcadores Bioquímicos e a Contaminação Aquática.....	14
1.5 Os Biomarcadores Bioquímicos e a Sazonalidade.....	14
1.6 Justificativa.....	15
1.6.1 Objetivos.....	18
1.6.1.1 Objetivo Geral.....	18
1.6.1.2 Objetivos Específicos.....	18
1.6.2 Revista(s) escolhidas para a submissão do(s) artigo(s) científico(s).....	18
2. AVALIAÇÃO <i>IN SITU</i> DA CONTAMINAÇÃO E DOS EFEITOS DE EFLUENTES DOMÉSTICOS SOBRE BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS EM OSTRAS DO PACÍFICO <i>Crassostrea gigas</i> NA BAÍA NORTE DA ILHA DE SANTA CATARINA.....	20
2.1 Resumo.....	21
2.2 Introdução.....	22
2.3 Materiais e Métodos.....	24
2.3.1 Área de Estudo e Desenho Experimental.....	24
2.3.2 Preparação das Amostras.....	25
2.3.3 Análises Bioquímicas.....	25
2.3.4 Análises Químicas – Ostras e Sedimento.....	25
2.3.5 Parâmetros de Qualidade da Água.....	26
2.3.6 Análise Estatística.....	26
2.4 Resultados.....	26
2.4.1 Dados Biométricos.....	26
2.4.2 Qualidade de Água.....	26
2.4.3 Demanda Bioquímica de Oxigênio e Coliformes Fecais.....	27
2.4.4 Observações Meteorológicas.....	27
2.4.5 Dados Químicos – sedimento.....	27
2.4.6 Dados Químicos – ostras.....	29
2.4.7 Atividade Enzimática.....	29
2.4.7.1 Superóxido dismutase (SOD).....	29
2.4.7.2 Catalase (CAT).....	29
2.4.7.3 Glutathione S-transferase (GST).....	30
2.4.7.4 Glutathione Redutase (GR).....	31
2.4.7.5 Glicose 6-Fosfato Desidrogenase (G6PDH).....	31
2.4.8 Análise Estatística.....	31
2.4.8.1 Análise de Componente Principal (PCA).....	31
2.4.8.2 Análise Canônica de Correspondência (CCA).....	32
2.5 Discussão.....	33
2.6 Conclusões.....	40
Agradecimentos.....	40
Referências.....	40
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....	48

RESUMO

No inverno de 2006 e no verão de 2007, ostras foram transplantadas de uma região de cultivo para locais situados a 1m, 1500m e 5500m de distância de uma zona que recebe o aporte de efluentes domésticos não tratados (Rio Bücheler, São José, SC). Em ambos experimentos, após 14 dias de exposição, foram coletadas amostras de brânquia (BR) e glândula digestiva (GD) dos animais e analisadas as atividades das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutathione S-transferase (GST), glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e glutathione redutase (GR). Também foram quantificados os níveis de coliformes fecais na água, esteróis fecais no sedimento e ABLs, HPAs, BPCs e OCs nos tecidos dos animais. No inverno, as ostras que permaneceram expostas no local mais próximo da fonte de contaminação apresentaram uma maior atividade da G6PDH na GD e da GR na BR. Além disso, foi observada uma atividade significativamente menor da SOD na BR e maior atividade da SOD em GD. Neste mesmo local, os animais apresentaram uma maior atividade da GST na BR na coleta de verão. As alterações enzimáticas observadas podem estar associadas aos maiores níveis de ABLs, HPAs, BPCs e DDTs nos tecidos destes animais. Os elevados índices de coliformes fecais na água e de coprostanol no sedimento do ponto mais próximo à fonte de contaminação evidenciam o lançamento de esgotos no local.

Palavras-chave: 1. Ambiente costeiro; 2. Esgoto doméstico; 3. Biomarcadores; 4. Contaminantes orgânicos; 5. *Crassostrea gigas*.

ABSTRACT

In both, Winter 2006 and Summer of 2007, oysters were transplanted from a farming area to sites far 1m, 1500m and 5500m from an area that receives the input of untreated domestic sewage (Rio Bücheler, São José, SC, Brazil). In both experiments, after 14 days of exposure, samples of gill (Gi) and the digestive gland (DG) of the animals were collected and the activities of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione S-transferase (GST), glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) and glutathione reductase (GR) were measured. The levels of fecal coliform in water, LABs and fecal sterols in the sediment and LABs, PAHs, PCBs and DDTs in the tissues of animals were also quantified. In winter, the oysters that remained exposed in the site closest to the source of contamination showed higher activity of G6PDH in the DG and GR in the Gi. Furthermore, we observed lower SOD activity in Gi and increased SOD activity in DG. In this same site, the animals showed greater GST activity in Gi in the summer experiment. The observed enzyme changes may be associated with the enhanced levels of LABs, PAHs, PCBs and DDTs in the tissues of these animals. The elevated indexes of fecal coliform in the water and fecal sterols in sediment in the site closest to the source of contamination, evidenced the discharge of sewage in this area.

Keywords: Coastal Environment; Domestic Sewage; Biomarkers; Organic Contaminants; *Crassostrea gigas*.

1. Introdução Geral

1.1 Impactos Ambientais no Ecossistema Costeiro

Na hora de abordar um estudo que tenha como objetivo a zona costeira, os primeiros problemas surgem pela própria indefinição destas áreas e pela grande confluência de interesses e de atividades humanas que nelas acontecem. Trata-se de um espaço que oferece múltiplos recursos que se traduzem em numerosas perspectivas, destacando sua importância econômica e social (HERRERO, 1996). Em muitos casos são inevitáveis os conflitos entre os setores interessados nos espaços aquáticos, tornando maior a demanda e aumentando a importância e valor da região (GIBBS, 2004).

A plataforma continental constitui 10% dos oceanos do mundo e de onde cerca de 90% dos pescados marinhos são explorados e cultivados. As espécies mais sensíveis a danos pelo homem são altamente dependentes dos riachos, lagos e estuários para a procriação e a alimentação nas fases iniciais de desenvolvimento (WALDICHUK, 1974). Porém, estas áreas, além de serem uma fonte de riqueza e desenvolvimento e precisamente pela oferta da multiplicidade dos usos que gera, recebem tudo o que chega através dos rios, como as contaminações procedentes de outros pontos do interior continental, sendo um dos lugares mais agredidos e alterados do planeta (HERRERO, 1996). A ação antrópica tem causado sérios riscos à qualidade deste ambiente, não apenas aos organismos que ali vivem como também aos animais que se alimentam dos mesmos.

Devido à expansão demográfica da população e a diminuição do estoque pesqueiro, o mundo está progressivamente mais dependente da aquicultura para o fornecimento de alimentos (FAO, 2007). No entanto, a poluição marinha representa um risco potencial para a indústria da aquicultura em águas costeiras (BAYEN; LEE; OBBARD, 2007). Os maiores problemas de poluição da zona costeira marinha são os esgotos domésticos e efluentes industriais. Cerca de 65% das cidades com populações acima de 2,5 milhões de habitantes encontram-se na região costeira, 20% da população mundial vive em centros urbanos nestas regiões e 60% vivem cerca de 60 km da costa, gerando aumento da poluição por esgoto doméstico (BARCENA, 1992).

A zona costeira brasileira possui 8,5 mil quilômetros de extensão, concentrando cerca de 25% da população do País, em torno de 42 milhões de pessoas, abrigadas em cerca de 400 municípios, com densidade média de 90 hab/km², quase cinco vezes mais que a média nacional (19 hab/km²). O número de habitantes em áreas urbanas corresponde a 89% do total (aproximadamente 36 milhões de pessoas), destacando-se que treze das dezessete capitais dos estados litorâneos situam-se à beira-mar. As atividades econômicas costeiras são responsáveis por cerca de 73% do PIB nacional. (SERAFIM; HAZIN, 2006, p.103). Segundo o Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 1996) a contaminação de regiões costeiras pela ação direta e indireta do homem tem se intensificado nas últimas décadas.

De maneira geral, a introdução de contaminantes no ambiente marinho ocorre por diversas vias, tais como esgotos domésticos, barcos, rios, deposição atmosférica, agricultura e atividades de aquicultura intensivas em algumas regiões costeiras (GOLDBURG; ELLIOTT; NAYLOR, 2001; KENNISH, 1991), emissários (ABESSA et al., 2005), atividades portuárias ou de marinas, extração de

petróleo e derramamentos acidentais de vários produtos químicos (PRÓSPERI; NASCIMENTO, 2006, p.271). Segundo Fowler (2005), são comercializados cerca de 80.000 a 100.000 compostos químicos nos Estados Unidos e que se conhece “algumas” das propriedades tóxicas de cerca de apenas 500 a 1.000 deles. Além disso, cerca de 1.000 novos químicos são acrescentados a cada ano.

O despejo de esgoto doméstico é uma das principais fontes de contaminação na costa do Brasil, onde se estima que somente 20% da população estejam conectadas a um sistema de coleta e tratamento de esgoto (II Workshop Regional Sul Sobre o Mar, 1998). No Estado de Santa Catarina, uma pesquisa recente realizada pelo Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento demonstrou que apenas 9,69% da população catarinense são atendidas pela rede de coleta de esgoto (AZEVEDO, 2008). Segundo a Secretaria de Estado do Desenvolvimento Sustentável, apenas 7% da população urbana possuem coleta de esgoto e somente uma parte desta coleta é tratada (PARODI, 2006). A região da Grande Florianópolis tem as melhores redes de coleta, porém beneficia apenas 25,04% dos habitantes, uma média bastante abaixo do índice brasileiro, que é de 56% (RIBEIRO, 2008). A existência de esgotos ilegais conectados às galerias pluviais eleva os índices de poluição costeira por bactérias fecais (VIEIRA et al., 2002), principalmente em estações chuvosas.

Herrmann (1999) analisando os dados pluviométricos durante oitenta e oito anos (1911 a 1999) da região central da Faixa Central do Litoral Catarinense, onde se localiza as baías da região da Grande Florianópolis (baía norte e baía sul), observou uma maior concentração de chuvas na estação de verão. Nesta estação, a população da região da Grande Florianópolis, principalmente na Ilha de Santa Catarina, tende a aumentar consideravelmente, chegando a duplicar a quantidade de habitantes, devido ao apelo turístico que a região oferece. Desta maneira, temos um aumento significativo do aporte de contaminantes, principalmente de origem fecal nas águas costeiras da região.

Pesquisas nos mostram que em áreas costeiras, a produção de esgoto doméstico aumenta consideravelmente nos períodos de férias e finais de semana (BRAGA et al., 2000), já que a população tende a dobrar devido ao movimento nas praias. Os efeitos do esgoto podem ser localizados (FAIRWEATHER, 1990), contaminando praias (BRAGA et al., 2000) ou bem distantes da fonte contaminante (ZMARZLY, 1994).

No Estado de Santa Catarina, pesquisadores demonstraram que a qualidade microbiológica da água vai melhorando de acordo com o distanciamento da costa (MANZONI et al., 1998; SCHMITT, 1999) e em locais mais próximos aos centros urbanos os índices de bactérias fecais são mais elevados, impossibilitando muitas vezes o consumo de moluscos marinhos (LOGULLO, 2005). A estreita relação entre as chuvas e o potencial contaminante das descargas continentais, torna algumas áreas proibitivas para recreação e cultivos marinhos (CERUTTI, 1996), acarretando na elevação do número de bactérias fecais presentes na água na estação de verão (SCHMITT et al., 1999).

1.2 A Malacocultura em Santa Catarina

As primeiras pesquisas para a implementação desta atividade no estado e no Brasil datam da década de 1970, com a espécie nativa *Crassostrea rhizophorae*. Porém, só a partir da introdução da

ostra do Pacífico *Crassostrea gigas*, inicialmente no Rio de Janeiro, em 1974 com o Projeto Cabo Frio, e depois em Santa Catarina na década de 1980, com o Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina, que a atividade prosperou (COUTO, 2004).

O cultivo de moluscos marinhos praticado no estado de Santa Catarina apresenta-se atualmente como uma importante atividade de produção, geradora de divisas para o estado e de empregos para a população de nosso litoral, elevando o estado ao título de maior produtor brasileiro de moluscos marinhos com cerca de 11.294,78 toneladas produzidas em 2007 (EPAGRI, 2008).

Particularmente os moluscos marinhos cultivados no estado de Santa Catarina, apesar de pertencerem a um filo com cerca de 50.000 espécies de animais no mundo, com estimativa da existência de pelo menos mais 50.000 a serem descritas (RIBEIRO-COSTA; MARINONI, 2002), estão restritos a cinco espécies pertencentes a classe dos moluscos bivalves: o mexilhão *Perna perna*, a ostra-do-pacífico *Crassostrea gigas*, as ostras nativas *Crassostrea rhizophorae* e *C. brasiliana* e a vieira *Nodipecten nodosus*.

A atividade de cultivo de moluscos em Santa Catarina, segundo as espécies utilizadas, tem três diferentes classificações: mitilicultura – produção de moluscos bivalves da família *Mytilidae* (mexilhões); ostreicultura – produção de moluscos bivalves da família *Ostreidae* (ostras-do-pacífico e ostra nativa) e pectinicultura – produção de moluscos bivalves da família *Pectinidae* (vieiras).

Das três vertentes de cultivo citadas acima, a ostreicultura e a mitilicultura são as atividades que mais se destacam no Estado, sob o ponto de vista sócio-econômico. A produção de 2007 foi de aproximadamente 10.135,90 toneladas de mexilhões e 1.155,80 toneladas de ostras. O cultivo de vieiras, atividade bastante promissora no estado, ainda se encontra em fase experimental e sem números expressivos de produção, atingindo neste mesmo ano 3,08 toneladas (EPAGRI, 2008).

O município de São José possui um Parque Aquícola de 109 hectares, com aproximadamente 43 maricultores organizados em três associações, produzindo mexilhões, ostras e, mais recentemente, vieiras. A produção municipal de moluscos marinhos ainda é inexpressiva. No ano de 2007 foram produzidas 750 toneladas de mexilhões e 70 toneladas de ostras.

Em Santa Catarina, a qualidade das águas de cultivo é uma preocupação dos setores de pesquisa e fomento desde o início da atividade. Contudo, mesmo com esta preocupação são poucos os locais que apresentam um monitoramento constante, ou dados consistentes de qualidade de água (microbiológicos).

Entretanto, mesmo que os dados de monitoramento microbiológico disponíveis sejam discutíveis, eles devem ser considerados como indicativos de qualidade ambiental das áreas de cultivo.

1.3 A utilização de Moluscos Bivalves em Programas de Monitoramento Ambiental

Considerando que algumas áreas potencialmente contaminadas da costa brasileira e particularmente no Estado de Santa Catarina estão associadas a zonas de mitilicultura, ostreicultura, pesca, recreação e abastecimento, o monitoramento da contaminação destas regiões requer uma atenção especial. A fim de monitorar a contaminação dos ecossistemas aquáticos, diferentes estudos têm utilizado diferentes organismos sentinela (BEEBY, 2001).

Neste sentido, moluscos bivalves (ex.: ostras e mexilhões) têm sido amplamente adotados uma vez que apresentam ampla distribuição geográfica, são filtradores, cosmopolitas, sésseis e, portanto, estacionários, eurialinos e, em muitos casos espécies dominantes em seu hábitat (BAINY et al., 2000; CAJARAVILLE et al., 2000; CHEUNG et al., 2001; CHEUNG et al., 2002; LAU; WONG, 2003; NASCIMENTO et al., 1998; SHEEHAN; POWER, 1999).

Os moluscos bivalves podem ser os veículos ou os agentes de doenças parasíticas, bacterianas e virais, bem como carreadores de biotoxinas e diferentes contaminantes (CHIRONNA et al., 2002; JAKSIC et al., 2002). Embora os vírus marinhos sejam muito abundantes, somente os vírus humanos foram associados com doenças devido ao consumo de frutos do mar. A presença de viroses humanas em moluscos marinhos de cultivo parece ter relação direta com os indicadores potenciais encontrados em áreas contaminadas (FORMIGA-CRUZ et al., 2003). Os problemas virais são limitados ao papel do alimento em reciclar os vírus, retornando aos humanos (LEES, 2000). Todos os vírus patogênicos conhecidos que possa causar uma ameaça significativa da saúde pública no ambiente marinho são transmitidos através da rota fecal-oral, incluindo as doenças gastro-intestinais humanas tais como o vírus da hepatite A (GRIFFIN et al., 2003). Estes vírus contaminam os moluscos através da água (poluição por esgoto doméstico no ambiente marinho), ou pela higiene inadequada durante a manipulação do alimento (LEES, 2000). Muitas análises baseadas na cultura celular de bactérias mostram que os vírus humanos patogênicos podem prontamente ser detectados na água marinha impactada pelo esgoto doméstico (GRIFFIN et al., 2003). Os nutrientes adicionais dos esgotos domésticos e dos rios, e os diferentes contaminantes que compõem os esgotos (hidrocarbonetos, bifenilos policlorados e pesticidas) podem ter efeitos sinérgicos aumentando o impacto dos vírus em ecossistemas marinhos (DANOVARO et al., 2003).

Dentre os moluscos bivalves, a ostra *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1789), ocupa uma posição de destaque, por ser a espécie de molusco marinho mais cultivada no mundo (FAO, 1998; MAO et al., 2006), usadas como bioindicadores de contaminantes antropogênicos (GUNTHER et al., 1999; HUNTER et al., 1995; CAPUZZO, 1996) e uma das mais estudadas (SAAVEDRA; BACHÈRE, 2006). Saavedra e Bachère (2006) destacam ainda que, a identificação e seqüenciamento do genoma da ostra *C. gigas* está sendo realizada, uma vez que um consórcio internacional para o seu seqüenciamento foi estabelecido recentemente. Em decorrência disso, esta espécie se apresenta como um ótimo modelo para estudos moleculares, uma vez que possui um grande repertório de genes identificados, seqüenciados e utilizados em estudos de expressão gênica, se comparada a outras espécies de moluscos bivalves.

Dentro do cenário nacional, o cultivo desta espécie é responsável pela maior produção de ostras cultivadas no país (90%), representada por uma crescente produção no estado de Santa Catarina (OLIVEIRA NETO, 2005), o que aponta para o potencial desta espécie não só para o monitoramento em locais possivelmente poluídos, como também para o monitoramento de regiões de cultivo.

1.4 Os Biomarcadores Bioquímicos e a Contaminação Aquática

Os biomarcadores moleculares ou bioquímicos apresentam a vantagem de servirem de sinais precoces da degradação ambiental causadas pelos contaminantes (RAND, 1995), indicando a curto prazo efeitos biológicos de longo prazo, antecipando assim possíveis danos em maior escala, tais como efeitos deletérios nas populações e comunidades biológicas (CAJARAVILLE et al., 2000). Além disso, a análise destes biomarcadores apresenta, na maioria dos casos, menor custo, maior facilidade e rapidez do que as análises químicas convencionais (GALLOWAY et al., 2004).

Em vista disso, o uso de biomarcadores bioquímicos de contaminação em organismos aquáticos, para a avaliação de risco ambiental, tem sido incorporado em programas de monitoramento na Europa, Estados Unidos (CAJARAVILLE et al., 2000) e no Brasil (RECOs, 2003; VENTURA, 2004). Dentre estes biomarcadores estão as defesas antioxidantes, enzimas de biotransformação (de fase I, II e III), metalotioneínas, proteínas de estresse (HSPs), níveis de lipídios peroxidados e dano de DNA e proteínas (CAJARAVILLE et al., 2000; NICHOLSON; LAM, 2005; VALAVANIDIS et al., 2006).

Uma vez que animais são expostos a contaminantes, estes podem aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) associada aos mecanismos de biotransformação de xenobióticos. O estresse oxidativo ocorre quando a taxa de produção de EROS excede a taxa de decomposição em seus sistemas antioxidantes, o que conduz a um aumento do dano oxidativo a níveis celulares (ALMEIDA et al., 2005). Pelo conceito clássico de defesas antioxidantes, elas podem ser enzimáticas (catalase – CAT; glutatona peroxidase – GPx; glutatona redutase – GR; superóxido dismutase – SOD; glutatona S-transferase - GST) e não enzimáticas (CADENAS et al., 1989). Segundo Van der Oost, Beyer e Vermeulen (2003), de acordo com Avaliação de Riscos Ambientais (*ERA - Environmental Risk Assessment*), os componentes da defesa antioxidante são funcionalmente divididos em enzimas de biotransformação de fase II (por exemplo, GST) e enzimas de estresse oxidativo (SOD, CAT, GPX e GR). A enzima antioxidante glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH) é conhecida como enzima auxiliar (BONILLA-VALVERDE et al. 2004) ou complementar (ALMEIDA et al., 2005)

Enzimas e proteínas envolvidas nos processos de biotransformação de xenobióticos também vêm sendo utilizadas como biomarcadoras. Estes processos de biotransformação podem ser divididos em duas fases. A fase-I é caracterizada pela redução, hidrólise ou oxidação, realizada, por exemplo, pelas famílias de citocromos P450 e flavina-monooxigenases (FMOs). As glutatona S-transferases (GSTs) são descritas como as principais enzimas de biotransformação de fase II (BOUTET; TANGUY; MORAGA, 2004) e representam uma família de enzimas relacionadas com a conjugação de uma variedade de metabólitos eletrofilicos endógenos e exógenos (xenobióticos) com o tripeptídeo glutatona reduzida (GSH).

1.5 Os Biomarcadores Bioquímicos e a Sazonalidade

Os efeitos da interação dos diversos tipos de poluentes com as variáveis bióticas nas ostras (tamanho, estágio de maturação, taxa de filtração) e variáveis abióticas do ambiente marinho (temperatura, salinidade, pH, oxigênio dissolvido, correntes marinhas, profundidade, sedimento,

pluviosidade, disponibilidade de alimento) podem influenciar nas respostas bioquímicas dos organismos expostos aos xenobióticos. É necessário o conhecimento detalhado dos valores basais dos biomarcadores e considerar as variações sazonais destes para identificar os efeitos da poluição ligados às flutuações naturais (CAJARAVILLE et al., 2000).

Tendo em vista que os fatores bióticos e abióticos podem variar sazonalmente, esforços científicos estão sendo direcionados na busca da compreensão do comportamento fisiológico e a resposta a poluentes em nível molecular (BOCCHETTI; REGOLI, 2006; CANCIO; IBABE; CAJARAVILLE, 1999; LAU; WONG; GARRIGUES, 2004; NIYOGI et al., 2001; PETROVIC et al., 2004; SHEEHAN; POWER, 1999; ZANETTE; MONSERRAT; BIANCHINI, 2006).

1.6 Justificativa

A região da Grande Florianópolis é formada por mais de vinte municípios, porém apenas cinco deles possuem litorais dentro das baías e praticam as atividades de maricultura. Governador Celso Ramos, Biguaçu, São José, Palhoça e Florianópolis se destacam a nível estadual e nacional pela produção de moluscos bivalves, principalmente ostras e mexilhões. As águas das baías apresentam boa produtividade e, com isso, propiciam um reduzido tempo de cultivo, quando comparadas com outras regiões produtoras no Brasil e no mundo.

De acordo com dados do setor produtivo no ano de 2006, o cultivo de moluscos bivalves nesta região apresentou 60,29% da produção total de mexilhões (5908,8 t) e 95,07% da produção total de ostras (2388,9 t) no Estado de Santa Catarina.

Atualmente os problemas enfrentados pela atividade da malacocultura para que possa haver um aumento na produção são a necessidade de saneamento básico, do monitoramento da sanidade animal e da ordenação das áreas de cultivo que apresentem boas condições ambientais.

Dados anteriores obtidos pelo monitoramento ambiental realizado pelo Centro Municipal de Educação Ambiental Escola do Mar, São José, SC, projeto Baía Limpa, sugerem que a região de estudo recebe uma grande influência do rio Bücheler (divisa geopolítica entre São José e Florianópolis). O rio possui grande contaminação por esgoto doméstico. Os valores para os parâmetros Coliformes Totais e Fecais encontrados durante monitoramento realizado entre agosto de 2005 a julho de 2007 demonstram esta contaminação. Observaram ainda a existência de um gradiente poluidor que se dilui desde o ponto potencialmente poluído (rios e praias) até o ponto referência (próximo ao canal central da baía norte) e uma maior concentração de bactérias fecais principalmente na estação do verão, tanto nas saídas dos rios, quanto nas áreas de cultivo de moluscos marinhos.

A origem de bactérias indicadoras de contaminação fecal presume sempre ser antropogênica (água da chuva, esgoto doméstico, efluentes da agricultura e urbanos). Entretanto, estudos recentes documentaram a presença destas bactérias em fezes de uma grande variedade de animais de sangue quente (BARTHAM; REES, 2000; KELSEY et al., 2004; MALLIN et al., 2001; SAVICHTCHEVA; OKABE, 2006; TALLON et al, 2005). Outra importante fonte de contaminação fecal de águas superficiais são os pássaros (GRANT et al., 2001) que se reúnem nos ambientes costeiros, contaminando até mesmo ostras em áreas de cultivo próximas de áreas urbanas (ALBARNAZ et al.,

2007) sendo muito difícil de estimar sua contribuição na contaminação das águas (KIRSCHNER et al., 2004).

Em áreas estuarinas, enseadas e baías, os níveis de bactérias fecais tendem a ser normalmente maiores nos pontos de aporte de água doce do que em áreas distantes destes (NEILL, 2004). O excesso de esgotos e a ocorrência de chuvas, principalmente em áreas urbanizadas (KELSEYA et al., 2004; MALLIN et al., 2001) afetam consideravelmente a qualidade de água, e a combinação destes dois fatores aumentam os níveis de contaminação por bactérias fecais (BRAGA et al., 2000; CHIGBU; GORDON; STRANGE, 2005; ELMANAMA; AFIFI; BAHR, 2006; EVANSON; AMBROSE, 2006; FERGUSON et al., 1996; MCLELLAN, 2004; MCLELLAN; DANIELS; SALMORE, 2003; PARVEEN et al., 1999; SURBECK et al. 2006; TALLON et al, 2005). O crescimento demográfico leva a transformação das regiões com construções e pavimentações. Sendo assim, a purificação natural das águas da chuva, função da vegetação e da infiltração no solo, é bruscamente reduzida, aumentando os volumes de água de chuva não-tratada potencialmente carreadoras de patógenos em águas costeiras (MALLIN et al., 2001). Porém, a poluição do rio pode ocorrer já em área rural, sendo inicialmente de origem não humana (SURBECK et al. 2006).

Os movimentos de marés e as variações dos fluxos de água doce produzem mudanças contínuas na mistura água doce/salgada, fazendo com que as contagens bacterianas variem dificultando na avaliação da qualidade da água. Estes organismos apresentam uma rápida taxa de degradação em ambiente marinho e os valores podem variar constantemente (NICHOLS et al., 1993), desaparecendo rapidamente (BORREGO et al., 1987) sendo apropriadas para amostras de descargas recentes na coluna d'água (MUDGE; LITERN, 1999). A situação é ainda mais complicada quando os esgotos são lançados diretamente (NEILL, 2004).

As regiões estuarinas estão sujeitas às condições físico-químicas da água doce e salgada, e estes elementos constituem fatores que podem prejudicar as medições das bactérias indicadoras (MILL; SCHLACHER; KATOULI, 2006). A sobrevivência de microorganismos indicadores em sistemas aquáticos é afetada por fatores bióticos e abióticos (NOBLE; LEE; SCHIFF, 2004). Algumas condições ambientais têm demonstrado uma grande influência na persistência de bactérias fecais, incluindo a salinidade (ANDERSON; WHITLOCK; HARWOOD, 2005; BORDALO; ONRASSAMI; DECHSAKULWATANA, 2002; CHÁVEZ et al., 2005), irradiação solar (BORDALO; ONRASSAMI; DECHSAKULWATANA, 2002; BURKHARDT III et al., 2000; CHANDRAN; HATHA, 2005; KI; ENSARI; KIM, 2007; NOBLE; LEE; SCHIFF, 2004), temperatura (CHÁVEZ et al., 2005; CRAIG; FALLOWFIELD; CROMER, 2004; FUJIOKA; BONILLA; RIJAL, 1999; NOBLE; LEE; SCHIFF, 2004; SINTON; FINLAY; LYNCH, 1999), presença de matéria orgânica particulada (CRAIG; FALLOWFIELD; CROMER, 2004), movimentação da água (JAMIESON et al. 2005), regime de marés (GRANT et al., 2001; KI; ENSARI; KIM, 2007; MILL; SCHLACHER; KATOULI, 2006) e associações com biofilme (BANNING; TOZE; MEE, 2003; DANOVARO et al., 2003). Esta sobrevivência diferencial dos organismos indicadores de contaminação tem implicações profundas para métodos que se baseiam nestes tipos de análises (ANDERSON; WHITLOCK; HARWOOD, 2005). Quanto às análises em sedimentos, deve-se ter cautela devido à persistência de organismos de contaminação fecal nos sedimentos (ANDERSON; WHITLOCK; HARWOOD, 2005; CHIGBU; GORDON; STRANGE, 2005;

EVANSON; AMBROSE, 2006; FERGUSON et al., 1996; FUJIOKA; YONEYAMA, 2002;) e na areia de praias (BEVERSDORF; BORNSTEIN-FORST; LEE et al., 2006; MCLELLAN, 2007) devido à elevação de suas densidades e acúmulo principalmente após eventos de chuva.

Os coliformes fecais são usados como indicadores de organismos entéricos patogênicos em ambientes aquáticos indicando poluição fecal e uma possível associação com patógenos entéricos (SAVICHTCHEVA; OKABE, 2006), embora estudos indiquem que não são indicadores confiáveis da presença de vírus patogênicos (LEE et al., 2006; NOBLE; FUHRMAN, 2001). São monitorados regularmente para assegurar-se de que os corpos da água estão dentro de padrões sanitários pré-estabelecidos para fontes de água potável e/ou uso em atividades recreacionais. A informação dos níveis de coliformes fecais é necessária também para classificar as áreas de engorda de moluscos, condicionalmente classificando as águas em próprias ou impróprias (CONAMA, 2005), a fim de proteger os humanos de consumir animais contaminados (ISSC, 2003). Em áreas costeiras urbanizadas, devem se considerar a necessidade de monitoramentos constantes e programas de pesquisa sobre o impacto da poluição costeira a fim de proteger a saúde humana (CHÁVEZ et al., 2005), bem como buscar a compreensão da variação sazonal para determinar as ações necessárias na minimização das fontes de poluição, e os riscos associados a ela (ELMANAMA; AFIFI; BAHR, 2006). Além disso, pesquisas e o desenvolvimento de novas metodologias sobre indicadores fecais mais apropriados para diferentes regiões climáticas são tarefas importantes para que os pesquisadores ambientais possam fornecer uma maior segurança em monitoramentos ambientais (SAVICHTCHEVA; OKABE, 2006).

Muitos estudos têm sido realizados utilizando moluscos bivalves em programas de monitoramento marinho, principalmente ostras e mexilhões, como bioindicadores de metais pesados acumulando estas substâncias principalmente nas brânquias (BERNARD, 1989; MEYER; HAGEN; MEDEIROS, 1998; RAINBOW, 1995; SALÁNKI et al. 2003; SCANES, 1996; STURESSON, 1976; STURESSON, 1978), quantificando os níveis de poluição marinha (GIFFORD et al. 2004) e consequentemente, auxiliando na seleção de áreas para a implantação de empreendimentos aquícolas (TAN; LIM, 1984).

Análises de alterações bioquímicas e moleculares em moluscos marinhos se mostram como ferramentas de monitoramento e avaliação de impactos ambientais com mais rapidez quando comparadas com métodos convencionais (ALLEN; MOORE, 2004; BELIAEFF; BURGEOT, 2002; FOWLER, 2005; MOORE et al., 2004; RODRÍGUEZ-ORTEGA et al., 2002). Em estudos de campo, estas análises devem ser acompanhadas outras ferramentas de avaliação e caracterização do ambiente de estudo, uma vez que os efluentes de esgoto possuem uma ampla variedade de contaminantes químicos e microbiológicos.

Tendo em vista isso, neste trabalho foi realizada a análise química de contaminantes orgânicos pelo Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IO-USP) no sedimento e nas ostras de algumas classes de contaminantes como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), bifenilos policlorados (BPCs), pesticidas organoclorados (DDTs), alquilbenzenos lineares (ABLs) e esteróis fecais (ex.: coprostanol, colesterol e colestanol). Os hidrocarbonetos possuem geralmente origem crônica no ambiente marinho, através de introdução de esgotos, drenagem terrestre e de rios

e com as descargas operacionais associadas a operações de transporte e consumo. Os HPAs têm recebido uma atenção especial desde que foram reconhecidos como compostos potencialmente perigosos para o ambiente (NRC, 1985). Os organoclorados (OCs) são compostos orgânicos sintéticos que apresentam características como persistência, bioacumulação e toxicidade, podendo causar vários efeitos danosos ao ambiente. Dentre os OCs, incluem-se os pesticidas organoclorados (DDTs) e os bifenilos policlorados (PCBs), que não são facilmente degradados por oxidação química ou ação bacteriológica e estão incluídos na lista dos poluentes orgânicos prioritários por órgãos como a EPA (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY) e UNEP (UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME). Outro grupo de marcadores de esgoto são os alquilbenzenos lineares (ABLs), que têm sido utilizados como marcadores de esgotos urbanos (ISOBE et al., 2002). Os ABLs constituem o principal ingrediente na produção de substâncias (alquil benzeno sulfonados lineares, LAS) que são utilizados como tensoativos aniônicos nas fórmulas dos detergentes comerciais para uso doméstico (TAKADA; ISHIWATARI; OGURA, 1992; TSUTSUMI et al. 2002;). São hidrofóbicos (SHERBLOM; GSCHWEND; EGANHOUSE, 1992) e tendem a acumular-se no sedimento e nos tecidos biológicos (BOONYATUMANOND et al., 2007; TSUTSUMI et al., 2002). Os ABLs têm sido amplamente utilizados como marcadores químicos da exposição a esgoto urbano. Dentre os esteróis fecais, o coprostanol tem sido utilizado como marcador de poluição por esgoto (TAKADA; EGANHOUSE, 1998), uma vez que este composto é produzido no trato digestivo de seres humanos por redução microbiana do colesterol, não sendo tóxico ou nocivo (MCCALLEY; COOKE; NICKLESS, 1981).

1.6.1 Objetivos

1.6.1.1 Geral

Avaliar os efeitos do esgoto doméstico utilizando ferramentas bioquímicas em ostras do pacífico *Crassostrea gigas* em ambientes costeiros e de cultivo visando seu uso futuro em programas de monitoramento.

1.6.1.2 Específicos

- Analisar biomarcadores bioquímicos em ostras mantidas em um local *a priori* contaminado por esgoto doméstico, um local próximo a uma área de cultivo e um local referência;
- Avaliar a viabilidade da utilização destes biomarcadores bioquímicos, em ostras, pela correlação com análises microbiológicas (coliformes fecais) e químicas que confirmem a contaminação nos locais de estudo;

1.6.2 Revista(s) escolhida(s) para submissão do(s) Artigo(s) Científico(s)

Os resultados parciais já foram apresentados em congresso (14th International Symposium on Pollutant Responses in Marine Organisms – PRIMO 14, Florianópolis, SC, Brasil; X Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia – X ECOTOX, BentoGonçalves, RS, Brasil) e publicados na revista indexada *Marine Environmental Research*, Volume 66, Issue 1, 2008, Pages 196-198, sob o título

Comparison of the antioxidant defense system in *Crassostrea rhizophorae* and *Crassostrea gigas* exposed to domestic sewage discharges.

O trabalho final deverá ser encaminhado para a revista **Marine Pollution Bulletin** (Qualis A de circulação internacional).

AVALIAÇÃO *IN SITU* DOS EFEITOS DE EFLUENTES DOMÉSTICOS SOBRE BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS EM OSTRAS DO PACÍFICO *Crassostrea gigas* NA BAÍA NORTE DA ILHA DE SANTA CATARINA

Fabício Flores Nunes^{1,2}; Juliano Zanette¹; Igor Dias Medeiros^{1,3}; Cláudio Manoel Rodrigues de Melo⁴; Márcia Caruso Bicego⁵; Rosalinda Montone⁵; Satie Taniguchi⁵; Silvio Tarou Sasaki⁵; Afonso Celso Dias Bainy^{1*}

¹Laboratório de Biomarcadores de Contaminação Aquática e Imunoquímica, Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 88040-900

²Centro Municipal de Educação Ambiental Escola do Mar, Secretaria de Educação, Prefeitura de São José, São José, SC, 88113-001

³Laboratório de Ciências Marinhas, Universidade do Sul de Santa Catarina, Palhoça, SC

⁴Laboratório de Moluscos Marinhos, Departamento de Aqüicultura, CCA, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 88040-900

⁵Laboratório de Química Orgânica Marinha, Instituto Oceanográfico da USP, Universidade de São Paulo, SP

* Autor para correspondência: ACD Bainy (email bainy@mbox1.ufsc.br)

2.1 Resumo

Em experimentos realizados no inverno (2006) e verão (2007), ostras foram transplantadas de uma região de cultivo para locais situados a 1, 1500 e 5500 m de distância de uma zona que recebe efluentes domésticos não tratados (Rio Bücheler, São José, SC). Em ambos experimentos, após 14 dias de exposição, foram coletadas amostras de brânquia (BR) e glândula digestiva (GD) dos animais e analisadas as atividades das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutathione S-transferase (GST), glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e glutathione redutase (GR). Também foram quantificados os níveis de coliformes fecais na água, esteróis fecais no sedimento e alquilbenzeno lineares (ABLs), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), bifenilas policloradas (BPCs) e pesticidas (DDTs) nos tecidos dos animais. No inverno, as ostras do local contaminado apresentaram uma maior atividade da G6PDH na GD e da GR na BR. Além disso, foi observada uma atividade menor da SOD na BR e maior na GD. Neste mesmo local, no verão os animais apresentaram uma maior atividade da GST na BR. As alterações enzimáticas observadas podem estar associadas aos maiores níveis de ABLs, HPAs, BPCs e DDTs nos tecidos destes animais. Além disso, foram observados altos índices de coliformes fecais na água e de coprostanol no sedimento do ponto mais próximo à fonte de contaminação, o que evidencia o impacto do lançamento de esgotos no local.

Palavras-chave: Ambiente costeiro; Esgoto doméstico; Biomarcadores; Contaminantes orgânicos; *Crassostrea gigas*.

2.2 Introdução

Aproximadamente 25% da população brasileira (42 milhões de pessoas) estão concentradas em 400 municípios localizados na zona costeira que apresentam uma densidade populacional média de 90 hab/km², quase cinco vezes maior que a média nacional (19 hab/km²) (Serafim & Hazin, 2006). Isto se reflete no crescente número de casos de contaminação destas regiões devido a carência de sistemas de coleta e tratamento adequado de efluentes de esgoto doméstico. Em regiões urbanas, estima-se que somente cerca de 51,6% do esgoto total seja coletado e deste, apenas 35,3% passe por algum sistema de tratamento (IBGE, 2004).

O esgoto é a principal fonte de contaminantes em ambientes costeiros (Kennish, 1991). Estes efluentes são considerados como uma das principais causas da diminuição da qualidade dos ecossistemas costeiros, pois podem causar riscos à qualidade de vida dos organismos que ali habitam, bem como aos animais que se alimentam dos mesmos, incluindo o homem.

Entre as espécies que habitam a zona costeira e sofrem este impacto estão as ostras que, além de ocorrerem no ambiente natural, têm sido amplamente cultivadas no litoral brasileiro, particularmente em Santa Catarina (Oliveira Neto, 2005). Estes animais têm sido utilizados como organismos sentinela em programas de biomonitoramento ambiental, pois apresentam ampla distribuição geográfica, são filtradores, sésseis, eurihalinos e, em muitos casos, espécies dominantes em seu hábitat (Bainy et al., 2000; Cajaraville et al., 2000; Cheung et al., 2001; Cheung et al., 2002; Lau & Wong, 2003; Nascimento et al., 1998; Sheehan & Power, 1999). Segundo Orbea et al. (2002), as ostras apresentam características apropriadas para fins de monitoramento, principalmente por acumularem níveis elevados de contaminantes orgânicos.

A ostra do pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1789) é a espécie de ostra mais cultivada no mundo (FAO, 1998; Mao et al., 2006), e no Brasil (90%) (Oliveira Neto, 2005). Esta espécie tem sido utilizada em programas de biomonitoramento em diferentes países (Gunther et al., 1999; Hunter et al., 1995; Capuzzo, 1996; Saavedra & Bachère, 2006), incluindo o Brasil (Medeiros et al., 2008a,b; Zanette et al., 2008). Análises da resposta de biomarcadores bioquímicos e moleculares (ex: enzimas antioxidantes) em ostras expostas a diferentes fontes de contaminação podem servir como ferramentas de monitoramento e avaliação dos efeitos causados pelos xenobióticos lançados no ambiente (Allen & Moore, 2004; Beliaeff & Burgeot, 2002; Fowler, 2005; López-Barea, 1996; Moore et al., 2004; Rodríguez-Ortega et al., 2002). Estes estudos apresentam a vantagem de evidenciarem potenciais efeitos causados pelos contaminantes de uma forma precoce, podendo antecipar possíveis danos em maior escala, tais como a nível de populações e comunidades (Cajaraville et al., 2000).

Entre os biomarcadores estão as enzimas de defesas antioxidante superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx) e glutatona S-transferase (GST) e as enzimas auxiliares glutatona redutase (GR) e glicose-6 fosfato desidrogenase (G6PDH). Os sistemas antioxidantes protegem as células contra efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio (EROs) (Manduzio et al., 2004). Quando os animais são expostos à compostos químicos, sistemas de biotransformação podem ser ativados desencadeando um aumento na produção de EROs, tais como o radical ânion superóxido (O₂⁻). Este radical é dismutado pela SOD que aumenta a produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que por sua vez pode ser decomposto pela CAT ou pela GPx, através

da oxidação de duas moléculas de glutathiona reduzida (GSH) formando glutathiona oxidada (GSSG). A manutenção da GSSG no seu estado reduzido é catalisada pela GR que utiliza elétrons do NADPH, produzido principalmente através da G6PDH, enzima regulatória da via das pentoses fosfato (Almeida et al., 2007; Castro & Freeman, 2001; Sies et al., 1983). Quando há um desequilíbrio entre a produção de EROs e uma diminuição da capacidade antioxidante é estabelecida uma condição de estresse oxidativo (Davies, 1995; Peña-Llopis et al., 2003) que pode levar, em última instância, a morte celular (Barrera et al., 2008; Covarrubias et al., 2008; Genestra, 2007; Goetz & Luch, 2008; Pervaiz & Clement, 2007).

Para validar os dados de biomarcadores em animais expostos a efluentes de esgoto doméstico é necessária a quantificação dos principais tipos de contaminantes bioacumulados pelos animais no ambiente de estudo, tais como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), bifenilos policlorados (BPCs) alquil benzeno lineares (ABLs), organoclorados (OCs), esteróis fecais, como o Coprostanol, entre outros. Os hidrocarbonetos possuem geralmente origem crônica no ambiente marinho, através de introdução de esgotos, drenagem terrestre e de rios e com as descargas operacionais associadas à produção, transporte e consumo de petróleo e seus derivados (NRC, 1985). As principais fontes dos bifenilos policlorados (BPCs) no ambiente marinho são os efluentes industriais e/ou urbanos despejados nos rios e lagos e fumaças decorrentes da incineração de produtos contendo BPCs (capacitores e transformadores) (Montone, 1995). Os ABLs constituem o principal ingrediente na produção de substâncias (alquil benzeno sulfonados lineares, LAS) que são utilizados como tensoativos aniônicos nas fórmulas dos detergentes comerciais para uso doméstico (Takada et al., 1992; Tsutsumi et al. 2002;). São hidrofóbicos (Sherblom et al., 1992) e tendem a acumular-se no sedimento e nos tecidos biológicos (Boonyatumanond et al., 2007; Tsutsumi et al., 2002). Os ABLs têm sido amplamente utilizados como marcadores químicos da exposição a esgoto urbano (Isobe et al., 2002). Os pesticidas organoclorados (DDTs) são compostos orgânicos sintéticos que apresentam características como persistência, bioacumulação e toxicidade, podendo causar vários efeitos danosos ao ambiente. O coprostanol tem sido utilizado como marcador de poluição por esgoto (Takada & Eganhouse, 1998), uma vez que este composto é produzido no trato digestivo de seres humanos por redução microbiana do colesterol, não sendo tóxico ou nocivo (McCalley et al., 1981). Sua distribuição e degradação no ambiente ainda não foram estudadas extensivamente (Scott et al., 2002).

O objetivo deste estudo foi analisar a resposta de biomarcadores bioquímicos em brânquia e glândula digestiva de ostras *C. gigas* expostas durante 14 dias em regiões sob diferente impacto do lançamento de efluentes doméstico em experimentos realizados no inverno de 2006 e no verão de 2007 na região da Baía Norte da região da Ilha de Santa Catarina. Nestes animais foram quantificados os níveis de HPAs, BPCs, ABLs e OCs visando o estabelecimento de correlações entre as variáveis biológicas e os contaminantes químicos.

2.3 Materiais e Métodos

2.3.1 Área de Estudo e Desenho Experimental

O local escolhido como a área que recebe o impacto de efluentes contendo esgoto doméstico (Contaminado) situa-se na foz do rio Bücheler ($27^{\circ}34'22,98''$ S; $48^{\circ}35'58,59''$ O) que drena uma pequena bacia hidrográfica altamente urbanizada, percorrendo cerca de 1800 metros do início até a foz, possuindo uma largura aproximada de 5 m (Figura 01). Este efluente contém resíduos líquidos e sólidos. A segunda área de estudo (Cultivo) localiza-se em uma zona de cultivo de moluscos ($27^{\circ}33'32,82''$ S; $48^{\circ}35'49,67''$ O), situada dentro da Baía de Barreiros e distante cerca de 1500 m da foz do rio Bücheler (Figura 01). A terceira área de estudo (Referência) situa-se nas proximidades da Pedra das Tipitingas ($27^{\circ}31'31,77''$ S; $48^{\circ}36'23,00''$ O), distante cerca de 5500 metros do local contaminado e cerca de 2200 metros da costa, 4700 metros do rio Biguaçu e 2500 metros do rio Carolina, outras fontes possíveis de contaminantes nesta Baía (Figura 01). A escolha destes locais foi baseada em dados de coliformes fecais obtidos em estudos anteriores realizados desde agosto de 2005, pelo Centro Municipal de Educação Ambiental Escola do Mar, Prefeitura de São José, SC.

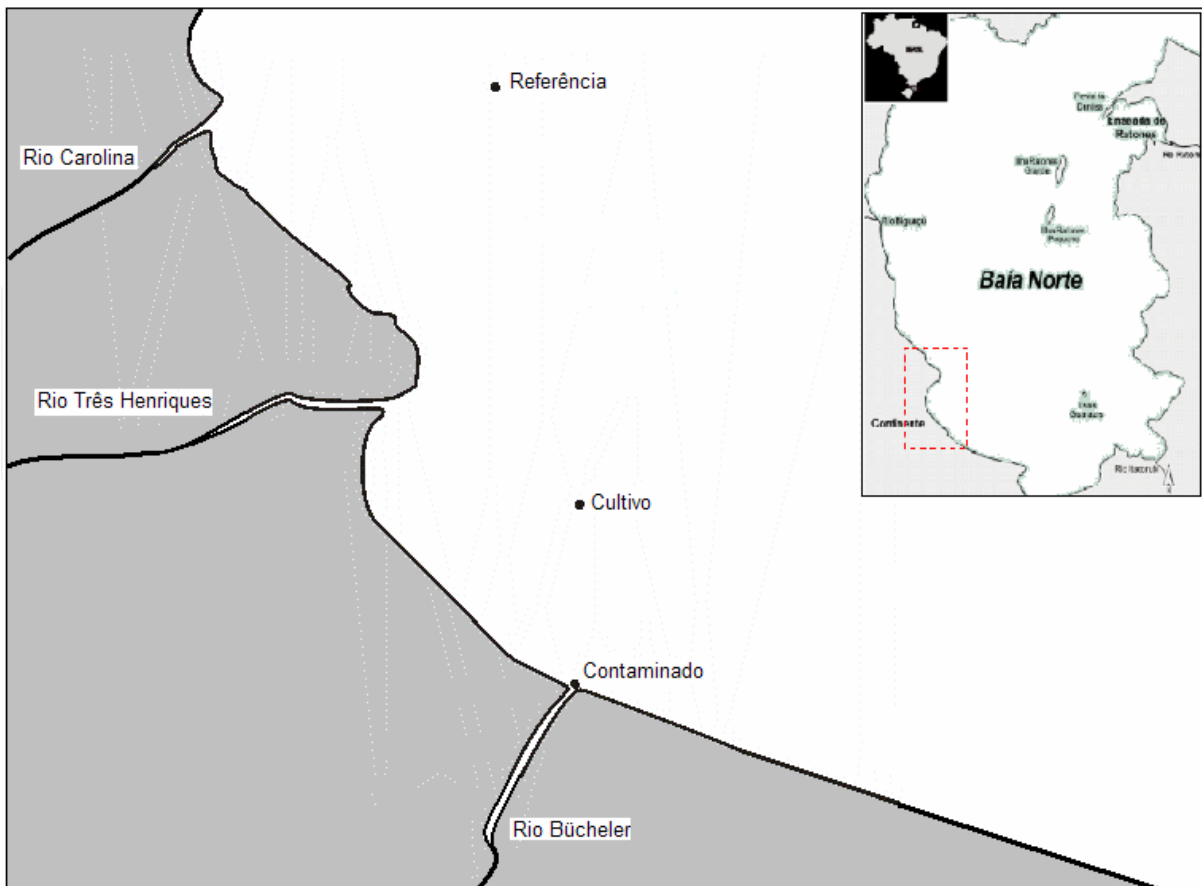


Figura 1 - Localização dos pontos de exposição das ostras do Pacífico *C. gigas* na Baía Norte da região da Grande Florianópolis, SC, Brasil. O ponto contaminado (foz do rio Bücheler) situa-se nas coordenadas $27^{\circ}34'22,98''$ S; $48^{\circ}35'58,59''$ O; ponto de cultivo $27^{\circ}33'32,82''$ S; $48^{\circ}35'49,67''$ O (1500 m do contaminado); ponto referência (Pedra das Tipitingas) $27^{\circ}31'31,77''$ S; $48^{\circ}36'23,00''$ O (5500 m do contaminado).

As ostras *Crassostrea gigas* utilizadas neste estudo (6 – 7 cm) foram obtidas na estação de cultivo do Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM/UFSC), na Praia de Sambaqui e transportadas para os locais de monitoramento onde permaneceram por 14 dias acondicionadas em mini-balsas. Cada mini-balsa continha gaiolas flutuantes onde os animais (n=40) permaneceram submersos a 10 cm da superfície. Após a exposição, os animais (n=10) foram mortos e a brânquia e a glândula digestiva de cada indivíduo foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -80°C.

As exposições das ostras foram realizadas no período de inverno (agosto/setembro 2006), e no verão (março 2007).

2.3.2 Preparação das Amostras

As amostras de brânquia e glândula digestiva de 10 animais foram homogeneizadas em tampão Tris-HCl 20mM pH 7,6, EDTA 1mM, sacarose 0,5M, KCl 0,15M, DTT 1mM, PMSF 0,1mM, na proporção de 1 g de tecido para 4 mL de tampão (1:4). O homogeneizado foi centrifugado a 9.000 x g por 30 minutos a 4°C. Na fração sobrenadante foram realizadas as análises bioquímicas.

Para as análises químicas os tecidos totais de 10 indivíduos de cada local foram agrupados e imediatamente congelados.

2.3.3 Análises Bioquímicas

A atividade da catalase (CAT) foi quantificada de acordo com Aebi (1984), que quantifica a velocidade de decomposição da H₂O₂ pela enzima, através do decréscimo de absorbância a 240 nm ($\epsilon = 0,071 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) a 30° C. A determinação da atividade da glutathione S-transferase (GST) foi realizada segundo o ensaio descrito por Keen et al. (1976), que se baseia na velocidade de formação do conjugado CDNB-GSH, realizando uma leitura em espectrofotômetro a 340 nm, durante 2 min. A glutathione redutase (GR) utiliza elétrons do NADPH para reduzir o substrato glutathione oxidada (GSSG). O decréscimo de absorbância no comprimento de onda de 340 nm serve como medida indireta da atividade desta enzima. (Carlberg & Mannervik, 1985). A atividade glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH) foi determinada através do aumento de absorbância provocado pela redução de NADP⁺ a NADPH, no comprimento de onda de 340 nm ($\epsilon = 6,22 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) (Glock & McLean, 1953). A atividade de superóxido dismutase (SOD) foi medida conforme método descrito por McCord & Fridovich (1969). A determinação do conteúdo total de proteínas presentes na fração sobrenadante foi realizada de acordo com Peterson (1977), utilizando soro albumina bovina como padrão.

2.3.4 Análises Químicas – Ostras e Sedimento

As amostras de ostras foram homogeneizadas e processadas segundo procedimento analítico descrito por MacLeod et al. (1986). Os organoclorados (DDTs e BPCs) foram analisados por cromatógrafo a gás com detector de captura de elétrons (GC-ECD). Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), os alquil benzeno lineares (ABLs) e os esteróis fecais foram quantificados em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massa (GC-MS) em modo seletivo de íon. O

sedimento, depois de liofilizado, foi submetido à extração de maneira semelhante às técnicas descritas acima.

2.3.5 Parâmetros de Qualidade de Água

Amostras de água foram coletadas no primeiro, no sétimo e no décimo quarto dia de cada exposição (inverno e verão), para posterior análise de parâmetros microbiológicos (coliformes totais e fecais) e de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO). A coleta e a análise das amostras de água obtida nos locais de coleta foram realizadas segundo técnicas do *STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER APHA-AWWA-WPCF*, 20^a edição. Parâmetros físico-químicos da água como temperatura, salinidade e pH, bem como profundidade foram registrados no momento da coleta. Dados climatológicos dos períodos de monitoramento (pluviosidade, temperatura, direção e intensidade de ventos) foram obtidos com a EPAGRI/CIRAM.

Dados de maré foram obtidos pelo site oficial da Marinha do Brasil (<http://www.mar.mil.br/dhn/chm/tabuas/index.htm>), sendo utilizado como referência de local o Porto de Florianópolis e as datas de exposição.

2.3.6 Análise Estatística

Os dados para cada um dos três grupos em estudo (Contaminado, Cultivo e Referência) foram computados como média (\pm desvio padrão) e foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e *post test* "Newman-Keuls Multiple Comparison Test". Para a caracterização dos pontos monitorados, os dados de qualidade de água e os contaminantes orgânicos foram submetidos à Análise de Componente Principal (PCA – *Principal Components Analysis*). Para avaliar a existência de interação entre os fatores bióticos (respostas enzimáticas) e abióticos (contaminantes) foi realizada uma Análise Canônica de Correspondência (CCA). Para as análises estatísticas foram utilizados os programas Statistica 6.0, GraphPad Prism 4.0 e Fitopac 2.0.

2.4 Resultados

2.4.1 Dados Biométricos

No experimento de verão foi observada uma diferença no peso total médio da carne fresca das ostras mantidas no local contaminado, cultivo e referência ($p < 0,05$) ($22,52 \pm 6,18$; $40,74 \pm 6,96$ e $30,81 \pm 6,51$ g, respectivamente). As ostras analisadas no inverno apresentaram as gônadas não desenvolvidas, o que dificultou a identificação dos sexos, diferentemente do verão, quando foi constatada a predominância de machos entre os animais analisados.

2.4.2 Qualidade de Água

Apesar de não terem sido registradas diferenças significativas, a salinidade no local contaminado foi menor que no cultivo e no local referência devido ao aporte de água doce do rio Bücheler em ambas estações do ano (Tabela 01). Nenhuma diferença significativa foi observada no pH da água dos locais de monitoramento no verão e no inverno, respectivamente (Tabela 1). A

temperatura da água no momento da coleta no inverno estava em torno de 18,3°C e no verão em torno de 27°C nos 3 locais de monitoramento (Tabela 01).

Tabela 1

Parâmetros físico-químicos da água de exposição das ostras durante o inverno (agosto/setembro de 2006) e verão (março de 2007). Sal = salinidade (g.L⁻¹); Temp = temperatura (°C); As diferenças significativas entre pontos (p<0,05) foram identificadas por letras.

Parâmetro	Inverno			Verão		
	Contaminado	Cultivo	Referência	Contaminado	Cultivo	Referência
Sal ‰	30,64±2,82 ^a	32,64±0,17 ^a	32,66±0,16 ^a	34,00±2,00 ^a	35,83±1,61 ^a	35,67±1,53 ^a
pH	7,59±0,30 ^a	7,75±0,24 ^a	7,74±0,26 ^a	7,96±0,14 ^a	8,03±0,14 ^a	7,95±0,02 ^a
°C	18,35±1,48 ^a	18,30±1,80 ^a	18,20±1,98 ^a	27,67±0,29 ^a	26,83±0,29 ^a	26,75±0,35 ^a

2.4.3 Demanda Bioquímica de Oxigênio e Coliformes Fecais

Tanto no experimento de inverno, como no de verão, o local contaminado apresentou níveis médios mais elevados de DBO do que os demais locais monitorados (Tabela 02), indicando a presença de matéria orgânica nesta região. Porém, observando os valores ao longo da exposição durante o inverno e verão (dia 0, 1 e 14) verificamos que os índices elevados de DBO não se concentraram apenas no ponto contaminado. Os níveis de coliformes fecais (CF) na água do local contaminado observados no inverno e no verão foram maiores do que no cultivo e no local referência indicando a ocorrência de despejos de esgotos domésticos nesta área (Tabela 02). Os níveis de CF no cultivo e no local referência tenderam a ser maiores no verão do que no inverno. Este resultado pode estar relacionado a um maior aporte de águas continentais associadas a precipitação pluviométrica, visto que no verão foi registrada uma maior incidência de chuva nesta região, bem como um aumento da geração de efluentes devido ao aumento da população registrado nesta estação (turistas).

Tabela 2

Parâmetros físico-químicos e microbiológico da água ao longo da exposição das ostras durante o inverno (agosto/setembro de 2006) e verão (março de 2007). DBO = demanda bioquímica de oxigênio (mg O₂/L 5 dias); Col. Fec = coliformes fecais (NMP/100mL).

Parâmetro		inverno				verão			
		dia 0	dia 7	dia 14	Média	dia 0	dia 7	dia 14	Média
DBO	Cont	9,12	3,63	5,10	5,95	5,06	6,36	1,62	4,35
	Cult	1,10	4,13	0,60	1,94	4,81	4,02	2,10	3,64
	Ref	4,87	0,79	6,00	3,89	2,31	4,41	1,55	2,76
Col. Fec	Cont	16000,00	2300,00	24000,00	14100,00	20000,00	8000,00	7000,00	11666,67
	Cult	80,00	0,00	230,00	103,33	0,00	1600,00	300,00	633,33
	Ref	60,00	0,00	80,00	46,67	0,00	240,00	900,00	380,00

2.4.4 Observações Meteorológicas

Durante os 14 dias de experimento realizado no inverno a lua passou por três fases (crescente, cheia e minguante) com uma maré de sizígia durante o período. No período de verão, o experimento foi realizado durante marés de quadratura e de sizígia, e passou por períodos de lua

cheia, minguante e nova. Índices pluviométricos menores foram observados no experimento de inverno (25,9 mm) do que no verão (168,70 mm). No experimento de inverno foi observada a ocorrência de chuvas apenas nos três primeiros dias e no experimento de verão foram observados picos de precipitação no quinto (52,0mm) e décimo dia (60,8mm). O manejo das estruturas em ambas estações (alocação das balsas, coleta de amostras de água e sedimento, despesca) foi realizado durante a fase de enchente de maré com ventos variando entre os quadrantes norte (N e NE) e oeste (O) (inverno: O, O e N; verão: NE, NE e N; para dia 1, 7 e 14, respectivamente). Esta combinação de força de maré e vento na região de estudo favorecem a renovação das águas na baía norte pela entrada de água marinha vindas do mar aberto, diminuindo o impacto do efluente fluvial podendo interferir nos dados físico-químicos da água.

2.4.5 Dados Químicos – sedimento

Os níveis de alquil benzeno lineares (ABLs) foram significativamente maiores no local contaminado em ambas estações (628,0 e 352,3 ng.g^{-1} , para inverno e verão respectivamente) (Tabela 03). Neste mesmo local foram observados os maiores níveis de coliformes fecais na água. A relação entre os isômeros de ABLs internos e externos variaram entre 0,3 e 0,8, com maiores valores no local contaminado tanto no inverno (0,8) quanto no verão (0,6) e os menores valores no local referência em ambas estações (0,3). A razão I/E é um índice de distribuição dos isômeros de ABLs (isômeros internos e externos) e é proposta como um indicador de degradação de ABLs por Takada & Ishiwatari (1990). Quanto maior for o valor desta relação, menor será a quantidade de isômeros externos, e conseqüentemente, uma maior degradação (Tsutsumi et al., 2002). Os isômeros externos são mais suscetíveis à degradação microbiana (Bayona et al., 1986; Tsutsumi et al., 2002;). Esta razão pode diminuir com o aumento da distância entre os pontos monitorados e a fonte poluidora (Gustafsson et al. 2001). Segundo Tsutsumi et al. (2002), baixos valores da relação I/E caracterizam uma maior degradação por bactérias aeróbicas e uma condição de contaminação recente por esgoto de origem doméstica. Além destes, níveis significativamente maiores de coprostanol, colestanol e colesterol, esteróis fecais indicadores de esgoto doméstico, foram observados no sedimento do local contaminado em relação ao do cultivo e do local referência nas duas estações (Tabela 03).

Tabela 3

Contaminantes orgânicos e esteróis fecais no sedimento dos pontos monitorados durante o inverno (agosto/setembro de 2006) e verão (março de 2007). Σ ABLs = alquil benzeno lineares totais (ng.g^{-1} – peso seco); Coprostanol, Colesterol e Colestanol ($\mu\text{g.g}^{-1}$ – peso seco).

Parâmetro	Inverno			Verão		
	Contaminado	Cultivo	Referência	Contaminado	Cultivo	Referência
Σ ABLs	628,00	464,70	313,80	352,30	112,30	194,10
Coprostanol	5,40	-	-	4,42	-	0,13
Colesterol	2,95	-	0,07	3,36	-	5,85
Colestanol	1,47	-	-	1,35	-	0,79

2.4.6 Dados Químicos – ostras

Os níveis de HPAs totais nas ostras foram significativamente maiores nos animais que permaneceram por 14 dias no local contaminado, quando comparado aos locais referência e cultivo (Tabela 04).

No inverno, os animais que permaneceram no local contaminado apresentaram praticamente o dobro da concentração de BPCs totais do que os animais dos outros locais (Tabela 04). No verão esta diferença não foi observada.

O nível de ABLs nos animais do local contaminado foram significativamente maiores do que os animais dos demais locais (Tabela 04). No inverno estes valores foram quase cinco vezes maiores no local contaminado do que nos demais locais e no verão cerca de três vezes maior (Tabela 04). A relação entre os isômeros de ABLs internos externos variaram entre 0,64 e 2,11, sendo que os maiores valores foram encontrados nas ostras expostas no local contaminado em ambas as estações (2,11 e 1,86, para inverno e verão, respectivamente).

Os níveis de pesticidas organoclorados (Σ DDT's) foram maiores nos animais do local contaminado tanto no inverno ($7,00 \text{ ng.g}^{-1}$), quanto no verão ($7,18 \text{ ng.g}^{-1}$) (Tabela 04). Nos animais dos demais locais estes valores estiveram abaixo do limite de detecção do método (<LDM) e no verão foram menores que os do local contaminado ($5,56$ e $4,26 \text{ ng.g}^{-1}$). Dentre os compostos de DDT's analisados, o composto p.p'-DDE (*4,4'-diclorodifenil-1,1'dicloroetileno*) foi o único que apresentou valores acima do limite de detecção do métodos. Este composto é o maior e mais persistente metabólito de diclorodifeniltricloroetano (DDT) (Gunther et al., 1999; Zhaobin & Jianying, 2008).

Tabela 4

Contaminantes orgânicos nas amostras de *Crassostrea gigas* expostas a efluentes de esgoto doméstico durante o inverno (agosto/setembro de 2006) e verão (março de 2007). Σ BPCs = bifenilos policlorados totais (ng.g^{-1} – peso seco); Σ HPAs = hidrocarbonetos poliaromáticos (ng.g^{-1} – peso seco); Σ ABLs = alquil benzeno lineares totais (ng.g^{-1} – peso seco); Σ DDTs = pesticidas organoclorados totais (ng.g^{-1} – peso seco); <LDM = abaixo do limite de detecção do método.

Parâmetro	Inverno			Verão		
	Contaminado	Cultivo	Referência	Contaminado	Cultivo	Referência
Σ BPCs	44,70	23,50	23,40	38,60	38,60	31,80
Σ HPAs	335,00	97,00	100,00	249,00	111,00	174,00
Σ ABLs	965,00	210,00	178,00	354,00	118,00	85,80
Σ DDTs	7,00	<LDM	<LDM	7,18	5,56	4,26

2.4.7 Atividade Enzimática

2.4.7.1 Superóxido Dismutase (SOD)

No inverno os animais mantidos no local contaminado apresentaram uma atividade significativamente maior da SOD na glândula digestiva e significativamente menor da SOD na brânquia do que os animais dos outros locais (Figura 02A). No verão nenhuma alteração na atividade da SOD em ambos tecidos dos animais expostos foi observada.

2.4.7.2 Catalase (CAT)

Nenhuma alteração na atividade da CAT em glândula digestiva e brânquias das ostras mantidas nos diferentes locais e épocas do ano foram observadas (Figura 02B).

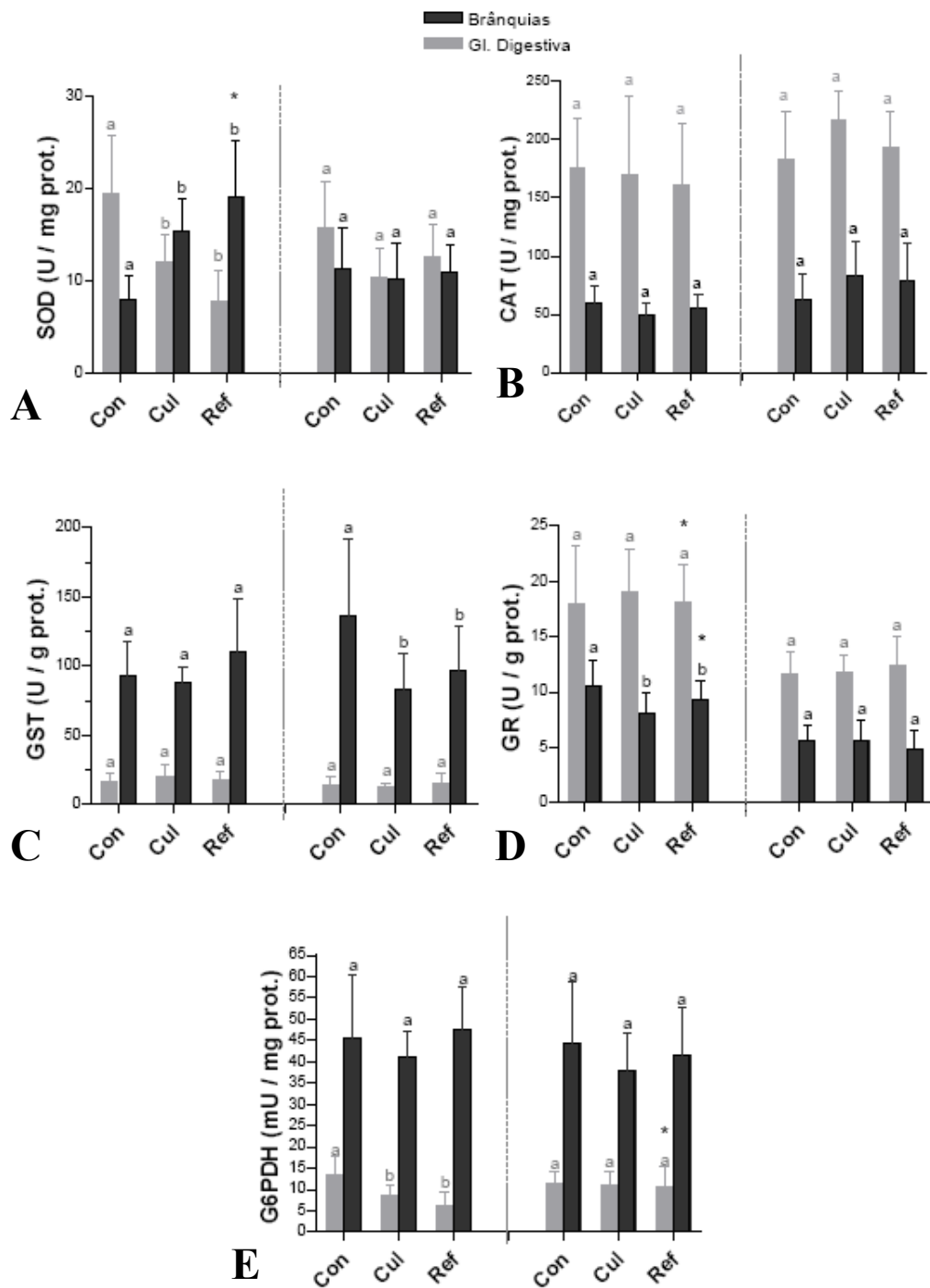


Figura 2 - Atividades enzimáticas analisadas em *C. gigas* expostas a efluentes de esgoto doméstico em agosto/setembro de 2006 (inverno) e março de 2007 (verão). Os valores estão como média \pm desvio padrão ($n=9$) para superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutiona S-transferase (GST), glutiona redutase (GR) e glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH). As diferenças significativas entre pontos ($p < 0,05$) foram identificadas por letras. Diferenças sazonais, utilizando os pontos referência, foram identificadas por asterisco (*).

2.4.7.3 Glutaciona S-transferase (GST)

No inverno não foi observada diferença entre os pontos monitorados na atividade da GST da brânquia e da glândula digestiva das ostras expostas (Figura 02C). No verão os animais do local

contaminado apresentaram uma atividade significativamente maior da GST ($137,11 \pm 54,57 \text{ mU} \cdot \text{mg}^{-1}$ proteína) do que os animais do cultivo e referência ($83,24 \pm 26,17$ e $96,49 \pm 32,95 \text{ mU} \cdot \text{mg}^{-1}$ proteína, respectivamente). Nenhuma variação sazonal foi observada na atividade da GST na brânquia e na glândula digestiva. A atividade da GST nas brânquias foi em média aproximadamente 6 vezes maior do que na glândula digestiva em todos os locais e períodos analisados.

2.4.7.4 *Glutathione Redutase (GR)*

A atividade da GR nas brânquias das ostras mantidas no local contaminado no inverno foi significativamente maior que a dos demais grupos (Figura 02D). No verão esta diferença não foi observada. Nenhuma alteração na atividade da GR de glândula digestiva foi observada tanto entre os grupos de verão, como nos de inverno. A atividade da GR de ambos tecidos dos animais referência no inverno foi significativamente maior que dos animais do verão, o que indica a existência de um efeito sazonal sobre a atividade desta enzima.

2.4.7.5 *Glicose 6-Fosfato Desidrogenase (G6PDH)*

A atividade da G6PDH na brânquia das ostras mantidas nos diferentes locais no inverno e no verão não apresentou alterações significativas. Da mesma forma, não houve variação na atividade da G6PDH da glândula digestiva dos animais dos diferentes locais no experimento de verão. No entanto, as ostras mantidas no local contaminado no inverno apresentaram uma maior atividade da G6PDH na glândula digestiva, comparado com os organismos dos outros locais (Figura 02E).

Os animais do local referência apresentaram uma atividade da G6PDH da GD significativamente maior no verão do que no inverno, o que sugere a existência de um efeito sazonal sobre esta enzima.

2.4.8 *Estatística Multivariada*

2.4.8.1 *Análise de Componente Principal*

Para a caracterização dos pontos monitorados, os dados de qualidade de água e os contaminantes orgânicos foram submetidos à Análise de Componente Principal (PCA – *Principal Components Analysis*). Os resultados foram significativos, com os dois eixos dos gráficos representando cerca de 90,57% dos dados amostrados, sugerindo a existência de uma forte relação entre o local contaminado em ambas as estações com os contaminantes, representados pelos vetores. Os contaminantes ABLs e esteróis fecais encontrados no sedimento, ABLs, HPAs, BPCs, DDTs em ostras, além dos coliformes fecais encontrados nas amostras de água estão direcionados para o local contaminado (Figura 03).

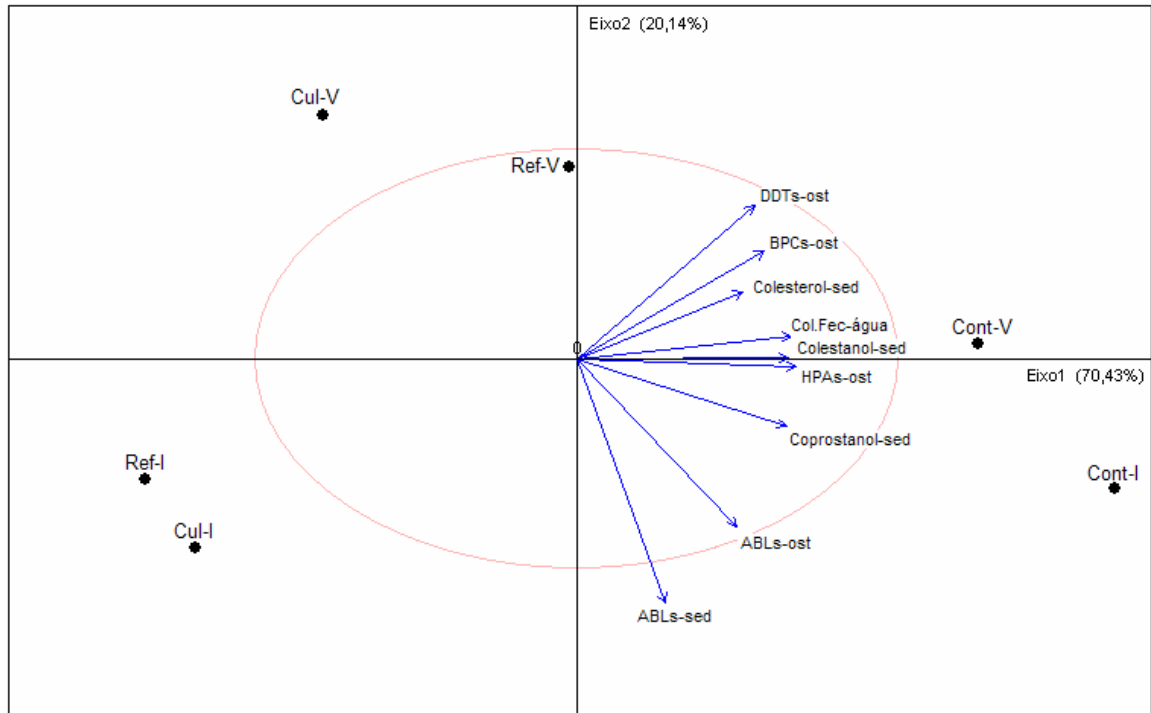


Figura 3 - Resultados da análise de componente principal (PCA) utilizando os contaminantes encontrados e os pontos monitorados. Cont = contaminado; Cul = cultivo; Ref = referência; I = inverno; V = verão; ABLs = alquil benzeno lineares; HPAs = hidrocarbonetos poliaromáticos; Col.Fec. = coliformes fecais; BPCs = bifenilos policlorados; DDTs = pesticidas; ost = ostra; sed = sedimento.

2.4.8.2 Análise Canônica de Correspondência

Para avaliar a possível interação entre os fatores bióticos (respostas enzimáticas) e abióticos (contaminantes) foi realizada uma Análise Multivariada Canônica de Correspondência (CCA). Esta análise nos permite interrelacionar fatores abióticos categóricos (Ex: contaminado, cultivo e referência) e numéricos (Ex: concentração dos contaminantes e atividades enzimáticas). O gráfico obtido representa em dois eixos cerca de 88% dos dados utilizados. A atividade da SOD analisada em GD apresentou interação com o coprostanol e colestanol (esteróis fecais) encontrados no sedimento e HPAs e ABLs encontrados nas ostras. A G6PDH analisada em GD apresentou interação com os coliformes fecais em água, BPCs e DDTs em ostras e colesterol no sedimento. Os resultados ainda sugerem que existe uma interação da atividade da GR em BR com os ABLs no sedimento. Observamos que durante o inverno existe uma maior diferenciação entre os pontos monitorados, com a atividade da SOD e G6PDH em GD muito bem relacionada com o ponto contaminado. Durante o verão uma similaridade aparece entre os pontos, podendo estar diretamente relacionada com a precipitação, porém confirmando a contaminação devido à proximidade do ponto contaminado com o eixo 01 (Figura 04).

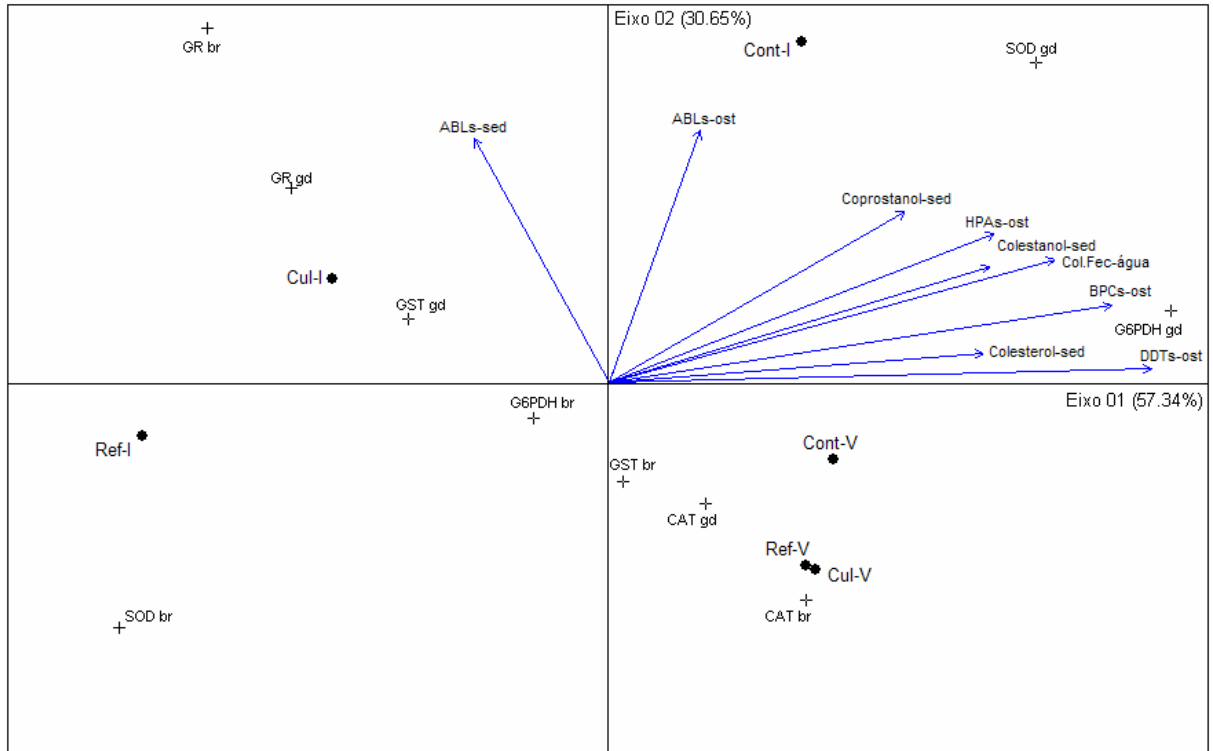


Figura 4 – Resultados da análise canônica de correspondência (CCA) utilizando dados categóricos e numéricos. Cont = contaminado; Cul = cultivo; Ref = referência; I = inverno; V = verão; ABLs = alquil benzeno lineares; HPAs = hidrocarbonetos poliaromáticos; Col.Fec. = coliformes fecais; BPCs = bifenilos policlorados; DDTs = pesticidas; ost = ostra; sed = sedimento; SOD = superóxido dismutase; G6PDH = glicose 6-fosfato desidrogenase; CAT = catalase; GST = glutatona S-transferase; GR = glutatona redutase; gd = glândula digestiva; br = brânquia.

2.5 Discussão

Pesquisas sobre a qualidade ambiental utilizando moluscos marinhos como organismos sentinelas são frequentemente encontradas na literatura (Bainy et al., 2000; Cajaraville et al., 2000; Cheung et al., 2001; Cheung et al., 2002; Lau & Wong, 2003; Nascimento et al., 1998; Sheehan & Power, 1999;), porém somente uma pequena parcela destes trabalhos tem se dedicado a avaliar a acumulação de contaminantes por organismos expostos e as respostas bioquímicas decorrentes desta exposição. O presente estudo analisou no inverno e no verão a resposta de alguns biomarcadores bioquímicos em ostras do Pacífico *Crassostrea gigas* mantidas durante 14 dias em um local contaminado, uma área de cultivo de moluscos marinhos (distante 2200 m do local contaminado) e um local de referência (distante 5500 m do local contaminado), obedecendo um gradiente de diluição dos contaminantes.

A temperatura, a salinidade e o pH da água dos pontos monitorados foram bastante semelhantes. Os altos níveis de DBO e coliformes fecais na água do local escolhido como contaminado sugerem a existência de contaminação por esgoto doméstico. Outros indicadores do aporte de esgoto, tais como níveis de ABLs e os esteróis fecais (coprostanol, colestanol e colesterol) no sedimento, estavam elevados no local contaminado, corroborando com esta hipótese. No verão os níveis de coliformes fecais no local referência e no cultivo foram superiores aos observados no inverno, o que pode estar relacionado com índices mais elevados de precipitação pluviométrica e

produção de esgoto doméstico gerados pela população flutuante neste período experimental (turistas). Com o aumento no volume de água de origem pluvial e condições de maré vazante, o gradiente de contaminação poderia estar avançando em direção ao mar, atingindo os demais locais monitorados.

Os valores de coliformes fecais observados durante o experimento em muitos momentos ultrapassaram o limite definido pela Resolução Conama N^o 357/2005 (CONAMA, 2005), que estabelece em 43 NMP/100 ml para áreas próprias de cultivo de moluscos marinhos. Da mesma forma, a ANZECC (*Australian and New Zealand Environmental Conservation Council*) refere-se como limite para contatos primários os valores de 150 NMP/100 ml (Shah et al., 2007). Segundo o CSSP (*Canadian Shellfish Sanitation Program*) o limite para cultivos de moluscos é de 14 NMP/100ml, sendo que apenas 10% das amostras poderão exceder 43 NMP/100ml (CSSP, 2008).

Os ABLs podem ter como origem o esgoto doméstico ou industrial que não sofrem tratamento adequado antes de ser descartado em rios ou oceanos (Takada et al, 1992). Os valores encontrados neste estudo (112,3 - 628,0 ng.g⁻¹) são semelhantes aos encontrados em regiões estuarinas urbanizadas (Isobe et a., 2004; Medeiros et al., 2005; Tsutsumi et al., 2002) e maiores quando comparados com dados de regiões costeiras de mar aberto (1,7 – 92,9 ng.g⁻¹) (Macías-Zamora & Ramírez-Alvarez, 2004). Medeiros & Bicego (2004) obtiveram valores entre 25,3 e 430,6 (ng.g⁻¹) em sedimentos da Baía de Santos. A presença de ABLs em pontos distantes das fontes de introdução pode ser explicada pela hipótese de que os ABLs são adsorvidos por partículas de baixa densidade (Isobe et al., 2004), incluindo material coloidal, podendo essa associação transportar os ABLs por grandes distâncias (Takada et al., 1992). Pela razão I/E, os índices nas amostras do local contaminado foram as maiores encontradas, sugerindo a introdução recente de esgoto. Os valores da razão I/E encontrados no local contaminado são semelhantes aos encontrados para esgotos brutos e efluentes oriundos de tratamentos primários (0,7 - 0,8 e 0,5 - 0,9, respectivamente) por Takada & Eganhouse (1998), e aos menores valores encontrados no sedimentos da região do sul e sudeste asiático (Isobe et al., 2004).

Diferente dos isômeros de ABLs, o coprostanol e outros esteróis fecais podem persistir no meio ambiente, especialmente nos sedimentos, tornando ambígua a informações sobre uma recente contaminação fecal (Isobe et al., 2002; Pitt, 2001, Savichtcheva & Okabe, 2006). O coprostanol é um dos principais esteróis fecais excretado por seres humanos e animais (Savichtcheva & Okabe, 2006). É hidrofóbico, sendo facilmente associado com partículas de esgotos e de água, podendo ser incorporado nos sedimentos e preservado por um longo tempo sob condição de anoxia sem significativa biodegradação (Isobe et al., 2002). Segundo Nichols et al. (1993), valores acima de 0,5 µg/g de coprostanol estão na faixa de concentração de regiões poluídas muito próximas às descargas de esgoto. Sedimentos com valores de coprostanol acima de 0,010 µg/g têm sido considerados como provenientes de áreas adversamente contaminadas por esgoto (Writer et al., 1995). Grimalt et al. (1990) observaram que sedimentos de áreas urbanas e remotas apresentaram níveis de coprostanol entre 0,41 e 3,5 µg/g. Leeming & Nichols (1996) sugerem que valores entre 0,06 e 0,4 µg/g limitam a utilização as águas para contatos primários e secundários em ambientes estuarinos. Relacionando os valores de coprostanol com os limites de coliformes fecais propostos pela ANZECC (*Australian and*

New Zealand Environmental Conservation Council), para contatos primários foi estabelecido que os valores devem permanecer abaixo de 0,15 µg/g (Shah et al., 2007). A diminuição da concentração de coprostanol observada no local contaminado pode evidenciar o transporte destes compostos associado à partículas em suspensão, principalmente durante o verão (precipitação). O colestanol pode ser produzido por organismos fitoplanctônicos e também como intermediário nas transformações do colesterol. O colesterol é um precursor do coprostanol encontrado no tubo digestivo dos mamíferos, em ovos, leites e gorduras e, por conseguinte, não é tão específico para a contaminação fecal (Savichtcheva & Okabe, 2006). Porém, segundo as relações descritas por Mudge & Norris (1997), Writer et al. (1995) e Grimalt et al. (1990), entre coprostanol, colestanol e colesterol, podemos concluir que o rio Bücheler (ponto contaminado) é uma região impactada por esgoto doméstico (Tabela 5).

Tabela 5

Relações entre esteróis fecais encontrados no sedimento dos pontos monitorados durante o inverno (agosto/setembro de 2006) e verão (março de 2007). Con = contaminado; Cul = cultivo; Ref = referência. (relações não encontradas no ponto do cultivo (inverno e verão) e referência (inverno) devido a ausência de pelo menos um dos esteróis).

Relações entre esteróis fecais	Inverno			Verão			Índices	Referência
	Con	Cul	Ref	Con	Cul	Ref		
Coprostanol/(Coprostanol+Colestanol)	0,79	0,77	...	0,14	0,7 - 1,0	Grimalt <i>et al.</i> , 1990
Coprostanol/(Colesterol+Colestanol)	1,22	0,94	...	0,02	> 0,06	Writer <i>et al.</i> , 1995
Coprostanol/Colesterol	1,83	1,32	...	0,02	> 1,0	Mudge & Norris, 1997

Shah et al. (2007) recentemente concluíram que elevados níveis de coprostanol podem ser indicativos de contaminação humana, mas não necessariamente estão associados a valores altos de coliformes fecais, não apresentando uma correlação direta e constante. Leeming & Nichols (1996) sugerem que os coliformes fecais estariam diretamente relacionados com a presença de coprostanol. Em ambientes aquáticos e sob condições aeróbicas, a presença de coprostanol sugere poluição fecal relativamente recente (Savichtcheva & Okabe, 2006).

Os bifenilos policlorados (BPCs), amplamente utilizados no passado como fluídos dielétricos em capacitores e transformadores, são conhecidos pela sua persistência no ambiente, com ocorrência e distribuição global (Tanabe, 1988). Esses compostos podem entrar na atmosfera sob a forma particulada ou de vapor, sendo que ambas as formas coexistem (Wheatley, 1973). A remoção dos BPCs para o oceano é feita principalmente pela ação das chuvas e depende da partição na interface ar/água (Montone, 1995). Uma vez no oceano, os BPCs são distribuídos e transferidos através da coluna d'água, biota e sedimento. A produção e comercialização dos bifenilos policlorados no Brasil está proibida desde 1981 (Portaria Interministerial nº 19, de 02 de janeiro de 1981), entretanto, capacitores e transformadores que contêm esses produtos ainda têm seu uso permitido até a substituição por um produto isento de BPCs. Apesar de presentes nas amostras deste estudo, as concentrações podem ser consideradas baixas se comparadas a outras regiões. Na Costa da Tasmânia, Mondon et al. (2001) encontraram valores entre 1499 e 8836 ng.g⁻¹ lipídeo em amostras de *Crassostrea gigas*. Porém, os valores encontrados por pesquisadores em regiões estuarinas na China são semelhantes aos encontrados nos animais deste estudo (Chen et al., 2002; Fung et al.,

2004;). Wei et al. (2006), analisando invertebrados marinhos (mexilhões, ostras e camarões), obtiveram valores entre 2,1 e 108,8 ng.g⁻¹, que segundo os pesquisadores podem causar efeitos deletérios na saúde de populações que consomem grandes quantidades de pescados. As concentrações iguais 100 ng.g⁻¹ podem ser consideradas de média poluição segundo o critério estabelecido pelo Grupo Conjunto de Controle Contínuo da Poluição das Convenções de Oslo e Paris (JMG) para avaliação dos dados do Programa Conjunto de Controle da Poluição (JMP) (Benoliel, 1986).

A entrada dos pesticidas organoclorados no ambiente marinho ocorre de diversas maneiras, tais como pelo carreamento dos compostos pelas chuvas, lençóis freáticos e rios. Ocorre também à introdução devido ao transporte atmosférico dos defensivos que se dispersam durante a sua aplicação e se associam à matéria orgânica na água (Clark, 1992). O grupo dos DDTs é fortemente adsorvido aos detritos e às partículas de sedimentos. A acumulação do DDT no sedimento e sua contínua re-exposição na coluna d'água é uma das principais fontes de contaminação da biota existente nos ecossistemas costeiros (Young et al., 1977). As maiores concentrações foram encontradas no local contaminado tanto no inverno quanto no verão. Para os demais locais monitorados, observamos a presença apenas na exposição de verão, podendo este resultado ter relação direta com a precipitação e o aumento do volume de esgoto doméstico devido ao aumento da população (turistas). Apesar de identificada a contaminação, esses valores podem ser considerados baixos se comparados com aqueles onde houve uma aplicação direta de DDT no ambiente, bem como abaixo da concentração máxima recomendada para consumo humano pela *Environmental Protection Agency* (EPA) que é de 14,4 ng.g⁻¹ (Zhou et al., 2008). Os bivalves analisados da região Nordeste por Taniguchi (1995) e Sericano et al. (1995), dentro do programa *International Mussel Watch*, apresentaram altos níveis de DDT nas amostras coletadas em São Luís do Maranhão (184,73 ng.g⁻¹ peso seco) e Fortaleza (130 ng.g⁻¹ peso seco). Nessas regiões, o DDT foi aplicado em grande escala para combater o vetor transmissor da malária. Tavares et al. (1988) determinaram valores baixos (6 ng.g⁻¹ peso seco, considerando 80% de umidade) de DDTs em bivalves da Baía de Todos os Santos, valores muito próximos às concentrações encontradas neste trabalho. Dentre os compostos analisados, observamos que apenas o composto p,p'-DDE (4,4'-diclorodifenil-1,1'-dicloroetileno) apresentou valores acima do limite de detecção do método. O p,p'-DDE é um produto da degradação do pesticida DDT e é relatado como um disruptor endócrino, com atividades anti-androgênica (Kelce et al. 1995). Segundo Garcia-Reyero et al. (2006), este metabólito afeta a expressão de genes envolvidos com o sistema endócrino, como a síntese hormonal, metabolismo e a ativação receptores endócrinos. Inexistem trabalhos relatando os impactos deste composto sobre o sistema hormonal em moluscos marinhos. Zhaobin e Jianying (2008), observaram desenvolvimento gonadal anormal em peixes expostos ao p,p'-DDE.

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) originam-se da queima de combustíveis fósseis e derivados, e em menor proporção da queima de biomassa vegetal e diagênese de precursores naturais (Law & Biscaya, 1994). As concentrações mais altas encontradas no local contaminado em ambas estações são próximas às relatadas por Sericano et al. (1995) para mexilhões em regiões que sofrem com a introdução de esgoto doméstico, industrial e de

contaminantes provenientes de portos (380 e 740 ng.g^{-1} peso seco). Yim et al. (2002) encontraram níveis semelhantes de HPAs totais (144 a 664 ng.g^{-1}) aos deste trabalho em *Crassostrea gigas* coletas em uma região da Coréia após 5 anos da ocorrência de um derrame de petróleo de grandes proporções. Oros & Ross (2005) analisando HPAs em *C. gigas* do Estuário de São Francisco (Califórnia, EUA), região sujeita a diversas fontes de contaminação como efluentes domésticos e industriais, encontraram concentrações que variaram de 184 a 6899 ng.g^{-1} . Somente as concentrações mais baixas encontradas por esses autores são equivalentes aos níveis de HPAs observados nas ostras deste trabalho. Uma avaliação realizada em *Mytilus edulis* na Baía do rio Seine (França) apresentou valores de HPAs próximos aos encontrados neste estudo (15,2 e 447,0 ng.g^{-1}) (Rocher et al., 2006). Baumard et al. (1998) consideram que o ambiente tem baixo grau de poluição por HPAs entre valores de 0 e 100 ng.g^{-1} e moderado entre 100 e 1000 ng.g^{-1} . Desta forma, a maioria das amostras apresenta-se na faixa de moderado grau de poluição. Observamos que os valores encontrados no local contaminado são maiores no inverno do que no verão. Orbea et al. (2002) observaram resultados semelhantes, com maiores concentrações de HPAs durante o inverno em mexilhões *Mytilus galloprovincialis* e ostras *Crassostrea sp.* As concentrações no local de cultivo e referência apresentaram comportamento inverso. Este resultado pode ter relação direta com a precipitação, onde a chuva dilui a concentração pelo aporte de água doce, porém faz com que a pluma contaminante avance sobre o mar.

As concentrações de alquil benzeno lineares totais (ABLs) determinadas em *C. gigas* mais altas foram detectadas na amostra do local contaminado, tanto no inverno (965 ng.g^{-1}) quanto no verão (354 ng.g^{-1}). Não há registros de ABLs em ostras, somente em mexilhões como descrito por Tsutsumi et al. (2002), que relataram concentrações de ABLs no intervalo entre 10 e 1640 ng.g^{-1} peso seco nas costas sul e sudeste da Ásia e uma relação entre isômeros internos e externos entre 1,23 e 3,04. A região metropolitana de Tóquio, por exemplo, apresentou altas concentrações de ABLs (1000-1760 ng.g^{-1}), enquanto as regiões afastadas da cidade apresentaram concentrações mais baixas (71-350 ng.g^{-1}). Estes resultados se assemelham aos encontrados neste estudo. As amostras coletadas no inverno e verão mostraram concentrações decrescentes à medida que os locais estavam mais afastados da costa. Observamos ainda que os valores estavam menores no verão em todos os locais monitorados, podendo ter relação direta com a precipitação. Corroborando com os dados encontrados no sedimento, a razão I/E nas ostras variou de 0,64 a 2,11, sendo que os maiores valores foram observados no local contaminado tanto no inverno (2,11), quanto no verão (1,86), devido a uma concentração maior de isômeros internos, sugerindo a introdução recente de esgoto e maior degradação.

Em relação aos fatores bióticos analisados neste estudo, observamos que as respostas enzimáticas encontradas variaram de acordo com o tecido analisado. Maiores atividades de CAT e GR foram observadas na glândula digestiva (GD), e maiores valores de GST e G6PDH foram observados nas brânquias (BR). A enzima SOD não apresentou diferença entre os tecidos analisados. Cossu et al. (1997), analisando moluscos bivalves de água doce *Unio tumidus*, observaram resultados para CAT e SOD semelhantes aos resultados deste estudo. Manduzio et al. (2004) observaram resultados semelhantes para GST analisados em brânquias do mexilhão *Mytilus*

edulis. Almeida et al. (2005), encontraram resultados semelhantes para CAT, GST, G6PDH e SOD em mexilhões *Perna perna*.

As brânquias e a glândula digestiva dos moluscos bivalves desempenham um papel importante na alimentação, através da obtenção, digestão e absorção. A exposição crônica de bivalves a poluentes na água e sedimento, prejudica a absorção de nutrientes, comprometendo o crescimento e a reprodução (Au, 2004).

Em glândula digestiva (GD), órgão diretamente relacionado com o processamento dos alimentos, as respostas enzimáticas tiveram maior atividade da SOD e da G6PDH durante o inverno no local contaminado. Diferentes estudos demonstram o aumento da atividade da enzima antioxidante SOD em bivalves marinhos expostos a HPAs (Niyogi et al., 2001; Porte et al., 1991; Solé et al., 1995) e BPCs (Orbea et al., 2002). A glândula digestiva é um importante local de acumulação, detoxificação e de excreção de contaminantes orgânicos e inorgânicos, e uma crescente atenção vem sendo dada às alterações histo e citopatológicas em moluscos bivalves (Au, 2004). A alta atividade da enzima G6PDH observada nos animais expostos no local contaminado neste estudo possivelmente está relacionada com a necessidade de aumento na produção de NADPH (via pentoses fosfato), principal doador de elétrons para a manutenção da glutathiona no estado reduzido através da glutathiona redutase. Vaschenko & Kotsyuba (2008), através de análises citoquímicas quantificaram a atividade da produção de NADPH em mexilhões *Crenomytilus grayanus* e observaram uma maior produção na glândula digestiva em animais expostos em áreas poluídas. Maiores atividades de outras enzimas dependentes de NADPH (quinona oxireductase e NADPH-ferrohemoproteína redutase) foram observadas na glândula digestiva do mexilhão *Mytilus edulis* e correlacionadas com a contaminação de BPCs e HPAs em áreas urbanizadas (Krishnakumar et al., 1995). Estas enzimas estão envolvidas na biotransformação de xenobióticos na glândula digestiva (Vaschenko & Kotsyuba, 2008).

Devida à elevada capacidade de filtração dos moluscos bivalves, as brânquias estão expostas continuamente à água, podendo concentrar eventuais poluentes nela contida (Au, 2004; Le Pennecc & Le Pennecc, 2003). Com os resultados apresentados em brânquias neste experimento, observamos uma maior atividade, frente aos poluentes, da GST no verão, GR no inverno e inibição da SOD no inverno, no ponto contaminado. Bebianno et al. (2007) analisando a atividade da GST em brânquias do mexilhão *Mytilus galloprovincialis*, observaram comportamento semelhante durante o verão. Já Manduzio et al. (2004) observaram maiores atividades de GST em brânquias no inverno. Em experimentos *in situ*, a atividade desta enzima aumenta em locais contaminados com HPAs, correlacionando o aumento da atividade com a temperatura e eventos de chuva (Bainy et al., 2000; Bebianno et al., 2007). Rocher et al. (2006), observaram que a GST e a SOD em brânquias de mexilhão *Mytilus edulis* apresentaram correlação positiva com a contaminação por HPAs. Resultados semelhantes para GST foram observados em experimentos *in vitro* com o molusco bivalve *Pecten maximus* expostos a HPAs (Le Pennecc & Le Pennecc, 2003).

A G6PDH teve sua maior atividade na brânquia, porém neste tecido tivemos uma menor atividade da GR frente aos poluentes. De maneira inversamente proporcional, a GR teve maior atividade na glândula digestiva, tecido no qual a G6PDH apresentou diferença significativa entre os animais do local contaminado e os demais. Com base nestes resultados, pode-se sugerir que o

aumento da atividade da G6PDH e GR em *C. gigas* expostos ao esgoto doméstico ocorre de forma distinta entre os tecidos para fazer face ao aumento de pro-oxidantes celulares e/ou de depleção de NADPH/GSH empregado como substrato por enzimas antioxidantes e de biotransformação (Zanette et al., 2008).

Nenhuma diferença significativa ($p < 0,05$) na atividade da CAT foi observada entre os grupos experimentais. Resultados semelhantes foram observados por Bainy et al. (2000) em experimentos *in situ* na região da Baía Norte, quando foi avaliada a atividade desta enzima na glândula digestiva do mexilhão *Perna perna*.

Foi observada uma maior atividade da G6PDH em GD no verão e GR em BR no inverno. A SOD apresentou maior atividade frente aos poluentes em BR e inibição em GD no inverno. Não existe relatos de comportamento semelhante a este na literatura. Alterações sazonais nos biomarcadores têm sido associadas a alterações no estado fisiológico de ostras (ex.: crescimento e reprodução) ou nos parâmetros físico-químicos da água e em experimentos a curto prazo, podendo a precipitação influenciar as respostas de biomarcadores em ostras (Sheehan & Power, 1999; Zanette et al., 2006). Os resultados obtidos mostram que os biomarcadores não respondem similarmente entre os locais monitorados. Esta constatação está em conformidade com outros estudos de interação entre biomarcadores e a sazonalidade frente à contaminantes (Lafontaine et al., 2000; Manduzio et al., 2004)

Através da análise de PCA utilizando os dados abióticos ficou demonstrado que existe uma forte relação entre o local contaminado e os parâmetros que indicam a contaminação deste local encontrada na água (Coliformes Fecais), no sedimento (ABLs, Coprostanol, Colesterol, Colestanol) e nos animais expostos (HPAs, ABLs, BPCs e DDT's), em ambas estações. Os eixos 01 e 02 explicam 90,57% das interações entre os dados, reforçando esta hipótese. A PCA é comumente utilizada como ferramenta de análise de grupo de dados, buscando uma relação entre os mesmos e uma representação gráfica destas variações (Allen & Moore, 2004).

A análise canônica de correspondência dos dados bióticos e abióticos demonstrou a existência de uma interação entre as respostas enzimáticas e os contaminantes encontrados, com os eixos explicando 88% destas interações. Este tipo de análise multivariada evidencia as tendências e correlações indiretas entre as variáveis (Pereira et al., 2007). Neste trabalho foi observada uma maior concentração de contaminantes e coliformes no inverno no ponto contaminado, o que reforça a hipótese de que no verão a precipitação dilui os contaminantes presentes no local contaminado. Em contrapartida, a precipitação aumenta a área de alcance do efluente impactado (menores diferenças entre os pontos monitorados durante o verão).

A análise de componente principal para a caracterização dos locais monitorados e a análise canônica por correspondência para buscar possíveis interações entre os fatores bióticos e abióticos mostraram-se como um grupo de análises indicadas para experimentos de campo e caracterização do impacto antrópico.

2.6 Conclusões

O presente estudo demonstrou que em regiões costeiras urbanizadas a contaminação de águas de rios por emissão direta e/ou indireta de esgotos doméstico e/ou industriais são os maiores contribuintes na depreciação da qualidade ambiental de áreas costeiras e em áreas de cultivo de moluscos, principalmente em regiões de maior residência de águas, como baías e enseadas. Os contaminantes tendem a se concentrar em períodos de estação seca (inverno) nas regiões mais próximas à costa (praias e foz de rios), porém em estações chuvosas (verão), apesar da diluição, o impacto atinge maiores distâncias. A combinação da precipitação pluviométrica com o aumento do volume de esgoto doméstico gerado pelo consequente aumento da população (turistas) pode ter relação direta com os resultados encontrados neste estudo. O rio utilizado neste estudo é um pequeno contribuinte na região das Baías da Ilha de Florianópolis, porém é um dos mais impactados da região uma vez que drena uma região altamente urbanizada.

A ostra *C. gigas* serviu como um bom indicador da variação da concentração de contaminantes orgânicos no ambiente marinho amostrado e nas respostas bioquímicas, mostrando que esta espécie é um organismo sentinela adequado. Dentre as enzimas utilizadas neste estudo, a superóxido dismutase (SOD) e glicose 6-fosfato desidrogenase (G6PDH) analisadas em glândula de *C. gigas* demonstraram ser bons biomarcadores, indicadas para serem utilizadas futuramente em programas de monitoramento de ambiente marinhos impactados por esgoto doméstico, porém experimentos semelhantes deverão ser repetidos a fim de observar respostas similares.

Sugere-se que novos estudos sejam realizados a fim de monitorar outros contaminantes fluviais da região e avaliar o efeito isolado e a interação de fatores abióticos (influência da maré, fase da lua, ventos, seston, matéria orgânica particulada) e biótico (ritmo circadiano, estágio gonadal, sexo) nas atividades enzimáticas pela exposição ao esgoto em ambiente costeiro, para que estes parâmetros possam futuramente serem validados em programas ambientais desta natureza.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado pelo CNPq (Conselho Nacional para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico) através dos editais CTHIDRO (Processo 500088/2006-3) e UNIVERSAL (Processo 484328/2006-9). Os autores agradecem a todos os membros destes projetos envolvidos desde a exposição das ostras até a mensuração dos contaminantes orgânicos. Agradecemos também ao Laboratório de Moluscos Marinhos (UFSC), ao Prof. Dr. Jarbas Bonetti do Laboratório de Oceanografia Costeira (UFSC), ao Centro de Informação de Recursos Ambientais e de Hidrometeorologia de Santa Catarina (EPAGRI) e ao CMEA Escola do Mar (Prefeitura de São José, SC).

Referências

- Aebi, H. 1984. Catalase. In: Methods of enzymatic analysis, 105, 121 126 London: Academic Press.
- Allen, J.I. & Moore, M.N. 2004. Environmental prognostics: Is the current use of biomarkers appropriate for environmental risk evaluation? Marine Environmental Research 58, 227–232.

- Almeida, E.A., Bainy, A.C.D., Dafre, A.L., Gomes, O.F., Medeiros, M.H.G., Dimascio, P. 2005. Oxidative stress in digestive gland and gill of the brown mussel (*Perna perna*) exposed to air and re-submersed. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 318:1, 21-30.
- Almeida, E.A., Bainy, A.C.D., Loureiro, A.P.M., Martinez, G.R., Miyamoto, S., Onuki, J., Barbosa, L.F., Garcia, C.C.M., Prado, F.M., Ronsein, G.E., Sigolo, C.A., Brochini, C.B., Martins, A.M.G., Medeiros, M.H.G., Dimascio, P. 2007. Oxidative stress in *Perna perna* and other bivalves as indicators of environmental stress in the Brazilian marine environment: Antioxidants, lipid peroxidation and DNA damage. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 146:4, 588-600.
- Au, D.W.T. 2004. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 9-10, p. 817-834.
- Bainy, A.C.D., Almeida, E.A., Muller, I.C., Ventura, E.C., Medeiros, I.D. 2000. Biochemical responses in farmed mussel *Perna perna* transplanted to contaminated sites on Santa Catarina Island, SC, Brazil. *Marine Environmental Research* 50, 411-416.
- Baumard, P., Budzinski, H., Michon, Q., Garrigues, P., Burgeot, T., Bellocq, J. 1998. Origin and bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from mussel and sediment records. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 47:1, 77-90.
- Barrera, G., Pizzimenti, S., Dinzani, M.U. 2008. Lipid peroxidation: control of cell proliferation, cell differentiation and cell death. *Molecular Aspects of Medicine* 29:1-2, 1-8.
- Bayona, J.M., Albaigés, J., Solanas, A.M., Grifoll, M. 1986. Selective aerobic degradation of linear alkylbenzenes by pure microbial cultures. *Chemosphere* 15:5, 595-598.
- Bebianno, M.J., Lopes, B., Guerra, L., Hoarau, P., Ferreira, A.M. 2007. Glutathione S-transferases and cytochrome P450 activities in *Mytilus galloprovincialis* from the South coast of Portugal: Effect of abiotic factors. *Environment International* 33:4, 550-558.
- Beliaeff, B. & Burgeot, T. 2002. Integrated biomarker response: a useful tool for ecological risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21:6, 1316-1322.
- Benoiel, M.J. 1986. Pesticidas organoclorados e policlorobifenis em mexilhão na Costa Portuguesa – “Mussel Watch”. In: *Anais do Instituto Hidrográfico* 7, 75 – 77.
- Boonyatumanond, R., Wattayakorn, G., Amano, A., Inouchi, Y., Takada, H. 2007. Reconstruction of pollution history of organic contaminants in the upper Gulf of Thailand by using sediment cores: First report from Tropical Asia Core (TACO) project. *Marine Pollution Bulletin* 54:5, 554-565.
- Cajaraville, M.P., Bebianno, M.J., Blasco, J., Porte, C., Sarasquete, C., Viarengo, A. 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *The Science of the Total Environment* 247, 295-311.
- Carlberg, I. & Mannervik, B. 1985. Glutathione reductase. *Methods Enzymol* 113: 484 - 490.
- Castro, L. & Freeman, B.A. 2001. Reactive oxygen species in human health and disease. *Nutrition* 17:2, 161-165.
- Chen, W., Zhang, L., Xu, L., Wang, X., Hong, L., Hong, H. 2002. Residue levels of HCHs, DDTs and PCBs in shellfish from coastal areas of east Xiamen Island and Minjiang Estuary, China. *Marine Pollution Bulletin* 45, 385-390.
- Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Li, A., Richardson, B.J., Lam, P.K.S. 2001. Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicology* 52, 189-203.

Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Lam, P.K.S., Richardson, B.J. 2002. Relationships between tissue concentrations of chlorinated hydrocarbons (polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticides) and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Marine Pollution Bulletin* 45, 181-191.

CLARK, R.B. 1992. *Marine Pollution*. Oxford: Claredo Press.

Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). 2005. Resolução N^o 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível no endereço: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>, acessado em 20 de julho de 2008 às 10:16h.

Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M.C., Babut, M., Exinger, A., Vasseur, P. 1997. Glutathione Reductase, Selenium-Dependent Glutathione Peroxidase, Glutathione Levels, and Lipid Peroxidation in Freshwater Bivalves, *Unio tumidus*, as Biomarkers of Aquatic Contamination in Field Studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 38, 122–131.

Capuzzo, J. M. 1996. The bioaccumulation and biological effects of lipophilic organic contaminants. In: Kennedy, V.S., Newell, R.I.E., Eble, A.F. (Eds.), *The Eastern oyster: Crassostrea virginica*, pp. 539-557. Maryland Sea Grant College: Silverspring.

Covarrubias, L., Hernández-García, D., Schnabel, D., Salas-Vidal, E., Castro-Obregón, S. 2008. Function of reactive oxygen species during animal development: Passive or active? *Developmental Biology*, In Press, Corrected Proof, Available online 11 May 2008. doi:10.1016/j.ydbio.2008.04.041.

Canadian Shellfish Sanitation Program (CSSP), 2008. Disponível no endereço: <http://www.atl.ec.gc.ca/epb/sfish/cssp.html>, acessado em 19 de agosto de 2008 às 15:25h. 19/8/2008

Davies, 1995. K.J.A. Davies, Oxidative stress, the paradox of aerobic life. In: C. Rice-Evans, B. Halliwell and G.G. Land, Editors, *Free Radical and Oxidative*

FAO. 1998. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Aquaculture productions statistics 1987-1996. FAO fisheries circular. 815, (10). Rome, Italy, 197p.

Fowler, B. A. 2005. Molecular biomarkers: Challenges and prospects for the future. *Toxicology and Applied Pharmacology* 206, Editorial, 97p.

Fung, C.N., Lam, J.C.W., Zheng, G.J., Connell, D.W., Monirith, I., Tanabe, S., Richardson, B.J., Lam, P.K.S. 2004. Mussel-based monitoring of trace metal and organic contaminants along the east coast of China using *Perna viridis* and *Mytilus edulis*. *Environmental Pollution* 127, 203–216.

Garcia-Reyero, N., Barber, D., Gross, T., Denslow, N. 2006. Modeling of gene expression pattern alteration by p,p'-DDE and dieldrin in largemouth bass. *Marine Environmental Research* 62, 415–419.

Genestra, M. 2007. Oxy radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling* 19:9, 1807-1819.

Glock, G.E. & Mclean, L.P. 1953. Further studies on the properties and assay of glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase of rat liver. *Biochemistry Journal* 55, 400 - 408.

Goetz, M.E. & Luch, A. 2008. Reactive species: A cell damaging route assisting to chemical carcinogens. *Cancer Letters* 266:1, 73-83.

Grimalt, J.O., Fernández, P., Bayona, J.M., Albaigés, J. 1990. Assessment of fecal sterols and ketones as indicators of urban sewage inputs to coastal waters. *Environmental Science and Technology* 24:3, 357–363.

- Gunther, A.J., Davis, J.A., Hardin, D.D., Gold, J., Bell, D., Crick, J.R., Scelfo, G.M., Sericano, J., Stephenson, M. 1999. Long-term bioaccumulation monitoring with transplanted bivalves in the San Francisco Bay. *Marine Pollution Bulletin* 38, 170–181.
- Gustafsson, Ö., Long, C.M., Macfarlane, J., Gschwend, P.M. 2001. Fate of linear alkylbenzenes released to the coastal environment near Boston Harbor. *Environmental Science and Technology* 35, 2040 – 2048.
- Hunter, C.L., Stephenson, M.D., Tjeerdema, R.S., Crosby, D.G., Ichikawa, G.S., Goetzl, J.D., Paulson, K.S., Crane, D.B., Martin, M., Newman, J.W. 1995. Contaminants in oysters in Kaneohe Bay, Hawaii. *Marine Pollution Bulletin* 30, 646–654.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2004. In: *Indicadores de Desenvolvimento Sustentável – Brasil 2004. Dimensão Ambiental – Saneamento*, p. 156 – 164.
- Isobe, K.O., Tarao, M., Zakaria, M.P., Chiem, N., Minh, L.Y., Takada, H. 2002. Quantitative application of fecal sterols using gas chromatography–mass spectroscopy to investigate fecal pollution in tropical waters: Western Malaysia and Mekong Delta, Vietnam. *Environmental Science and Technology* 36:21, 4497–4507.
- Isobe, K.O., Zakaria, M.P., Chiem, N.H., Minh, L.Y., Prudente, M., Boonyatumanond, R., Saha, M., Sarkar, S., Takada, H. 2004. Distribution of linear alkylbenzenes (LABs) in riverine and coastal environments in South and Southeast Asia. *Water Research* 38:9, 2449-2459.
- Keen, J.H., Habig, W.H., Jakoby, W.B. 1976. Mechanism for the several activities of the glutathione S-transferase. *Journal of Biological Chemistry* 251, 6183-6188.
- Kelce, W.R., Stone, C.R., Laws, S.C., Gray, L.E., Kemppainen, J.A., Wilson, E.M. 1995. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen antagonist. *Nature* 375, 581–585.
- Kennish, M.J. 1991. *Ecology of Estuaries: Anthropogenic Effects*, pp. 494. London: CRC Press.
- Krishnakumar, P.K., Casillas, E., Varanasi, U. 1995. Effect of environmental contaminants on the health of *Mytilus edulis* from puget sound, Washington: Cytochemical measures of lysosomal responses and detoxifying enzymes using automatic image analysis. *Marine Environmental Research* 39:1-4, 361.
- Lafontaine, Y., Gagné, F., Blaise, C., Costan, G., Gagnon, P., Chan, H.M. 2000. Biomarkers in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) for the assessment and monitoring of water quality of the St. Lawrence River (Canada). *Aquatic Toxicology* 50:1-2, 51-71.
- Lau, P.S. & Wong, H.L. 2003. Effect of size, tissue parts and location on six biochemical markers in the green-lipped mussel, *Perna viridis*. *Marine Pollution Bulletin* 46, 1563-1572.
- Law, R.J. & Biscaya, J.L. 1994. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) – Problems and progress in sampling, analysis and interpretation. *Marine Pollution Bulletin* 29:4-5, 235-241.
- Leeming, R. & Nichols, P.D. 1996. Concentrations of coprostanol that correspond to existing bacterial indicator guideline limits. *Water Research* 30:12, 2997-3006.
- Le Pennec, G. & Le Pennec, M. 2003. Induction of glutathione-S-transferases in primary cultured digestive gland acini from the mollusk bivalve *Pecten maximus* (L.): application of a new cellular model in biomonitoring studies. *Aquatic Toxicology* 64:2, 131-142.
- López-Barea, J. 1996. Biomarkers to detect environmental pollution. *Toxicology Letters* 88, 79
- Macías-Zamora, J.V. & Ramírez-Alvarez, N. 2004. Tracing sewage pollution using linear alkylbenzenes (LABs) in surface sediments at the south end of the Southern California Bight. *Environmental Pollution* 130:2, 229-238.

- Macleod, W.D., Brown, D.W., Friedman, A.J., Burrows, D.G., Maynes, O., Pearce, R.W., Wigren, C.A., Bogar, R.G. 1986. Standard Analytical Procedures of the NOAA National Analytical Facility, 1985-1986. Extractable Toxic Organic Components. Second edition, U. S. Department of Commerce, NOAA/NMFS. NOAA Tech. Memo. NMFS F/NWC-92, 121 p.
- Manduzio, H., Monsinjon, T., Galap, C., Leboulenger, F., Rocher, B. 2004. Seasonal variations in antioxidant defences in blue mussels *Mytilus edulis* collected from a polluted area: major contributions in gills of an inducible isoform of Cu/Zn-superoxide dismutase and of glutathione S-transferase. *Aquatic Toxicology* 70:1, 83-93.
- Mao, Y., Zhou, Y., Yang, H., Wang, R. 2006. Seasonal variation in metabolism of cultured Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Sanggou Bay, China. *Aquaculture* 253, 322-333.
- Mccalley, D.V., Cooke, M., Nickless, G. 1981. Effect of sewage treatment on faecal sterols. *Water Research* 15:8, 1019-1025.
- Medeiros, I.D., Siebert, M.N., Toledo-Silva, G., Moraes, M.O., Marques, M.R.F., Bainy, A.C.D. 2008a. Differential gene expression in oyster exposed to sewage. *Marine Environmental Research* 66:1, 156-157.
- Medeiros, I.D., Siebert, M.N., Toledo-Silva, G., Rodrigues, T.B., Marques, M.R.F., Bainy, A.C.D. 2008b. Induced gene expression in oyster *Crassostrea gigas* exposed to sewage. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, Available online 3 June 2008, In Press, Corrected Proof, doi:10.1016/j.etap.2008.05.004.
- Medeiros, P.M. & Bicego, M.C. 2004. Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers, Santos, SP – Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 49:9-10, 761-769.
- Medeiros, P.M., Bicego, M.C., Castelao, R.M., Rosso, C.D., Fillmann, G., Zamboni, A.J. 2005. Natural and anthropogenic hydrocarbon inputs to sediments of Patos Lagoon Estuary, Brazil. *Environment International* 31:1, 77-87.
- Mondon, J.A., Nowak, B.F., Sodergren, A. 2001. Persistent Organic Pollutants in Oysters *Crassostrea gigas* and Sand Flathead *Platycephalus bassensis* from Tasmanian Estuarine and Coastal Waters. *Marine Pollution Bulletin* 42:2, 157-161.
- Montone, R.C. Determinação de bifenilos policlorados (BPCs) no ambiente antártico marinho, 1995. 98p. Tese (Doutorado em Química Analítica). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Moore, M.N., Depledge, M.H., Readman, J.W., Leonard, D.R.P. 2004. An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. *Mutation Research* 552, 247-268.
- Mudge, S.M & Norris, C.E. 1997. Lipid biomarkers in the Conwy Estuary (North Wales, U.K.): a comparison between fatty alcohols and sterols. *Marine Chemistry* 57:1-2, 61-84.
- Nascimento, I.A., Leite, M.B.N., Sansone, G., Pereira, S.A. Smith, D.H. 1998. Stress protein accumulation as an indicator of impact by the petroleum industry in Todos os Santos Bay, Brazil. *Aquatic Ecosystem Health and Management* 1, 101-108.
- Nichols, P.D., Leeming, R., Rayner, M.S., Latham, V., Ashbolt, N.J., Turner, C. 1993. Comparison of the abundance of the fecal sterol coprostanol and fecal bacterial groups in inner-shelf waters and sediments near Sydney, Australia. *Journal of Chromatography A* 643:1-2, 189-195.
- Niyogi, S., Bismas, S., Sarker, S., Datta, A.G. 2001. Antioxidant enzymes in backishwater oyster, *Saccostrea cucullata* as potential biomarkers of polyaromatic hydrocarbon pollution in Hooghly Estuary (India): seasonality and its consequences. *The Science of the Total Environment* 281, 237 – 246.

- NRC (National Research Council). 1985. Oil in the sea, inputs, fates and effects. pp. 602. Washington D.C.: National Academy Press.
- Oliveira Neto, F.M. 2005. Diagnóstico do cultivo de moluscos em Santa Catarina. pp. 67. Florianópolis: EPAGRI.
- Orbea, A., Ortiz-Zarragoitia, M., Solé, M., Porte, C., Cajaraville, M.P. 2002. Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay). *Aquatic Toxicology* 58:1-2, 75-98.
- Oros, D.R. & Ross, J.R.M. 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons in bivalves from the San Francisco estuary: Spatial distributions, temporal trends, and sources (1993–2001). *Marine Environmental Research* 60:4, 466-488.
- Peña-Llopis, S., Ferrando, M.D., Peña, J.B. 2003. Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. *Aquatic Toxicology* 65:4, 337-360.
- Pereira, C.D.S., Abessa, D.M.S, Bairy, A.C.D., Zaroni, L.P., Gasparro, M.R., Bicego, M.C., Taniguchi, S., Furley, T.H., Sousa, E.C.P.M. 2007. Integrated assessment of multilevel biomarker responses and chemical analysis in mussels from São Sebastião, São Paulo, Brazil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26:3, 462–469.
- Pervaiz, S. & Clement, M.V. 2007. Superoxide anion: Oncogenic reactive oxygen species? *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39:7-8, 1297-1304.
- Peterson, G.L. 1977. A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry* 83, 346-356.
- Pitt, R. 2001. Source tracking of inappropriate discharges to storm drainage systems. In: NWRI National Urban Watershed Conference, Costa Mesa, California, October 17–19.
- Porte, C., Sole, M., Albaigés, J., Livingstone, D.R. 1991. Responses of mixed-function oxygenase and antioxidant enzyme system of *Mytilus sp.* to organic pollution. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology* 100:1-2, 183-186.
- Rocher, B., Goff, J.L., Peluhet, L., Briand, M., Manduzio, H., Gallois, J., Devier, M.H., Geffard, O., Gricourt, L., Augagneur, S., Budzinski, H., Pottier, D., André, V., Lebailly, P., Cachot, J. 2006. Genotoxicant accumulation and cellular defence activation in bivalves chronically exposed to waterborne contaminants from the Seine River. *Aquatic Toxicology* 79:1, 65-77.
- Rodríguez-Ortega, M.J., Alhama, J., Funes, V., Romero-Ruiz, A., Rodríguez-Ariza, A., López-Barea, J. 2002. Biochemical biomarkers of pollution on the clam *Chamaelea gallina* from south-spanish littoral. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21:3, 542 – 549
- Saavedra C. & Bachère, E. 2006. Bivalve genomics. *Aquaculture* 256, 1–14.
- Savichtcheva, O. & Okabe, S. 2006. Alternative indicators of fecal pollution: Relations with pathogens and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives. *Water Research* 40, 2463 – 2476.
- Scott, T.M., Rose, J.B., Jenkins, T.M., Farrah, S.R., Lukasik, J. 2002. Microbial source tracking: current methodology and future directions. *Applied Environmental Microbiology* 68:12, 5796–5803.
- Serafim, C.F.S.; Hazin, F. 2006. O ecossistema costeiro. In: Chaves, P.T. (Org.) **Geografia: o mar no espaço geográfico**. pp. 103. Brasília: Ministério da Educação, Secretaria de Educação Básica.
- Sericano, J.L., Wade, T.L., Jackson, T.J., Brooks, J.M., Tripp, B.W., Farrington, J.W., Mee, L.D., Readmann, J.W., Villeneuve, J.P., Goldberg, E.D. 1995. Trace organic contamination in the Americas:

An overview of the US National Status & Trends and the International 'Mussel Watch' programmes. *Marine Pollution Bulletin* 31:4-12, 214-225.

Shah, V.G., Dunstan, R.H., Geary, P.M., Coombes, P., Roberts, T.K., Rothkirch, T. 2007. Bacterial source tracking from diverse land use catchments by sterol ratios. *Water Research* 41:16, 3667-3674.

Sheehan, D. & Power, A. 1999. Effects of seasonality on xenobiotic and antioxidant defence mechanisms of bivalve molluscs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 123:193 – 199.

Sherblom, P.M., Gschwend, P.M., Eganhouse, R.P. 1992. Aqueous solubility, vapor pressure, and n-octanol-water partition coefficients for C9–C14 linear alkylbenzenes. *Journal of Chemical and Engineering Data* 37, 394–399.

Sies, H., Brigelius, R., Wefers, H., Müller, A., Cadenas, E. 1983. Cellular redox changes and response to drugs and toxic agents. *Fundamental and Applied Toxicology* 3:4, 200 – 208.

Solé, M., Porte, C., Albaigés, J. 1995. The use of biomarkers for assessing the effects of organic pollution in mussels. *Science of the Total Environment* 159:2-3, 147-153.

Takada, H., Eganhouse, R. 1998. Molecular markers of anthropogenic waste: Their use in determining sources, transport pathways and fate of wastes in the environment. In: Meyers, R. (Ed.), *The Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation*. New York: Wiley and Sons, 2883-2940.

Takada, H., Ishiwatari, R. 1990. Biodegradation experiments of linear alkylbenzenes (LABs): isomeric composition of C12 LABs as an indicator of the degree of LAB degradation in the aquatic environment. *Environmental Science Technology* 24:1, 86-91.

Takada, H., Ishiwatari, R., Ogura, N. 1992. Distribution of linear alkylbenzenes (LABs) and linear alkylbenzenesulphonates (LAS) in Tokyo Bay sediments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 35, 141-156.

Tanabe, S. 1988. PCB problems in the future: foresight from current knowledge. *Environmental Pollution* 50:, 5 - 28.

Taniguchi, S. Pesticidas organoclorados e bifenilos policlorados em bivalves ao longo da Costa Brasileira – International Mussel Watch. 1995. 65p. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Física). Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Tavares, T.M., Rocha, V.C., Porte, C., Barceló, D., Albaigés, J. 1988. Application of the mussel watch concept in studies of hydrocarbons, PCBs and DDT in the Brazilian Bay of Todos os Santos (Bahia). *Marine Pollution Bulletin* 19:11, 575-578.

Tsutsumi, S., Yamaguchi, Y., Nishida, I., Akiyama, K.I., Zakaria, M.P., Takada, H. 2002. Alkylbenzenes in mussels from South and South East Asian coasts as a molecular tool to assess sewage impact. *Marine Pollution Bulletin* 45:1-12, 325-331.

Vaschenko, M.A. & Kotsyuba, E.P. 2008. NADPH-diaphorase activity in the central nervous system of the Gray mussel *Crenomytilus grayanus* (Dunker) under stress conditions: A histochemical study. *Marine Environmental Research* 66:2, 249-258.

Wei, S., Lau, R.K.F., Fung, C.N., Zheng, G.J., Lam, J.C.W., Connell, D.W., Fang, Z., Richardson, B.J., Lam, P.K.S. 2006. Trace organic contamination in biota collected from the Pearl River Estuary, China: A preliminary risk assessment. *Marine Pollution Bulletin* 52:12, 1682-1694.

Wheatley, G.A. 1973. Pesticides in the atmosphere. In Edwards, C.A. (Ed.) *Environmental pollution by pesticides*. London: Plenum Press, 365 – 408.

Writer, J.H., Leenheer, J.A., Barber, L.B., Amy, G.L., Chapra, S.C. 1995. Sewage contamination in the upper Mississippi River as measured by the fecal sterol, coprostanol. *Water Research* 29:6, 1427-1436.

Yim, U.H., Oh, J.R., Hong, S.H., Lee, S.H., Shim, W.J., Shim, J.H. 2002. Identification of PAHs Sources in Bivalves and Sediments 5 Years After the Sea Prince Oil Spill in Korea. *Environmental Forensics* 3:3-4, 357-366.

Young, D.R., Mcdermott-Ehrlich, D., Heesen, T.C. 1977. Sediments as sources of DDT and PCB. *Marine Pollution Bulletin* 8:11, 254-257.

Zanette, J., Monserrat, J. M., Bianchini, A. 2006. Biochemical biomarkers in gills of mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* from three Brazilian estuaries. *Comparative Biochemistry and Physiology Part. C* 143, 187–195.

Zanette, J., Nunes, F.F, Medeiros, I.D., Siebert, M.N., Mattos, J.J., Lüchmann, K.H., Melo, C.M.R., Bainy, A.C.D. 2008. Comparison of the antioxidant defense system in *Crassostrea rhizophorae* and *Crassostrea gigas* exposed to domestic sewage discharges. *Marine Environmental Research* 66:1, 196-198.

Zhaobin, Z. & Jianying, H. 2008. Effects of p,p'-DDE exposure on gonadal development and gene expression in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Journal of Environmental Sciences* 20, 347–352.

Zhoua, R., Zhub, L., Kong, Q. 2008. Levels and distribution of organochlorine pesticides in shellfish from Qiantang River, China. *Journal of Hazardous Materials* 152, 1192–1200.

3. Referências Bibliográficas da Introdução

- ABESSA, D.M.S. et al. 2005. Influence of a Brazilian sewage outfall on the toxicity and contamination of adjacent sediments. *MARINE POLLUTION BULLETIN*, v. 50, n. 8, p. 875-885.
- ALBARNAZ, J.D. et al. 2007. Relationship between the contamination of gulls (*Larus dominicanus*) and oyster (*Crassostrea gigas*) with *Salmonella* serovar *Typhimurium* by PCR-RFLP. *INTERNATIONAL JOURNAL OF ENVIRONMENTAL HEALTH RESEARCH*, v. 17, n. 2, p. 1 – 8.
- ALLEN, J.I.; MOORE, M.N. 2004. Environmental prognostics: Is the current use of biomarkers appropriate for environmental risk evaluation? *MARINE ENVIRONMENTAL RESEARCH*, v. 58, p. 227–232.
- ANDERSON, K.L.; WHITLOCK, J.E.; HARWOOD, V.J. 2005. Persistence and differential survival of fecal indicator bacteria in subtropical waters and sediments. *APPLIED ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, v. 71, p. 3041-3048.
- AZEVEDO, T. Em SC, só 9,69% têm rede de coleta de esgoto. **Jornal Diário Catarinense**, Florianópolis, 10 jun. 2008. Geral, p. 28.
- BAINY, A.C.D. et al. 2000. Biochemical responses in farmed mussel *Perna perna* transplanted to contaminated sites on Santa Catarina Island, SC, Brazil. *MARINE ENVIRONMENTAL RESEARCH*, v. 50, p. 411-416.
- BANNING, N.; TOZE, S.; MEE, B.J. 2003. Persistence of biofilm-associated *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in groundwater and treated effluent in a laboratory model system. *MICROBIOLOGY*, v. 149, p. 47–55.
- BARCENA, A. 1992. An overview of the ocean in Agenda 21 of the 1992 United Nations Conference of Environmental and Development. *MARINE POLLUTION BULLETIN*, v. 25, n. 1-4, p. 107 - 111.
- BARTHAM, Jamie.; REES, Gareth. In: **Monitoring Bathing Waters: a practical guide to the design and implementation of assessments and monitoring programmes**. London: E & FN Spon, 2000. 337 p.
- BAYEN, S.; LEE, H. K.; OBBARD, J. P. 2007. Exposure and response of aquacultured oysters, *Crassostrea gigas*, to marine contaminants. *ENVIRONMENTAL RESEARCH*, v. 103, p. 375 - 382.
- BEEBY, A. 2001. What do sentinels stand for? *ENVIRONMENTAL POLLUTION*, v. 112, p. 285-298.
- BELIAEFF, B.; BURGEOT, T. 2002. Integrated biomarker response: a useful tool for ecological risk assessment. *ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND CHEMISTRY*, 21: 6, p. 1316–1322.
- BERNARD, F.R. 1989. Uptake and elimination of coliform bacteria by four marine bivalve mollusks. *CANADIAN JOURNAL OF FISHERIES & AQUATIC SCIENCES*, v. 46, n. 9, p. 1592 – 1599.
- BEVERSDORF, L.J.; BORNSTEIN-FORST, S.M.; MCLELLAN, S.L. 2007. The potential for beach sand to serve as a reservoir for *Escherichia coli* and the physical influences on cell die-off. Journal compilation 2006 The Society for Applied Microbiology. *JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY*, v. 102, p. 1372–1381.
- BOCCHETTI, R.; REGOLI, F. 2006. Seasonal variability of oxidative biomarkers, lysosomal parameters, metallothioneins and peroxisomal enzymes in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* from Adriatic Sea. *CHEMOSPHERE*, v. 65, p. 913 – 321.
- BONILLA-VALVERDE, D. et al. 2004. Evolution of biological effects of Aznalcóllar mining spill in the Algerian mouse (*Mus spretus*) using biochemical biomarkers. *TOXICOLOGY*, v. 197, n. 2, p. 122-137.
- BOONYATUMANOND, R. et al. 2007. Reconstruction of pollution history of organic contaminants in the upper Gulf of Thailand by using sediment cores: First report from Tropical Asia Core (TACO) project. *MARINE POLLUTION BULLETIN*, v. 54, n. 5, p. 554-565.

- BORDALO, A.A.; ONRASSAMI, R.; DECHSAKULWATANA, C. 2002. Survival of faecal indicator bacteria in tropical estuarine waters (Bangpakong River, Thailand). JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY, v. 93, p. 864–871.
- BORREGO, J.J. et al. 1987. Coliphages as an indicator of faecal pollution in water: Its relationship with indicator and pathogenic microorganisms. WATER RESEARCH, v. 21, p. 1473 – 1480.
- BOUTET, I.; TANGUY, A.; MORAGA, D. 2004. Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hydrocarbon contamination under experimental conditions. GENE, v. 329, p. 147-157.
- BRAGA, E.S. et al. 2000. Eutrophication and Bacterial Pollution Caused by Industrial and Domestic Wastes at the Baixada Santista Estuarine System – Brazil. MARINE POLLUTION BULLETIN, v. 40, n. 2, p. 165-173.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Macrodiagnóstico da Zona Costeira do Brasil na Escala da União**. Rio de Janeiro: Sony Music CD-Rom, Brasil, Ind. Com. Ltda, 1996.
- BURKHARDT III, W. et al. 2000. Inactivation of indicator microorganisms in estuarine waters. WATER RESEARCH, v. 34. n. 8, p. 2207 - 2214.
- CADENAS, E. 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. Ann. Rev. Biochem., v. 58, 79–110
- CAJARAVILLE, M.P. et al. 2000. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. THE SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT, v. 247, p. 295-311.
- CANCIO, I.; IBABE, A.; CAJARAVILLE, M.P. 1999. Seasonal variation of peroxisomal enzyme activities and peroxisomal structure in mussel *Mytilus galloprovincialis* and its relationship with the lipid content. COMPARATIVE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY, Part C, v. 123, p. 135 – 144.
- CAPUZZO, J. M. 1996. The bioaccumulation and biological effects of lipophilic organic contaminants. In: KENNEDY, V.S., NEWELL, R.I.E., EBLE, A.F. (Eds.), **The Eastern oyster: *Crassostrea virginica***. Maryland Sea Grant College: Silverspring, 1996. p. 539–557.
- CERUTTI, R. L. **Contribuição ao conhecimento da poluição doméstica na baía norte, área da grande Florianópolis, SC**. 1996. (Dissertação de Mestrado em Geografia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1996.
- CHANDRAN, A; HATHA, A.A.M. 2005. Relative survival of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in a tropical estuary. WATER RESEARCH, v. 39, p. 397–1403.
- CHÁVEZ, M.R.C. et al. 2005. Influence of water temperature of *Vibrio cholerae* and enteric bacteria in oyster-producing areas of Veracruz, México. MARINE POLLUTION BULLETIN, v. 50, p. 1641 – 1648.
- CHEUNG, C.C.C. et al. 2001. Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. AQUATIC TOXICOLOGY, v. 52, p. 189-203.
- CHEUNG, C.C.C. et al. 2002. Relationships between tissue concentrations of chlorinated hydrocarbons (polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticides) and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. MARINE POLLUTION BULLETIN, v. 45, p. 181-191.
- CHIGBU, P.; GORDON, S.; STRANGE, T.R. 2005. Fecal coliform bacteria disappearance rates in a north-central Gulf of Mexico estuary. ESTUARINE, COASTAL AND SHELF SCIENCE, v. 65, p. 309-318.
- CHIRONNA, M. et al. 2002. Detection of hepatitis A virus in mussels from different sources marketed in Puglia region (South Italy). INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY, v. 75, n. 1-2, p. 11-18.

- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). 2005. Resolução Nº 357, 17 mar 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível no endereço: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>, acessado em 20 de julho de 2008 às 10:16h.
- COUTO, F. Os moluscos. In: ARANA, L.V. (Org.). **Fundamentos de aqüicultura**. Florianópolis: UFSC, 2004. p. 110-121.
- CRAIG, D.L.; FALLOWFIELD, H.J.; CROMER, N.J. 2004. Use of microcosms to determine persistence of *Escherichia coli* in recreational coastal water and sediment and validation with in situ measurements. JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY, v. 96, p. 922–930.
- DANOVARO, R. et al. 2003. Viruses and marine pollution. MARINE POLLUTION BULLETIN, v. 46, n. 3, p. 301-304.
- ELMANAMA, A.A.; AFIFI, S.; BAHR, S. 2006. Seasonal and spatial variation in the monitoring parameters of Gaza Beach during 2002–2003. ENVIRONMENTAL RESEARCH, v. 101, p. 25–33.
- EPAGRI. 2008. Síntese informativa da produção de moluscos (mexilhões, ostras e vieiras) no Estado de Santa Catarina em 2007. Disponível no endereço <http://www.epagri.rct-sc.br/>, acessado em 19 de julho de 2008, 00:06hs.
- EVANSON, M.; AMBROSE, R.F. 2006. Sources and growth dynamics of fecal indicator bacteria in a coastal wetland system and potential impacts to adjacent waters. WATER RESEARCH, v. 40, p. 475 – 486.
- FAIRWEATHER, P.G. 1990. Sewage and the biota on seashores: assessment of impact in relation to natural variability. ENVIRONMENTAL MONITORING ASSESS, v. 14, p. 197-210.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (FAO). 1998. Aquaculture productions statistics 1987-1996. FAO fisheries circular. 815, (10). Rome, Italy, 197 p.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (FAO). 2007. THE STATE OF WORLD FISHERIES AND AQUACULTURE 2006. Rome, Italy, 180 p.
- FERGUSON, C.M. et al. 1996. Relationships between indicators, pathogens and water quality in an estuarine system. WATER RESEARCH, v. 30, n. 9, p. 2045-2054.
- FORMIGA-CRUZ, M. et al. 2003. Evaluation of potential indicators of viral contamination in shellfish and their applicability to diverse geographical areas. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, v. 69, p. 1556 – 1563.
- FOWLER, Bruce A. 2005. Molecular biomarkers: Challenges and prospects for the future. TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY, 206: 2 , p. 97.
- FUJIOKA, R.S.; BONILLA, A.J.; RIJAL, G.K. 1999. The microbial quality of a wetland reclamation facility used to produce an effluent for unrestricted non-potable reuse. WATER SCIENCE AND TECHNOLOGY, 40: 4-5, p. 369-374.
- FUJIOKA, R.S; YONEYAMA, B.S. 2002. Sunlight inactivation of human enteric viruses and fecal bacteria. WATER SCIENCE TECHNOLOGY, v. 46, p. 291 – 295.
- GALLOWAY, T.S. et al. 2004. Ecosystem management bioindicators: the ECOMAN project a multi-biomarker approach to ecosystem management. MARINE ENVIRONMENTAL RESEARCH, 58, p. 233-237.
- GIBBS, M.T. 2004. Interactions between bivalve shellfish farms and fishery resources. AQUACULTURE, v. 240, n. 1-4, p. 267 – 296.

GIFFORD, S. et al. 2004. Pearl aquaculture – profitable environmental remediation? *SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT*, v. 319, n. 1-3, p. 27-37.

GOLDBURG, R.J.; ELLIOTT, M.S.; NAYLOR, R.L. *In: Marine Aquaculture in the United States: Environmental Impacts and Policy Options*. PEW Oceans Commission: Arlington, Virginia. 2001. 44 p. Disponível no endereço: http://www.pewtrusts.org/uploadedFiles/wwwpewtrustsorg/Reports/Protecting_ocean_life/env_pew_oceans_aquaculture.pdf.

GRANT, S.B. et al. 2001. Generation of enterococci bacteria in a coastal saltwater marsh and its impact on surf zone water quality. *ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY*, v. 35, p. 2407–2416.

GRIFFIN, D.W. et al. 2003. Pathogenic human viruses in coastal waters. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, v. 6, p. 129-143.

GUNTHER, A.J. et al. 1999. Long-term bioaccumulation monitoring with transplanted bivalves in the San Francisco Bay. *MARINE POLLUTION BULLETIN*, v. 38, p. 170–181.

HERRMANN, M.L.P. **Problemas Geoambientais da Faixa Central do Litoral Catarinense**. 1999. 307 f. (Tese de Doutorado) - Instituto de Geografia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

HERRERO, F.S. **Valoración y aplicabilidad de los índices e indicadores biológicos de contaminación orgánica en la gestión del medio marino**. 1996. 206 f. - Area de Ecología - Universidad de Murcia, Murcia, 1996.

HUNTER, C.L. et al. 1995. Contaminants in oysters in Kaneohe Bay, Hawaii. *MARINE POLLUTION BULLETIN*, v. 30, p. 646-654.

Interstate Shellfish Sanitation Conference, Guide for the Control of Molluscan Shellfish (ISSC). 2003. Disponível no endereço <http://www.cfsan.fda.gov/~ear/nss2or02.html>, acessado em 20 de julho de 2008 às 17:09h.

ISOBE, K.O. et al. 2002. Quantitative application of fecal sterols using gas chromatography–mass spectroscopy to investigate fecal pollution in tropical waters: Western Malaysia and Mekong Delta, Vietnam. *ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY*, v. 36, n. 21, p. 4497–4507.

JAKSIC, S. et al. 2002. Occurrence of *Vibrio spp.* in sea fish, shrimps and bivalve molluscs harvested from Adriatic sea. *FOOD CONTROL*, v. 13, p. 491– 493.

JAMIESON, R. et al. 2005. Transport and deposition of sediment-associated *Escherichia coli* in natural streams. *WATER RESEARCH*, v. 39, n. 12, p. 2665-2675.

KELSEY, H. et al. 2004. Using geographic information systems and regression analysis to evaluate relationships between land use and fecal coliform bacterial pollution. *JOURNAL OF EXPERIMENTAL MARINE BIOLOGY AND ECOLOGY*, v. 298, n. 2, p. 197-209.

KENNISH, M.J. 1991. **Ecology of Estuaries: Anthropogenic Effects**. London: CRC Press, 494 p.

KI, S.J.; ENSARI, S.; KIM, J.H. 2007. Solar and tidal modulations of fecal indicator bacteria in coastal waters at Huntington Beach, California. *ENVIRONMENTAL MANAGEMENT*, v. 39, p. 867–875.

KIRSCHNER, A.K.T. et al. 2004. Integral strategy for evaluation of fecal indicator performance in bird-influenced saline inland waters. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, v. 70, n. 12, p. 7396–7403.

LAU, P.S.; WONG, H.L. 2003. Effect of size, tissue parts and location on six biochemical markers in the green-lipped mussel, *Perna viridis*. *MARINE POLLUTION BULLETIN*, v. 46, p. 1563-1572.

- LAU, P.S.; WONG, H.L.; GARRIGUES, P. 2004. Seasonal variation in antioxidative responses and acetylcholinesterase activity in *Perna viridis* in eastern oceanic and western estuarine waters of Hong Kong. CONTINENTAL SHELF RESEARCH, v. 24, p. 1969 - 1987.
- LEE, C.M. et al. 2006. Persistence of fecal indicator bacteria in Santa Monica Bay beach sediments. WATER RESEARCH, v, 40, n. 14, p. 2593-2602.
- LEES, D. 2000. Viruses and bivalve shellfish. INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY, v. 59, p. 81–116.
- LOGULLO, R.T. **A Influência das Condições Sanitárias Sobre a Qualidade das Águas Utilizadas para a Maricultura no Ribeirão da Ilha - Florianópolis, SC.** 2005. 154 f. (Dissertação de Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- MALLIN, M.A. et al. 2001. Demographic, landscape, and meteorological factors controlling the microbial pollution of coastal waters. HYDROBIOLOGIA, v. 460, p. 185-193.
- MANZONI, G.C. et al. Monitoramento Bacteriológico (Colimetria) da Água e dos moluscos cultivados na Enseada de Armação do Itapocoroy, Penha, SC, Brasil. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ECOTOXICOLOGIA, 5., 1998, Itajaí. **Anais do V Encontro Brasileiro de Ecotoxicologia.** Itajaí: UNIVALI, 1998. p. 50.
- MAO, Y. et al. 2006. Seasonal variation in metabolism of cultured pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Sanggou Bay, China. AQUACULTURE, v. 253, p. 322-333.
- MCCALLEY, D.V.; COOKE, M.; NICKLESS, G. 1981. Effect of sewage treatment on faecal sterols. WATER RESEARCH, v. 15, n. 8, p. 1019-1025.
- MCLELLAN, S.L. 2004. Genetic diversity of *Escherichia coli* isolated from urban rivers and beach water. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, v. 70, p. 4658–4665.
- MCLELLAN, S.L.; DANIELS, A.D.; SALMORE, A.K. 2003. Genetic characterization of *Escherichia coli* populations from host sources of fecal pollution by using DNA fingerprinting. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, v. 69, p. 2587–2594.
- MEYER, U.; HAGEN, W.; MEDEIROS, C. 1998. Mercury in a northeastern Brazilian mangrove area, a case study: Potential of the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* as bioindicator for mercury. MARINE BIOLOGY, 131: 1, p. 113 – 121.
- MILL, A.; SCHLACHER, T.; KATOULI, M. 2006. Tidal and longitudinal variation of faecal indicator bacteria in an estuarine creek in south-east Queensland, Australia. MARINE POLLUTION BULLETIN, v. 52, p. 881–891.
- MOORE, M.N. et al. 2004. An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. MUTATION RESEARCH, v. 552, p. 247–268.
- MUDGE, S.M.; LINTERN, D.G. 1999. Comparison of sterol biomarkers for sewage with other measures in Victoria Harbour, B.C., Canada. ESTUARINE, COASTAL AND SHELF SCIENCE, v. 48, p. 27 – 38.
- NASCIMENTO, I.A. et al. 1998. Stress protein accumulation as an indicator of impact by the petroleum industry in Todos os Santos Bay, Brazil. AQUATIC ECOSYSTEM HEALTH AND MANAGEMENT, v. 1, p. 101-108.
- NEILL, M. 2004. Microbiological Indices for total coliform and *E. coli* bacteria in estuarine waters. MARINE POLLUTION BULLETIN, v. 49, p. 752–760.
- NICHOLS, P.D. et al. 1993. Comparison of the abundance of the fecal sterol coprostanol and fecal bacterial groups in inner-shelf waters and sediments near Sydney, Australia. JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY, v. 643, p. 189 - 195.

- NICHOLSON, S.; LAM, P.K.S. 2005. Pollution monitoring in Southeast Asia using biomarkers in mytilid mussel *Perna viridis* (Mytilidae: Bivalvia). ENVIRONMENTAL INTERNATIONAL, v. 31, p. 121-132.
- NIYOGI, S. et al. 2001. Antioxidant enzymes in backishwater oyster, *Saccostrea cucullata* as potential biomarkers of polyaromatic hydrocarbon pollution in Hooghly Estuary (India): seasonality and its consequences. THE SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT, v. 281, p. 237 - 246.
- NOBLE, R.T.; FUHRMAN, J.A. 2001. Enteroviruses detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction from the coastal waters of Santa Monica Bay, California: low correlation to bacterial indicator levels. HYDROBIOLOGIA, v. 60, p. 175 - 184.
- NOBLE, R.T.; LEE, I.M.; SCHIFF, K.C. 2004. Inactivation of indicator micro-organisms from various sources of faecal contamination in seawater and freshwater. JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY, v. 96, p. 464–472.
- NRC - National Research Council. **Oil in the sea, inputs, fates and effects**. Washington D.C.: National Academy Press, 1985. 602 p.
- OLIVEIRA NETO, F.M. **Diagnóstico do cultivo de moluscos em Santa Catarina**. Florianópolis: EPAGRI, 2005. 67 p.
- PARODI, A.M. Esgoto só chega a 5% de SC. **Jornal A Notícia**, Joinville, 01 jun. 2006. Destaque Saneamento, p. A4.
- PARVEEN, S. et al. 1999. Discriminant analysis of ribotype profiles of *Escherichia coli* for differentiating human and nonhuman sources of fecal pollution. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, v. 65, p. 3142–3147.
- PETROVIC, S. et al. 2004. Seasonal variations of physiological and cellular biomarkers and their use in the biomonitoring of north adriatic coastal waters (Croatia). MARINE POLLUTION BULLETIN, v. 49, p. 713-720.
- PRÓSPERI, V.A.; NASCIMENTO, I.A. Avaliação ecotoxicológica de ambientes marinhos e estuarinos. In: ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006. p. 269–292.
- RAINBOW, P.S. 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. MARINE POLLUTION BULLETIN, v. 31, n. 4-12, p. 183 – 192.
- RAND, G.M. **Effects, environmental fate, and risk assessment**. Washington: Taylor & Francis, 1995. 1125 p.
- RECOS. 2003. **Manual de Procedimentos**. Seção 3 – Biomarcadores. Grupo de Qualidade Ambiental e Biodiversidade (QUIABO) – Institutos do Milênio - MCT.
- RIBEIRO, L. Grande Florianópolis tem as melhores redes. **Jornal Diário Catarinense**, Florianópolis, 10 jun. 2008. Geral, p. 29.
- RIBEIRO-COSTA, C.S.; MARINONI, L. Mollusca. In: RIBEIRO-COSTA, C.S. & ROCHA, R.M. (Coords.) **Invertebrados: manual de aulas práticas**. Ribeirão Preto: Holos, 2002. p. 74 – 105.
- RODRÍGUEZ-ORTEGA, M.J. et al. 2002. Biochemical biomarkers of pollution on the clam *Chamaelea gallina* from south-spanish littoral. ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND CHEMISTRY, v. 21, n. 3, p. 542 – 549.
- SAAVEDRA, C.; BACHÈRE, E. 2006. Bivalve genomics. AQUACULTURE, v.256, p. 1–14.
- SALÁNKI, J. et al. 2003. Molluscs in biological monitoring of water quality. TOXICOLOGY LETTERS, v. 140 – 141, p. 403 – 410.

SAVITCHCHEVA, O.; OKABE, S. 2006. Alternative indicators of fecal pollution: relations with pathogens and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives. *WATER RESEARCH*, v. 40, 2463 – 2476.

SCANES, P. 1996. 'Oyster watch': monitoring trace metal and organochlorine concentrations in Sydney's coastal waters. *MARINE POLLUTION BULLETIN*, v. 33, n. 7 – 12, p. 226 – 238.

SCHMITT, J.F. **Programa de gerenciamento da qualidade da água e dos moluscos cultivados na região do Canto Grande (Bombinhas, SC):** monitoramento bacteriológico (coliformes totais e fecais). 1999. 44 f. (Monografia de Graduação em Oceanografia) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 1999.

SERAFIM, C.F.S.; HAZIN, F. O ecossistema costeiro. *In*: CHAVES, P.T. (Org.) **Geografia: o mar no espaço geográfico**. Brasília: Ministério da Educação, Secretaria de Educação Básica, 2006. p. 103.

SHEEHAN, D.; POWER, A. 1999. Effects of seasonality on xenobiotic and antioxidant defence mechanisms of bivalve molluscs. *COMPARATIVE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY, Part C*, v. 123, p. 193 – 199.

SHERBLOM, P.M., GSCHWEND, P.M., EGANHOUSE, R.P. 1992. Aqueous solubility, vapor pressure, and n-octanol–water partition coefficients for C9–C14 linear alkylbenzenes. *JOURNAL OF CHEMICAL AND ENGINEERING DATA*, v. 37, p. 394–399.

SINTON, L.W.; FINLAY, R.K.; LYNCH, P.A. 1999. Sunlight inactivation of fecal bacteriophages and bacteria in sewage-polluted seawater. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, v. 65, n. 8, p. 3605-3613.

STURESSON, U. 1976. Lead enrichment in shells of *Mytilus edulis*. *AMBIO*, 5: 5 – 6, p. 253 – 256.

STURESSON, U. 1978. Cadmium enrichment in shells of *Mytilus edulis*. *AMBIO*, 7: 3, p. 122 – 125.

SURBECK, C.Q. et al. 2006. Flow fingerprinting fecal pollution and suspended solids in stormwater runoff from an urban coastal watershed. *ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY*, 40, p. 4435 – 4441.

TAKADA, H.; EGANHOUSE, R. Molecular markers of anthropogenic waste: Their use in determining sources, transport pathways and fate of wastes in the environment. *In*: MEYERS, R. (Ed.) **The Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation**. New York: Wiley and Sons, 1998. p. 2883-2940.

TAKADA, H., ISHIWATARI, R., OGURA, N. 1992. Distribution of linear alkylbenzenes (LABs) and linear alkylbenzenesulphonates (LAS) in Tokyo Bay sediments. *ESTUARINE, COASTAL AND SHELF SCIENCE*, v. 35, p. 141-156.

TALLON, P. et al. 2005. Microbial indicators of faecal contamination in water: a current perspective. *WATER, AIR, AND SOIL POLLUTION*, 166, p. 139–166.

TAN, W.H.; LIM, L.H. 1984. The tolerance to and uptake of lead in the green mussel, *Perna viridis* (L.). *AQUACULTURE*, 42: 3 – 4, p. 317 – 332.

TSUTSUMI, S. et al. 2002. Alkylbenzenes in mussels from South and South East Asian coasts as a molecular tool to assess sewage impact. *MARINE POLLUTION BULLETIN*, v. 45, p. 325-331.

VALAVANIDIS, A. et al. 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL SAFETY*, v. 64, p. 178-189.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND PHARMACOLOGY*, v. 13, n. 2, p. 57-149.

VENTURA, E.C. **Biomarcadores bioquímicos em *Orthopristis rubber* (Cuvier, 1830) (Perciformes – Haemulidae) e *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) (Perciformes – Scianidae), coletados na costa sudeste brasileira.** 2004. 115 f. (Dissertação de Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

VIEIRA, R.H.S.F. et al. 2002. The stormwater drain system as a pollution vector of the seashore in Fortaleza (Ceará State, Brazil). BRAZILIAN JOURNAL OF MICROBIOLOGY, v. 33, p. 294 – 298.

WALDICHUK, M. 1974. Coastal marine pollution and fish. OCEAN MANAGEMENT, v. 2, n. 1, p. 1-60.

II Workshop Regional Sul sobre o Mar. *In*: WORKSHOP REGIONAL SUL SOBRE O MAR: Repensando o Mar para o Século XXI, 2., 1998, Florianópolis. **Anais do II Workshop Regional Sul sobre o mar.** Florianópolis: UFSC, 1998. 113 p.

ZANETTE, J.; MONSERRAT, J. M.; BIANCHINI, A. 2006. Biochemical biomarkers in gills of mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* from three Brazilian estuaries. COMPARATIVE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY, Part. C, v.143, p. 187–195.

ZMARZLY, D.L. 1994. Spatial patterns and temporal succession in soft-bottom macroinvertebrate assemblages surrounding an ocean outfall on the northern San Diego shelf: relation to anthropogenic and natural events. MARINE BIOLOGY, v.118, p. 293-307.