



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA
E CONSERVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS



**POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE ANFÍPODES
CAPRELÍDEOS (CRUSTACEA – PERACARIDA) COMO
BIOINDICADORES DE COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS
NO LITORAL NORTE DE SÃO PAULO.**

EDUARDO DE FREITAS SOUSA

UBERLÂNDIA
2011

EDUARDO DE FREITAS SOUSA

**POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE ANFÍPODES CAPRELÍDEOS (CRUSTACEA –
PERACARIDA) COMO BIOINDICADORES DE COMPOSTOS
ORGANOESTÂNICOS NO LITORAL NORTE DE SÃO PAULO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Giuliano Buzá Jacobucci

**UBERLÂNDIA - MG
FEVEREIRO - 2011**

EDUARDO DE FREITAS SOUSA

POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE ANFÍPODES CAPRELÍDEOS (CRUSTACEA – PERACARIDA) COMO BIOINDICADORES DE COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS NO LITORAL NORTE DE SÃO PAULO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

APROVADA em 21 de fevereiro de 2011

Profa. Dra. Alessandra Angélica de Pádua Bueno - UFLA

Profa. Dra. Solange Cristina Augusto - UFU

Prof. Dr. Giuliano Buzá Jacobucci
UFU
(Orientador)

**UBERLÂNDIA - MG
FEVEREIRO - 2011**

Dedico este trabalho aos meus pais, Luis e Suzete, e a todos meus familiares pelo amor, carinho e compreensão, mesmo nos momentos em que não pude estar por perto.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer a Deus, por ter permitido e me dado forças, para que eu chegasse até aqui e por ter colocado todas as pessoas abaixo em minha vida, que de uma forma ou outra, me ajudaram na realização desse trabalho.

Agradeço aos meus pais, Luis e Suzete, e ao meu irmão Marcelo, por todo amor, presença, carinho e compreensão que me deram, mesmo quando eu estava longe.

Aos meus padrinhos, Iron e Solimar, e às minhas primas, Flávia e Fabíola, que também sempre estiveram presentes e que tornaram cada simples encontro em grandes momentos de descontração. Agradeço também aos demais familiares, com quem não pude passar tanto tempo devido a esse trabalho.

Ao Prof. Dr. Giuliano Buzá Jacobucci, que me acompanha desde a graduação, e tornou-se um amigo, além de um grande orientador. Obrigado pelas dicas, sugestões, apoio, auxílio nas coletas, e até mesmo pelas cobranças.

Aos membros da banca, Profa. Dra. Solange Cristina Augusto, Profa. Dra. Alessandra Angélica de Pádua Bueno, e Profa. Dra. Fernanda Helena Nogueira-Ferreira por terem aceitado o convite.

À Universidade Federal de Uberlândia e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, pelos recursos fornecidos que auxiliaram na realização desse estudo. Agradeço também à secretária da pós, Maria Angélica, por todo carinho e atenção fornecidos, mesmo nos momentos de maiores apertos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, pela bolsa concedida.

Ao pessoal do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – *Campus Araraquara*, Prof. Dra. Mary Rosa Rodrigues de Marchi,

doutoranda Dayana Moscardi dos Santos e às graduandas Daniela e Sara, por me receber em seu laboratório e possibilitar a realização de grande parte das análises químicas deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luiz Alfredo Pavanin (Instituto de Química – UFU – *Campus* Santa Mônica), pela realização das análises físico-químicas das amostras de água.

À Profa. Dra. Katia Gomes Facure Giaretta (Faculdade de Ciências Integradas do Pontal – UFU – *Campus* do Pontal), pelas dicas e apoio prestados.

Ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (USP), por nos fornecer estrutura e permitir a utilização da Base Clarimundo de Jesus durante uma das coletas.

Aos amigos Amanda, Danúbia, Flávio, Isabela, Karin, Karla e Vanessa pela fundamental ajuda nas coletas em Ubatuba. Agradeço também ao Daniel, que em Ubatuba nos ajudou tanto nas coletas quanto na logística, com seu barco.

Às estagiárias Bruna, Karin, Luisa e Nayara pela ajuda nas triagens de parte do material. Agradeço também à Izabela por me auxiliar com a etapa de liofilização.

Um agradecimento especial à minha amiga Raquel Costa e Silva, pelo auxílio nas coletas, pelas horas de triagem em laboratório, pela companhia em Araraquara, e por tornar todos esses momentos mais divertidos.

Agradeço também aos demais integrantes do Laboratório de Ecologia de Ecossistemas Aquáticos (LAQUA – UFU), Aline, Cyntia, Flávio, Priscilla, Regina e Renata, que mesmo trabalhando em outra área, estiveram sempre presentes e tornaram as inúmeras horas em laboratório em momentos divertidos.

Não posso deixar de agradecer aos meus amigos Ana Paula, Boscolli, Carol, Cyntia, Daliane, Denis, Edimar, Elaine, João Paulo, Katymilla, Lorraine, Nathália, Pedro Paulo, Rafael Bolleli, Rafael Innocentini, Russele e Thiago, que estiveram presentes nos momentos de folga e descontração.

Este trabalho com certeza não poderia ter sido realizado sem o auxílio de cada um de vocês. Sou muito grato a cada um, que mesmo com pequenas atitudes, fizeram com que eu chegasse aqui hoje. Muito obrigado a todos!!!

RESUMO

Os anfípodes caprelídeos são pequenos crustáceos, geralmente com 0,1 a 3 cm de comprimento, pertencentes à subordem Caprellidea. Os caprelídeos possuem uma importante função ecológica, pois além de servirem de elo de conexão entre os produtores primários e os níveis tróficos mais altos, eles são sensíveis a variações ambientais, toxinas e poluentes. Dentre esses poluentes, destacam-se os compostos organoestânicos (OTs), como o tributilestanho (TBT). O TBT é muito utilizado como ingrediente ativo em biocidas. Sua maior aplicação, no entanto, é em cascos de embarcações devido à sua ação anti-incrustante. Devido a esses fatores, o TBT e seus derivados (dibutilestanho – DBT e monobutilestanho – MBT) têm causado contaminação no ambiente marinho, especialmente no sedimento e na água de locais com grande tráfego de embarcações como marinas e portos. Como os limites de detecção de organoestânicos, como o TBT, através dos métodos analíticos normais são relativamente altos, a utilização de organismos marinhos no monitoramento desses compostos se torna interessante, pois além de acumular esses compostos, organismos de menor nível trófico, como os anfípodes caprelídeos, apresentam concentrações de TBT mais altas. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de utilização de caprelídeos como bioindicadores de OTs no litoral norte do estado de São Paulo. Para isso, foram realizadas duas coletas (Dezembro de 2009 e Março de 2010) em três praias (Fortaleza, Lázaro e Lamberto) de Ubatuba, SP. Foram coletadas 10 frondes individuais de *Sargassum* por praia em cada período para caracterizar a estrutura das assembleias de caprelídeos. As condições ambientais das praias foram avaliadas através de medições de hidrodinamismo, temperatura, oxigênio dissolvido, turbidez e matéria orgânica na água. As frondes foram fixadas, lavadas e triadas e os organismos identificados em nível de espécie. Para avaliação de organoestânicos foram coletadas cerca de cinquenta frondes de *Sargassum*, por praia, em cada período, das quais foram retirados caprelídeos para as análises. Em laboratório, os caprelídeos foram armazenados em papel alumínio, congelados e encaminhados para as análises de compostos organoestânicos. As amostras foram então homogeneizadas, e passaram por um procedimento analítico antes de serem analisadas em um cromatógrafo a gás com detector fotométrico de chama pulsante (CG-PFPD). Para descrever as assembleias de caprelídeos, foram calculados a densidade, a riqueza de espécies e índices de diversidade e equidade. Algumas diferenças nas condições ambientais entre praias e períodos de coleta foram registradas. Um total de 384 caprelídeos de nove espécies distintas foram coletados. A praia do Lázaro apresentou maior densidade, riqueza e diversidade. Apesar dessa riqueza de espécies, apenas duas (*Caprella danilevskii* e *Caprella dilatata*) puderam ser utilizadas nas análises de organoestânicos, devido à quantidade de massa exigida pelo método. Foram encontradas altas concentrações de TBT nas amostras de *C. danilevskii* (acima de 200 ng Sn/g), enquanto que para *C. dilatata* os valores estiveram desde abaixo do limite de detecção até um máximo de 35 ng Sn/g. Espera-se que, com a aplicação da nova legislação no Brasil, haja uma diminuição nas concentrações de TBT nas áreas costeiras do país. No entanto, o monitoramento das concentrações de TBT ainda se faz necessário e os resultados obtidos indicam que *C. danilevskii* pode ser um eficiente bioindicador de contaminação por TBT no litoral norte de São Paulo e em outras regiões do litoral brasileiro, pois essa espécie, além de concentrar esse composto, pode ser coletada com facilidade, ocorre em uma grande diversidade de condições ambientais e apresenta ampla distribuição no país.

Palavras-chave: bioindicador, caprelídeos, compostos organoestânicos, TBT.

ABSTRACT

The caprellid amphipods are small crustaceans, usually with 0.1 to 3 cm long, belonging to the suborder Caprellidea. The caprellids have an important ecological function, because in addition to providing the connection between primary producers and higher trophic levels, they are sensitive to environmental variations, toxins and pollutants. Among these pollutants, organotin compounds, such as the tributyltin (TBT) stands out. The TBT is commonly used as active ingredient in biocides. Its wider application, however, is in the hulls of vessels due to its anti-fouling effect. Due to these factors, TBT and its derivatives (dibutyltin - DBT and monobutyltin - MBT) have caused environmental contamination in the marine environment, especially in the sediment and water, from areas with high boat traffic, like marinas and harbors. As the detection limits of organotins, such as TBT, through the normal analytical methods are relatively high, the use of marine organisms in the monitoring of these compounds are interesting because, besides accumulating these compounds, lower trophic level organisms such as caprellid amphipods, have higher concentrations of TBT. Therein, the aim of this study was evaluate the potential use of caprellids as bioindicators of OTs in the northern coast of São Paulo State. For this, two samplings were performed (December 2009 and March 2010) at three beaches (Fortaleza, Lázaro and Lamberto) from Ubatuba, SP. Ten individual fronds of *Sargassum* were collected per beach in each period to characterize the structure of caprellid assemblages. The environmental conditions of the beaches were evaluated by measurements of hydrodynamics, temperature, dissolved oxygen, turbidity and organic matter in water. The fronds were fixed, washed and examined and the organisms were identified to species level. For organotin evaluation, fifty fronds of *Sargassum* were collected, per beach, in each sampling period, from which caprellids were removed for analysis. In laboratory, the caprellids were stored in aluminum foil, frozen and sent to the organotin compounds analysis. The samples were then homogenized, and passed through an analytical procedure before analysis in a gas chromatography with pulsed flame photometric detector (GC-PFPD). To describe the caprellid assemblages, the density, species richness and indexes of diversity and evenness were calculated. Some differences in environmental conditions among beaches and between sampling periods were recorded. A total of 384 caprellids of nine different species were collected. The Lázaro beach had the highest density, richness, and diversity. Despite this species richness, only two species (*Caprella danilevskii* and *Caprella dilatata*) could be used in the organotin analyses, because of the amount of mass required by the method. High concentrations of TBT were found in the samples of *C. danilevskii* (above 200 ng Sn/g), whereas for *C. dilatata* the values were from below the detection limit up to 35 ng Sn/g. It is expected that with the implementation of new legislation in Brazil, there is a decrease in concentrations of TBT in the coastal areas of the country. However, the monitoring of TBT concentrations is still needed and the results obtained indicate that caprellids *C. danilevskii* stands out as an efficient bioindicator of TBT contamination in littoral north of São Paulo and another areas of Brazilian littoral, because this species besides concentrating this compound, can be easily collected, occurs in a wide variety of environmental conditions and is widely distributed in the country.

Keywords: bioindicator, caprellids, organotin compounds, TBT

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	1
MATERIAIS E MÉTODOS	5
Área de estudo	5
Coleta e tratamento das amostras	8
Caracterização das assembleias de caprelídeos e das condições ambientais dos locais de coleta	8
Descrição das assembleias de caprelídeos	10
Avaliação dos compostos organoestânicos nos caprelídeos	11
Validação do método de análise	11
Análise das amostras	13
Condições Cromatográficas	16
Análise dos dados	17
RESULTADOS	18
Caracterização das condições ambientais das praias	18
Descrição das assembleias de caprelídeos	19
Análise dos compostos organoestânicos	21
DISCUSSÃO	23
CONCLUSÕES	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Localização e aspecto geral dos locais de coleta no município de Ubatuba, São Paulo, Brasil. A- Praia de Fortaleza. B- Praia do Lázaro. C- Praia do Lamberto.	6
Figura 2 – Aspecto geral da lavagem das algas (<i>Sargassum</i> spp.), utilizando-se bandejas plásticas e água.	8
Figura 3 – Estruturas com blocos de gesso utilizadas para avaliação do hidrodinamismo nos três locais de coleta em Ubatuba, litoral norte do estado de São Paulo.	10
Figura 4 – Equipamentos utilizados no processo geral de extração dos OTs. A- Vortex. B- Ultrassom. C- Centrífuga. D- Funis de separação. E- Balões em formato de pera. F- Rotaevaporador e bomba de vácuo. G- Coluna de alumina.	14
Figura 5 – Esquema geral das análises químicas de organoestânicos (OTs) realizadas em amostras de caprelídeos coletados nas praias da Fortaleza, do Lázaro e Lamberto em Ubatuba, litoral norte do estado de São Paulo.	16
Figura 6 – Gráficos dos parâmetros ambientais analisados (temperatura, hidrodinamismo, oxigênio dissolvido, turbidez e matéria orgânica) nas três praias do município de Ubatuba, São Paulo, Brasil. A- Temperatura. B- Hidrodinamismo. C- Oxigênio dissolvido. D- Turbidez. E- Matéria orgânica.	19
Figura 7 – Espécies de caprelídeos coletadas nas praias de Ubatuba – SP e utilizadas nas análises de compostos organoestânicos. A- <i>Caprella danilevskii</i> . B- <i>Caprella dilatata</i>	22

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Valores do limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) em ng Sn.g ⁻¹ para os compostos organoestânicos na matriz de anfípodes caprelídeos.	12
Tabela 2 - Condições cromatográficas empregadas para análise de OTs por GC-PFPD (Varian 3800).	17
Tabela 3 – Densidade das espécies de caprelídeos (média ± desvio padrão) registradas nas praias de Fortaleza, Lázaro e Lamberto, nos dois períodos de coleta (Dezembro e Março) no município de Ubatuba, São Paulo, Brasil. Dados em indivíduos por grama de alga seca (ind./g).	20
Tabela 4 – Riqueza, diversidade de Shannon (H'), e equidade de Pielou (J), calculados para as praias da Fortaleza, Lamberto e Lázaro, Ubatuba, São Paulo, Brasil.	21
Tabela 5 – Média das concentrações de tributilestanho (TBT) verificado para cada sub-amostra de <i>Caprella danilevskii</i> e <i>Caprella dilatata</i> das praias de Fortaleza, Lázaro, e Lamberto, Ubatuba, SP. Valores de concentração em ng Sn/g.	22
Tabela 6 - Comparação dos resultados desse trabalho em relação a outros trabalhos (TAKEUCHI; TAKAHASHI; TANABE, 2004, TAKEUCHI et. al, 2004) semelhantes realizados no Japão.	26

INTRODUÇÃO

Os caprelídeos são anfípodes (Crustacea: Peracarida) pertencentes à subordem Caprellidea. Esta subordem compreende mais de 300 espécies descritas, divididas em oito famílias, sendo o gênero *Caprella* (Lamarck, 1801) o maior, com mais de 100 espécies registradas (TAKEUCHI et al., 2001; ITO; WADA; AOKI, 2008).

Estes organismos são marinhos, bentônicos, apresentam mobilidade reduzida, mas possuem ampla distribuição geográfica. Segundo McLaughlin (1980), o gênero *Caprella* apresenta um comprimento padrão de 1 a 32 mm, e os machos geralmente são maiores do que as fêmeas (MITTMANN; MÜLLER, 1998). Diferentemente da maioria dos anfípodes, os caprelídeos apresentam um corpo alongado e fino, abdômen e pleópodos reduzidos, e pereiópodos e brânquias em alguns segmentos podem ser reduzidos ou ausentes (WOODS, 2009). Seu ciclo de vida é relativamente curto. Em experimentos de laboratório Takeuchi et al. (2001) verificaram que o ciclo de vida de *Caprella danilevskii* Czerniavskii, 1868, por exemplo, apresenta uma média de 46,5 dias para machos e 46 dias para fêmeas.

Devido à sua mobilidade reduzida, os caprelídeos geralmente passam todo seu ciclo de vida associados a substratos como briozoários, hidrozoários, ascídias, esponjas e algas. Esses organismos apresentam hábito alimentar generalista, utilizando uma variedade de estratégias de alimentação. Eles se alimentam de materiais em suspensão, predam outros organismos, raspam detritos e perifíton, e podem se alimentar do muco e tecidos de outros animais (WOODS, 2009).

Os caprelídeos possuem importante função ecológica nos ecossistemas costeiros, pois servem de elo de conexão entre os produtores primários (e.g. algas) e os níveis tróficos mais altos (e.g. peixes), possibilitando assim a acumulação de compostos pela cadeia trófica. Além disso, eles são sensíveis a variações ambientais, toxinas e poluentes (THOMAS, 1993; WOODS, 2009). Guerra-García e García-Gomez (2001) demonstraram que a distribuição dos

caprelídeos é influenciada pelo hidrodinamismo, pela quantidade de sólidos suspensos, e pela matéria orgânica suspensa e no sedimento. *Caprella danilevskii*, por exemplo, está presente geralmente em locais mais expostos, ou seja, com um maior hidrodinamismo e maior sedimentação. Aono e Takeuchi (2008) ressaltam ainda, que estes organismos são melhores para observações diretas e manipulações experimentais do que, outros crustáceos (e.g. copépodes e misidáceos), por apresentarem mobilidade reduzida. Devido a esses fatores e a sua representatividade, os caprelídeos têm sido usados em programas de biomonitoramento.

Dados coletados nesses programas geralmente mostram condições existentes em determinado local, e ajudam a documentar alterações nessas condições ao longo do tempo. Mesmo que não haja um conhecimento prévio das condições ambientais desse local, iniciativas de biomonitoramento servem para criar uma linha de base que pode ser usada em futuras comparações, ou até mesmo em outros projetos (THOMAS, 1993).

Nos últimos anos, os caprelídeos têm sido usados como bioindicadores, principalmente de compostos organoestânicos (OTs), como o tributilestanho (TBT) e seus derivados, e metais pesados (GUERRA-GARCÍA et al. 2010). A utilização de caprelídeos na bioindicação desses compostos se deve a sua representatividade, características biológicas, importância em ambientes costeiros e elevados fatores de bioconcentração de metais (GUERRA-GARCÍA et al. 2009) e de butílicos (TAKEUCHI et al., 2001).

Os OTs apresentam a fórmula geral R_nSnX_{4-n} , onde R é um grupo alquil ou aril, X é um ânion, como cloreto, óxido, hidróxido ou outro grupo funcional, e n varia de 1 a 4. Esses compostos se caracterizam pela presença de uma ou mais ligações estanho-carbono, e sua toxicidade aumenta com o número de radicais butil (de um até três), mas é reduzida com a adição de um quarto radical (GODOI; FAVORETO; SANTIAGO-SILVA, 2003).

Compostos de tributilestanho (TBT) são os principais ingredientes ativos em biocidas usados para controlar um amplo espectro de organismos. A maior aplicação do TBT, no

entanto, ocorre em tintas usadas em cascos de grandes embarcações devido à sua ação anti-incrustante (TAKEUCHI; TAKAHASHI; TANABE, 2004). Devido à redução de organismos incrustantes como cracas, por exemplo, o TBT também acaba proporcionando uma melhora na velocidade e na eficiência econômica das embarcações. No entanto, a partir da década de 60 seu uso tornou-se indiscriminado, sendo utilizado em embarcações muito menores (ANTIZAR-LADISLAO, 2008).

Em função disso, o TBT e seus derivados (dibutilestanho – DBT e monobutilestanho – MBT) têm causado contaminação ambiental e efeitos perigosos nos ecossistemas marinhos, especialmente em locais com grande tráfego de embarcações como marinas e portos (LIGNOT et. al, 1998; OHJI; ARAI; MIYAZAKI, 2003a).

A ligação covalente carbono-estanho, presente no TBT, não se desfaz na água. A biodegradação é a principal forma de degradação do TBT na água e nos sedimentos, sendo que sua meia-vida pode variar de vários dias a semanas na água, e de alguns dias, meses ou até mais de um ano do sedimento (United States Environmental Protection Agency – EPA, 2003). Quando degradado, o TBT produz dibutilestanho (DBT) e monobutilestanho (MBT).

Mesmo em concentrações extremamente baixas, o TBT pode provocar alterações nos organismos (OHJI; ARAI; MIYAZAKI, 2003b; AONO; TAKEUCHI, 2008). Segundo a resolução nº 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2005) a quantidade máxima de TBT que pode estar presente em águas salinas de classe 1 (águas destinadas a recreação, proteção das comunidades aquáticas, aquicultura e pesca) é de 0,01 µg/L de TBT. Esse composto é um agente imunossupressor e um disruptor endócrino, podendo causar a imposição de características sexuais masculinas em fêmeas de gastrópodes, fenômeno chamado *imposex* (FERNANDEZ et. al, 2005). Além disso, o TBT tem capacidade de se acumular através da cadeia alimentar, tendo sido encontrado até em tecidos de mamíferos marinhos. Também provoca efeitos adversos na reprodução e no

desenvolvimento dos organismos aquáticos, mesmo em concentrações muito baixas (EPA, 2003).

Em crustáceos, por exemplo, pode causar mortalidade, retardar a regeneração, ocasionar deformações em partes do corpo e levar a alterações reprodutivas (WEIS; GOTTLIEB; KWIATKOWSKI, 1987; KHAN et al., 1993). Nos caprelídeos, há relatos de vários tipos de danos biológicos como diminuição nas taxas de sobrevivência e crescimento, inibição reprodutiva e alterações morfológicas devido à exposição ao TBT, mesmo em concentrações de 1,1 a 100 ng/l (OHJI; ARAI; MIYAZAKI, 2003a; AONO; TAKEUCHI, 2008). Diante disso, a Organização Marítima Internacional (IMO) através de seu Comitê de Proteção do Ambiente Marinho (MEPC) propôs a proibição de aplicação de tintas com organoestânicos (como o TBT) a partir de 2003 e sua total exclusão em 2008 (IMO, 2002; MARTÍNEZ-LLADÓ et al., 2007). No entanto, o banimento desses compostos ainda não foi ratificado por um número suficiente de países para entrar em vigor (AONO; TAKEUCHI, 2008). No Brasil, a adesão à proposta da IMO e a regulamentação do uso de tintas anti-incrustantes só ocorreu em 2009 através do Projeto de Decreto Legislativo N.º 1.804/2009 que usou como base o trabalho de Felizzola (2005).

Em regiões tropicais, no entanto, estudos acerca da contaminação ambiental e dos efeitos dos compostos organoestânicos são relativamente raros (LIU et al., 1997; HASHIMOTO et al., 1998). No Brasil, segundo levantamento de Fernandez (2006), os trabalhos de biomonitoramento de compostos organoestânicos ainda estão no início. Somente nove trabalhos foram registrados na costa do país, do estado de São Paulo ao estado do Ceará. No entanto, estes trabalhos focam em espécies de gastrópodes (*Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1758) e *S. rustica* (Lamarck, 1822)) que já apresentam resultados comprovados do fenômeno *imposex*.

Apesar da diversidade de espécies de caprelídeos no litoral brasileiro e da existência de alguns trabalhos acerca de aspectos ecológicos básicos do grupo (JACOBUCCI et. al, 2002; CUNHA; CUNHA; JACOBUCCI, 2008), não existem iniciativas de utilização desses crustáceos como bioindicadores em propostas de monitoramento de contaminantes da região costeira do país.

Nesse sentido, o levantamento de áreas efetivamente contaminadas por organoestânicos e a análise de seu efeito em comunidades biológicas em regiões com crescente presença de embarcações e sujeita a diversos outros impactos antrópicos, como o litoral paulista, são fundamentais. Além disso, estudos dessa natureza podem fornecer subsídios a outras pesquisas e ações voltadas ao gerenciamento deste tipo de contaminação no ambiente marinho.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de utilização de anfípodes caprelídeos como bioindicadores de OTs no litoral norte do estado de São Paulo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

O presente trabalho foi realizado no litoral norte do estado de São Paulo, no município de Ubatuba (23° 26' 02" S e 45° 04' 15" W). Ubatuba encontra-se em domínio de Mata Atlântica, e apresenta áreas de preservação pertencentes ao Parque Estadual da Serra do Mar. O município possui uma área de 711 km², cerca de 78 mil habitantes (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2010), e o clima da cidade segundo a classificação de Köppen é do tipo Af, tropical úmido (Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas à Agricultura – CEPAGRI, 2010). O município de Ubatuba foi escolhido por apresentar intensa atividade turística e pesqueira e, portanto um grande movimento de embarcações e um potencial elevado de contaminação por OTs. Além disso, trabalhos realizados na região

atestam a ocorrência de várias espécies de caprelídeos (JACOBUECCI et. al, 2002; CUNHA; CUNHA; JACOBUECCI, 2008; JACOBUECCI; TANAKA; LEITE, 2009).

Foram realizadas coletas nas praias de Fortaleza, Lázaro e Lamberto (Figura 1). Os locais de coleta foram selecionados em função das diferenças de alterações antrópicas visíveis, sendo considerada principalmente a presença de embarcações e o grau de urbanização. Foram selecionadas praias em áreas próximas a marinas e atracadouros de barcos de pesca, e áreas menos sujeitas à presença de embarcações.

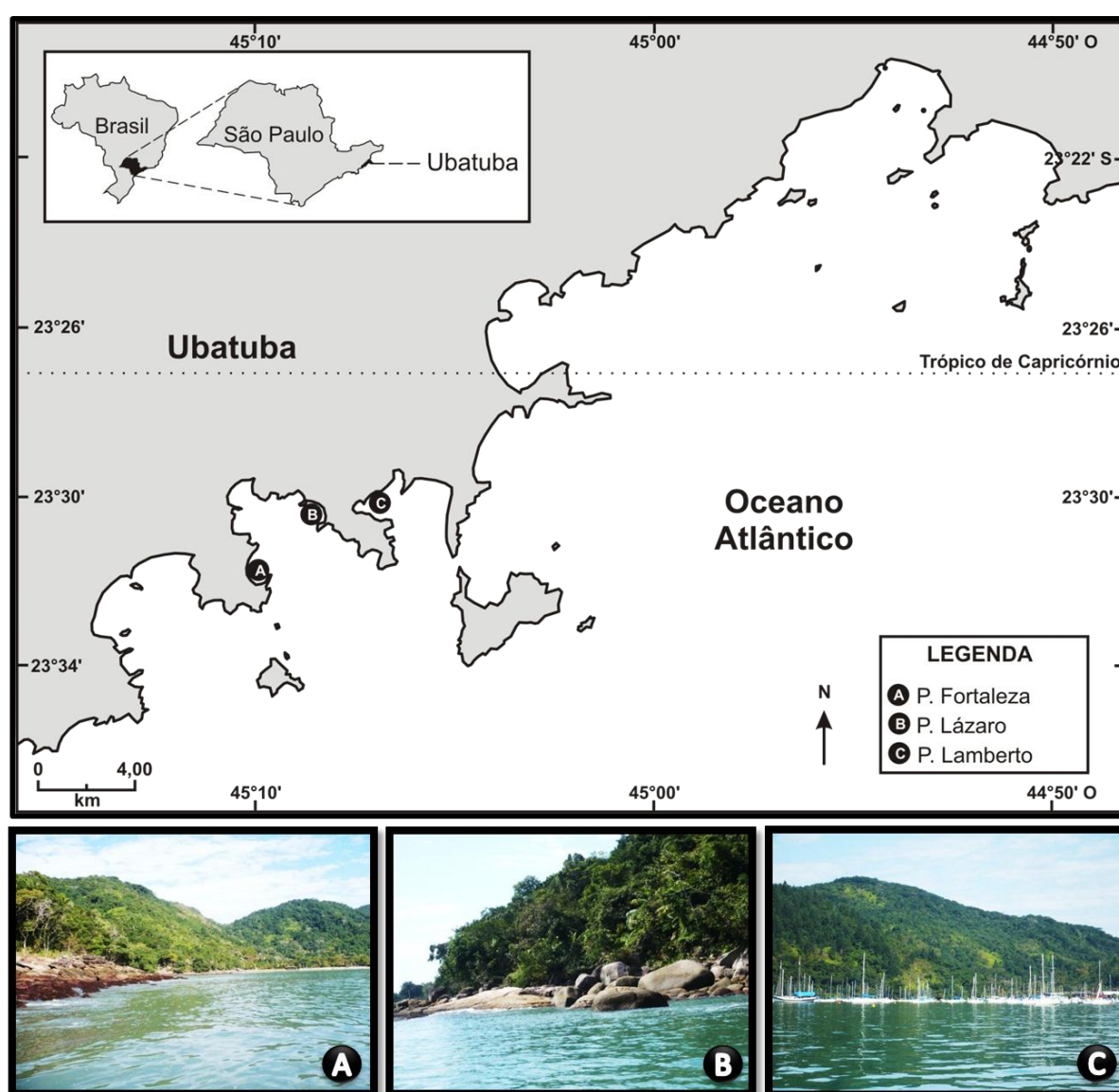


Figura 1 - Localização e aspecto geral dos locais de coleta no município de Ubatuba, São Paulo, Brasil. **A**- Praia de Fortaleza. **B**- Praia do Lázaro. **C**- Praia do Lamberto.

Praia da Fortaleza (Figura 1.A)

Localizada à aproximadamente 27 km do centro de Ubatuba (23° 31' 47" S e 45° 09' 33" W), a praia de Fortaleza é ocupada por casas de veraneio e alguns estabelecimentos comerciais. Apresenta um movimento moderado de turistas em relação a outras praias de Ubatuba, principalmente na alta temporada (dezembro a fevereiro), período no qual alguns barcos de lazer frequentam o local (JACOBUECCI, G. B., observação pessoal).

Praia do Lázaro (Figura 1.B)

Localizada à aproximadamente 16 km do centro de Ubatuba (23° 30' 32" S e 45° 08' 20" W), a praia do Lázaro é bastante frequentada por turistas, e segundo a Companhia Ambiental do Estado do São Paulo – CETESB (2009), a qualidade de suas águas é considerada regular. A frequência de barcos de lazer é mais intensa que na praia da Fortaleza, em função da presença de uma pequena marina. Eventualmente são encontrados alguns barcos de pesca artesanal no local (JACOBUECCI, G. B., observação pessoal).

Praia do Lamberto (Figura 1.C)

Localizada à aproximadamente 13 km do centro de Ubatuba (23° 29' 49" S e 45° 06' 44" W), a praia do Lamberto apresenta pequena extensão, e está localizada ao lado da principal marina da região, que serve como ancoradouro principalmente para barcos de lazer (lanchas e veleiros) de dimensões diversas.

Coleta e tratamento das amostras

Caracterização das assembleias de caprelídeos e das condições ambientais dos locais de coleta

Para caracterizar as assembleias de caprelídeos e as condições ambientais das três praias selecionadas, foram realizadas coletas em dezembro de 2009 e em março de 2010. A coleta dos organismos foi feita através de mergulho livre do tipo *snorkeling*, em bancos de algas pardas do gênero *Sargassum* C. Agardh, 1820 (Fuciales). Em cada banco de *Sargassum* foram coletadas aleatoriamente dez frondes por período, através de raspagem do substrato rochoso utilizando-se uma espátula. Em seguida, as frondes foram colocadas individualmente em sacos de tecido com malha de 0,2 mm, adequados para reter os organismos da macrofauna, incluindo os caprelídeos.

As frondes foram encaminhadas ao laboratório e colocadas em frascos com formaldeído a 5%. As algas foram lavadas por três vezes em bandejas plásticas com água doce (Figura 2). Em seguida, foram secas em estufa a aproximadamente 60°C por dois dias e pesadas.



Figura 2 – Aspecto geral da lavagem das algas (*Sargassum* spp.), utilizando-se bandejas plásticas e água.

O material proveniente da lavagem foi filtrado em funil com malha de 0,2 mm e em seguida triado com auxílio de microscópio estereoscópio. Os caprelídeos foram identificados em nível de espécie utilizando-se chaves específicas (QUITETE, 1977; GUERRA-GARCÍA, 2004; DÍAZ; GUERRA-GARCÍA; MARTÍN, 2005), contados e armazenados em frascos com álcool 70% devidamente etiquetados.

Para caracterizar as condições ambientais das três praias, amostras de água foram coletadas utilizando-se frascos âmbar de um litro, para análise de parâmetros físicos (turbidez) e químicos (oxigênio dissolvido e matéria orgânica). Esse material foi mantido resfriado e encaminhado à Divisão de Assessoramento Técnico e Análise Química (DIAAQ), do Instituto de Química da UFU – *Campus Santa Mônica*, onde as análises foram realizadas.

A turbidez foi determinada através do método nefelométrico, através de um turbidímetro digital processado (HD114). Este método se baseia na comparação da intensidade de luz espalhada pela amostra sob condições definidas, com a intensidade da luz espalhada por uma suspensão de referência padrão sob as mesmas condições. Dessa forma, quanto maior a luz dispersada, maior a turbidez (GUIMARÃES, 2008).

A determinação da concentração de oxigênio dissolvido (OD) foi feita através do método de Winkler, que é uma reação de iodometria que utiliza manganês para realizar a fixação do oxigênio na amostra de água. Após a fixação é adicionado iodeto de potássio e ácido sulfúrico, que faz com que haja a liberação do iodo elementar que em seguida será titulado (MACÊDO, 2003).

A quantidade de matéria orgânica foi verificada através da determinação do oxigênio consumido (OC). Este método fornece a quantidade de material orgânico que é oxidável nas condições impostas durante o ensaio (MACÊDO, 2003).

A temperatura superficial da água (~50 cm) foi avaliada com termômetro de mercúrio. O hidrodinamismo das praias foi avaliado no mês de dezembro, utilizando-se três blocos de

gesso em cada praia (Figura 3). Os blocos de gesso com massa conhecida foram fixados nos bancos de *Sargassum* e deixados por um período de 24 horas. Após esse período, os blocos foram removidos, secos em estufa por 48 h à 60°C e o hidrodinamismo foi avaliado através da média das diferenças de massas dos blocos.



Figura 3 – Estruturas com blocos de gesso utilizadas para avaliação do hidrodinamismo nos três locais de coleta em Ubatuba, litoral norte do estado de São Paulo.

Descrição das assembleias de caprelídeos

Para cada amostra, o número de organismos foi transformado em densidade, dividindo-se o número de indivíduos encontrados de cada espécie pela massa seca da fronde de *Sargassum* correspondente. Em seguida foi calculada a média e o desvio padrão da densidade, para cada praia nos dois períodos (dezembro e março).

A composição de espécies foi determinada e foram calculados a riqueza de espécies, o índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') e o índice de equidade de Pielou (J) em cada praia, para cada período, utilizando-se o programa DivEs - Diversidade de Espécies (Versão 2.0).

Avaliação dos compostos organoestânicos nos caprelídeos

Para a análise dos compostos organoestânicos a biomassa é um fator determinante, pois o método de análise do TBT e seus derivados exige uma biomassa úmida mínima de 2 g por amostra e uma quantidade extra de 6 g para a validação do método. Para obter essa biomassa, foram coletadas aleatoriamente cerca de cinquenta frondes nos bancos de *Sargassum* spp. de cada praia, em três períodos de coleta (Agosto/09, Dezembro/09 e Março/10). Na coleta de agosto foram coletados organismos para serem usados na validação do método.

As frondes coletadas foram então levadas para o laboratório, colocadas em freezer por aproximadamente duas horas, para que os organismos morressem e se soltassem das frondes. Após esse período, as algas foram lavadas com água do mar para remoção dos caprelídeos. Em seguida, estes foram identificados em nível de espécie e, seguindo as exigências do método, foram armazenados em papel alumínio e congelados.

As amostras de caprelídeos, cada qual com cerca de 2 g de biomassa úmida, foram encaminhadas ao Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – *Campus Araraquara*, onde realizamos as análises químicas de OTs.

Validação do método de análise

Antes da utilização de qualquer método de análise química, é necessário validar o método. Essa validação fornece evidências objetivas de que o método aplicado atende às exigências das aplicações analíticas, assegurando assim a confiabilidade dos resultados (ANVISA, 2003).

O método também pode ser avaliado quanto à sua eficiência de extração adotando-se materiais de referência certificados (CRM), ou seja, material biológico semelhante ao que será analisado e que já possui uma quantidade conhecida do analito em questão. Na ausência deste

tipo de material, pode ainda ser realizado o enriquecimento da amostra com quantidades conhecidas do composto. Além disso, pode-se fazer uso de *surrogates* (compostos substitutos que possuem grande semelhança com a substância de estudo), para a realização de ensaios de recuperação durante a análise (SANTOS, 2008).

A validação do método também fornece os valores de limite de detecção (menor concentração da substância que pode ser detectada), limite de quantificação (menor concentração da substância que pode ser medida) e a porcentagem de recuperação dos OTs na matriz.

Para este estudo, as análises de TBT e de seus derivados foram realizadas através de cromatografia gasosa com detector fotométrico de chama pulsante (CG-PFPD). Previamente à realização das análises foi feita a validação do método. As amostras de caprelídeos foram enriquecidas com o *surrogate* tripropilestanho (TPrT) e utilizou-se o tetrabutilestanho (TeBT) como padrão interno (SOARES, 2009).

A porcentagem de recuperação nesse estudo foi verificada na própria matriz analisada, o que confere maior fidelidade dos resultados. A porcentagem de recuperação para o TBT variou entre 74% e 118%. Os valores dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) obtidos estão indicados na Tabela 1.

As concentrações de MBT e DBT estiveram abaixo dos limites de quantificação em todas as sub-amostras e como não foram obtidos dados precisos que validassem a extração e quantificação para estes compostos, foram analisadas apenas as concentrações de TBT.

Tabela 1 - Valores do limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) em ng Sn/g para os compostos organoestânicos na matriz de anfípodes caprelídeos.

	LD	LQ
TBT	9	19
DBT	14	31
MBT	14	28

Análise das amostras

Para serem injetadas no cromatógrafo, as amostras passaram por um processo analítico. As amostras de caprelídeos que estavam resfriadas foram então maceradas, homogeneizadas e pesadas. Todo o processo foi realizado em triplicata. A descrição do método, indicada a seguir, se refere a uma tréplica ou sub-amostra (adaptado de SANTOS, 2008).

Após a homogeneização, foi obtida uma massa de 0,1 g de tecido úmido de caprelídeos. A essa massa adicionou-se 50 µl do *surrogate* tripropilestanho (TPrT) e 1 ml de hexano. A mistura foi seca sob fluxo de nitrogênio e deixada durante a noite na geladeira. No dia seguinte, iniciou-se a etapa denominada extração I, na qual foi acrescentado à mistura que estava na geladeira um preparado com 5 ml de MeOH e 3,5 ml HCl. Em seguida, a sub-amostra foi homogeneizada em vortex (Figura 4.A) por um minuto e deixada em repouso por dez minutos. Foi então adicionado 1 g de NaCl para saturar a sub-amostra.

Após esta etapa, iniciou-se a extração II, com a adição de 8 ml de tolueno. Após a adição do tolueno a sub-amostra foi homogeneizada em vortex por um minuto, deixada no ultrassom (Figura 4.B) por dez minutos e centrifugada (Figura 4.C) a 2000 rpm por cinco minutos. Após sair da centrífuga a fase orgânica sobrenadante da mistura foi retirada e colocada em um funil de separação (Figura 4.D). O processo da extração II foi repetido mais duas vezes.

Na etapa de complexação, foram adicionados 10 ml de pirrolidinadietilcarbamato de amônio (APDC) 0,1% ao extrato resultante das três etapas da extração II. A fase contendo o APDC foi descartada e a fase orgânica do processo foi lavada com 10 ml de água Milli-Q por duas vezes, para retirar o excesso de ácido.

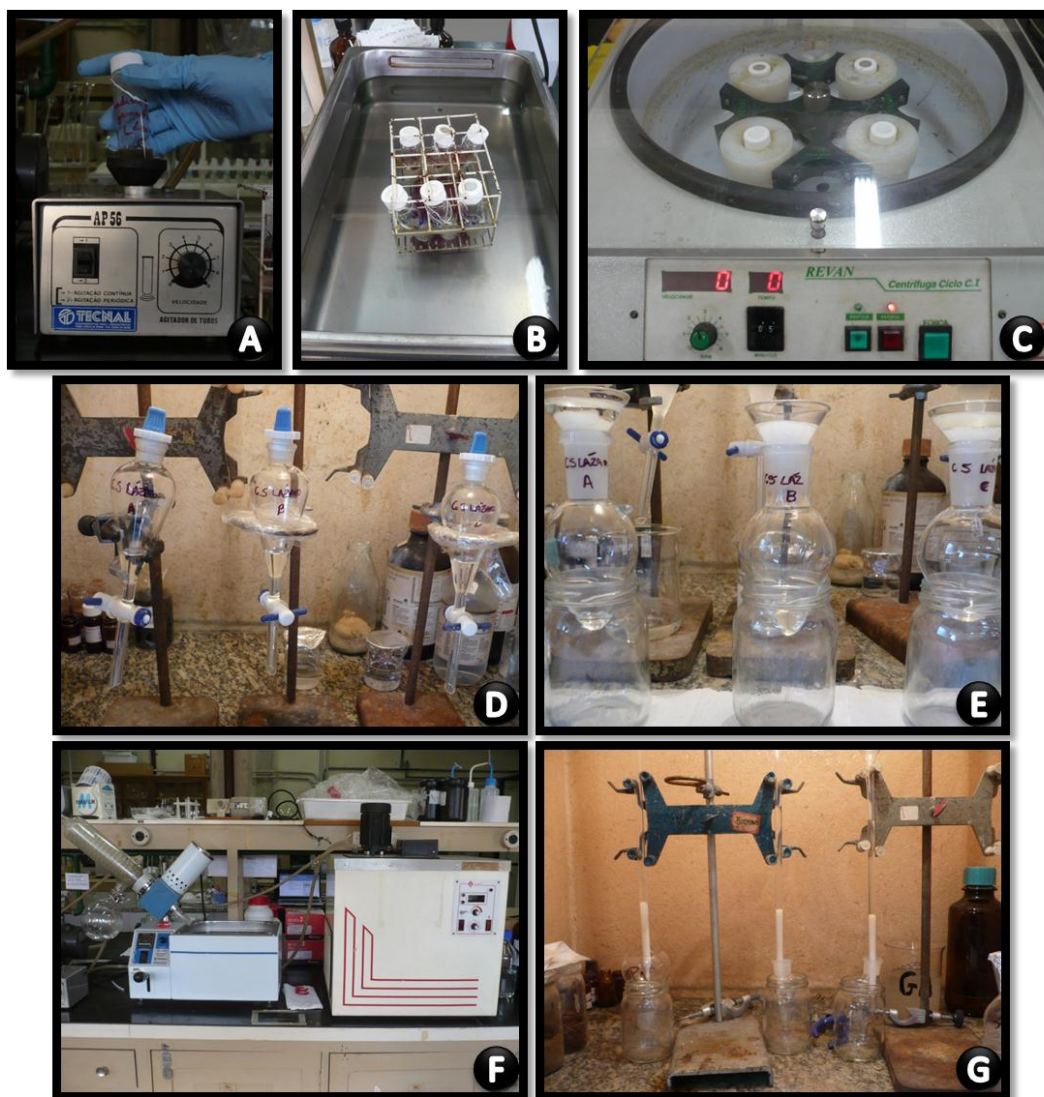


Figura 4 – Equipamentos utilizados no processo geral de extração dos OTs. **A-** Vortex. **B-** Ultrassom. **C-** Centrífuga. **D-** Funis de separação. **E-** Balões em formato de pera. **F-** Rotaevaporador e bomba de vácuo. **G-** Coluna de alumina.

Na etapa de derivação, o extrato foi transferido para um balão em formato de pera (Figura 4.E), passando antes por um funil contendo sulfato de sódio, para que o excesso de água fosse retido. O extrato foi concentrado em rotaevaporador (Figura 4.F) até aproximadamente 2 ml. Em seguida foram adicionados 3 ml do reagente de Grignard (brometo de pentilmagnésio 2 M em dietileter). Após o tempo de reação (20 minutos), esta foi cessada em banho de gelo, adicionando-se 20 ml de água Milli-Q.

Em seguida, foram adicionadas aproximadamente vinte gotas de ácido sulfúrico concentrado e a solução foi agitada para desfazer o precipitado formado durante a reação com o reagente de Grignard. O extrato foi então transferido para funil de separação e o balão tipo pera foi lavado duas vezes com 10 ml de água Milli-Q. A fase aquosa foi descartada e o extrato foi novamente transferido para um balão tipo pera.

Na etapa do clean-up, o extrato foi concentrado novamente em rotaevaporador até aproximadamente 1 ml. Em seguida o extrato foi passado em uma coluna de alumina (pré-ativada a 100°C por 24 horas – Figura 4.G) e sulfato de sódio (pré-ativado a 100°C por 1 hora), usando hexano como eluente.

Na última etapa antes da injeção no cromatógrafo, o extrato passou pela fase de concentração, onde é concentrado até 100 µl sob fluxo de nitrogênio. Neste momento foi adicionado 10 µl do padrão interno (TeBT) e o extrato final foi transferido para um *vial* contendo um *insert* (250 µL) e cada sub-amostra foi injetada três vezes no cromatógrafo a gás com detector fotométrico de chama pulsante (GC-PFPD).

Na Figura 5 está representado o esquema geral de todas as etapas antes da injeção do extrato das sub-amostras dos caprelídeos no cromatógrafo.

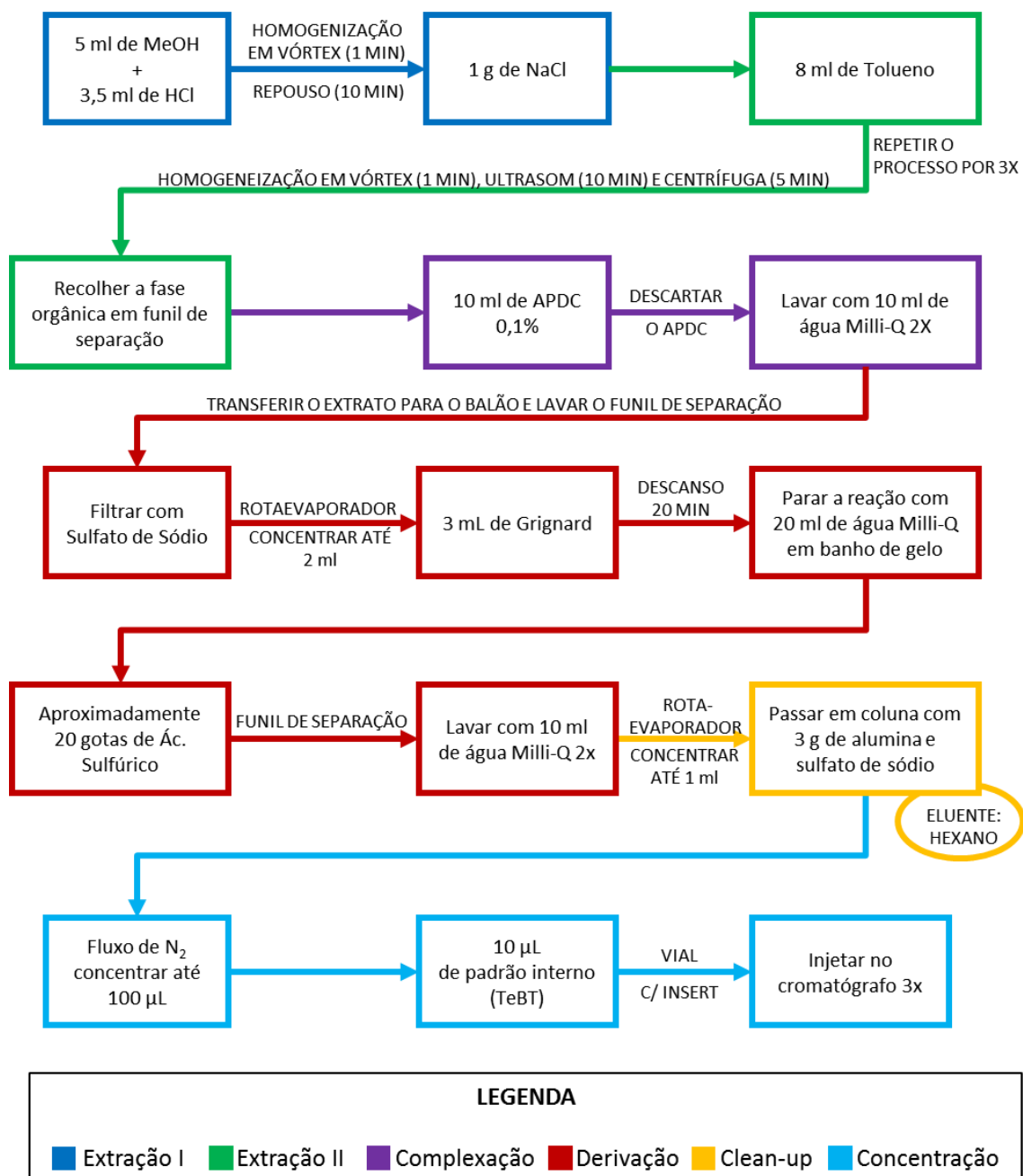


Figura 5 – Esquema geral das análises químicas de organoestânicos (OTs) realizadas em amostras de caprelídeos coletados nas praias da Fortaleza, do Lázaro e Lamberto em Ubatuba, litoral norte do estado de São Paulo.

Condições Cromatográficas

A cromatografia a gás (GC-PFPD) foi realizada segundo as condições apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Condições cromatográficas empregadas para análise de OTs por GC-PFPD (Varian 3800)

Condições Cromatográficas	
Coluna	DF-5 ms (30 m, 0.25 mm, 0.25 μ m, Varian, USA)
Temperatura da coluna	60°C (0.5 min) $\rightarrow$ 15°C/min $\rightarrow$ 170°C $\rightarrow$ 10°C/min $\rightarrow$ 280°C (1.17 min)
Gás de arraste	H ₂ 5,0 analítico Vazão: 1,7 ml/min
Injeção	Injeção de Grobbee Volume injetado: 2 μ l Temperatura do injetor: 250°C
Detecção	Temperatura do detector 300°C Filtro: 610 nm (vermelho) H ₂ (ml/min): 13,5 Ar ₁ (ml/min): 17,1 Ar ₂ (ml/min): 10,6 Voltagem da fotomultiplicadora: 730 V Gate delay (ms): 3 Gate width (ms): 3 Trigger level (mV): 200

Análise dos dados

Com a cromatografia foram obtidos para cada sub-amostra três cromatogramas. Em cada cromatograma foram identificados os picos dos compostos: TPrT, TeBT, TBT, DBT e MBT. Sabendo que a área dos picos obtidos na cromatografia varia em função da concentração da substância a que se refere, as áreas de cada pico foram calculadas pelo programa Star 5.2 da Varian. Por meio da equação da reta da curva de calibração, que é específica para cada um dos compostos, as concentrações dos OTs foram calculadas pela área média dos picos obtidos nas três injeções de cada sub-amostra, quando estas estavam acima do limite de quantificação obtido na fase de validação.

As concentrações de TPrT foram utilizadas para o cálculo da porcentagem de recuperação de cada sub-amostra analisada, enquanto que as concentrações de TeBT

forneceram o erro de injeção do cromatógrafo, para que esse fosse corrigido nas demais concentrações.

RESULTADOS

Caracterização das condições ambientais das praias

Apesar de serem muito semelhantes visualmente, as três praias amostradas se diferenciam em relação aos parâmetros ambientais analisados. Em relação à temperatura da água, no mês de dezembro foram verificados valores ligeiramente menores do que no mês de março (Figura 6.A). No mês de dezembro a praia da Fortaleza apresentou a maior temperatura (25°C), e no mês de março a maior temperatura foi verificada na praia do Lamberto (29°C).

O hidrodinamismo foi avaliado somente no mês de dezembro. As praias da Fortaleza e do Lázaro apresentaram condições hidrodinâmicas semelhantes, com valores mais elevados que a praia do Lamberto (Figura 6.B).

Os valores de oxigênio dissolvido foram maiores no mês de dezembro. Neste mês, a praia que apresentou a maior concentração foi a praia do Lázaro (1,00 mg/l). Já em março a praia da Fortaleza foi a que apresentou a maior concentração de oxigênio dissolvido (0,60 mg/l). As praias do Lázaro e do Lamberto apresentaram grande diferença na quantidade de oxigênio dissolvido entre os períodos de coleta (Figura 6.C).

Os valores de turbidez foram semelhantes entre praias e períodos de amostragem, com valores variando de 19 a 24 UNT (Figura 6.D). Em relação à matéria orgânica (MO), a praia do Lázaro apresentou valores semelhantes em ambos os períodos de coleta (Figura 6.E), e foi a praia com a maior concentração de MO no mês de dezembro (0,53 mg/l). Já em março a maior concentração de matéria orgânica foi verificada na praia do Lamberto (0,58 mg/l). As praias da Fortaleza e do Lamberto apresentaram diferenças entre os períodos de coleta.

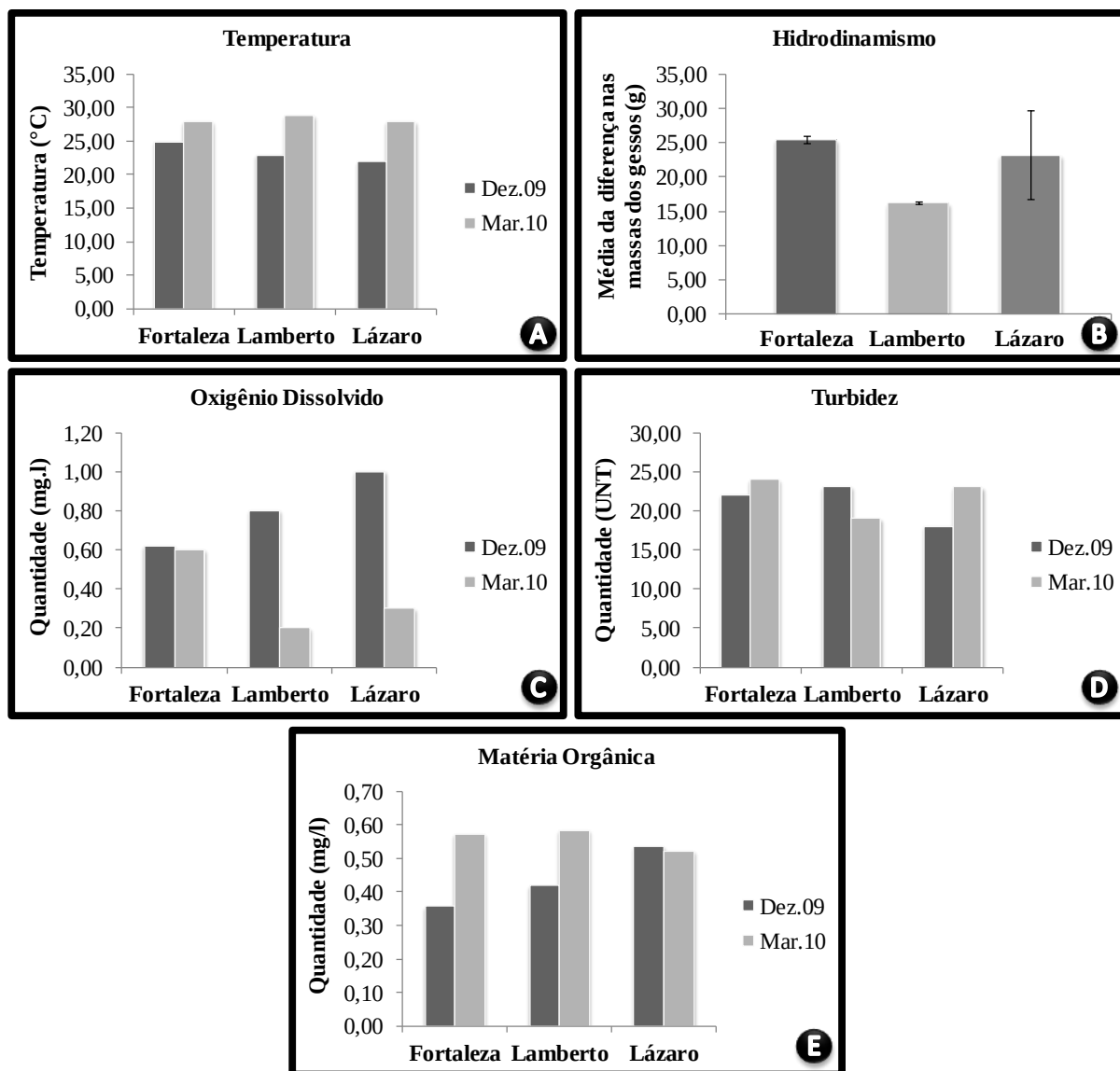


Figura 6 – Gráficos dos parâmetros ambientais analisados (temperatura, hidrodinamismo, oxigênio dissolvido, turbidez e matéria orgânica) nas três praias do município de Ubatuba, São Paulo, Brasil. **A-** Temperatura. **B-** Hidrodinamismo (Média $\pm$ Desvio). **C-** Oxigênio dissolvido. **D-** Turbidez. **E-** Matéria orgânica.

Descrição das assembleias de caprelídeos

Foi coletado um total de 384 caprelídeos de 9 espécies distintas. Destes, 207 indivíduos foram coletados no período de dezembro de 2009 e 177 no período de março de 2010. Em dezembro foram registradas as espécies *Caprella danilevskii*, *C. equilibra*, *C. scaura*, *Orthoprotella melloi*, *Paracaprella tenuis*, *P. pusilla*, e *Pseudaeginella montoucheti*.

Em março, foram encontradas as espécies *Caprella danilevskii*, *C. dilatata*, *C. equilibra*, *C. scaura*, *Deutella aspiducha*, *Paracaprella tenuis* e *Pseudaeginella montoucheti* (Tabela 3).

Caprella danilevskii foi a única espécie que esteve presente nas três praias no período de dezembro e *C. scaura* a única presente nos três locais em março. *C. scaura* foi também a espécie com os maiores ($3,17 \pm 3,87$ ind./g – Lázaro – Dezembro) e menores ($0,01 \pm 0,03$ ind./g – Fortaleza – Dezembro e Março) valores de densidade registrados.

Tabela 3 – Densidade das espécies de caprelídeos (média $\pm$ desvio padrão) registradas nas praias de Fortaleza, Lázaro e Lamberto, nos dois períodos de coleta (Dezembro e Março) no município de Ubatuba, São Paulo, Brasil. Dados em indivíduos por grama de alga seca (ind./g).

Espécie	Período	Praias		
		Fortaleza	Lamberto	Lázaro
<i>Caprella danilevskii</i> Czerniavski, 1868	Dez.	$0,02 \pm 0,07$	$0,03 \pm 0,08$	$0,91 \pm 1,22$
	Mar.	-	-	$0,16 \pm 0,35$
<i>C. dilatata</i> Krøyer, 1843	Dez.	-	-	-
	Mar.	-	-	$0,02 \pm 0,06$
<i>C. equilibra</i> Say, 1818	Dez.	-	$0,01 \pm 0,04$	$1,51 \pm 1,77$
	Mar.	-	-	$0,44 \pm 0,92$
<i>C. scaura</i> Templeton, 1836	Dez.	$0,01 \pm 0,03$	-	$3,17 \pm 3,87$
	Mar.	$0,01 \pm 0,03$	$0,04 \pm 0,08$	$0,25 \pm 0,28$
<i>Deutella aspiducha</i> Gable e Lazo-Wasem, 1987	Dez.	-	-	-
	Mar.	$0,56 \pm 0,86$	-	$0,13 \pm 0,19$
<i>Orthoprotella melloi</i> Quitete, 1975	Dez.	-	-	$0,02 \pm 0,06$
	Mar.	-	-	-
<i>Paracaprella tenuis</i> Mayer, 1903	Dez.	-	$0,19 \pm 0,53$	$0,27 \pm 0,43$
	Mar.	-	$1,08 \pm 1,94$	$0,22 \pm 0,38$
<i>P. pusilla</i> Mayer, 1890	Dez.	-	-	$0,05 \pm 0,15$
	Mar.	-	-	-
<i>Pseudaeginella montoucheti</i> Quitete, 1971	Dez.	-	$0,05 \pm 0,08$	$0,14 \pm 0,38$
	Mar.	-	-	$0,08 \pm 0,18$

A praia do Lázaro apresentou as maiores densidades da grande maioria das espécies e também a maior riqueza de espécies tanto em dezembro quanto em março (sete espécies – Tabela 4).

Por outro lado, a praia de Fortaleza que apresentou as menores densidades de organismos, com exceção de *D. aspiducha*, também apresentou baixa riqueza de espécies em ambos os períodos (duas espécies). A praia do Lamberto foi a única a apresentar variação entre os meses de coleta na riqueza de espécies e, assim como a Fortaleza, também apresentou baixa riqueza em março (duas espécies – Tabela 4).

A praia do Lázaro apresentou os maiores índices de diversidade e de equidade nas coletas em ambos os períodos. Ressalta-se ainda, a variação temporal da diversidade e da equidade para as praias da Fortaleza e do Lamberto (Tabela 4).

Tabela 4 – Riqueza, diversidade de Shannon-Wiener (H'), e equidade de Pielou (J), calculados para as praias da Fortaleza, Lamberto e Lázaro, Ubatuba, São Paulo, Brasil.

Período	Praia	Riqueza	Diversidade (H')	Equidade (J)
Dezembro	Fortaleza	2	0,301	0,289
	Lamberto	4	0,500	0,480
	Lázaro	7	0,555	0,533
Março	Fortaleza	2	0,046	0,044
	Lamberto	2	0,085	0,081
	Lázaro	7	0,691	0,663

Análise dos compostos organoestênicos

Embora nove espécies de caprelídeos terem sido registradas nas coletas de dezembro e março, apenas para duas espécies (*Caprella danilevskii* – Figura 7.A e *C. dilatata* – Figura 7.B) foram obtidas as biomassas necessárias (~ 2 g/amostra) para as análises de OTs, apesar das cerca de 150 frondes de *Sargassum* coletadas em cada praia. Os dois gramas de *C. danilevskii* foram obtidos nas três praias, enquanto que a biomassa necessária de *C. dilatata* foi obtida somente na praia do Lázaro.

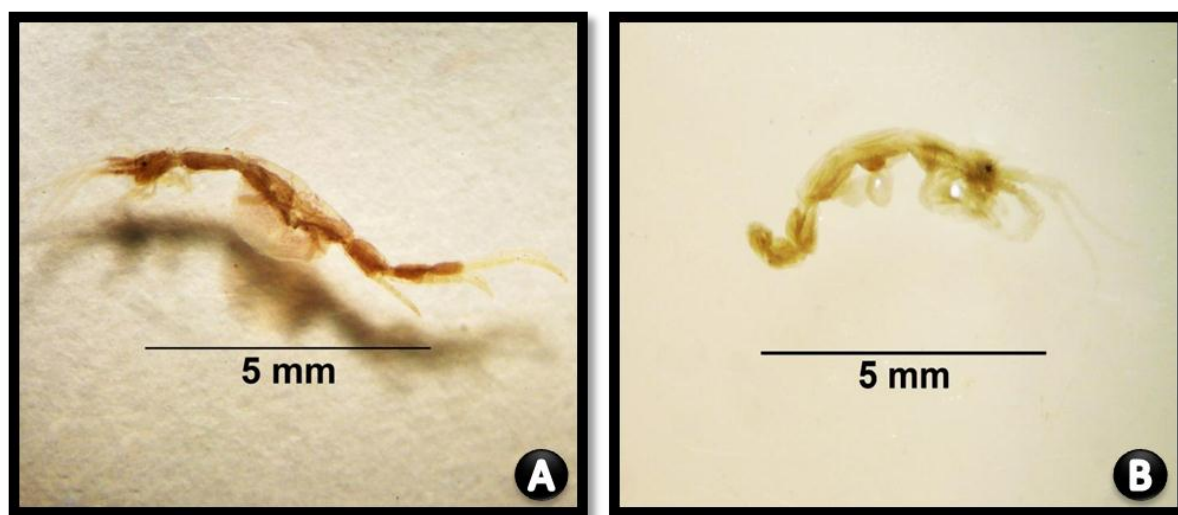


Figura 7 – Espécies de caprelídeos coletadas nas praias de Ubatuba – SP e utilizadas nas análises de compostos organoestênicos. **A-** *Caprella danilevskii*. **B-** *Caprella dilatata*.

Quanto às análises de OTs, a recuperação do *surrogate* TPrT foi verificada, obtendo-se 81% para as sub-amostras da praia da Fortaleza, 77% para a praia do Lamberto e 73% para a praia do Lázaro utilizando-se *C. danilevskii*, e 103% utilizando *C. dilatata*. Foi detectada a presença de TBT em pelo menos duas sub-amostras de cada local de coleta utilizando como bioindicador *C. danilevskii*, porém na praia da Fortaleza os valores ficaram abaixo do limite de quantificação estabelecido na validação (Tabela 5).

Tabela 5 – Média das concentrações de tributilestanho (TBT) verificado para cada sub-amostra de *Caprella danilevskii* e *Caprella dilatata* das praias de Fortaleza, Lázaro, e Lamberto, Ubatuba, SP. Valores de concentração em ng Sn/g.

Espécies	Praia	Sub-amostras		
		1	2	3
<i>C. danilevskii</i>	Fortaleza	<LD*	<LQ**	<LQ**
	Lamberto	70	86	88
	Lázaro	202	257	202
<i>C. dilatata</i>	Lázaro	35	<LQ**	<LD*

*abaixo do limite de detecção.

**abaixo do limite de quantificação.

A sub-amostra de *C. danilevskii* que apresentou os maiores valores de concentração de TBT foi a da praia do Lázaro. Os valores no Lázaro variaram em um intervalo de 202 a 257 ng Sn/g. Já as sub-amostras de *C. dilatata* apresentaram valores abaixo do limite de detecção até 35 ng Sn/g (Tabela 5).

DISCUSSÃO

A caracterização das praias revelou algumas diferenças nas variáveis ambientais medidas entre praias e períodos de coleta. A temperatura, por exemplo, variou como esperado, mostrando temperaturas mais baixas em dezembro (primavera) e valores mais elevados em março (verão). Em relação ao hidrodinamismo, apesar dos resultados indicarem condições semelhantes nas praias da Fortaleza e do Lázaro nos locais de medição, nesta última praia, se considerado o banco de *Sargassum* como um todo, a exposição às ondas é maior.

O hidrodinamismo no Lázaro também pode ter influenciando o fato dessa praia apresentar os maiores valores de oxigênio dissolvido em ambos os períodos e a maior concentração de matéria orgânica em dezembro. Por apresentar condições hidrodinâmicas mais intensas que as demais praias, e consequentemente maior disponibilidade de material em suspensão, a praia do Lázaro favorece a presença dos caprelídeos, já que muitas espécies apresentam hábitos filtradores (WOODS, 2009). Essa tendência foi confirmada no presente estudo, já que os maiores valores de densidade, riqueza, diversidade e equidade foram encontrados na praia do Lázaro (Tabelas 3 e 4).

Nas coletas realizadas em agosto (validação), dezembro e março, foi possível obter a biomassa necessária para as análises de compostos organoestânicos somente para as espécies *C. danilevskii* e *C. dilatata*. *Caprella danilevskii* além de ter sido registrada nas três praias na descrição das assembleias, foi a única espécie com biomassa suficiente para a realização das análises de OTs nas três praias estudadas. *Caprella dilatata* não apresentou elevada densidade

de organismos e só foi registrada na praia do Lázaro, sendo justamente nessa praia que foi obtida a biomassa utilizada nas análises de OTs.

Jacobucci et al. (2002) verificaram que além de *C. danilevskii* e *C. dilatata*, *C. scaura* e *C. equilibra* também são encontradas em alta densidade na praia do Lázaro (em média 5 ind./g) durante todo o ano. *Caprella scaura* também esteve presente nas três praias e apresentou densidade relativamente elevada na praia do Lázaro ($3,17 \pm 3,87$ ind./g), no entanto, não foi possível obter a biomassa necessária com o esforço amostral utilizado nesse trabalho. O fato de não ter sido possível obter a biomassa necessária para as análises de *C. scaura* e das demais espécies se deve à presença de indivíduos adultos pequenos e de juvenis, que contabilizam nos dados de densidade, mas não acrescentam muito em biomassa.

Em relação ao método utilizado na detecção do TBT, segundo Ribani et al. (2004), os intervalos aceitáveis de recuperação para matrizes pouco complexas devem estar entre 70 e 120% (com precisão de até $\pm 20\%$), porém no caso de matrizes mais complexas, como é o caso dos caprelídeos, este valor pode ser de 50 a 120% (com precisão de até $\pm 15\%$). Com base nessas recomendações, verificou-se que tanto as recuperações do TBT encontradas no processo de validação (74% a 118%), quanto a recuperação do TPrT nas amostras (entre 73% e 103%) confirmam a confiabilidade dos resultados obtidos na análise das concentrações de TBT e a eficácia do método.

Apesar de não haver trabalhos que descrevam o processo de acumulação de compostos organoestânicos em anfípodes, sabe-se que as maiores concentrações de OTs são encontradas nos níveis tróficos mais baixos, e que dentro do grupo dos anfípodes, os caprelídeos geralmente acumulam mais do que os gamarídeos (TAKEUCHI et al., 2001). Os dados obtidos neste trabalho evidenciam grandes diferenças na acumulação de TBT entre as espécies de caprelídeos, apesar de ambas serem estruturalmente semelhantes. As diferenças de acumulação poderiam estar relacionadas ao hábito alimentar das espécies. No entanto,

Guerra-García e Figueroa (2009) verificaram que *C. danilevskii* e *C. dilatata* apresentam uma dieta muito semelhante. Ambas são classificadas como oportunistas porque, além de se alimentarem principalmente de detritos, também podem se alimentar de pequenos crustáceos, macroalgas, diatomáceas e dinoflagelados.

Dessa forma, é possível que estas diferenças na bioacumulação entre *C. danilevskii* e *C. dilatata* possam estar relacionadas principalmente a aspectos fisiológicos já que, segundo Takeuchi et al. (2001), os caprelídeos não degradam o TBT. Além disso, os caprelídeos também acumulam predominantemente o TBT, em relação ao DBT e MBT (TAKEUCHI et al., 2001). Isto explica o fato das concentrações dos derivados terem ficado abaixo dos limites de quantificação e não poderem ter sido utilizadas nesse estudo.

Apesar de uma maior bioacumulação de TBT ser esperada na praia do Lamberto, devido à maior quantidade de barcos verificada nesse local, a praia do Lázaro foi a que apresentou maiores concentrações. Segundo Sá (2003), apesar dos organoestânicos acumularem normalmente nas proximidades do local onde foram lançados, estes podem ser transportados para outras áreas. Isto ocorre, pois pode haver ressuspensão do sedimento, fazendo com que os OTs voltem à coluna d'água, e fiquem sujeitos às condições hidrodinâmicas. Desse modo, apesar de na praia do Lázaro a presença de embarcações ser relativamente menor que na praia do Lamberto, em função da maior movimentação da água, compostos organoestânicos presentes no sedimento podem ser realocados à coluna d'água, tornando-se disponíveis aos caprelídeos.

As concentrações de TBT, encontradas nas sub-amostras de *C. danilevskii*, foram relativamente altas, principalmente se comparadas a outros trabalhos utilizando caprelídeos como bioindicadores de TBT (e.g. TAKEUCHI; TAKAHASHI; TANABE, 2004; TAKEUCHI et. al, 2004) (Tabela 6). Os valores mais altos encontrados nesse trabalho em

relação aos estudos realizados no Japão (Tabela 6) podem estar relacionados ao tempo de aplicação de legislação restritiva à utilização de OTs.

No Brasil, a utilização de tintas contendo compostos anti-incrustantes, como o TBT, somente foi proibida através do Projeto de Decreto Legislativo Nº 1.804 de 2009. Já no Japão, a utilização destas tintas está proibida desde 1990, antes mesmo da proposta da Organização Marítima Internacional (IMO), que estabeleceu o ano de 2008, como prazo limite de circulação de embarcações contendo tintas a base de OTs (IMO, 2002).

Tabela 6 - Comparação dos resultados obtidos com outros trabalhos (TAKEUCHI; TAKAHASHI; TANABE, 2004; TAKEUCHI et. al, 2004) semelhantes realizados no Japão.

Resultados obtidos neste estudo				TAKEUCHI; TAKAHASHI ; TANABE, 2004	TAKEUCHI et al., 2004
Local	P. Fortaleza	P. Lamberto	P. Lázaro	Baía de Otsushi	Costa Japonesa
Tipo de cromatografia	GC/PFPD	GC/PFPD	GC/PFPD	GC/FPD	GC/FPD
Bioindicador	<i>C. danilevskii</i>	<i>C. danilevskii</i>	<i>C. danilevskii</i>	<i>C. danilevskii</i>	<i>Caprella</i> spp.
Massa utilizada (g)	0,5	0,5	0,5	0,7 a 2,5	0,7 a 2,5
Limite de detecção (ng Sn/g)	9	9	9	0,5	0,5
Recuperação	81%	77%	73%	108±5%*	108±5%*
Resultados (ng Sn/g)	<LQ	70 – 88	202 – 257	Ano	67,6 ± 72,8**
				1994	
				1997	
				2000	
				2001	3,3

*Valores encontrados em testes com fígado de baleia.

**Maiores médias de concentração de TBT (ng Sn/ g) obtidos em análises ao longo da costa japonesa.

Com a aplicação da legislação no Brasil e uma efetiva fiscalização, espera-se o declínio nas concentrações de TBT, assim como verificado no Japão (Tabela 6).

Os resultados do presente estudo corroboram a capacidade de bioacumulação de OTs (particularmente de TBT) pelos anfípodes caprelídeos, já detectada em pesquisas realizadas em regiões temperadas (e.g. TAKEUCHI; TAKAHASHI; TANABE, 2004; TAKEUCHI et al, 2004; AONO; TAKEUCHI, 2008) e ampliam as possibilidades de utilização desses organismos em ecossistemas costeiros tropicais.

Especificamente para o litoral norte de São Paulo, a utilização de *Caprella danilevskii* como bioindicador de TBT é promissora, pois além da capacidade de acumular esse composto, demonstrada nesse trabalho, os indivíduos dessa espécie são encontrados em praias com diferentes condições ambientais. Para uma avaliação da contaminação de TBT mais ampla, envolvendo outras localidades litorâneas, *C. danilevskii* também poderia ser utilizada, pois há registros de sua ocorrência do litoral sul até o nordeste do Brasil (e.g. DUTRA, 1988; WAKABARA; TARARAM; TAKEDA, 1983; WAKABARA et al., 1991; VALÉRIO-BERARDO; FLYNN, 2002).

CONCLUSÕES

Este trabalho indicou que a definição do período de amostragem para coleta dos caprelídeos é fundamental. Como o método exige uma quantidade de organismos relativamente grande, coletas em períodos que apresentam baixa densidade de organismos podem ser frustradas. Ressalta-se assim, a necessidade de realizar coletas em vários períodos.

A relação entre o TBT e a presença de embarcações também não se apresentou tão evidente como esperado, o que torna importante avaliar de forma mais detalhada a influência de outros fatores ambientais dos locais amostrados como, por exemplo, as condições hidrodinâmicas. A ocorrência das espécies e sua variação sazonal e espacial também devem ser levadas em conta, pois a ausência dessas informações pode dificultar a implantação de programas de biomonitoramento de compostos organoestânicos com maior amplitude

espacial. Nesse sentido, percebe-se ainda a necessidade de estudos básicos a respeito da biologia reprodutiva e da ecologia das espécies.

Finalmente, neste trabalho foi possível confirmar o potencial de utilização de caprelídeos como bioindicadores de compostos organoestânicos em regiões tropicais, desde que se leve em conta as especificidades ambientais dessas regiões e a ecologia das espécies de caprelídeos que se pretende utilizar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Resolução RE 899 de 29 de maio de 2003. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acesso em: 20 out. 2010.

ANTIZAR-LADISLAO, B. Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT) - contaminated marine environment. A review. **Environment International**, v. 34, p. 292–308, 2008.

AONO, A.; TAKEUCHI, I. Effects of tributyltin at concentrations below ambient levels in seawater on *Caprella danilevskii* (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea). **Marine Pollution Bulletin**, v. 57, p. 515–523, 2008.

CENTRO DE PESQUISAS METEOROLÓGICAS E CLIMÁTICAS APLICADAS À AGRICULTURA – CEPAGRI. **Clima dos Municípios Paulistas**: A classificação climática de Köppen para o estado de São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://orion.cpa.unicamp.br/outras-informacoes/clima-dos-municipios-paulistas.html>>. Acesso em: 21 out. 2010.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DO SÃO PAULO - CETESB. **Qualidade das praias litorâneas no estado de São Paulo**. 2009. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/praias/publicacoes.asp>>. Acesso em: 22 out. 2010.

CUNHA, F. L. R.; CUNHA, A. F.; JACOBUECCI, G. B. Is the occurrence of caprellid amphipods associated with *Sargassum* (Phaeophyta) influenced by algal and hydrozoan epibiosis? **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 10, n. 3, p. 257-264, 2008.

DÍAZ, Y. J.; GUERRA-GARCÍA, J. M.; MARTÍN, A. Caprellids (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) from shallow waters of the Caribbean coast of Venezuela. **Organisms, Diversity and Evolution**, v. 5, n. 3, p. 249-251, 2005.

DUTRA, R. R. C. A fauna vágil do fital *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta Gelidiaceae) Ilha do Mel, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 48, n. 3, p. 589-605, 1988.

FELIZZOLA, J. F. **Especiação de compostos butílicos de estanho em sedimentos superficiais da Baía de Todos os Santos**. Dissertação de mestrado, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 121 p., 2005.

FERNANDEZ M. A.; WAGENER, A. L. R.; LIMAVERDE, A. M.; SCOFIELD, A. L.; PINHEIRO, F. M.; RODRIGUES, E. Imposex and surface sediment speciation: A combined approach to evaluate organotin contamination in Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Marine Environmental Research**, v. 59, p. 435-452, 2005.

FERNANDEZ, M. A. Brazilian experience on TBT pollution: lessons for future studies. **Journal of Coastal Research**, v. 39, p. 1336-1339, 2006.

GODOI, A. F. L.; FAVORETO, R.; SANTIAGO-SILVA, M. Contaminação ambiental por compostos organoestânicos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 708-716, 2003.

GUERRA-GARCÍA, J. M. The Caprellidea (Crustacea, Amphipoda) from Western Australia and Northern Territory, Australia. **Hydrobiologia**, v. 522, p. 1-74, 2004.

GUERRA-GARCÍA, J. M.; BAEZA-ROJANO, E.; RUIZ-TABARES, A.; CABEZAS, M. P.; DÍAZ-PAVÓN, J. J.; PACIOS, I.; GARCÍA-GÓMEZ, J. C. The amphipods *Caprella penantis* and *Hyale schmidtii* as biomonitors of trace metal contamination in intertidal ecosystems of Algeciras Bay, Southern Spain. **Marine Pollution Bulletin**, v. 58, p. 765-786, 2009.

GUERRA-GARCÍA, J. M.; FIGUEROA, J. M. T. What do caprellids (Crustacea: Amphipoda) feed on? **Marine Biology**, v. 156, p. 1881-1890, 2009.

GUERRA-GARCÍA, J. M.; GARCÍA-GÓMEZ, J. C. The spatial distribution of Caprellidea (Crustacea: Amphipoda): A stress bioindicator in Ceuta (North Africa, Gibraltar Area). **Marine Ecology**, v. 22, n. 4, p. 357-367, 2001.

GUERRA-GARCÍA, J. M.; RUIZ-TABARES, A.; BAEZA-ROJANO, E.; CABEZAS, M. P.; DÍAZ-PAVÓN, J. J.; PACIOS, I.; MAESTRE, M.; GONZÁLEZ, A. R.; ESPINOSA, F.; GARCÍA-GÓMEZ, J. C. Trace metals in *Caprella* (Crustacea: Amphipoda). A new tool for monitoring pollution in coastal areas? **Ecological Indicators**, v. 10, n. 3, p. 734-743, 2010.

GUIMARÃES, R. M. **Macroinvertebrados bentônicos como indicadores de qualidade ambiental de afluentes do Rio Uberabinha, Uberlândia – MG**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 99 p., 2008.

HASHIMOTO, S.; WATANABE, M.; NODA, Y.; HAYASHI, T.; KURITA, Y.; TAKASU, Y.; OTSUKI, A. Concentration and distribution of butyltin compounds in a heavy tanker route in the strait of Malacca and in Tokyo bay. **Marine Environmental Research**, v. 45, p. 169-177, 1998.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Cidades@, São Paulo, São Sebastião e Ubatuba**, 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acesso em: 05 jan. 2011.

INTERNATIONAL MARITIME ORGANIZATION - IMO. Resolution MEPC 46(30) on **Measures to control potential adverse impacts associated with use of tributyl tin compounds in anti-fouling paints**. 2002. Disponível em: <www.imo.org>. Acesso em: 09 nov. 2010.

ITO, A.; WADA, H.; AOKI, M.N. Phylogenetic analysis of Caprellid and Corophioid amphipods (Crustacea) based on the 18S rRNA gene, with special emphasis on the phylogenetic position of Phtisicidae. **Biological Bulletin**, v. 214, p. 176-183, 2008.

JACOBUECCI, G. B.; MORETTI, D.; SILVA, E. M.; LEITE, F. P. P. Caprellid amphipods on *Sargassum cymosum* (Phaeophyta): Depth distribution and population biology. **Nauplius**, Botucatu - São Paulo, v. 10, n. 1, p. 27-36, 2002.

JACOBUECCI, G. B.; TANAKA, M. O.; LEITE, F. P. P. Temporal variation of amphipod assemblages associated with *Sargassum filipendula* (Phaeophyta) and its epiphytes in a subtropical shore. **Aquatic Ecology**, v. 43, n. 4, p. 1031-1040, 2009.

KHAN, A. T.; WEIS, J. S.; SAHARIG, C. E.; POLO, A. E. Effect of tributyltin on mortality and telson regeneration of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 50, n. 1, p. 152-157, 1993.

LIGNOT, J. H., PANNIER, F., TRILLES, J. P., CHARMANTIER, G. Effects of tributyltin oxide on survival and osmoregulation of the shrimp *Penaeus japonicus* (crustacea, decapoda). **Aquatic Toxicology**, v. 41, p. 277-299, 1998.

LIU, L. L.; CHEN, S. J.; PENG, W. Y.; HUNG, J. J. Organotin concentrations in three intertidal neogastropods from the coastal waters of Taiwan. **Environmental Pollution**, v. 98, n. 1, p. 113-118, 1997.

MACÊDO, J. A. B. **Métodos laboratoriais de análises físico-químicas e microbiológicas**. 2. ed. Belo Horizonte: CRQ-MG, 450 p., 2003.

MARTÍNEZ-LLADÓ, X.; GIBERT, O.; MARTÍ, V.; DÍEZ, S.; ROMO, J.; BAYONA, J. M.; PABLO, J. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and tributyltin (TBT) in Barcelona harbor sediments and their impact on benthic communities. **Environmental Pollution**, v. 149, p. 104-113, 2007.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. Resolução nº 357, de 17 de Março de 2005. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>. Acesso em: 09 nov. 2010.

McLAUGHLIN, P. A. **Comparative morphology of recent Crustacea**. San Francisco, W.H. Freeman and Company, 177 p., 1980.

MITTMANN, J.; MÜLLER, Y. M. R. Contribuição ao conhecimento da biologia de *Caprella penantis* (Leach) (Crustacea, Amphipoda) da Ilha de Anhatomirim, Santa Catarina. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 15, n. 1, p. 95-100, 1998.

OHJI, M.; ARAI, T.; MIYAZAKI, N. Chronic effects of tributyltin on the caprellid amphipod *Caprella danilevskii*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, p. 1263-1272, 2003a.

OHJI, M.; ARAI, T.; MIYAZAKI, N. Timing of sex disturbance caused by tributyltin exposure during the embryonic stage in the caprellid amphipod, *Caprella danilevskii*. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 83, p. 943-944, 2003b.

QUITETE, J. M. P. A. **Caprellidae (Crustacea: Amphipoda) do litoral do estado do Rio de Janeiro**. Dissertação de mestrado. Museu Nacional, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, 116 p., 1977.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-779, 2004.

SÁ, F. **Distribuição e fracionamento de contaminantes nos sedimentos superficiais e atividades de dragagem no Complexo Estuarino de Paranaguá, PR**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 106 p., 2003.

SANTOS, D. M. **Compostos organoestânicos no material particulado em suspensão e sedimentos superficiais no eixo leste-oeste do complexo estuarino de Paranaguá, PR**. Dissertação de mestrado. Pós Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 115 p., 2008.

SOARES, D. M. **Avaliação da contaminação por compostos organoestânicos de áreas de marinas e atracadouros do litoral norte do estado de São Paulo, utilizando-se anfípodes caprelídeos (Crustacea, Peracarida) como bioindicadores**. Monografia. IB, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 37 p., 2009.

TAKEUCHI, I.; TAKAHASHI, S.; TANABE, S. Decline of butyltin levels in *Caprella* spp. (Crustacea: Amphipoda) inhabiting the *Sargassum* community in Otsuchi Bay, Japan from 1994 to 2001. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 84, p. 911-918, 2004.

TAKEUCHI, I.; TAKAHASHI, S.; TANABE, S.; MIYAZAKI, N. Butyltin concentrations along the Japanese coast from 1997 to 1999 monitored by *Caprella* spp. (Crustacea: Amphipoda). **Marine Environmental Research**, v. 57, p. 397-414, 2004.

TAKEUCHI, I.; TAKAHASHI, S.; TANABE, S.; MIYAZAKI, N. *Caprella* watch: a new approach for monitoring butyltin residues in the ocean. **Marine Environmental Research**, v. 52, p. 97-113, 2001.

THOMAS, J. D. Biological monitoring and tropical biodiversity in marine environments: a critique with recommendations, and comments on the use of amphipods as bioindicators. **Journal of Natural History**, v. 27, p. 795-806, 1993. Disponível em: <<http://www.nova.edu/ocean/jthomas/jnathist.html>>. Acesso em: 20 nov. 2010.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – EPA. **Ambient aquatic life water quality criteria for tributyltin (TBT) – final**, 2003. Disponível em: <www.epa.gov/waterscience/criteria/tributyltin/tbt-final.pdf>. Acesso em: 04 nov. 2010.

VALÉRIO-BERARDO, M. T.; FLYNN, M. N. Composition and seasonality of an amphipod community associated to the algae *Bryocladia thysigera*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4A, p. 735-742, 2002.

WAKABARA, Y.; TARARAM, A. S.; TAKEDA, A. M. Comparative study of the amphipod fauna living on *Sargassum* of two Itanhaém shores, Brazil. **Journal of Crustacean Biology**, v. 3, p. 602-607, 1983.

WAKABARA, Y.; TARARAM, A. S.; VALÉRIO-BERARDO, M. T.; DULEBA, W.; LEITE, F. P. P. Gammaridean and caprellidean fauna from Brazil. **Hydrobiologia**, v. 223, p. 69-77, 1991.

WEIS, J. S.; GOTTLIEB, J.; KWIATKOWSKI, J. Tributyltin retards regeneration and produces deformities of limbs in the fiddler crab *Uca pugilator*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 16, p. 321-326, 1987.

WOODS, C. M. C. Caprellid amphipods: An overlooked marine finfish aquaculture resource? **Aquaculture** [S.I.], v. 289, n. 3-4, p. 199-211, 2009.