Aline Alves Kirschbaum

**Citogenotoxicidade e determinação de metais, PAHs e organoclorados em tecidos
de *Cathorops spixii* e *Centropomus parallelus* provenientes de três complexos
estuarinos da costa brasileira**

**Dissertação apresentada ao Instituto
Oceanográfico da Universidade de São
Paulo, como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Mestre em
Ciências, área de Oceanografia Biológica**

**Orientadora: Prof^a. Dr^a. Eduinetty Ceci
Pereira Moreira de Sousa**

**São Paulo
2010**

Universidade de São Paulo

Instituto Oceanográfico

**Citogenotoxicidade e determinação de metais, PAHs e organoclorados em tecidos de
Cathorops spixii e *Centropomus parallelus* provenientes de três complexos
estuarinos da costa brasileira**

Aline Alves Kirschbaum

**Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo,
como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de
Oceanografia Biológica**

Julgada em ____/____/____

Prof(a). Dr(a).

Conceito

Prof(a). Dr(a).

Conceito

Prof(a). Dr(a).

Conceito

Aos meus pais

Ao Miller

“Quando o homem aprender a respeitar até o menor ser da criação, seja animal ou vegetal, ninguém precisará ensiná-lo a amar seu semelhante”

Albert Schweitzer

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	iv
AGRADECIMENTOS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
Índice de Figuras.....	xii
Índice de Tabelas.....	xviii
1. INTRODUÇÃO.....	26
2. OBJETIVOS.....	32
3. ÁREAS DE ESTUDO.....	33
3.1. Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia.....	33
3.2. Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá.....	36
3.3. Complexo Estuarino de Santos e São Vicente.....	42
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	48
4.1. Organismos-teste.....	48
4.1.1. <i>Cathorops spixii</i>	48
4.1.2. <i>Centropomus parallelus</i>	49
4.2. Procedimentos.....	51
4.2.1. Procedimentos em campo.....	53
4.2.2. Procedimentos laboratoriais.....	56
4.2.2.1. Micronúcleos (MN) e Anomalias Nucleares (AN).....	60
4.2.2.2. Análises químicas.....	61
4.2.2.2.1. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e Bifenilas Policloradas e Pesticidas Organoclorados.....	61
4.2.2.2.2. Metais.....	62
4.2.2.2.2.1. Preparo das amostras.....	62
4.2.2.2.2.2. Técnicas analíticas.....	64
4.2.3. Análise dos dados.....	67
4.2.3.1. Análises estatísticas.....	67
4.2.3.2. Comparações entre os dados de bioacumulação.....	69
4.2.3.3. Legislação.....	70
5. RESULTADOS.....	72

5.1. Primeira Campanha: Inverno/2008.....	74
5.1.1. Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia.....	74
5.1.1.1. Dados obtidos.....	74
5.1.1.1.1. Biometria, sexagem e maturação gonadal.....	74
5.1.1.1.2. Citogenotoxicidade.....	76
5.1.1.2. Análises estatísticas.....	77
5.1.1.2.1. Testes de normalidade.....	77
5.1.1.2.2. Análises em relação ao estágio de maturação gonadal.....	77
5.1.1.2.3. Análises em relação ao sexo.....	78
5.1.1.2.4. Correlações.....	78
5.1.1.2.5. Aderência.....	79
5.1.2. Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá.....	79
5.1.2.1. Dados obtidos.....	79
5.1.2.1.1. Biometria, sexagem e maturação gonadal.....	79
5.1.2.1.2. Citogenotoxicidade.....	81
5.1.2.2. Análises estatísticas.....	82
5.1.2.2.1. Testes de normalidade.....	82
5.1.2.2.2. Análises em relação ao estágio de maturação gonadal.....	82
5.1.2.2.3. Análises em relação ao sexo.....	83
5.1.2.2.4. Correlações.....	83
5.1.2.2.5. Aderência.....	84
5.1.3. Complexo Estuarino de Santos e São Vicente.....	84
5.1.3.1. Dados obtidos.....	84
5.1.3.1.1. Biometria, sexagem e maturação gonadal.....	84
5.1.3.1.2. Citogenotoxicidade.....	86
5.1.3.2. Análises estatísticas.....	87
5.1.3.2.1. Testes de normalidade.....	87
5.1.3.2.2. Análises em relação ao estágio de maturação gonadal.....	88
5.1.3.2.3. Análises em relação ao sexo.....	88
5.1.3.2.4. Correlações.....	89
5.1.3.2.5. Aderência.....	89
5.1.4. Comparações entre as três áreas de estudo.....	90
5.2. Segunda Campanha: Verão/2009.....	94

5.2.1. Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia.....	94
5.2.1.1. Dados obtidos.....	94
5.2.1.1.1. Biometria, sexagem e maturação gonadal.....	94
5.2.1.1.2. Citogenotoxicidade.....	95
5.2.1.2. Análises estatísticas.....	97
5.2.1.2.1. Testes de normalidade.....	97
5.2.1.2.2. Análises em relação ao estágio de maturação gonadal.....	97
5.2.1.2.3. Análises em relação ao sexo.....	98
5.2.1.2.4. Correlações.....	98
5.2.1.2.5. Aderência.....	99
5.2.2. Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá.....	99
5.2.2.1. Dados obtidos.....	99
5.2.2.1.1. Biometria, sexagem e maturação gonadal.....	99
5.2.2.1.2. Citogenotoxicidade.....	101
5.2.2.2. Análises estatísticas.....	102
5.2.2.2.1. Testes de normalidade.....	102
5.2.2.2.2. Análises em relação ao estágio de maturação gonadal.....	102
5.2.2.2.3. Análises em relação ao sexo.....	102
5.2.2.2.4. Correlações.....	103
5.2.2.2.5. Aderência.....	104
5.2.3. Complexo Estuarino de Santos e São Vicente.....	104
5.2.3.1. Dados obtidos.....	104
5.2.3.1.1. Biometria, sexagem e maturação gonadal.....	104
5.2.3.1.2. Citogenotoxicidade.....	105
5.2.3.2. Análises estatísticas.....	107
5.2.3.2.1. Testes de normalidade.....	107
5.2.3.2.2. Análises em relação ao estágio de maturação gonadal.....	107
5.2.3.2.3. Análises em relação ao sexo.....	108
5.2.3.2.4. Correlações.....	108
5.2.3.2.5. Aderência.....	109
5.2.4. Comparações entre as três áreas de estudo.....	109
5.3. Citogenotoxicidade quanto à sazonalidade.....	114
5.3.1. Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia.....	114

5.3.2. Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá.....	115
5.3.3. Complexo Estuarino de Santos e São Vicente.....	116
5.4. Bioacumulação.....	118
5.4.1. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (PAHs).....	118
5.4.2. Bifenilas Policloradas (PCBs).....	124
5.4.3. Pesticidas Organoclorados (POCs).....	130
5.4.3.1. HCHs.....	131
5.4.3.2. DDTs.....	134
5.4.3.3. Clordanas.....	138
5.4.3.4. Outros.....	141
5.4.4. Metais.....	141
5.4.5. Comparações entre os dados de bioacumulação.....	151
5.4.6. Legislação.....	154
5.5. Bioacumulação e cito-genotoxicidade: Análise Fatorial (ACP-AF).....	155
6. DISCUSSÃO.....	160
6.1. Variáveis biométricas, sexo e maturação gonadal.....	162
6.1.1. Primeira Campanha: Inverno/2008.....	162
6.1.2. Segunda Campanha: Verão/2009.....	163
6.2. Citogenotoxicidade.....	164
6.2.2. Citogenotoxicidade quanto à sazonalidade.....	175
6.3. Bioacumulação.....	180
6.3.1. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (PAHs).....	181
6.3.2. Compostos Organoclorados.....	193
6.3.2.1. Bifenilas Policloradas (PCBs).....	194
6.3.2.2. Pesticidas Organoclorados (POCs).....	202
6.3.3. Metais.....	211
6.3.4. Comparações entre os dados de bioacumulação.....	233
6.4. Bioacumulação e citogenotoxicidade.....	235
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	237
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	240
9. ANEXOS.....	268
10. APÊNDICES.....	269

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Dr^a. Ceci pela oportunidade de estágio no LECotox do IOUSP e, posterior orientação neste mestrado. Por todo o carinho, confiança, apoio e ensinamentos transmitidos. Você é realmente um exemplo a ser seguido! Obrigada!

À CAPES e CNPq pela bolsa de mestrado concedida. À Secretaria e Comissão de Pós Graduação.

Às Dr^{as} Márcia Bícigo, Rosalinda Montone e Satie Tanigushi, do LABQOM IOUSP, pelas análises de PAHs e organoclorados realizadas. Às Dr^{as} Marina Vasconcelos e Marília Semmler, do IPEN-CNEN, pelas análises de metais realizadas. Ao Dr. Henry Spach do Laboratório de Ecologia de Peixes do Centro de Estudos do Mar (CEM) da UFPR pelas facilidades, materiais e espaço concedidos durante as campanhas de coletas em Paranaguá. Ao Dr. Denis Abessa pelo espaço concedido no Núcleo de Estudos em Poluição e Ecotoxicologia Aquática da UNESP São Vicente.

Aos pescadores Zezé e Abrão (Paranaguá), Ricardo e Yu (São Vicente), a toda a tripulação dos B/P Albacora II e Velliger II (Cananéia), aos motoristas Sérgio e Cláudio, e a todo pessoal do setor de transporte do IOUSP. Essas pessoas foram indispensáveis para a realização deste trabalho.

Ao Robson Seriani pela parceria em diversos trabalhos realizados desde 2006. Pelo auxílio, conhecimentos, idéias (que são muitas ao mesmo tempo!), paciência e amizade. É noix "Beibe"!

À toda família LECotox: Claudinha, Luis, Karlota, Fabi, Mônica, Mariana, Maricota, Marília, Tullus, Gustavo, Camilo, Lelê e Marcia e aos amigos Martinha, Luizinho, Dr^a Bia e André, por todo auxílio, carinho, amizade e risadas ... muitas risadas! E a todos os outros(as) amigos que fazem parte desta minha trajetória. Sem vocês a vida seria muito monótona!

Aos meus amigos-irmãos Ana Claudia, Thata e Kodama. "Amigos são irmãos que Deus se esqueceu de nos dar".

Agradecimentos especiais aos meus pais, irmãos e avós, pelo alicerce e valores transmitidos ao longo da minha vida. Por sempre acreditarem que serei alguém nessa “vida de Biologia”... Profissão tão fascinante, porém tão custosa. Por todo amor, carinho e suporte. Vocês são responsáveis por tudo que sou hoje. Amo vocês!

Não poderia de deixar de agradecer ao melhor presente que Deus poderia ter me dado. Aquele que desde o início me ensina o verdadeiro significado da palavra AMOR. Pelo companheirismo, amizade, fidelidade, sinceridade, paciência e por sempre me colocar com os pés no chão. Co-autor não só deste trabalho, mas de um projeto maior intitulado Vida. Miller, muito obrigada! Te amo muito... Eternamente!

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

E por último, e mais importante, a Deus por mais esta etapa concluída.

Resumo

Muitos dos poluentes lançados diariamente no ambiente apresentam capacidade de bioacumulação e potencial altamente tóxico, induzindo danos em diversos níveis de organização. O peixe demersal *Cathorops spixii* e o pelágico *Centropomus parallelus* se alimentam de invertebrados bentônicos e pequenos peixes e são importantes itens alimentares para a população em geral. Neste estudo foram avaliadas as respostas citogenotóxicas através da análise de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) em eritrócitos e a bioacumulação de PAHs e organoclorados (em fígado) e metais (em tecido muscular) em 207 exemplares dessas espécies, coletados nos Complexos Estuarinos de Cananéia, Paranaguá e Santos/São Vicente durante o inverno/08 e verão/09. Os tecidos foram extraídos para análises químicas. Na maioria dos casos, os níveis de danos citogenotóxicos obtidos nos exemplares de Paranaguá se colocaram de maneira intermediária, enquanto os da região de Santos estiveram acima dos obtidos nas outras áreas. Ficou evidenciado que os níveis de contaminação destes estuários são capazes de causar danos moleculares nos organismos. *C. parallelus* respondeu de maneira mais efetiva às análises dos biomarcadores utilizados. A bioacumulação refletiu principalmente a influência de fatores intrínsecos aos organismos e apresentou correlação com os dados citogenotóxicos. A ocorrência de metais e PAHs sobressaíram aos outros compostos.

Palavras-chave: citogenotoxicidade, bioacumulação, peixes, estuários

Abstract

Several pollutants that are daily discharged in environment are able to bioaccumulate in organism tissues and present highly toxic potential inducing damages in different levels of biological organization. The demersal *Cathorops spixii* catfish and the pelagic snooks *Centropomus parallelus* feeds on small fishes and benthic invertebrates and represent an important food source for local populations. In this study the cytogenotoxic responses in erythrocytes were evaluated by micronucleus (MN) and nuclear abnormalities (AN) analysis, and bioaccumulation of PAHs and organochloride compounds (in liver) and metals (in muscle) in 207 organisms of *C. spixii* and *C. parallelus*, collected in Cananéia, Paranaguá and Santos/São Vicente Estuarine Systems, during winter/2008 and summer/2009. In the majority of the cases, the cytogenotoxic rates found in Paranaguá were average, while in Santos region rates were higher than the others study areas, evidencing that the pollution levels between both estuaries were high enough to induce genetic damages. *C. parallelus* are more sensible to biomarkers responses. The bioaccumulation level was influenced by inherent factors from organisms and presented correlation with the cytogenotoxic rates. The occurrence of metals (in muscular tissue) and PAHs (in liver) were more pronounced than other compounds.

Key-words: cytogenotoxicity, bioaccumulation, fishes, estuaries

Índice de Figuras

Figura 1. Esquema representativo dos diferentes níveis de organização biológica afetados pela contaminação aquática (adaptado de Adams <i>et al.</i> , 1990).....	27
Figura 2. Esquema da formação de micronúcleo (adaptado de Ribeiro <i>et al.</i> , 2003). ..	29
Figura 3. Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia.....	33
Figura 4. Barcos de pesca na Ilha de Cananéia (A) e pesca de cerco (B).....	35
Figura 5. Região de coleta de <i>C. spixii</i> – Mar de Cananéia.....	36
Figura 6. Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá.....	37
Figura 7. Urbanização presente na Baía de Paranaguá.....	38
Figura 8. Porto de Paranaguá - Terminal de Contêineres.....	39
Figura 9. Porto de Paranaguá - Terminal Petrolífero Petrobrás (A e B).....	39
Figura 10. Pesca no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá.....	39
Figura 11. Agricultura de subsistência às margens da Baía de Paranaguá.....	40
Figura 12. Região de coleta de <i>C. spixii</i>	40
Figura 13. Regiões de coleta de <i>C. parallelus</i> : Rios Perequê (A), Guaraguaçu (B) e Dos Almeidas (C).....	41
Figura 14. Região de coleta de <i>C. parallelus</i> no verão – Ilha das Peças.....	41
Figura 15. Complexo Estuarino de Santos e São Vicente.....	42
Figura 16. Complexo Estuarino de Santos e São Vicente.....	43
Figura 17. Porto de Santos.....	44
Figura 18. Pólo Industrial de Cubatão.....	44
Figura 19. Companhia Siderúrgica Paulista (COSIPA) em Cubatão.....	45
Figura 20. Indústrias e terminais presentes no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente (Lamparelli <i>et al.</i> , 2001).....	45
Figura 21. Fontes de contaminação do Complexo Estuarino de Santos e São Vicente (Lamparelli <i>et al.</i> , 2001).....	46
Figura 22. Ocupações desordenadas às margens do estuário.....	47
Figura 23. Local de coleta dos organismos estudados – Araçarana.....	48
Figura 24. <i>Cathorops spixii</i>	48
Figura 25. <i>Centropomus parallelus</i>	50
Figura 26. Desenho experimental: Fluxograma.....	51
Figura 27. Embarcações de coleta: Bom Tempo (A), Velliger II (B) e Pantaninho (C).....	52

Figura 28. Base de Pesquisa Dr. João de Paiva Carvalho, do IOUSP.....	52
Figura 29. Embarcações de coleta: Stella I (A) e Capitella (B).....	52
Figura 30. Centro de Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná (CEM-UFPR).....	53
Figura 31. Universidade Estadual Paulista – Campus São Vicente.....	53
Figura 32. Captura de <i>C. spixii</i> com rede de arrasto de fundo.....	54
Figura 33. Captura de <i>C. parallelus</i> com tarrafa.....	54
Figura 34. Captura de <i>C. parallelus</i> com vara e isca viva.....	54
Figura 35. Captura de <i>C. parallelus</i> com rede picaré.....	54
Figura 36. Captura de <i>C. parallelus</i> em cerco flutuante.....	55
Figura 37. <i>C. parallelus</i> durante o transporte para o laboratório.....	55
Figura 38. <i>C. spixii</i> durante o transporte para o laboratório.....	55
Figura 39. Determinação da temperatura (A) e salinidade (B) em campo.....	56
Figura 40. Organismos em aclimação.....	56
Figura 41. <i>C. spixii</i> (A) e <i>C. parallelus</i> (B) em processo de anestesia.....	57
Figura 42. Medição de <i>C. spixii</i> (A) e <i>C. parallelus</i> (B) em ictiômetro.....	57
Figura 43. Pesagem de <i>C. spixii</i> (A) e <i>C. parallelus</i> (B) em balança.....	57
Figura 44. Coleta de sangue de <i>C. spixii</i> (A) e <i>C. parallelus</i> (B).....	58
Figura 45. Confeção de extensões sanguíneas.....	58
Figura 46. Coloração das lâminas com May-Grünwald-Giemsa.....	58
Figura 47. Observação das gônadas em <i>C. spixii</i> após a incisão ventral.....	59
Figura 48. Separação da massa visceral.....	59
Figura 49. Separação do tecido muscular com auxílio de faca de titânio.....	60
Figura 50. Liofilização das amostras.....	63
Figura 51. Homogeneização das amostras em liquidificador com lâminas de titânio.....	64
Figura 52. Trituração das amostras em moinho com esferas de vidro.....	64
Figura 53. Trituração das amostras em peneira de nylon (100 mash).....	64
Figura 54. Anomalias nucleares (indicadas pelas setas) em eritrócitos de <i>Cathorops spixii</i> analisadas em microscópio óptico (aumento de 1000x).....	73
Figura 55. Micronúcleos (indicados pelas setas) em eritrócitos de <i>Cathorops spixii</i> analisados em microscópio óptico (aumento de 1000x).....	73

Figura 56. Anomalias nucleares (indicadas pelas setas) em eritrócitos de <i>Centropomus parallelus</i> analisadas em microscópio óptico (aumento de 1000x).....	73
Figura 57. Micronúcleos (indicados pelas setas) em eritrócitos de <i>Centropomus parallelus</i> analisados em microscópio óptico (aumento de 1000x).....	74
Figura 58. Médias e desvios padrão dos dados de comprimento total (mm) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.....	90
Figura 59. Médias e desvios padrão dos dados de peso total (g) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.....	91
Figura 60. Médias e desvios padrão dos dados de micronúcleo (MN) e dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.....	92
Figura 61. Médias e desvios padrão dos dados de anomalias nucleares (AN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.....	92
Figura 62. Frequência de micronúcleos (MN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.....	93
Figura 63. Frequência de anomalias nucleares (AN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.....	93
Figura 64. Médias e desvios padrão dos dados de comprimento total (mm) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.....	110
Figura 65. Médias e desvios padrão dos dados de peso total (g) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.....	110
Figura 66. Médias e desvios padrão dos dados de micronúcleo (MN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.....	112
Figura 67. Médias e desvios padrão dos dados de anomalias nucleares (AN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.....	112
Figura 68. Frequência de micronúcleo (MN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.....	113
Figura 69. Frequência de anomalias nucleares (AN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.....	113
Figura 70. Médias e desvios padrão de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia durante o inverno/08 e verão/09.....	114

Figura 71. Médias e desvios padrão de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia durante o inverno/08 e verão/09.....	114
Figura 72. Médias e desvios padrão de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá durante o inverno/08 e verão/09.....	115
Figura 73. Médias e desvios padrão de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá durante o inverno/08 e verão/09.....	116
Figura 74. Médias e desvios padrão de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente durante o inverno/08 e verão/09.....	117
Figura 75. Médias e desvios padrão de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente durante o inverno/08 e verão/09.....	117
Figura 76. Acumulação de compostos PAHs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	120
Figura 77. Acumulação de compostos PAHs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	120
Figura 78. Acumulação de compostos PAHs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> e <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.....	121
Figura 79. Acumulação de compostos PAHs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> e <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante verão/09.....	122
Figura 80. Acumulação de compostos PAHs que estiveram acima do LDM em fígados de exemplares <i>C. spixii</i> e <i>C. parallelus</i> coletados em todo o estudo.....	124
Figura 81. Acumulação de compostos PCBs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	127
Figura 82. Acumulação de compostos PCBs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e	

verão/09.....	127
Figura 83. Acumulação de compostos PCBs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> e <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.....	128
Figura 84. Acumulação de compostos PCBs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> e <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o verão/08.....	129
Figura 85. Acumulação de compostos PCBs que estiveram acima do LDM em fígados de exemplares <i>C. spixii</i> e <i>C. parallelus</i> coletados em todo o estudo.....	129
Figura 86. Acumulação de compostos HCHs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	132
Figura 87. Acumulação de compostos HCHs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	132
Figura 88. Acumulação de compostos HCHs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> e <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.....	133
Figura 89. Acumulação de compostos HCHs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> e <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o verão/08.....	133
Figura 90. Acumulação de compostos HCHs que estiveram acima do LDM em fígados de exemplares <i>C. spixii</i> e <i>C. parallelus</i> coletados em todo o estudo.....	134
Figura 91. Acumulação de compostos DDTs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	135
Figura 92. Acumulação de compostos DDTs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	135
Figura 93. Acumulação de compostos DDTs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> e <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.....	136

Figura 94. Acumulação de compostos DDTs que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> e <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o verão/08.....	136
Figura 95. Acumulação de compostos DDTs que estiveram acima do LDM em fígados de exemplares <i>C. spixii</i> e <i>C. parallelus</i> coletados em todo o estudo.....	137
Figura 96. Acumulação de compostos Clordanas que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	138
Figura 97. Acumulação de compostos Clordanas que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	138
Figura 98. Acumulação de compostos Clordanas que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> e <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.....	139
Figura 99. Acumulação de compostos Clordanas que estiveram acima do LDM em fígados de <i>C. parallelus</i> e <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.....	140
Figura 100. Acumulação de compostos Clordanas que estiveram acima do LDM em fígados de exemplares <i>C. spixii</i> e <i>C. parallelus</i> coletados em todo o estudo.....	141
Figura 101. Acumulação de As, Zn e Se em tecido muscular de <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	145
Figura 102. Acumulação de metais (Cd, Co, Hg, Pb) em tecido muscular de <i>C. spixii</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	145
Figura 103. Acumulação de As, Zn e Se em tecido muscular de <i>C. parallelus</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	146
Figura 104. Acumulação de metais (Cd, Hg, Pb) em tecido muscular de <i>C. parallelus</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	146
Figura 105. Acumulação de metais em tecido muscular de <i>C. spixii</i> e <i>C. parallelus</i> coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.....	149
Figura 106. Bioacumulação de metais em tecidos de <i>C. spixii</i> e <i>C. parallelus</i> coletados em todo o estudo.....	150
Figura 107. Modelo de formação de micronúcleos a partir do mecanismo de exclusão de fragmentos, extraído de Shimizu <i>et al.</i> (1998).....	269

Índice de Tabelas

TABELA 1. Perda de água (em %) das amostras de peixes após liofilização.....	63
TABELA 2. Critérios estabelecidos em legislações nacionais e internacionais para classificação dos organismos coletados neste estudo baseado no risco ao consumo humano. Adaptada de Lamparelli <i>et al.</i> (2001) e Virga <i>et al.</i> (2007).....	71
TABELA 3. Número de exemplares de cada espécie coletados em cada área de estudo e estação do ano.....	72
TABELA 4. Resultados das análises físico-químicas realizadas em campo, em cada área de estudo nas duas estações do ano.....	72
TABELA 5. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.....	75
TABELA 6. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.....	75
TABELA 7. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.....	76
TABELA 8. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.....	76
TABELA 9. Valores de p obtidos para os testes de normalidade ($p < 0,05$) em dados biométricos e biomarcadores nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.....	77
TABELA 10. Valores de p encontrados com ANOVA 1 fator (comprimento total (mm), peso total (g) e anomalias nucleares (AN) em <i>C. spixii</i>), Kruskal-Wallis (micronúcleo em <i>C. spixii</i>) e teste t (todas as variáveis em <i>C. parallelus</i>), em relação ao estágio de maturação gonadal em espécies coletadas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08, para $< 0,05$	77
TABELA 11. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$) e Mann-Whitney (micronúcleo em <i>C. parallelus</i>) em relação ao sexo nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.....	78

TABELA 12. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.....	78
TABELA 13. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e de Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.....	79
TABELA 14. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.....	80
TABELA 15. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.....	80
TABELA 16. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.....	81
TABELA 17. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.....	81
TABELA 18. Teste de normalidade de D'Agostino Pearson (<i>C. spixii</i> ; $p < 0,05$) e Shapiro-Wilk (<i>C. parallelus</i> ; $p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.....	82
TABELA 19. Valores de p encontrados para ANOVA 1 fator (<i>C. spixii</i> ; $< 0,05$) e teste t (<i>C. parallelus</i> ; $p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores em relação ao estágio de maturação gonadal nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.....	82
TABELA 20. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores em relação ao sexo nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.....	83
TABELA 21. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.....	83

TABELA 22. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e seus respectivos p (t) em <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.....	84
TABELA 23. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.....	85
TABELA 24. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.....	85
TABELA 25. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.....	86
TABELA 26. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.....	87
TABELA 27. Valores de p obtidos para os testes de normalidade ($p < 0,05$) em dados biométricos e biomarcadores nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.....	87
TABELA 28. Valores de p encontrados para ANOVA 1 fator ($p < 0,05$) e teste de Kruskal-Wallis (micronúcleo em <i>C. spixii</i> ; $p < 0,05$) para os dados biométricos e biomarcadores em relação ao estágio de maturação nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.....	88
TABELA 29. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$) e Mann-Whitney (micronúcleo em <i>C. spixii</i> ; $p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores em relação ao sexo nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.....	88
TABELA 30. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.....	89
TABELA 31. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e seus respectivos p (t) em <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.....	89

TABELA 32. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.....	94
TABELA 33. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.....	95
TABELA 34. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.....	96
TABELA 35. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.....	96
TABELA 36. Valores de p obtidos para o teste de normalidade D'Agostino Pearson ($p < 0,05$) em dados biométricos e biomarcadores nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.....	97
TABELA 37. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$), para os dados de comprimento total (mm) e peso total (g) e no teste de Mann Whitney ($p < 0,05$) para valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) em relação ao estágio de maturação gonadal nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.....	97
TABELA 38. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$) e Mann-Whitney (micronúcleo e anomalias nucleares em <i>C. spixii</i>) em relação ao sexo nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.....	98
TABELA 39. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.....	98
TABELA 40. Coeficientes de correlação de Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.....	99
TABELA 41. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.....	100

TABELA 42. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.....	100
TABELA 43. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.....	101
TABELA 44. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.....	101
TABELA 45. Teste de normalidade de D'Agostino Pearson (<i>C. spixii</i> ; $p < 0,05$) e D'Agostino (<i>C. parallelus</i> ; $p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.....	102
TABELA 46. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores em relação ao sexo em <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.....	103
TABELA 47. Coeficientes de correlação de Spearman (r_s) e seus respectivos p (t) em <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09....	103
TABELA 48. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e seus respectivos p (t) em <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09...	103
TABELA 49. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.....	104
TABELA 50. Comprimento total (mm), peso (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.....	105
TABELA 51. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.....	106
TABELA 52. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de <i>C. parallelus</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.....	106

TABELA 53. Teste de normalidade de D'Agostino ($p < 0,05$) para dados de comprimento total (mm), peso total (g), valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.....	107
TABELA 54. Valores de p encontrados para ANOVA 1 fator ($p < 0,05$) e teste de Kruskal-Wallis (micronúcleo em <i>C. spixii</i> e <i>C. parallelus</i> ; $p < 0,05$) para os dados biométricos e biomarcadores em relação ao estágio de maturação nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.....	107
TABELA 55. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores em relação ao sexo nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.....	108
TABELA 56. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em <i>C. spixii</i> coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.....	108
TABELA 57. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em <i>C. parallelus</i> coletados em Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.....	109
TABELA 58. Concentrações de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) em amostras de fígado de <i>Cathorops spixii</i> coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente nas duas estações do ano (inverno/08 e verão/09). Valores expressos em ng g^{-1} peso úmido.....	118
TABELA 59. Concentrações de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) em amostras de fígado de <i>Centropomus parallelus</i> coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente nas duas estações do ano (inverno/08 e verão/09). Valores expressos em ng g^{-1} peso úmido.....	119
TABELA 60. Valores de p encontrados no teste de Mann Whitney ($p < 0,05$) na comparação interespecífica entre os níveis dos compostos de PAHs analisados (acima de LDM) em todo o estudo.....	123
TABELA 61. Concentrações de Bifenilas Policloradas (PCBs) em amostras de fígado de <i>Cathorops spixii</i> coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente nas duas estações do ano (inverno/08 e verão/09). Valores expressos em ng/g peso úmido.....	125

TABELA 62. Concentrações de Bifenilas Policloradas (PCBs) em amostras de fígado de <i>Centropomus parallelus</i> coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente nas duas estações do ano (inverno/08 e verão/09). Valores expressos em ng/g peso úmido.....	126
TABELA 63. Concentrações de pesticidas organoclorados em amostras de fígado de <i>Cathorops spixii</i> coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente nas duas estações do ano (inverno/08 e verão/09). Valores expressos em ng/g peso úmido.....	130
TABELA 64. Concentrações de pesticidas organoclorados em amostras de fígado de <i>Centropomus parallelus</i> coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente nas duas estações do ano (inverno/08 e verão/09). Valores expressos em ng/g peso úmido.....	131
TABELA 65. Resultados obtidos (µg/g) para o material de referência certificado Dogfish muscle DORM-2 – NRCC, peso seco.....	268
TABELA 66. Resultados obtidos (ng/g) para o material de referência certificado Mussel Tissue 2976 – NIST, peso seco.....	268
TABELA 67. Concentrações de metais (As, Cd, Co, Cr, Hg, Pb, Se e Zn) em amostras de tecido muscular de <i>Cathorops spixii</i> coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente no inverno/08. Valores expressos em µg/g e ng/g (*) peso úmido.....	142
TABELA 68. Concentrações de metais (As, Cd, Co, Cr, Hg, Pb, Se e Zn) em amostras de tecido muscular de <i>Cathorops spixii</i> coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente no verão/09. Valores expressos em µg/g e ng/g (*) peso úmido.....	143
TABELA 69. Concentrações de metais (As, Cd, Co, Cr, Hg, Pb, Se e Zn) em amostras de fígado de <i>Centropomus parallelus</i> coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente no inverno/08. Valores expressos em µg/g e ng/g (*) peso úmido.....	143
TABELA 70. Concentrações de metais (As, Cd, Co, Cr, Hg, Pb, Se e Zn) em amostras de tecido muscular de <i>Centropomus parallelus</i> coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente no verão/09. Valores expressos em µg/g e ng/g (*) peso úmido.....	144

TABELA 71. Valores de p encontrados no teste ANOVA/Kruskal Wallis na comparação entre os níveis de metais (As, Cd, Co, Cr, Hg, Pb, Se e Zn) obtidos no tecido muscular dos exemplares das três áreas de estudo.....	147
TABELA 72. Valores de p encontrados no teste t e Mann Whitney ($p < 0,05$) na comparação interespecífica entre os níveis de bioacumulação de metais analisados nos tecidos dos exemplares em todo o estudo.....	151
TABELA 73. Valores de p e p(SNK) (significativos) encontrados no teste de Kruskal Wallis na comparação entre os níveis de metais x PAHs e organoclorados obtidos no tecido muscular dos exemplares de <i>C. spixii</i> das três áreas de estudo em cada uma das estações do ano.....	151
TABELA 74. Valores de p e p(SNK) (significativos) encontrados no teste de Kruskal Wallis na comparação entre os níveis de metais x PAHs e organoclorados obtidos no tecido muscular dos exemplares de <i>C. parallelus</i> das três áreas de estudo em cada uma das estações do ano.....	152
TABELA 75. Razões entre os compostos químicos PAHs e organoclorados obtidos em fígados de <i>C. spixii</i>	152
TABELA 76. Razões entre os compostos químicos PAHs e organoclorados obtidos em fígados de <i>C. parallelus</i>	153
TABELA 77. Matriz para Análise Fatorial (método de Análise de Componentes Principais - ACP) com dados obtidos em <i>C. spixii</i>	156
TABELA 78. Matriz para Análise Fatorial (método de Análise de Componentes Principais - ACP) com dados obtidos em <i>C. parallelus</i>	156
TABELA 79. Resultado extraído para cada componente principal, para as duas espécies.....	157
TABELA 80. <i>Factor Loadings</i> extraídos para cada um dos 3 Fatores principais, para as duas espécies.....	157
TABELA 81. <i>Factor Scores</i> extraídos para cada um dos locais de coleta, para cada espécie.....	157

1. Introdução

O rápido avanço do desenvolvimento industrial e urbano tem ocasionado um contínuo fluxo de compostos xenobióticos para o meio aquático. Sendo os oceanos seu receptáculo final, causam o aumento da contaminação e desequilibram a vida nos ambientes marinhos, particularmente nos estuários e zonas costeiras.

Os estuários são considerados ambientes de transição onde ocorrem interações dinâmicas entre a água doce e salgada, o sistema terrestre e a atmosfera. São extremamente produtivos e importantes regiões de alimentação, migração e reprodução tanto de espécies residentes quanto migratórias (Chapman & Wang, 2001).

Segundo Chapman & Wang (*op. cit.*), os diversos contaminantes que chegam aos estuários transportados pelos rios e/ou efluentes são influenciados por processos de transporte e transformação, incluindo a adsorção, coagulação, floculação, precipitação e assimilação e excreção bióticas, distribuindo-se de maneira diferenciada entre coluna d'água e o substrato. Além disso, segundo Anjos (2006), as intensas variações das características biogeoquímicas destes ambientes influenciam o comportamento de inúmeras espécies químicas, tais como metais, metalóides, nutrientes, entre outros.

O sedimento resulta na deposição de partículas e colóides (principalmente nas camadas mais superficiais) agindo como depósito e como fonte de poluentes (Zagatto & Bertoletti, 2006). De modo geral, os contaminantes são encontrados em concentrações mais altas neste compartimento quando comparado à coluna d'água (Chapman & Wang, 2001), assim organismos associados ao substrato são aqueles mais suscetíveis à contaminação, bioacumulação e efeitos diversos. Conseqüentemente, teias alimentares que possuem organismos bentônicos em sua base são mais suscetíveis à biomagnificação, sendo os últimos níveis tróficos os que apresentarão maior concentração de poluentes.

Muitos dos contaminantes podem apresentar potencial tóxico à biota como os metais pesados (mercúrio, cobre, chumbo, cádmio e cromo, por exemplo) e substâncias sintéticas (compostos organoclorados e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, por exemplo) podendo causar danos fisiológicos e cromossômicos nos indivíduos, assumindo potencial mutagênico, cancerígeno e teratogênico, tanto para organismos aquáticos quanto para o homem. Além disso, os mais lipofílicos se associam facilmente aos tecidos dos organismos sofrendo os processos de bioacumulação e biotransformação.

A absorção destes contaminantes e outros agentes tóxicos pelos organismos aquáticos pode ocorrer de maneira direta (através das interfaces de contato do organismo com o ambiente contaminado) e/ou indireta (através da dieta). A bioacumulação via alimentação representa o principal processo na transferência trófica do contaminante (Zagatto & Bertoletti, 2006). Já em um processo de bioacumulação direta, as vias de entrada dos possíveis contaminantes são as brânquias e a pele, locais onde ocorre o contato direto e constante com o meio em que vivem (interface organismo/água). A partir daí, o próximo tecido a entrar em contato é o sangue e, através dele, o contaminante é distribuído para os tecidos do animal.

De acordo com Zagatto & Bertoletti (2006), é no fígado que o composto passa por um processo de biotransformação (através de vias metabólicas e enzimáticas) na tentativa de transformá-lo em um metabólito passível de ser eliminado (substâncias hidrossolúveis, não-tóxicas, ionizáveis e prontamente excretadas). Caso isto não ocorra, será acumulado nos tecidos corporais, caracterizando a bioacumulação.

Segundo Adams (1990) os efeitos dos contaminantes podem se manifestar em vários níveis de organização biológica, incluindo disfunções do nível afetado, alterações em órgãos e tecidos e modificações comportamentais, podendo levar ao prejuízo do crescimento e da reprodução. A partir do esquema representado na figura 1, proposto por este mesmo autor, nota-se que os efeitos deletérios, quando não reparados, podem desencadear outros efeitos em um organismo, de forma sequencial ao longo do tempo. Quando chegam a ponto de prejudicar a capacidade reprodutiva do indivíduo, o sucesso da espécie, portanto, também é prejudicado.

Figura 1. Esquema representativo dos diferentes níveis de organização biológica afetados pela contaminação aquática (adaptado de Adams *et al.*, 1990).

Para observação dos efeitos das substâncias químicas manufaturadas e de outros materiais, antropogênicos ou naturais, em organismos aquáticos em cada um dos níveis de organização, o campo da ecotoxicologia aquática vem desenvolvendo e aplicando testes de toxicidade (Nascimento *et al.*, 2002), bioensaios, e fazendo uso da avaliação através de biomarcadores.

Os biomarcadores podem ser definidos como alterações bioquímicas, celulares, moleculares ou mudanças fisiológicas nas células, fluidos corpóreos, tecidos ou órgãos de um organismo que são indicativos da exposição ou efeito de um xenobiótico (Lam & Gray, 2003). Aqueles que respondem ao nível molecular e celular trazem respostas sobre os primeiros sinais de perturbação ambiental (Freire *et al.*, 2008) funcionando como ferramenta de prognóstico de efeitos ambientais prejudiciais (Anderson & Wild, 1994). Assim, ensaios que detectam citogenotoxicidade vêm sendo realizados há 20 anos, inicialmente desenvolvidos para mamíferos (Ribeiro *et al.*, 2003) e atualmente aplicados em outras formas de vida, por exemplo, organismos aquáticos como peixes e invertebrados, em condições laboratoriais e ambientais.

Dentre os mais difundidos, o teste do micronúcleo (MN) e a observação de anomalias nucleares (AN) são dois dos mais utilizados devido à facilidade de observação, sensibilidade, validade, rapidez e baixo custo, podendo ser aplicados em diferentes formas de vida, devido ao fato de serem independentes das características cariotípicas dos organismos (Heddle *et al.*, 1983; Ayllon & Garcia-Vazquez, 2000; Çavas & Ergene-Gözükar, 2003; Freire *et al.*, 2008, Grisolia *et al.*, 2009, Yadav & Trivedi, 2009). É um teste que indica efeito genotóxico e mutagênico de compostos que interagem de maneira danosa com o DNA (genotoxinas). Tem se mostrado uma ferramenta eficiente de detecção precoce de danos genotóxicos em peixes e outros organismos aquáticos, no ambiente e finalmente no homem.

Os micronúcleos são pequenas massas nucleares envoltas em membrana presentes no citoplasma que não possuem ligação com o núcleo principal. São formados pela exclusão do núcleo de cromossomos inteiros ou fragmentos de cromatina durante a divisão celular (figura 2) que não foram reparados (Heddle *et al.*, 1983; Al-Sabti & Metcalfe, 1995; Tucker & Preston, 1996; Stopper & Müller, 1997; Jesus & Carvalho, 2008; Freire *et al.*, 2008; Çavas, 2008; Kirschbaum *et al.*, 2009; Rybakovas *et al.*, 2009). Assim sendo, os MNs representam perda de material genético em consequência de dano cromossômico estrutural (causado por agentes clastogênicos) ou dano no aparelho mitótico (causado por agentes aneugênicos).

Figura 2. Esquema da formação de micronúcleo (adaptado de Ribeiro *et al.*, 2003).

As anomalias nucleares, por sua vez, são a constatação do dano nuclear através da observação da forma do núcleo celular. São classificadas como *blebbed*, *lobed*, *notched*, *vacuolated* ou *conical*, conforme descrito por Carrasco *et al.* (1990). Também podem ser formadas a partir da ação clastogênica (Tucker & Preston, 1996) ou aneugênica das genotoxinas, onde os fragmentos de cromatina desprendidos na divisão ou cromátides não separadas pelas fibras do fuso (pontes de cromatina), acabaram inclusos no núcleo após a formação do envelope na telófase. Deste modo, estas estruturas são deslocadas à periferia do núcleo localizando-se próximo ao limite do envelope nuclear (Gaulden, 1987) - o que caracteriza as ANs - podendo ser ou não re-incorporadas ao DNA (Savage, 1988; Müller *et al.*, 1996). Caso não incorporadas, são de fato expulsas do núcleo formando os micronúcleos no citoplasma (Stopper *et al.*, 1993; Shimizu *et al.*, 1998).

Este mesmo mecanismo de expulsão de fragmentos gerando MN a partir dos ANs também pode ocorrer de forma voluntária pela célula, na tentativa de estabilização do cariótipo do organismo. Este processo consiste na eliminação de regiões da cromatina (detectadas pela própria célula) que são passíveis de fragilização ou mesmo de parte da fita previamente fragilizada (e não reparada pelo sistema de reparo do DNA) pela ação de compostos clastogênicos ou cancerígenos (Kirschner *et al.*, 1995; Shimizu *et al.*, 1998). Esses fragmentos são quebrados por enzimas e excluídos durante a divisão.

A ação das genotoxinas ambientais pode comprometer tanto células somáticas quanto germinativas trazendo sérias consequências ao indivíduo e à população, dentre elas a aneuploidia (alteração do número de cromossomos), queda no número de gametas repercutindo na queda do sucesso reprodutivo da espécie, desenvolvimento anormal do indivíduo, mutações letais (mortalidade embrionária), mutações hereditárias que levam às alterações da diversidade genética da espécie, ocorrência de doenças hereditárias que podem levar a quadros de câncer, e morte do indivíduo (Würgler & Kramers, 1992; Stopper & Müller, 1997; Anderson & Wild, 1994).

Dentre as formas de vida que vêm sendo utilizadas na avaliação do potencial clastogênico e aneugênico de agentes ambientais através da observação de micronúcleos e anomalias nucleares estão os teleósteos. Alguns dos estudos realizados foram Al Sabti & Hardig (1990), Ayllón & Garcia-Vazquez (2000), Maria *et al.* (2003), Mallick & Khuda-Bukhsh (2003), Diekmann *et al.* (2004), Ferraro *et al.* (2004), Russo *et al.* (2004), Çavas *et al.* (2005), Çavas & Ergene-Gözükara (2005a e b), Amado *et al.* (2006), Azevedo (2008), Kirschbaum *et al.* (2009), Grisolia *et al.* (2009) e Rybakovas *et al.* (2009)

As técnicas aplicadas *in vivo*, como o teste do MN e AN em peixes, têm se mostrado muito eficientes não só para testar o potencial genotóxico, mas também para monitoramento da qualidade da água (Al-Sabti & Metcalfe, 1995).

Dentre os tipos celulares aplicados para estas análises nesse tipo de sistema biológico, as células sanguíneas periféricas (eritrócitos) se destacam (Çavas, 2008, Grisolia *et al.*, 2009) devido a facilidade de obtenção e uso (Çavas *et al.*, 2005) visto que possuem um tamanho considerável e núcleos grandes (Al Sabti, 1986) o que facilita sua observação. Alguns dos estudos realizados foram os de Al Sabti & Hardig (1990), Maria *et al.* (2003), Mallick & Khuda-Bukhsh (2003), Çavas *et al.* (2005), Çavas & Ergene-Gözükara (2005a e b), Amado *et al.* (2006), Azevedo (2008), Kirschbaum *et al.* (2009), Grisolia *et al.* (2009), Rybakovas *et al.* (2009).

Os peixes desempenham diferentes papéis na cadeia trófica sofrendo bioacumulação de vários compostos tóxicos, além de responderem sensivelmente a inúmeros agentes mutagênicos/carcinogênicos ambientais em baixas concentrações (Kocan *et al.*, 1985; Al-Sabti & Metcalfe, 1995). Respondem aos agentes tóxicos da mesma maneira que vertebrados superiores (Al-Sabti & Metcalfe, 1995; Ayllón & Garcia-Vazquez, 2000), sendo assim, as respostas ao efeito teratogênico e carcinogênico obtido a partir destes sistemas biológicos podem ser utilizadas como modelo em estudos

genotóxicos (Çavas & Ergene-Gözükar, 2005b) e para respostas em humanos, por exemplo. Principalmente as espécies de menor porte, podem facilmente ser mantidas em laboratório e expostas aos compostos químicos tóxicos. Além disso, por estar constantemente em contato direto com a água (Mallick & Khuda-Bukhsh, 2003) e por ser importante fonte de alimento para os humanos, o uso de peixes é de grande interesse em programas de monitoramento ambiental.

No presente estudo, o potencial genotóxico frente a diferentes níveis de contaminação em estuários foi avaliado e comparado através dos marcadores de citogenotoxicidade MN e AN, aplicados em eritrócitos de bagres-amarelos (*Cathorops spixii*) e robalo-peva (*Centropomus parallelus*) provenientes de três importantes complexos estuarinos da costa brasileira: da Baía de Paranaguá, Santos/São Vicente e Estuarino-Lagunar de Cananéia. Além disso, foi observada a bioacumulação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) e compostos organoclorados (PCBs e pesticidas) nos fígados dos exemplares coletados, além de metais pesados no tecido muscular dos mesmos.

Os Complexos Estuarinos da Baía de Paranaguá e Santos e São Vicente abrigam diversas atividades industriais, portuárias, intensa urbanização, pesca e agricultura, atividades estas que ao mesmo tempo em que determinam um maior desenvolvimento e crescimento econômico do local, resultam em maior degradação ambiental. Nestes dois estuários já foram documentadas concentrações em sedimentos de metais, PAHs e organoclorados em níveis capazes de causar efeitos adversos à biota, além da bioacumulação destes compostos em diversas formas de vida (Lamparelli *et al.*, 2001, Abessa, 2002; Cesar *et al.*, 2006; Abessa *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2009a; Choueri *et al.*, 2009; Froehner & Maceno, 2010; Froehner *et al.*, 2010).

O Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia, por sua vez, abriga principalmente a atividade pesqueira e a agricultura o que, aliado a baixa densidade populacional, contribui para um menor nível de contaminação do local. Estudos prévios na região (Nishigima *et al.*, 2001; Saito *et al.*, 2006; Lamparelli *et al.*, 2006 e 2007) documentam níveis de metais, PAHs e organoclorados algumas vezes abaixo dos limites de detecção e abaixo dos limites estabelecidos em normas nacionais e internacionais, sendo esta região considerada não poluída e de baixa influência antrópica, aplicada neste em outros estudos ambientais como área de referência.

O bagre-amarelo e o robalo-peva são peixes comuns do litoral brasileiro podendo ser encontrados até a região de Santa Catarina. O hábito de vida e alimentar

tornam estes organismos vulneráveis aos processos de bioacumulação e biomagnificação dos diversos xenobióticos presentes na água e sedimento, sofrendo com os efeitos tóxicos resultantes desta exposição. Estas espécies são importantes fontes de alimento para a população local, desta maneira representam um elo de transferência de contaminantes ambientais para os seres humanos.

2. Objetivos

- Avaliar a citogenotoxicidade de amostras de sangue de bagre *C. spixii* e robalo *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente, Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá e Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia durante o inverno de 2008 e verão de 2009, através dos biomarcadores moleculares micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN);
- Investigar estatisticamente eventuais influências de alguns dos fatores bióticos e abióticos nos resultados citogenotóxicos;
- Avaliar a presença e a concentração de compostos organoclorados (pesticidas e bifenilas policloradas), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e metais nos tecidos dos exemplares coletados;
- Observar possíveis relações entre a bioacumulação e o estado citogenotóxico dos organismos;
- Avaliar todos os resultados obtidos estabelecendo comparação entre as três regiões de estudo (em cada campanha de coleta bem como no âmbito sazonal) e entre as respostas das diferentes espécies estudadas.

3. Áreas de estudo

O presente estudo abrange 3 complexos estuarinos da costa brasileira. São eles: Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia, Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá e Complexo Estuarino de Santos e São Vicente.

3.1. Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia

O Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia está situado na porção sul do Estado de São Paulo, na região do Vale do Ribeira, entre os 24°40'00'' e 25°05'00''S de latitude sul e entre os 47°25'00'' e 48°00'00'' de longitude oeste (Nishigima *et al.*, 2001) (figura 3).

Figura 3. Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia. Região de coleta dos organismos indicada pelo círculo amarelo.

O complexo é delimitado por duas ilhas: Iguape (ao norte) e Ilha do Cardoso (ao sul). Apresenta duas ligações principais com o oceano: na parte norte, através de um único canal (Mar Pequeno – Barra de Icapara) e na parte sul dividindo-se em dois ramos (Mar de Cananéia e Mar de Cubatão – Baía de Trapandé) os quais circundam a Ilha de Cananéia e desembocam no mar pelas Barras de Cananéia e de Ararapira (Mendonça, 2007).

Segundo Schaeffer-Novelli *et al.* (1990) a disponibilidade de sedimentos vindos da plataforma continental e o regime moderado de energia de ondas permitem a formação de uma longa barreira de ilha (Ilha Comprida) de aproximadamente 70 km de extensão que separa o Complexo Estuarino-Lagunar do oceano.

O sistema é composto por uma série de canais sendo o Mar Pequeno, Cubatão e Cananéia os mais importantes (Saito *et al.*, 2006). O Mar de Cubatão separa a Ilha de Cananéia do continente enquanto que o Mar de Cananéia separa esta mesma ilha da Ilha Comprida.

Localizado ao sul do Trópico de Capricórnio, Cananéia registra médias anuais de temperaturas de 21,2° C apresentando variações diárias de 6,7° C (janeiro é o mês mais quente e julho o mais frio) (Schaeffer-Novelli *et al.*, 1990). O clima é úmido ocorrendo precipitação mensal nunca menor do que 80 mm, sendo os meses de fevereiro e março os mais chuvosos do ano (312,5 e 316,3 mm, respectivamente).

A circulação da água dentro do sistema, bem como a salinidade, são dirigidas principalmente pela ação das ondas de maré semi-diurna (amplitudes médias 1,25 em maré de sizígia) que entram pelas Barras de Cananéia e Icapara e se encontram na porção central do sistema, próximo ao Rio Guapara, em um local chamado “Tombo das Águas” (Mendonça, 2007; Schaeffer-Novelli *et al.*, 1990, Saito *et al.*, 2006).

O aporte de água doce para o estuário é bem menor e provém das diversas gamboas e rios que fazem parte do sistema, trazendo consigo sedimentos de origem continental que facilmente se depositam ao fundo causando o rápido assoreamento de algumas regiões do complexo, de modo que, de acordo com Saito *et al.* (2006), os grandes navios que há algumas décadas eram capazes de atingir a cidade de Iguape cruzando a Barra de Cananéia, hoje em dia não o fazem mais visto a crescente obstrução de regiões localizadas na direção da Barra de Icapara e em Cananéia, devido ao acúmulo de sedimento.

O Rio Ribeira do Iguape é o que mais contribui com o aporte de água doce, sedimentos e com alguma atividade antrópica do local (Nishigima *et al.*, 2001). Considerado um dos maiores rios da região sul do Brasil, deságua no Mar Pequeno próximo à Iguape formando o sistema lagunar do complexo.

Já que o turismo é incipiente devido a pouca infra-estrutura local, a economia de Cananéia gira em torno de atividades primárias como pesca (figura 4) e agricultura, cujo destaque é o cultivo de banana, maracujá e oleicultura e o extrativismo, tanto

vegetal (madeira e palmito) quanto mineral, atividade que se constitui como potencial via de poluição do Rio Ribeira do Iguape (Lamparelli *et al.*, 2004).

Figura 4. Barcos de pesca na Ilha de Cananéia (A) e pesca de cerco (B).

Na região da bacia do Rio Ribeira de Iguape, bem como toda a região do Vale do Ribeira, também ocorre o extrativismo mineral já que há grande ocorrência de jazidas que, por sua vez, representam um grande potencial econômico. Destaca-se a produção de calcário, fosfato, argila e dolomita e, em termos de participação estadual, destacam-se as produções de fosfato, chumbo, calcita e prata (Cotrim, 2006) o que fornece algum aporte de metais para a região.

A localização da região entre a Serra do Mar e o oceano determina a formação de uma ampla planície litorânea ocupada pela Mata Atlântica e por amplas áreas de manguezais. Cananéia é o município com maior área de manguezal, seguido por Iguape.

Segundo Lamparelli *et al.* (2004) há várias unidades de conservação na região, tanto estaduais quanto federais, que se sobrepõem no intuito de preservar a ampla gama de espécies da fauna e da flora locais. Entre elas, destaca-se a Estação Ecológica Juréia-Itatins (estadual), a Área de Proteção Ambiental de Ilha Comprida (estadual) e o Parque Estadual da Ilha do Cardoso.

Cananéia está localizada dentro da Área de Proteção Ambiental de Cananéia-Iguape-Peruíbe (APA CIP), uma Unidade de Conservação que visa compatibilizar as atividades humanas com o uso sustentável do ambiente.

Também faz parte do Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape-Paranaguá (Estuário Lagamar), região esta reconhecida pela UNESCO como parte da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica pela sua relevância para a conservação do meio ambiente, o conhecimento científico e a preservação de valores humanos e do saber tradicional na busca de modelos de desenvolvimento sustentável, que atendam da

melhor forma possível as necessidades atuais e futuras do homem em consonância com o ambiente e a diversidade biológica (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2010).

- **Ponto de coleta**

A coleta dos organismos foi concentrada nas regiões adjacentes a Cidade de Cananéia. Para *C. spixii* a coleta foi feita no interior do Mar de Cananéia (figura 5), região esta delimitada pelo círculo amarelo presente na figura 3.

Figura 5. Região de coleta de *C. spixii* – Mar de Cananéia.

Já para *C. parallelus* a coleta foi feita na entrada das gamboas e próximo às raízes do mangue costeiro na maré mais baixa desta mesma região visto que, quando juvenis, os exemplares desta espécie utilizam estas áreas para refúgio e alimentação.

3.2. Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá

O Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (CEP) está situado na porção norte do Estado do Paraná entre os 25°16' e 25°34' de latitude sul e entre os 48°17' e 48°42' de longitude oeste (Choueri *et al.*, 2009) circundada por típicas florestas de mangue (figura 6).

Figura 6. Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá. Região de coleta de *C. spixii* indicada pelo círculo amarelo e de *C. parallelus* pelos círculos verde (inverno) e azul (verão).

É um dos maiores sistemas estuarinos da América (Choueri *et al.*, 2009) abrangendo uma superfície líquida de 601 km² e apresentando um volume de água da ordem de 2x10⁹ m³ (Knoppers *et al.*, 1987 *apud* Anjos, 2006). É composto basicamente por dois corpos d'água com dois eixos de orientação: no eixo norte-sul encontra-se a Baía de Laranjeiras e no eixo leste-oeste a Baía de Paranaguá. A conexão com o mar é dada através dos Canais da Galheta, Norte e Superagüi.

Apresenta um clima do tipo pluvial temperado com chuvas durante todo o ano e maiores pluviosidades e temperaturas ocorrendo no verão (Maack, 1981 *apud* Spach *et al.*, 2003). A pluviosidade e a ingressão da cunha salina afetam a salinidade, que por sua vez varia nitidamente de maneira sazonal.

Apresenta um padrão de circulação altamente dinâmico devido à influência do regime semi-diurno de marés (com desigualdades diurnas) e do grande aporte de água doce proveniente dos inúmeros rios e gamboas do CEP, principalmente nos meses chuvosos (verão).

Segundo Santos *et al.* (2009b) a maré pode alcançar 2,2 m gerando correntes que podem atingir 80 cm.s⁻¹ na maré enchente e 110 cm.s⁻¹ na maré vazante, sendo mais acentuadas as marés de sizígia dos meses de inverno. De acordo com Mantovanelli

(1999) e Mantovanelli *et al.* (2004), a velocidade das correntes de marés é o fator primário que governa os processos de grande mistura e estratificação da coluna d'água, além de condicionar os processos cíclicos de erosão, ressuspensão e sedimentação de material particulado. A renovação da água ocorre aproximadamente a cada 3,5 dias.

O CEP é responsável pela drenagem de aproximadamente 70% da área da bacia hidrográfica litorânea do Estado do Paraná, e as Baías de Antonina e de Paranaguá sofrem maior influência do aporte de água continental, equivalente a 54% da área de drenagem de todo o complexo (Montovanelli, 1999). Segundo este mesmo autor, o aporte de água doce para o complexo varia sazonalmente atingindo, por exemplo, índices de $41 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$ (inverno/1997) e $182 \text{ m}^3.\text{s}^{-1}$ (verão/1998) ao fundo da Baía de Paranaguá, após a região portuária.

É um local de grande importância socio-econômica coexistindo atividades pesqueiras, urbanas, portuárias e industriais. As indústrias de fertilizantes e estocagem de produtos químicos são mais representativas na região.

Segundo Anjos (2006), as Baías de Antonina e Paranaguá se destacam por abrigar a maior urbanização do complexo (figura 7). A ocupação desordenada ao redor do complexo acarreta o despejo de esgoto não tratado em suas águas.

Figura 7. Urbanização presente na Baía de Paranaguá.

Ainda, essas duas baías abrigam dois importantes portos sendo o de Paranaguá (figura 8) considerado o maior porto do Sul do Brasil (Choueri *et al.*, 2009) e o segundo mais importante do país (Van Bresse *et al.*, 2009). É o maior porto de exportação de grãos da América Latina (Marone *et al.*, 2000 *apud* Choueri *et al.*, 2009) porém, outros produtos são manipulados nas dependências do porto como fertilizantes e minerais, além de derivados de petróleo devido à presença de um terminal petrolífero da PETROBRÁS (figura 9 A e B).

Figura 8. Porto de Paranaguá - Terminal de Contêineres.

Figura 9. Porto de Paranaguá - Terminal Petrolífero Petrobrás (A e B).

Além das atividades portuárias, a extensiva atividade pesqueira no CEP forma a base da economia local (Santos *et al.*, 2009b) e juntos contribuem para o constante tráfego de navios cargueiros e barcos de pesca (figura 10).

Figura 10. Pesca no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá.

De acordo com Choueri *et al.* (2009) outras fontes de impacto deste complexo são os aterros sanitários, que recebem 130 toneladas de resíduos sem tratamento por dia, além da agricultura (figura 11) a partir do uso de agrotóxicos.

Figura 11. Agricultura de subsistência às margens da Baía de Paranaguá.

Assim como a região de Cananéia, parte do CEP está localizada na área reconhecida pela UNESCO como Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, devido a sua importância enquanto meio ambiente natural e culturas tradicionais (Lamparelli *et al.*, 2006).

- **Ponto de coleta**

A maioria das coletas dos organismos se concentrou na Baía de Paranaguá, em regiões adjacentes a Cidade de Paranaguá.

Para *C. spixii* as coletas foram realizadas no interior da Baía de Paranaguá, em frente ao Terminal de Contêineres de Paranaguá (figura 12), região esta delimitada pelo círculo amarelo presente na figura 6.

Figura 12. Região de coleta de *C. spixii*.

Devido ao hábito de vida dos juvenis de *C. parallelus*, a maior parte das coletas foi realizada na desembocadura dos rios Perequê, Guaraguaçu e Dos Almeida (figura 13 A, B e C), região estas indicada pelo círculo verde presente na figura 6. Apenas na coleta de verão houve a necessidade de coletar organismos nas adjacências da Ilha das

Peças (figura 14), na Baía de Laranjeiras, como mostra o círculo azul presente na figura 6.

Figura 13. Regiões de coleta de *C. parallelus*: Rios Perequê (A), Guaraguaçu (B) e Dos Almeida (C).

Figura 14. Região de coleta de *C. parallelus* no verão – Ilha das Peças.

3.3. Complexo Estuarino de Santos e São Vicente

O Complexo Estuarino de Santos e São Vicente (figura 15) está situado no Estado de São Paulo na Região da Baixada Santista. Localizado entre 23°30' e 24°00' de latitude sul e entre os 46°15' e 46°30' de longitude oeste (Abessa, 2002).

Figura 15. Complexo Estuarino de Santos e São Vicente. Região de coleta dos organismos indicada pelo círculo amarelo.

A região da Baixada Santista compreende os municípios de Bertioga, Cubatão, Guarujá, Itanhaém, Mongaguá, Peruíbe, Praia Grande, Santos e São Vicente (Neves *et al.*, 2008). É Composto pela Baía de Santos, Canal de Santos, Canal de São Vicente e Canal de Bertioga (Kirschbaum & Assunção, 2006).

Está localizada entre a Serra do Mar e o Oceano Atlântico, o que determina condições geoclimáticas exclusivas da região, uma vez que a Serra do Mar funciona como uma barreira natural da circulação atmosférica e do avanço da população (Bonetti, 2000), bem como influencia na bacia hidrográfica local.

De clima tropical, quente e úmido (sem estação seca definida), a região atinge médias anuais superiores a 25°C. Segundo Abessa (2002) as temperaturas máximas atingem 38,5°C (fevereiro é o mês mais quente e chuvoso) e as mínimas atingem 10°C (julho é o mês mais frio). Os índices pluviométricos anuais estão entre 2000 e 3000 mm, a umidade relativa média do ar é de 85,6% mantendo-se acima de 80% a maior parte do

ano (Tommasi, 1979; Bonetti, 2000; Abessa, 2002). Grande parte do ano (51,8%) a situação dos ventos é de calmaria.

Em relação à circulação, o Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (figura 16) é constituído por quatro compartimentos, determinados em função do padrão de circulação existente: Baía de Santos, Canal e Santos, Canal de São Vicente e Canal de Bertioga. A onda de maré é semidiurna com desigualdades diurnas e se propaga simultaneamente pelos Canais de Santos e São Vicente e pelo Canal de Bertioga, ocorrendo uma variação extrema de cerca de 3 m de desigualdade máxima (Araújo Filho, 1969 *apud* Abessa 2002 e Tommasi, 1979). As correntes estabelecidas apresentam velocidade máxima aproximada de $0,50 \text{ m.s}^{-1}$ sendo o padrão de inverno e verão semelhantes, com pequenas variações entre superfície e fundo (Harari *et al.*, 2008).

Figura 16. Complexo Estuarino de Santos e São Vicente (Foto: LECotox IOUSP).

O aporte de água doce é determinado por uma vasta rede de rios que nascem nas vertentes da Serra do Mar. São rios curtos e torrenciais, responsáveis pelo processo de sedimentação do estuário (Tommasi, 1979).

Os principais rios que drenam o Estuário de Santos são: Cubatão, Perequê, Mogi e Piaçaguera, e aqueles que drenam diretamente o estuário de São Vicente são: rio Branco, Mariana e Piaçabuçu (Lamparelli *et al.*, 2001; Abessa, 2002).

É uma área de grande importância econômica por abrigar o maior porto da América Latina (Porto de Santos), o maior Pólo Industrial do País, situado em Cubatão, potencial turístico e recursos naturais e pesqueiros atraídos pelos manguezais ao redor do estuário (Lamparelli *et al.*, 2001).

O porto de Santos (figura 17) é considerado o mais importante porto do Brasil, responsável pelo tráfego de produtos oriundos do maior parque industrial do Brasil abrangendo os Estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Goiás (Silva Filho, 1992). De acordo com Gasparro *et al.* (2008), o porto é responsável por 30% de toda a exportação nacional e por 60% da remessa total de contêineres do país. Hoje em dia, transporta um volume anual de aproximadamente 60 milhões de toneladas de diversos produtos, em contraste com as 125 mil toneladas transportadas no ano de 1982.

Figura 17. Porto de Santos (Foto: LEcotox IOUSP).

O Pólo Industrial de Cubatão (figura 18) representa um elo que liga a cidade de São Paulo e o Porto de Santos conforme Gasparro *et al.* (2008). Localizado na base da Serra do Mar, abriga principalmente siderúrgicas (como a COSIPA – figura 19), petroquímicas e refinarias (como a RPBC – PETROBRÁS) além de metalúrgicas, indústrias químicas (como Rhodia e Carbocloro) e de fertilizantes (como a Ultrafertil e IFC).

Figura 18. Pólo Industrial de Cubatão (Foto: LEcotox IOUSP).

Figura 19. Companhia Siderúrgica Paulista (COSIPA) em Cubatão (Foto: ECOMANAGE).

A disposição de todas as indústrias que fazem parte do Pólo Industrial de Cubatão pode ser observada na figura 20.

Figura 20. Indústrias e terminais presentes no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente (Lamparelli *et al.*, 2001).

Segundo Bonetti (2000), a ocupação da região de Santos bem como de toda a Baixada Santista iniciou por volta da década de 50 devido à proximidade e facilidade de acesso. Nesta época, foi considerada o primeiro maior balneário de São Paulo promovendo uma rápida expansão da taxa de urbanização. Hoje em dia, a região de Santos e São Vicente é completamente urbanizada sendo Santos a cidade com maior número de habitantes e com uma maior área, seguido de São Vicente com a maior densidade populacional por km² (Sampaio e Ferreira, 2008).

Entretanto, segundo Kirschbaum e Assunção (2006), ao mesmo tempo em que este cenário é determinante para o desenvolvimento da região de Santos e São Vicente e do país, trouxe e ainda traz sérios riscos ao ecossistema, muitas vezes irreversíveis. Diariamente uma série de contaminantes oriundos de atividades industriais e urbanas é liberada no meio ambiente, levando à degradação da região e consequentes efeitos tóxicos à biota residente.

A maior parte dos elementos e substâncias químicas presentes no estuário é proveniente das indústrias, tanto pelo lançamento de efluentes na água quanto pelo processo de precipitação atmosférica.

Outra importante fonte está ligada ao sistema de disposição oceânica de esgotos de Santos e São Vicente, que está em operação desde 1978. Apesar da maior parte do esgoto doméstico da região ser disposta através dos Emissários Submarinos (figura 21), ocorrem ainda na baixada um grande aporte direto e/ou indireto de esgoto não tratado para o estuário, em virtude do lançamento proveniente de ocupações desordenadas existentes nas margens do estuário (figura 22) e encosta da Serra do Mar (Bairro Cotás), e de esgotos clandestinos.

Figura 21. Fontes de contaminação do Complexo Estuarino de Santos e São Vicente (Lamparelli *et al.*, 2001).

Figura 22. Ocupações desordenadas às margens do estuário (Foto: LEcotox IOUSP).

As atividades portuárias também são consideradas fontes importantes de contaminantes para o estuário de Santos devido ao lançamento, na água, de petróleo e seus derivados, poluição por substâncias decorrentes de tintas antiincrustantes, perda durante operações de carga e descarga, e também o lixo e esgotos das docas dos navios. Além disso, a constante dragagem do canal, realizada para viabilizar o grande tráfego de navios dentro do estuário, é responsável pela ressuspensão e consequente disponibilização dos contaminantes que previamente haviam sido removidos da coluna d'água e incorporados ao sedimento.

O efeito combinado do turismo e da industrialização levou não só a um aumento das áreas residenciais e comerciais, mas também das áreas ocupadas por obras de infra-estrutura como depósitos de lixo e aterros, que por sua vez representam outro grande problema de contaminação do estuário consideradas fontes de alto risco por Lamparelli *et al.* (2001). O crescimento urbano acelerado promoveu a utilização de áreas inadequadas ao assentamento urbano, como as vertentes da Serra do Mar e os manguezais (Bonetti, 2000), hoje em dia bem comprometidos.

Hoje, a região de Santos é conhecida como uma das mais produtivas, industrializadas e poluídas do Brasil (Bonetti, *op. cit.*). Estudos sobre contaminantes em sedimentos e em água vêm sendo vastamente realizados e vêm demonstrando que o complexo abriga contaminantes em concentrações capazes de causar efeitos biológicos adversos.

- **Ponto de coleta**

A coleta dos organismos das duas espécies estudadas foi realizada no Estuário de São Vicente em região denominada Araçarana (figura 23), por sua vez localizada próximo á Ponte dos Barreiros (ponte que interliga São Vicente insular e continental), em frente a desembocadura do Rio Piaçabuçu, e delimitada pelo círculo amarelo presente na figura 15.

Figura 23. Local de coleta dos organismos estudados – Araçarana (Foto: LEcotox IOUSP).

4. Materiais e métodos

4.1. Organismos-teste

Os organismos utilizados neste estudo foram: bagre-amarelo *Cathorops spixii* (Agassiz 1829) e robalo-peva *Centropomus parallelus* (Poey 1860).

4.1.1. *Cathorops spixii*

O bagre-amarelo (figura 24) pertence à Classe Actinopterygii, Ordem Siluriformes e Família Ariidae.

Figura 24. *Cathorops spixii*.

Os Ariidae compreendem as espécies de bagres marinhos (Nelson, 1994) podendo ocorrer espécies de água salobra, águas costeiras e algumas vezes de água doce. São caracterizados por possuírem 3 pares de barbilhões (sendo 1 par presente na maxila superior e 2 pares na inferior), narinas anteriores providas de uma válvula muito próximas das posteriores, nadadeira peitoral situada adiante da nadadeira dorsal, ambas com um grande espinho de margens serreadas disposto anteriormente, nadadeira adiposa curta e membranas branquiais unidas (Figueiredo & Menezes, 1978).

O gênero *Cathorops*, antigo gênero *Arius*, compreende apenas a espécie *Cathorops spixii* que, por sua vez, é caracterizada por possuir o dorso acinzentado e o ventre esbranquiçado. As nadadeiras são claras com pigmentos escuros esparsos. Cor amarelada típica em vida.

Ocorrem no Atlântico Ocidental, da Venezuela ao sudeste do Brasil (Figueiredo & Menezes, 1978). Segundo este mesmo autor, é um dos bagres mais comuns do litoral brasileiro e ocupa áreas de rios e estuários atlânticos e caribenhos, da Colômbia ao Brasil.

De hábito demersal, alimentam-se de invertebrados bentônicos (como moluscos e crustáceos) e organismos nectônicos como pequenos peixes (FishBase, 2010).

A época de desova destes organismos compreende os meses de setembro a novembro apresentando fêmeas com ovários desovados e em recuperação até o mês de abril (Fávaro *et al.*, 2005).

A carne é considerada de boa qualidade (FishBase, 2010). São recursos pesqueiros abundantes em arrastos de fundo das zonas litorâneas tropicais, sendo considerados economicamente importantes na pesca artesanal, principalmente na região sul do Brasil (FishBase, *op. cit.*; Gomes & Araújo, 2004).

4.1.2. *Centropomus parallelus*

O robalo-peva (figura 25) pertence à Classe Actinopterygii, Ordem Perciformes e Família Centropomidae, onde encontramos apenas o Gênero *Centropomus*.

Figura 25. *Centropomus parallelus*.

No geral, os *Centropomus* estão presentes em águas tropicais e subtropicais desde o sul da Flórida (EUA) estendendo-se até o sul do Brasil. Algumas espécies também podem ser encontradas no Pacífico, desde o México até a Colômbia (FAO Fisheries Department, 1978).

Habitam áreas de águas costeiras mais rasas, estuários e lagoas de água salobra, às vezes penetrando em água doce (FAO, *op. cit.*). Portanto, os robalos caracterizam-se como animais eurihalinos e, em especial os *C. parallelus* preferem salinidades mais baixas e apresentam pouca migração.

Na identificação das espécies, as contagens das escamas referem-se àquelas situadas na linha lateral (Figueiredo & Menezes, 1980), de modo que *C. parallelus* possuem 64 – 76 escamas na linha lateral, contadas até a base da nadadeira caudal; ou 79 – 89 escamas enfileiradas logo acima da linha lateral (FAO Fisheries Department, 1978). A linha lateral se estende até a margem posterior da nadadeira caudal.

Segundo a FAO (*op. cit.*) também é caracterizado pelo comprimento do corpo ter 67 - 81% da largura da cabeça, focinho de perfil estreito e levemente côncavo, boca larga com mandíbula proeminente voltada para cima, 20-23 rastros branquiais (inclusive os rudimentos) ligados externamente aos arcos branquiais, segunda nadadeira dorsal com 1 espinho e 10 raios flexíveis, nadadeira anal com 3 espinhos (o segundo maior) e 6 raios flexíveis. As extremidades da nadadeira pélvica alcançam ou ultrapassam o ânus completamente (40 - 50 cm). Sua coloração vai de amarelo-amarronzado a marrom-esverdeado dorsalmente, prateado lateralmente e ventralmente, e com uma linha lateral preta de cada lado do corpo; nadadeiras escurecidas.

Quanto à reprodução, os *Centropomus* geralmente preferem locais de água salobra em estuários. Segundo Hill (2005) os robalos adultos podem utilizar habitat de água doce, porém são incapazes de desovar nesses habitats, pois os espermatozóides se tornam ativos somente em águas mais salinas. Após a reprodução, os peixes são encontrados em rios e lagunas, o que parece indicar que uma vez efetuado o processo

reprodutivo, se dirigem às águas interiores, com menor salinidade, assim como os peixes menores (Chávez, 1963 *apud* Rodrigues, 2005). Reproduzem-se durante o verão.

Sua alimentação é carnívora, composta geralmente por crustáceos (como macruras e braquiúras) e peixes, sendo que, quando jovens, preferem os crustáceos e à medida que vão se desenvolvendo acrescentam peixes à sua dieta (Kirschbaum & Assunção, 2006)

Representam uma importante fonte de alimento para a população local e a boa qualidade da carne faz com que a espécie tenha um alto valor comercial. As capturas nominais no Brasil aumentam a cada ano desde 1990 atingindo um pico de 5000 toneladas em 2000 de acordo com a FAO Catches List (FishBase, 2007).

Além disso, é uma espécie marinha de grande potencial para aquicultura devido a sua tolerância a altas densidades, rápido crescimento, tolerância à variações de salinidade, resistência à doenças e aceitação de mercado (Alvarez-Lajonchère & Tsuzuki, 2008; Cerqueira and Tsuzuki, 2009; Santos *et al.*, 2009a).

4.2. Procedimentos

A fim de facilitar o entendimento dos procedimentos experimentais realizados no presente estudo, um fluxograma foi delineado e expresso na figura 26. Cada uma das partes constituintes deste fluxo experimental será detalhada ao decorrer deste item.

Figura 26. Desenho experimental: Fluxograma.

Em Cananéia os organismos foram coletados com o auxílio das embarcações Bom Tempo, Veliger II e Pantaninho (figura 27 A, B e C) do IOUSP e a maior parte dos procedimentos laboratoriais foram realizados nas dependências da Base de Pesquisa Dr. João de Paiva Carvalho, do IOUSP (figura 28).

Figura 27. Embarcações de coleta: Bom Tempo (A), Veliger II (B) e Pantaninho (C).

Figura 28. Base de Pesquisa Dr. João de Paiva Carvalho, do IOUSP.

Em Paranaguá, os organismos foram coletados com o auxílio das embarcações Capitella (do Centro de Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná – CEM/UFPR) e Stella I (figura 29 A e B), e parte dos procedimentos foi realizada no Laboratório de Biologia de Peixes do CEM/UFPR (figura 30) com a autorização do Prof. Dr. Henry L. Spach.

Figura 29. Embarcações de coleta: Stella I (A) e Capitella (B).

Figura 30. Centro de Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná (CEM-UFPR).

Em Santos, os organismos foram coletados com o auxílio da embarcação Cortamar da Marina Náutica Alfredo e a maior parte dos procedimentos foi realizada no Laboratório de Gerenciamento Costeiro do Campus São Vicente da Universidade Estadual Paulista (UNESP) (figura 31) com a autorização do Prof. Dr. Denis M. S. Abessa.

Figura 31. Universidade Estadual Paulista – Campus São Vicente.

4.2.1. Procedimentos em campo

Cerca de 20 exemplares de cada espécie foram coletados por pescadores locais em cada uma das três áreas de estudo no mês de setembro de 2008 (inverno) e entre os meses de janeiro e fevereiro de 2009 (verão).

Juvenis de *C. spixii* foram coletados com rede de arrasto de fundo durante aproximadamente 15 minutos (figura 32 A e B) enquanto que os juvenis de *C. parallelus* foram coletados com tarrafa (figura 33), vara de pesca com isca viva (figura 34), picaré (nas gamboas do complexo estuarino de Paranaguá – figura 35 A e B) e no cerco flutuante (figura 36).

Figura 32 A e B. Captura de *C. spixii* com rede de arrasto de fundo.

Figura 33. Captura de *C. parallelus* com tarrafa.

Figura 34. Captura de *C. parallelus* com vara e isca viva.

Figura 35 A e B. Captura de *C. parallelus* com rede picaré.

Figura 36. Captura de *C. parallelus* em cerco flutuante.

Depois de coletados, os organismos foram imediatamente transportados ao laboratório em caixas térmicas com aeração constante (figuras 37 e 38).

Figura 37. *C. parallelus* durante o transporte para o laboratório.

Figura 38. *C. spixii* durante o transporte para o laboratório.

Em campo foram determinadas as condições físico-químicas de pH, temperatura (figura 39 A) e salinidade (figura 39 B).

Figura 39. Determinação da temperatura (A) e salinidade (B) em campo.

4.2.2. Procedimentos laboratoriais

No laboratório, os organismos permaneceram em aclimação durante um período mínimo 6 horas (figuras 40 A e B) nas mesmas condições encontradas em campo.

Figura 40. Organismos em aclimação.

Os indivíduos foram anestesiados através da imersão em solução a base de óleo de cravo (0.4 mL óleo de cravo + 3,6 mL etanol + 1000 mL água destilada) até sua dormência (figura 41 A e B), segundo Delbon (2006). Neste estudo foi observada uma menor toxicidade da solução de óleo de cravo às células sanguíneas em relação à benzocaína, anestésico comum em estudos hematológicos, causando menor interferência nos resultados ao experimento.

Figura 41. *C. spixii* (A) e *C. parallelus* (B) em processo de anestesia.

Posteriormente, os dados biométricos de comprimento total (mm) (em ictiômetro; figura 42 A e B), medida da ponta do focinho á ponta da nadadeira caudal, e peso (g) (em balança analítica; figura 43 A e B) foram determinados para cada exemplar.

Figura 42. Medição de *C. spixii* (A) e *C. parallelus* (B) em ictiômetro.

Figura 43. Pesagem de *C. spixii* (A) e *C. parallelus* (B) em balança.

Com o auxílio de seringas e agulhas previamente heparinizadas (1,0 mL de solução de heparina a 5.000 UI + 50,0 mL de solução salina a 0,7%), a fim de evitar a coagulação, uma alíquota de sangue foi coletada por punção caudal (aproximadamente 0,5 mL) (figura 44 A e B).

Figura 44. Coleta de sangue de *C. spixii* (A) e *C. parallelus* (B).

Imediatamente, foram confeccionadas de 3 a 4 lâminas de extensões sanguíneas, utilizando as primeiras gotas de sangue (figura 45), uma vez que estas gotas praticamente não entraram em contato com o anticoagulante. Este último pode interferir na permeabilidade da membrana caso permaneça por muito tempo em contato com o sangue, prejudicando a coloração das células.

Figura 45. Confeção de extensões sanguíneas.

Todas as lâminas foram posteriormente coradas, segundo método descrito em Kirschbaum & Assunção (2006). O método consiste na adição do corante May-Grünwald-Giemsa sobre as lâminas de extensão (figura 46), deixando agir por três minutos. Em seguida, adiciona-se água destilada, permanecendo assim por dez minutos. As lâminas são posteriormente lavadas com água destilada e colocadas para secar naturalmente.

Figura 46. Coloração das lâminas com May-Grünwald-Giemsa.

Por fim, as lâminas são avaliadas sob microscópio óptico de acordo com exposto no item 4.2.2.1.

Logo após a coleta de sangue e confecção das extensões sanguíneas, os organismos foram transferidos para um congelador até o óbito e, posteriormente, uma incisão ventral foi feita em cada organismo com auxílio de tesoura e pinça cirúrgicas.

Através da observação macroscópica das gônadas (figura 47) foi determinado sexo dos organismos e a maturação gonadal (segundo Vazzoler, 1996; Zavala - Camin, 2004) classificada do seguinte modo: estágio A (imaturo), B (em maturação), C (maduro), D (esvaziado) e E (em repouso).

Figura 47. Observação das gônadas em *C. spixii* após a incisão ventral.

Toda a massa visceral foi cuidadosamente retirada (figura 48) para facilitar a separação dos tecidos que posteriormente foram submetidas às análises químicas.

Figura 48. Separação da massa visceral.

O fígado foi cuidadosamente retirado, pesado, envolto em papel alumínio e congelado para posteriores análises de PAHs e organoclorados (conforme item 4.2.2.2.2), no Laboratório de Química Orgânica Marinha - LabQOM desta instituição sob a coordenação da Prof^ª. Dr^ª. Márcia C. Bicego e Prof^ª. Dr^ª. Rosalinda C. Montone, e realizada pela Dr^ª. Satie Taniguchi.

O tecido muscular foi retirado com auxílio de facas de titânio (figura 49), pesado, envolto em filme plástico e congelado para posteriores análises de metais (conforme item 4.2.2.2.1) no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) sob coordenação da Prof^a. Dr^a. Marina Vasconcelos e realizada pela Dr^a. Marília Gabriela Miranda Catharino Semmler com metodologia adaptada segundo Semmler (2007).

Figura 49. Separação do tecido muscular com auxílio de faca de titânio.

4.2.2.1. Micronúcleos (MN) e Anomalias Nucleares (AN)

A análise da citogenotoxicidade foi conduzida sob microscópio ótico (1000x) através da observação das lâminas de extensão sanguínea dos bagres e robalos coletados. A melhor das lâminas confeccionadas com o sangue de cada exemplar foi selecionada, e então 2000 eritrócitos foram observados para a determinação das médias e frequências (%/1000 células) de MN e AN para cada espécie de cada região de estudo.

Os micronúcleos foram observados de acordo com a identificação proposta por Al-Sabti & Metcalfe (1995), Mersch *et al.* (1996), Ribeiro *et al.*, 2003 e Rybakovas *et al.* (2009), baseando-se no contorno, diâmetro, textura e cor do MN. As anomalias nucleares por sua vez foram constatadas de acordo com a classificação proposta por Carrasco *et al.* (1990) onde os núcleos considerados anormais são classificados em “blebbed”, “lobbed”, “notched”, “vacuolated” e “conical”.

4.2.2.2. Análises químicas

4.2.2.2.1. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos, Bifenilas Policloradas e Pesticidas Organoclorados

O procedimento metodológico para análise de fígado de peixe descrito a seguir foi baseado em MacLeod et al. (1986) com algumas modificações.

250 mL de cada uma das amostras foram extraídos com n-hexano e diclorometano 50% (v/v) em soxhlet durante 8 horas. O grau de pureza dos solventes utilizados correspondeu ao descrito para análise de resíduos orgânicos.

Antes da extração foram adicionados 100 µL dos padrões internos (surrogate) com diferentes concentrações no branco e em cada uma das amostras. Para os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) foram adicionados naftaleno-d₈, acenafteno-d₁₀, fenantreno-d₁₀, criseno-d₁₂ e perileno-d₁₂ (5 ng.µL⁻¹). Já para os bifenilos policlorados (PCBs) e pesticidas organoclorados foram utilizados o PCB-103 e PCB-198 (1 ng.µL⁻¹).

O extrato evaporado foi submetido a uma coluna cromatográfica (8 g de sílica gel sobre 16 g de alumina), 5% desativadas com água pré-extraída 5 vezes com n-hexano, e 1 g de sulfato de sódio da J. T. Baker no topo. A eluição foi feita com 80 mL de uma mistura de n-hexano e diclorometano (50%).

Para purificação complementar, o eluato foi concentrado a 0,5 mL e injetado no cromatógrafo a líquido de alto desempenho (HPLC) da Perkin Elmer equipado com duas colunas de exclusão (permeação em gel). A fase móvel utilizada foi o diclorometano. O eluato foi concentrado novamente e foram adicionados os padrões internos cromatográficos (octacloronaftaleno para PAHs, TCMX para PCBs e pesticidas). O volume final foi de 1,0 mL.

Uma alíquota do extrato final foi injetada no cromatógrafo a gás equipado com detector de captura de elétrons (GC-ECD) da Agilent Technologies para análise de pesticidas organoclorados. Os demais grupos de compostos (PAHs e PCBs) foram analisados no cromatógrafo a gás equipado com espectrômetro de massas (GC-MS) 6890/5973N da Agilent Technologies.

As temperaturas do injetor e detector do GC-ECD foram de 280°C e 300°C, respectivamente. O gás de arraste foi o hidrogênio ultrapuro e o gás auxiliar foi o nitrogênio. A coluna cromatográfica utilizada apresentava 30 m de comprimento,

diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 5% fenilmetilsiloxana de 0,5 μm da marca J&W Scientific. A rampa de temperatura utilizada foi: início a 70 °C por 1 minuto, aumento a uma taxa de 40°C até 170 °C e a 1,5 °C até 240 °C, permanecendo nesta temperatura por 2 minutos, e aumentando novamente a 15 °C até 300 °C onde permaneceu isotérmico por 5 minutos.

As temperaturas do GC-MS foram de 280, 280 e 300 °C no injetor e na interface e na fonte de íons, respectivamente. A coluna cromatográfica utilizada foi da J&W Scientific com 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de filme de 5% fenilmetilsiloxana. O modo de aquisição foi o SIM (monitoramento seletivo de íons). A rampa de temperatura para PCBs foi: início a 75 °C durante 3 minutos, aumento a uma taxa de 15 °C até 150 °C e a 2 °C até 260 °C e a 20 °C até 300 °C permanecendo constante durante 1 minuto. A rampa para os HPAs e LABs teve início em 40 °C com aumento a taxa de 20 °C até 60 °C e a 5 °C min^{-1} até 290 °C onde permaneceu por 5 minutos e aumento a 10 °C até 300 °C onde permaneceu constante durante 10 minutos.

A identificação dos pesticidas, PAHs e PCBs foi feita por comparação dos tempos de retenção com padrões de referência da Accustandard, EUA. Os compostos analisados no GC-MS também foram identificados através do espectro de massas. A quantificação foi feita por razões entre os surrogates e os compostos de interesse, baseada nas curvas analíticas montadas com pelo menos 5 concentrações diferentes de cada grupo de compostos.

4.2.2.2.2. Metais

4.2.2.2.2.1. Preparo das amostras

- *Liofilização*

Para as análises pelo método de ativação neutrônica, é necessário que as amostras estejam na forma mais seca possível. Para isto, a liofilização é um método mais utilizado em amostras biológicas, devido ao menor risco de perdas por volatilização para vários dos elementos.

Para a liofilização das amostras foi utilizado o liofilizador de marca Thermo Electron Corporation, modelo Modulyo D-115, do Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica, que é adequado para o manuseio de amostras pequenas (figura 50).

Figura 50. Liofilização das amostras.

As amostras foram liofilizadas separadamente por espécie, pontos de estudo e estações do ano, com o objetivo de evitar qualquer tipo de contaminação. A liofilização foi realizada por 48h, à temperatura de -52°C e pressão de 74 mbar e a seguir, estas foram pesadas novamente para verificar a porcentagem de umidade perdida na liofilização. As perdas de água, em porcentagens, estão expressas na tabela 1.

Tabela 1. Perda de água (em %) das amostras de peixes após liofilização.

Organismo	Perda de Umidade (%)					
	Inverno / 2008			Verão / 2009		
	Cananéia	Paranaguá	Santos	Cananéia	Paranaguá	Santos
<i>Cathorops spixii</i>	73,7	75,8	75,4	77,3	77,6	77,5
<i>Centropomus parallelus</i>	78,6	80,3	73,6	79,1	75,8	75,4

- “Pool” de amostras

Para a realização das análises químicas foi necessário um “pool” de amostra devido à pequena quantidade de massa obtida após a retirada do músculo e a liofilização de cada espécime. O “pool” foi obtido para cada espécie, local de estudo e estação do ano, obtendo-se um total de 12 amostras (duas espécies, 3 áreas de estudo e duas estações do ano).

- Moagem

Ao término da secagem por liofilização, cada amostra foi triturada no liquidificador com facas de titânio (figura 51), moídas em moinho com esferas de vidro

da marca IKA, modelo Ultra Turrax (figura 52) e peneiradas em peneira de nylon de 100 mesh (figura 53). Por fim as amostras foram armazenadas em frascos plásticos, etiquetadas e guardadas em freezer para posteriores análises.

Figura 51. Homogeneização das amostras em liquidificador com lâminas de titânio.

Figura 52. Trituração das amostras em moinho com esferas de vidro.

Figura 53. Trituração das amostras em peneira de nylon (100 mesh).

4.2.2.2.2. Técnicas analíticas

As análises de metais das amostras de tecido muscular das duas espécies deste estudo foram realizadas em duplicatas obtendo-se posteriormente um valor médio de bioacumulação

- **Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental - AANI**

No presente estudo foi empregado o método comparativo de análise por ativação com nêutrons instrumental (AANI) para as determinações dos elementos arsênio (As), cobalto (Co), cromo (Cr), selênio (Se) e zinco (Zn).

Cerca de 150 mg das amostras foram irradiadas no reator nuclear IEA - R1 do IPEN sob um fluxo de nêutrons térmicos de cerca de $1-3 \times 10^{12} \text{ n.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ por um período de 8 horas. Ao término da irradiação, as amostras foram medidas em um espectrômetro de raios gama constituído de um detector de germânio hiperpuro CANBERRA modelo GC2018 HP Ge, acoplado a um analisador multicanal CANBERRA DAS-1000. Ao término das medidas os espectros foram coletados e processados utilizando-se o programa Genie 2000, versão 3.1 (CANBERRA). Por fim as concentrações dos elementos foram calculadas usando-se o programa ESPECTRO (Semmler, 2007). Para o controle de qualidade do procedimento analítico foi utilizado material de referência certificado marinho. Esse material foi analisado juntamente com as amostras a fim de se obter a exatidão e precisão nas análises. O material de referência certificado utilizado foi: Dogfish muscle (NRCC DORM-2).

- **Espectrometria de Absorção Atômica - AAS**

O mercúrio foi determinado pela técnica de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS), visto que por análise por ativação com nêutrons instrumental a interferência do sódio dificulta a análise desse elemento, notadamente em materiais marinhos.

As determinações de cádmio e chumbo foram realizadas pela técnica de espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS), visto que nem sempre é possível a determinação de cádmio por análise por ativação com nêutrons instrumental (AANI) e não é possível a determinação de chumbo, devido às características nucleares desfavoráveis desse elemento.

Análise de Mercúrio (Hg) Total – CV AAS

Cerca de 350 mg de cada amostra foi pesada em frascos de Teflon da SAVILLEX de $(25,30 \pm 0,07 \text{ mL})$ e a seguir foram adicionados 4 mL de HNO_3

concentrado PA da Merck. Em seguida o frasco foi fechado, agitado levemente e permaneceu em repouso por aproximadamente 8 horas. Após este período, 1 mL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v) PA da Merck foi adicionado e o frasco foi novamente agitado levemente e deixado em repouso por mais 15 horas aproximadamente.

Para finalizar a digestão, os frascos foram colocados no bloco digestor a uma temperatura de 90° C por 3 horas. Após o aquecimento o volume foi levado a 25,3 mL com água Milli Q e homogeneizado.

A detecção por CV AAS foi realizada no equipamento de CV AAS – FIMS da Perkin-Elmer (Flow Injection Mercury System).

Os pontos da curva de calibração utilizada foram 0,5; 2,4; 4,6 ng.mL⁻¹.

O volume de injeção da amostra foi de 500 µL, o fluxo de argônio de 50 mL.min⁻¹, o fluxo do carregador de 10mL.min⁻¹ e o fluxo do redutor de 6 mL.min⁻¹ (Semmler, 2007). Para o controle de qualidade do procedimento analítico foi utilizado material de referência certificado marinho. Esse material foi analisado juntamente com as amostras a fim de se obter a exatidão e precisão nas análises. O material de referência certificado utilizado foi: Mussel Tissue (NIST 2976).

Análise de Cádmio (Cd) e Chumbo (Pb) – ET AAS

A digestão ácida nas amostras para a determinação de Cd e Pb, foi a mesma utilizada para a determinação de mercúrio, descrita acima.

A detecção por ET AAS para Cd e Pb foi realizada no equipamento de AAnalyst 800 da Perkin-Elmer.

Os pontos da curva de calibração para a determinação de Cd foram 1,4; 4,2 e 7,0 ng.mL⁻¹, a temperatura de atomização foi de 1500°C e o volume de injeção da amostra foi de 20µL.

Os pontos da curva de calibração para a determinação de Pb foram 5,0; 15,0 e 25,0 ng.mL⁻¹, a temperatura de atomização foi de 1600°C e o volume de injeção da amostra foi de 20 µL (Semmler, 2007). Para o controle de qualidade do procedimento analítico foi utilizado material de referência certificado marinho analisado juntamente com as amostras O material de referência certificado utilizado foi: Mussel Tissue (NIST 2976).

4.2.3. Análise dos dados

4.2.3.1. Análises estatísticas

Como referência teórica foi utilizado o livro de Zar (1999). Para todas as estatísticas aplicadas no presente estudo, foi adotado o índice de significância $p < 0,05$. Todas as análises estatísticas deste estudo foram processadas no programa estatístico Bioestat 5.0, foram elas:

1. Teste de normalidade de D'Agostino Pearson para amostras ≥ 20 organismos, teste de D'Agostino para amostras ≥ 10 e Shapiro-Wilk para amostras < 10 , de todos os dados quantitativos obtidos;
2. Teste t (homocedasticidade) / Mann-Whitney (heterocedasticidade) na comparação entre os dados de citogenotoxicidade, comprimento total e peso total para observação de diferenças sazonais e interespecíficas em cada área de estudo, estação do ano e espécie;
3. ANOVA 1 fator (homocedasticidade) / Kruskal-Wallis (heterocedasticidade) para comparações entre dados das três áreas de estudo em cada estação do ano e espécie;
4. Teste t (homocedasticidade) / Mann-Whitney (heterocedasticidade) na comparação entre os dados de citogenotoxicidade, comprimento total e peso total obtidos em machos e fêmeas, para a observação da influência do sexo nas variáveis quantitativas;
5. Teste t (homocedasticidade) / Mann-Whitney (heterocedasticidade) e ANOVA 1 fator (homocedasticidade) / Kruskal-Wallis (heterocedasticidade) na comparação entre os dados de citogenotoxicidade, comprimento total e peso total referente a cada estágio de maturação gonadal obtido (A, B, C, D, E), para a observação da influência do estágio nas variáveis quantitativas;
6. Correlações de Pearson (dados normais) e Spearman (pelo menos um dos dados não normais) entre as variáveis quantitativas (citogenotoxicidade e variáveis biométricas) considerando os coeficientes próximos ou acima de 0.50 como correlações significativas. As correlações foram validadas através do teste t, onde $p < 0.05$ indica que as correlações que se mostraram significativas são verdadeiras.
7. Testes Qui-Quadrado de aderência para observar proporções entre machos e fêmeas nas amostras;

8. Teste t (homocedasticidade) / Mann-Whitney (heterocedasticidade), para comparações sazonais e interespecíficas entre os dados de bioacumulação em cada área de estudo. ANOVA 1 fator (homocedasticidade) / Kruskal-Wallis (heterocedasticidade), para comparações entre os dados de bioacumulação em cada área de estudo, em cada estação do ano e espécie;

9. ANOVA 1 fator (homocedasticidade) / Kruskal-Wallis (heterocedasticidade) para comparações entre os conjuntos de dados de bioacumulação (PAHs x organoclorados x metais) das três áreas de estudo em cada uma das estações do ano espécie;

10. Teste t (homocedasticidade) / Mann-Whitney (heterocedasticidade) para observação de diferenças sazonais e interespecificidade dos conjuntos de dados. A interespecificidade também foi observada a partir da comparação entre todos os dados de bioacumulação de cada um dos compostos analisados, sem fazer distinção de área de estudo e estação do ano.

Para as Análises de Variância que se mostraram significativas foi aplicado o teste *a posteriori* Tukey. De mesma forma o teste *a posteriori* Student-Newman-Keuls (SNK) para os testes de Kruskal-Wallis.

Os dados também foram avaliados empregando-se a análise integrada dos resultados dos biomarcadores (MN e AN) e bioacumulação (PAHs totais, PCBs totais, DDTs totais, clordanas totais, As, Cd, Cr, Co, Hg, Pb, Se e Zn) através do método de Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Fatorial (AF).

A Análise de Fatores (AF) foi realizada a partir de uma matriz de correlação, na qual as variáveis foram auto-escaladas empregando o procedimento *varimax normalized*.

Todas as análises foram realizadas utilizando a opção MULTIVARIATE EXPLORATORY TECHNIQUES seguido pela Análise de Fatores do software STATISTICA® (Stat Soft, Inc. 2001; versão 6). Foram extraídos os fatores principais utilizando-se o critério de Kaiser, no qual são considerados os autovalores (*eigenvalues*) acima de 1. O nível de corte para selecionar as variáveis incluídas nestes fatores (*loadings*) foi de 0,40; conforme proposto por Tabachinic & Fidell (1996 *apud* Pereira, 2008).

4.2.3.2. Comparações entre os dados de bioacumulação

Na tentativa de identificar a origem dos PAHs (petrogênica ou pirogênica) que atingem os estuários estudados, as razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno foram aplicadas. Estas relações são comumente utilizadas em estudos de acumulação em sedimento, água e biota como, por exemplo, em Gschwend & Hites (1981), DouAbu *et al.* (1997), Baumard *et al.* (1998a), Blanco *et al.* (2006), Silva *et al.* (2007a), Catharino *et al.* (2008), entre outros.

A partir dos valores de acumulação dos PAHs Totais, segundo Baumard *et al.* (1998b), os níveis de poluição podem ser classificados em: baixo (0-100 ng/g peso úmido), moderado (>100-1000 ng/g peso úmido), alto (>1000-5000 ng/g peso úmido) e muito alto (>5000 ng/g peso úmido). Esta classificação foi adotada no presente estudo, para as duas espécies nas três áreas de estudo e estações do ano.

Conforme proposto por Baumard *et al.* (1998a) e aplicado no estudo de Storelli *et al.* (2007) em fígados de peixes, a razão PCB “x”/PCB 153 foi aplicada para os resultados da bioacumulação de PCBs nos fígados dos exemplares das duas espécies em cada áreas e estação do ano. Resultados abaixo de 1.0 (razões baixas) indicam que a metabolização do composto “x” é mais eficiente que a metabolização do congênere 153, sendo este último um congênere extremamente persistente.

Analisando-se os resultados de bioacumulação de pesticidas organoclorados nos fígados dos exemplares das duas espécies em cada áreas e estação do ano, três razões foram aplicadas. Duas destas estão relacionadas ao uso de DDTs, através das razões p.p'DDE/ Σ DDT e p.p'DDT/ Σ DDT (Schepens *et al.*, 2001; Yogui, 2002; Yang *et al.*, 2006; Storelli *et al.*, 2007; Sudaryanto *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2008; Maes *et al.*, 2008; entre outros), enquanto a outra está relacionada ao uso de lindano ou da mistura técnica de HCHs, através da razão γ -HCH/ α -HCH (Corsolini *et al.*, 2006; Cipro, 2007).

Para observar a influência dos aportes de origem industrial em relação aos aportes de origem agrícola, a razão Σ DDTs/ Σ PCBs foi aplicada neste estudo (Focardi *et al.*, 1992; Yogui *et al.*, 2003; Schepens *et al.*, 2001; Corsolini *et al.*, *op.cit*; Cipro, *op.cit*).

Estas relações supracitadas foram aplicadas sob a condição de no mínimo um dos dois compostos envolvidos na razão estarem acima dos limites de detecção (LDM)

e utilizando para o outro composto o valor do LDM respectivo, como forma de indicação do que pode estar ocorrendo no respectivo caso.

4.2.3.3. Legislação

Os resultados de bioacumulação também foram analisados segundo os valores máximos de concentração dos contaminantes em organismos aquáticos destinados ao consumo humano, propostos em legislações nacionais (resolução do MERCOSUL GMC 102-4, Portaria do Ministério da Saúde nº 685-980 de 27/08/1998) e internacionais (USEPA - Environmental Protection Agency dos Estados Unidos, USFDA - Food and Drug Administration dos Estados Unidos e FAO/WHO - Food and Drug Administration dos Estados Unidos/World Health Organization), já utilizados em estudos como Lamparelli *et al.* (2001), Virga *et al.* (2007) e Semmler (2007). Vide tabela 2.

Tabela 2. Critérios estabelecidos em legislações nacionais e internacionais para classificação dos organismos coletados neste estudo baseado no risco ao consumo humano. Adaptada de Lamparelli *et al.* (2001) e Virga *et al.* (2007).

Grupo Químico	Composto	Limites em Legislações			
		Brasil	USEPA	FAO/WHO	USFAD
Metais µg/g	Arsênio	1,0	-	-	-
	Cádmio	1,0	>2,0	1,0	-
	Chumbo	2,0	0,1 – 0,8	2,0	-
	Cobre	30,0	1,0 – 20,0	30,0	-
	Cromo total	0,1*	0,1 – 0,9	12,0	11,0
	Manganês	-	54,0	-	-
	Selênio	0,3*	-	-	-
	Mercúrio	0,5	-	-	-
	Níquel	5,0	-	-	-
	Zinco	50,0*	10,0 – 30,0	50,0	-
Bifenilas Policloradas (PCBs) µg/kg	PCBs Totais	-	14,0	-	-
Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (PAHs) µg/kg	Acenafteno	-	650x10 ³	-	-
	Antraceno	-	3,2x10 ⁶	-	-
	Benzo-a-antraceno	-	150,0	-	-
	Benzo-a-pireno	-	15,0	-	-
	Benzo-b-fluoranteno	-	150,0	-	-
	Benzo-k-fluoranteno	-	1500,0	-	-
	Criseno	-	15x10 ³	-	-
	Dibenzo-a,h-antraceno	-	15,0	-	-
	Fenantreno	-	3,2x10 ⁶	-	-
	Fluoranteno	-	430x10 ³	-	-
	Fluoreno	-	430x10 ³	-	-
	Indeno-1,2,3 cd-pireno	-	150,0	-	-
	Naftaleno	-	430x10 ³	-	-
	Pireno	-	320x10 ³	-	-
Pesticidas Organoclorados µg/kg	Aldrin	-	6,0	-	-
	α-HCH	-	17,0	-	-
	Clordane (alfa)	-	83,0	-	-
	β-HCH	-	60,0	-	-
	Clordane	-	83,0	-	-
	DDD	-	450,0	-	-
	DDE	-	320,0	-	-
	DDT	-	320,0	-	-
	δ-HCH	-	60,0	-	-
	Dieldrin	-	7,0	-	-
	Endosulfan	-	6,5x10 ³	-	-
	Endrin	-	3200	-	-
	γ-HCH (Lindane)	-	83,0	-	-
	Clordane (gama)	-	83,0	-	-
	Heptacloro	-	24,0	-	-
	Heptacloro epóxido	-	12,0	-	-
	Hexaclorobenzeno	-	67,0	-	-
	Toxafeno	-	98,0	-	-

* Valores estabelecidos na legislação para a categoria “outros alimentos”.

5. Resultados

O número de exemplares de cada espécie coletados em cada área de estudo e estação do ano estão expressos na tabela 3. Devido a maior dificuldade de captura dos robalos, não foi possível a obtenção dos 20 exemplares em todas as áreas de coleta.

Tabela 3. Número de exemplares de cada espécie coletados em cada área de estudo e estação do ano.

Estação do ano	Área de Estudo	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Inverno	Cananéia	20	13
	Paranaguá	20	7
	Santos	20	19
Verão	Cananéia	20	20
	Paranaguá	20	11
	Santos	19	18

A aclimação dos organismos em laboratório foi conduzida em condições físico-químicas semelhantes às encontradas em campo. Os valores dos parâmetros analisados em cada área de estudo e estação do ano estão expressos na tabela 4.

Tabela 4. Resultados das análises físico-químicas realizadas em campo, em cada área de estudo nas duas estações do ano.

Estação do ano	Área de Estudo	Temperatura (°C)	Salinidade	pH
Inverno	Cananéia	20	23	7,13
	Paranaguá	22	25,5	7,05
	Santos	21,5	27	7,36
Verão	Cananéia	24	21	7,52
	Paranaguá	27	23	7,83
	Santos	24	25	7,61

Em decorrência do número de organismos manipulados, os exemplares foram numerados sequencialmente ao longo das coletas, para controle interno.

Nas figuras 54 e 55 estão alguns exemplos de ANs e MNs encontrados nos eritrócitos de *C. spixii* coletados longo deste estudo. Nas figuras 56 e 57, exemplos de ANs e MNs encontrados em *C. parallelus*.

Figura 54. Anomalias nucleares (indicadas pelas setas) em eritrócitos de *Cathorops spixii* analisadas em microscópio óptico (aumento de 1000x).

Figura 55. Micronúcleos (indicados pelas setas) em eritrócitos de *Cathorops spixii* analisados em microscópio óptico (aumento de 1000x).

Figura 56. Anomalias nucleares (indicadas pelas setas) em eritrócitos de *Centropomus parallelus* analisadas em microscópio óptico (aumento de 1000x).

Figura 57. Micronúcleos (indicados pelas setas) em eritrócitos de *Centropomus parallelus* analisados em microscópio óptico (aumento de 1000x).

5.1. Primeira campanha: Inverno/2008

5.1.1. Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia

5.1.1.1. Dados obtidos

5.1.1.1.1. Biometria, sexagem e maturação gonadal

Os dados de comprimento (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal referentes a *C. spixii* e *C. parallelus*, coletados no inverno/08 no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia estão expressos nas tabelas 5 e 6, respectivamente.

Tabela 5. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.

Nº organismo	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Sexo	Maturação Gonadal
28	172	42,89	M	A
29	173	43,21	F	C
30	161	34,07	F	B
31	164	40,07	F	C
32	179	58,02	F	C
33	189	54,76	F	B
34	190	64,82	F	C
35	180	47,40	F	B
36	190	63,23	M	B
37	165	48,55	M	A
38	158	34,21	F	B
39	165	39,80	F	B
40	156	31,90	F	B
41	150	30,16	M	B
42	175	44,28	F	C
43	178	49,97	M	B
44	160	35,56	F	B
45	155	31,20	F	A
46	171	44,61	F	B
47	196	72,99	M	B
Média	171,35	45,59		
Desvio padrão	13,21	12,09		

Tabela 6. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.

No organismo	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Sexo	Maturação Gonadal
48	196	46,94	M	A
49	199	52,42	M	A
50	193	69,35	F	A
51	171	47,56	F	B
52	155	35,18	M	A
53	145	31,14	M	A
54	245	93,54	M	A
55	224	97,11	M	C
56	234	82,87	M	A
57	255	108,11	M	A
58	253	147,71	M	B
59	255	162,10	F	B
60	278	201,37	F	B
Média	215,62	90,42		
Desvio padrão	42,32	52,71		

Em *C. spixii* o comprimento total variou de 155-196 mm e o peso total de 30,16-72,99 g. O peso médio dos fígados enviados para as análise químicas em “pool” foi de $0,63 \pm 0,20$ g, enquanto do tecido muscular foi de $12,05 \pm 3,87$ g.

Em *C. parallelus* o comprimento total variou de 145-278 mm e o peso total de 31,14-201,37 g. O peso médio dos fígados enviados para as análise químicas em “pool” foi de $0,99 \pm 0,53$ g, enquanto do tecido muscular foi de $39,12 \pm 15,34$ g.

5.1.1.1.2. Citogenotoxicidade

Os dados citogenotóxicos de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos a partir da leitura das lâminas de extensão sanguínea referentes ao inverno/08 em Cananéia estão expressos na tabela 7, para *C. spixii* e na tabela 8 para *C. parallelus*.

Tabela 7. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.

Nº organismo	Micronúcleo	Anomalias Nucleares
28	1	15
29	0	2
30	0	1
31	0	3
32	0	11
33	0	9
34	0	2
35	1	11
36	1	6
37	0	2
38	0	5
39	0	6
40	0	5
41	0	9
42	0	6
43	0	6
44	0	6
45	0	15
46	0	10
47	0	22
Média	0,15	7,60
Desvio padrão	0,37	5,31
Frequência	0,008	0,380

Tabela 8. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.

Nº organismo	Micronúcleo	Anomalias Nucleares
48	1	6
49	1	14
50	1	37
51	0	19
52	1	17
53	2	22
54	5	19
55	0	16
56	0	10
57	0	11
58	3	53
59	1	35
60	0	26
Média	1,15	21,92
Desvio padrão	1,46	13,02
Frequência	0,058	1,096

5.1.1.2. Análises estatísticas

5.1.1.2.1. Testes de normalidade

Para os dados biométricos e dos biomarcadores em *C.spixii* coletados em Cananéia foi utilizado o teste de D'Agostino Pearson, enquanto em *C. parallelus* foi aplicado o teste de D'Agostino. Valores de p expressos na tabela 9.

Tabela 9. Valores de p obtidos para os testes de normalidade ($p < 0,05$) em dados biométricos e biomarcadores nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,4543	ns
Peso Total (g)	0,1900	ns
Micronúcleo	< 0,0001	< 0,05
Anomalias Nucleares	0,0114	ns

Nota-se anormalidade nos dados de MN e AN em *C. spixii* e nos dados de MN em *C. parallelus*, a partir do $p < 0,05$.

5.1.1.2.2. Análises em relação ao estágio de maturação gonadal

Para *C. spixii* e *C. parallelus* foram encontrados 3 estádios diferentes de maturação gonadal: A, B e C.

Para a observação da influência dos estádios de maturação nas outras variáveis analisadas, para *C. spixii*, foi aplicada uma Análise de Variância (ANOVA 1 fator), exceto para a variável micronúcleo (MN) onde foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis. Em *C. parallelus*, o estágio C ocorreu apenas em um organismo, assim foi aplicado o teste t ($p < 0,05$). Os respectivos valores de p obtidos p estão expressos na tabela 10.

Tabela 10. Valores de p encontrados com ANOVA 1 fator (comprimento total (mm), peso total (g) e anomalias nucleares (AN) em *C. spixii*), Kruskal-Wallis (micronúcleo em *C. spixii*) e teste t (todas as variáveis em *C. parallelus*), em relação ao estágio de maturação gonadal em espécies coletadas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08, para $p < 0,05$.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,6612	0,1887
Peso Total (g)	0,6474	0,0087
Micronúcleo	0,5990	0,7002
Anomalias Nucleares	0,5802	0,0417

O estágio de maturação gonadal influenciou apenas nas variáveis peso total e anomalias nucleares em *C. parallelus*, a partir da observação do $p < 0,05$.

5.1.1.2.3. Análises em relação ao sexo

Foi aplicado o teste t para observação da influência do sexo nas variáveis biométricas e biomarcadores, exceto para micronúcleo (MN) em *C. parallelus* onde foi aplicado o teste de Mann-Whitney. Os respectivos valores de p obtidos estão expressos na tabela 11.

Tabela 11. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$) e Mann-Whitney (micronúcleo em *C. parallelus*) em relação ao sexo nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,4124	0,6445
Peso Total (g)	0,1725	0,1867
Micronúcleo	0,1473	0,3545
Anomalias Nucleares	0,1927	0,1871

O sexo não influenciou em nenhuma das variáveis analisadas, a partir da observação do $p > 0,05$.

5.1.1.2.4. Correlações

Foram estabelecidas correlações de Pearson ($p < 0,05$) entre as variáveis quantitativas normais, exceto para comparações com micronúcleo (MN) nas duas espécies e anomalias nucleares (AN) em *C. spixii* onde foram estabelecidas correlações de Spearman. Valores dos coeficientes de Pearson (r) e Spearman (rs) e respectivos p (t) (quando a correlação for significativa) estão expressos nas tabelas 12 e 13, *C. spixii* e *C. parallelus*, respectivamente..

Tabela 12. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.

	Micronúcleo	Anomalias Nucleares	Comprimento Total (mm)
Peso Total (g)	rs = 0,21	rs = 0,15	r = 0,95 p<0,0001
Comprimento Total (mm)	rs = 0,34	rs = 0,20	-
Anomalias Nucleares	rs = 0,33	-	-

Tabela 13. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e de Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08.

	Micronúcleo	Anomalias Nucleares	Comprimento Total (mm)
Peso Total (g)	rs = -0,22	r = 0,50 p(t) = 0,09	r = 0,90 p<0,0001
Comprimento Total (mm)	rs = -0,20	r = 0,26	-
Anomalias Nucleares	rs = -0,40 p(t) = 0,17	-	-

As variáveis comprimento total (mm) e peso total (g) se correlacionaram positivamente nas duas espécies.

5.1.1.2.5. Aderência

Os valores de p obtidos no teste de aderência para *C. spixii* e *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no inverno/08 foram 0,07 e 0,17, respectivamente. Foram observadas proporções entre machos e fêmeas de 1:1, indicada pelo $p > 0,05$.

5.1.2. Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá

5.1.2.1. Dados obtidos

5.1.2.1.1. Biometria, sexagem e maturação gonadal

Os dados de comprimento (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal referentes a *C. spixii* e *C. parallelus*, coletados no inverno/08 no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá estão expressos nas tabelas 14 e 15, respectivamente.

Tabela 14. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.

Nº organismo	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Sexo	Maturação Gonadal
1	185	54,44	M	B
2	183	51,38	F	B
3	182	55,33	F	D
4	184	53,06	M	A
5	195	62,50	F	D
6	188	52,80	F	B
7	179	62,67	F	C
8	175	46,26	F	B
9	170	47,13	M	B
10	172	43,07	F	D
11	174	45,78	F	B
12	175	50,22	F	B
13	169	43,78	F	B
14	168	39,65	F	A
15	169	42,50	F	B
16	170	40,30	M	A
17	164	33,32	F	B
18	162	39,67	M	B
19	168	38,95	F	B
20	158	39,90	F	C
Média	174,50	47,14		
Desvio padrão	9,41	7,99		

Tabela 15. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.

Nº organismo	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Sexo	Maturação Gonadal
21	214	88,80	M	B
22	203	76,07	F	B
23	153	31,28	M	A
24	138	21,81	NI	-
25	165	38,33	M	B
26	192	65,00	F	A
27	188	60,03	M	B
Média	179,00	54,47		
Desvio padrão	27,70	24,67		

Em *C. spixii* o comprimento total variou de 158-195 mm e o peso total de 33,32-62,67 g. O peso médio dos fígados enviados para as análises químicas em “pool” foi de $0,69 \pm 0,28$ g, enquanto do tecido muscular foi de $11,12 \pm 2,22$ g.

Em *C. parallelus* o comprimento total variou de 138-214 mm e o peso total de 21,81-88,80 g. O peso médio dos fígados enviados para as análises químicas em “pool” foi de $0,50 \pm 0,29$ g, enquanto do tecido muscular foi de $18,53 \pm 9,20$ g.

5.1.2.1.2. Citogenotoxicidade

Os dados citogenotóxicos de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos a partir da leitura das lâminas de extensão sanguínea referentes ao inverno/08, em Paranaguá, estão expressos na tabela 16 para *C. spixii* e na tabela 17 para *C. parallelus*.

Tabela 16. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.

Nº organismo	Micronúcleo	Anomalias Nucleares
1	0	6
2	0	9
3	0	10
4	1	11
5	1	7
6	0	9
7	0	12
8	0	16
9	0	10
10	1	19
11	0	20
12	0	10
13	0	6
14	0	6
15	1	12
16	0	4
17	1	20
18	0	6
19	0	7
20	0	4
Média	0,25	10,20
Desvio padrão	0,44	5,03
Frequência	0,013	0,510

Tabela 17. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.

Nº organismo	Micronúcleo	Anomalias Nucleares
21	0	36
22	0	47
23	1	43
24	2	51
25	3	22
26	0	25
27	2	54
Média	1,14	39,71
Desvio padrão	1,21	12,51
Frequência	0,057	1,986

5.1.2.2. Análises estatísticas

5.1.2.2.1 Testes de normalidade

Para as variáveis biométricas e biomarcadores em *C. spixii* coletados em Paranaguá foi aplicado o teste de D'Agostino Pearson, enquanto para *C. parallelus* foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk. Valores de p expressos na tabela 18.

Tabela 18. Teste de normalidade de D'Agostino Pearson (*C. spixii*; $p < 0,05$) e Shapiro-Wilk (*C. parallelus*; $p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,5522	0,7454
Peso Total (g)	0,4400	0,7490
Micronúcleo	0,0139	0,1880
Anomalias Nucleares	0,1010	0,4558

Nota-se anormalidade apenas nos dados de MN em *C. spixii*, a partir da observação do $p < 0,05$.

5.1.2.2.2. Análises em relação ao estágio de maturação gonadal

Em *C. spixii* foram encontrados 4 estádios diferentes de maturação gonadal (A, B, C e D), enquanto em *C. parallelus* foram encontrados apenas 2 estádios (A e B). Assim, para a observação da influência do estágio de maturação gonadal nas variáveis biométricas e biomarcadores, em *C. spixii* foi aplicada uma Análise de Variância (ANOVA 1 fator) e em *C. parallelus* o teste t. Os respectivos valores de p estão expressos na tabela 19.

Tabela 19. Valores de p encontrados para ANOVA 1 fator (*C. spixii*; $< 0,05$) e teste t (*C. parallelus*; $p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores em relação ao estágio de maturação gonadal nas duas espécies coletadas em Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,5162	0,3714
Peso Total (g)	0,3717	0,4122
Micronúcleo	0,1625	0,5551
Anomalias Nucleares	0,7362	0,6524

O estágio de maturação gonadal não influenciou em nenhuma das variáveis analisadas, a partir da observação do $p > 0,05$.

5.1.2.2.3. Análises em relação ao sexo

Para as duas espécies foi aplicado o teste t para observação da influência do sexo nas variáveis biométricas e biomarcadores. Os respectivos valores de p estão expressos na tabela 20.

Tabela 20. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores em relação ao sexo nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,9370	0,4407
Peso Total (g)	0,9467	0,4641
Micronúcleo	0,7800	0,1027
Anomalias Nucleares	0,1558	0,8313

O sexo não influenciou em nenhuma das variáveis analisadas, a partir da observação do $p > 0,05$.

5.1.2.2.4. Correlações

Para as duas espécies foram estabelecidas correlações de Pearson entre as variáveis biométricas e biomarcadores, exceto para comparações com micronúcleo (MN) em *C. spixii* onde foram estabelecidas correlações de Spearman. Valores dos coeficientes de Pearson (r) e Spearman (rs) e respectivos p (t) (quando a correlação for significativa) estão expressos nas tabelas 21 e 22, *C. spixii* e *C. parallelus*, respectivamente.

Tabela 21. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.

	Micronúcleo	Anomalias Nucleares	Comprimento Total (mm)
Peso Total (g)	rs = -0,03	r = -0,09	r = 0,87 p<0,0001
Comprimento Total (mm)	rs = 0,08	r = 0,00	-
Anomalias Nucleares	rs = 0,44 p(t) = 0,0490	-	-

Tabela 22. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e seus respectivos p (t) em *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no inverno/08.

	Micronúcleo	Anomalias Nucleares	Comprimento Total (mm)
Peso Total (g)	r = -0,70 p = 0,08	r = -0,15	r = 0,99 p<0,0001
Comprimento Total (mm)	r = -0,65 p = 0,11	r = -0,11	-
Anomalias Nucleares	r = 0,01	-	-

As variáveis comprimento total (mm) e peso total (g) se correlacionaram positivamente nas duas espécies. MN e AN se correlacionaram positivamente apenas em *C. spixii*.

5.1.2.2.5. Aderência

O valor de p do teste de aderência para *C. spixii* foi de 0,03 indicando que neste caso a proporção entre macho e fêmea é diferente de 1:1. Para *C. parallelus* não foi possível processar este mesmo teste, devido ao baixo número amostral na região de Paranaguá no inverno/08.

5.1.3. Complexo Estuarino de Santos e São Vicente

5.1.3.1. Dados obtidos

5.1.3.1.1. Biometria, sexagem e maturação gonadal

Os dados de comprimento (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal referentes a *C. spixii* e *C. parallelus* coletados no inverno/08 no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente estão expressos nas tabelas 23 e 24, respectivamente.

Tabela 23. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.

Nº organismo	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Sexo	Maturação Gonadal
61	170	46,73	M	B
62	154	33,64	F	C
63	141	20,60	M	A
64	188	71,93	F	C
65	167	44,09	F	C
66	175	49,88	M	B
67	142	26,83	F	C
68	130	22,30	F	C
69	162	38,50	M	B
70	146	31,44	M	B
71	152	33,08	F	C
72	152	32,14	NI	-
73	157	33,94	M	A
74	176	52,20	M	B
75	145	27,54	F	C
76	199	64,20	M	B
77	182	55,74	M	B
78	177	49,80	M	B
79	151	29,68	F	C
80	192	68,85	F	C
Média	162,90	41,66		
Desvio padrão	18,96	15,26		

Tabela 24. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.

Nº organismo	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Sexo	Maturação Gonadal
81	302	248,86	M	C
82	314	354,90	F	C
83	261	144,27	F	B
84	208	96,03	M	A
85	253	151,83	M	C
86	237	140,10	M	C
87	281	204,44	F	B
88	276	184,52	F	B
89	312	213,76	M	D
90	257	142,19	F	C
91	235	111,41	F	B
92	226	92,81	M	C
93	230	110,75	M	B
94	205	50,78	M	B
95	226	100,50	M	B
96	227	96,22	F	C
97	216	86,15	M	C
98	251	129,84	F	B
99	230	108,15	F	B
Média	249,84	145,66		
Desvio padrão	32,67	69,00		

Em *C. spixii* o comprimento total variou de 130-199 mm e o peso total de 20,60-71,93 g. O peso médio dos fígados enviados para as análises químicas em “pool” foi de $0,65 \pm 0,29$ g, enquanto do tecido muscular foi de $10,11 \pm 3,45$ g.

Em *C. parallelus* o comprimento total variou de 205-314 mm e o peso total de 50,78-354,90 g. O peso médio dos fígados enviados para as análises químicas em “pool” foi de $0,90 \pm 0,23$ g enquanto do tecido muscular foi de $37,14 \pm 5,28$ g.

5.1.3.1.2. Citogenotoxicidade

Os dados citogenotóxicos de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos a partir da leitura das lâminas de extensão sangüínea referentes ao inverno/08 em Santos estão expressos na tabela 25, para *C. spixii* e na tabela 26 para *C. parallelus*.

Tabela 25. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sangüínea dos exemplares de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.

Nº organismo	Micronúcleo	Anomalias Nucleares
61	0	6
62	4	42
63	0	9
64	1	26
65	0	14
66	0	23
67	0	12
68	0	2
69	0	11
70	0	6
71	0	10
72	0	18
73	0	12
74	0	18
75	0	8
76	1	29
77	0	24
78	0	8
79	0	16
80	0	30
Média	0,30	16,20
Desvio padrão	0,92	10,08
Frequência	0,015	0,810

Tabela 26. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.

Nº organismo	Micronúcleo	Anomalias Nucleares
81	7	167
82	7	163
83	16	316
84	4	142
85	4	137
86	8	187
87	6	69
88	13	226
89	1	39
90	9	232
91	3	71
92	2	86
93	4	129
94	0	33
95	15	279
96	1	84
97	9	184
98	4	187
99	1	80
Média	6,00	147,95
Desvio padrão	4,62	77,39
Frequência	0,300	7,397

5.1.3.2. Análises estatísticas

5.1.3.2.1. Testes de normalidade

Para os dados biométricos e dos biomarcadores em *C. spixii* coletados em Santos foi aplicado o teste de D'Agostino Pearson, enquanto em *C. parallelus* foi aplicado o teste de D'Agostino. Valores de p expressos na tabela 27.

Tabela 27. Valores de p obtidos para os testes de normalidade ($p < 0,05$) em dados biométricos e biomarcadores nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,4981	ns
Peso Total (g)	0,2390	< 0,05
Micronúcleo	< 0,0001	ns
Anomalias Nucleares	0,0572	ns

Nota-se anormalidade apenas nos dados de MN em *C. spixii* e peso total em *C. parallelus*, a partir da observação do $p < 0,05$.

5.1.3.2.2. Análises em relação ao estágio de maturação gonadal

Para as duas espécies foram encontrados 3 estádios diferentes de maturação gonadal: A, B e C. Para a observação da influência dos estádios de maturação nas variáveis biométricas e biomarcadores foi aplicada uma Análise de Variância (ANOVA 1 fator), exceto para micronúcleo (MN) em *C. spixii* onde foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis. Os respectivos valores de p estão expressos na tabela 28.

Tabela 28. Valores de p encontrados para ANOVA 1 fator ($p < 0,05$) e teste de Kruskal-Wallis (micronúcleo em *C. spixii*; $p < 0,05$) para os dados biométricos e biomarcadores em relação ao estágio de maturação nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,1337	0,5155
Peso Total (g)	0,1839	0,3077
Micronúcleo	0,8589	0,6826
Anomalias Nucleares	0,6873	0,9861

O estágio de maturação gonadal não influenciou em nenhuma das variáveis analisadas, a partir da observação do $p > 0,05$.

5.1.3.2.3. Análises em relação ao sexo

Foi aplicado o teste t para observação da influência do sexo nas outras variáveis analisadas, exceto para micronúcleo (MN) em *C. spixii* onde foi aplicado o teste de Mann-Whitney. Os valores de p estão expressos na tabela 29.

Tabela 29. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$) e Mann-Whitney (micronúcleo em *C. spixii*; $p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores em relação ao sexo nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,2419	0,2651
Peso Total (g)	0,5400	0,2977
Micronúcleo	0,6242	0,5765
Anomalias Nucleares	0,5195	0,5918

O sexo não influenciou em nenhuma das variáveis analisadas, a partir da observação do $p > 0,05$.

5.1.3.2.4. Correlações

Para as duas espécies foram estabelecidas correlações de Pearson entre as variáveis analisadas, exceto para comparações entre micronúcleo (MN) em *C. spixii* e peso total em *C. parallelus* onde foram estabelecidas correlações de Spearman. Valores dos coeficientes de Pearson (r) e Spearman (rs) e respectivos p (t) (quando a correlação for significativa) estão expressos na tabela 30 e 31, *C. spixii* e *C. parallelus*, respectivamente.

Tabela 30. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.

	Micronúcleo	Anomalias Nucleares	Comprimento Total (mm)
Peso Total (g)	rs = 0,35	r = 0,55 p(t) = 0,01	r = 0,97 p<0,0001
Comprimento Total (mm)	rs = 0,35	r = 0,56 p(t) = 0,01	-
Anomalias Nucleares	rs = 0,58 p(t) = 0,01	-	-

Tabela 31. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e seus respectivos p (t) em *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08.

	Micronúcleo	Anomalias Nucleares	Comprimento Total (mm)
Peso Total (g)	rs = 0,32	rs = 0,16	rs = 0,98 p<0,001
Comprimento Total (mm)	r = 0,18	r = 0,08	-
Anomalias Nucleares	r = 0,92 p(t)<0,0001	-	-

As variáveis comprimento total (mm) e peso total (g) se correlacionaram positivamente nas duas espécies. O mesmo ocorreu para MN e AN. AN se correlacionou positivamente com comprimento total e peso total apenas em *C. spixii*.

5.1.3.2.5. Aderência

Os valores de p obtidos no teste de aderência para *C. spixii* e *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no inverno/08 foram 0,64 e 0,82, respectivamente. Foram observadas proporções entre machos e fêmeas de 1:1, indicada pelo $p>0.05$.

5.1.4. Comparações entre as três áreas de estudo

A partir dos dados biométricos obtidos pode-se observar que as médias de comprimento total (mm) obtidas para exemplares *C. spixii* coletados no inverno/08 nas regiões de Cananéia, Paranaguá e Santos foram de $171,35 \pm 13,21$, $174,50 \pm 9,41$ e $162,90 \pm 18,96$ mm, respectivamente, conferindo uma média global de $169,58 \pm 6,00$ mm. Por sua vez, as médias de peso total (g) obtidas para os bagres coletados nessas três regiões foram de $45,59 \pm 12,09$, $47,14 \pm 7,99$ e $41,66 \pm 15,26$ g, respectivamente, conferindo uma média global de $44,79 \pm 2,82$ g.

Da mesma forma, para os exemplares de *C. parallelus* coletados nesta mesma campanha nas três áreas de estudo pode-se observar médias de comprimento total (mm) de $215,62 \pm 42,32$, $179,00 \pm 27,70$ e $249,84 \pm 32,67$ mm, respectivamente, conferindo uma média global de $214,82 \pm 35,43$ mm. Por sua vez, as médias de peso total (g) obtidas para os robalos coletados nessas três regiões foram de $90,42 \pm 52,71$, $54,47 \pm 24,67$ e $145,66 \pm 69,00$ g, respectivamente, conferindo uma média global de $96,85 \pm 45,93$ g.

As médias e desvios padrão dos dados de comprimento total (mm) e peso total (g) dos organismos coletados o inverno/08 estão expressos nas figuras 58 e 59, respectivamente.

Figura 58. Médias e desvios padrão dos dados de comprimento total (mm) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.

Figura 59. Médias e desvios padrão dos dados de peso total (g) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.

A partir do teste de Kruskal-Wallis foi observada diferenças significativas apenas entre os dados de comprimento total e peso dos *C. parallelus* de Santos em relação às outras áreas de estudo, assim sendo, os robalos coletados nesta região são significativamente maiores e mais pesados que os organismos coletados em Paranaguá e Cananéia. Diferenças significativas indicadas por asterisco nas figuras 58 e 59.

Houve correlação significativa entre comprimento total e peso total em todos os casos.

Em *C. spixii* houve predominância de fêmeas em Cananéia e Paranaguá, porém apenas em Paranaguá a proporção se mostrou diferente de 1:1, verificada pelo $p < 0,05$ do teste de aderência presente na tabela 31. Para *C. parallelus* todas as áreas de estudo apresentaram predominância de machos na amostra, contudo, a proporção se manteve de 1:1 em Cananéia e Santos. O teste de aderência com os exemplares de Paranaguá não pode ser realizado devido ao baixo número amostral.

Ocorreram os estádios A, B e C em todas as áreas de estudo para as duas espécies. Estádio D ocorreu apenas em 3 indivíduos *C. spixii* de Paranaguá (tabela 14) e 1 indivíduo *C. parallelus* de Santos (tabela 24).

Apenas para *C. parallelus* de Cananéia os estádios de maturação A e B parecem influenciar nas variáveis peso total e AN (tabela 10). Analisando-se separadamente cada um dos blocos nestas variáveis, podem-se observar médias de peso total $64,94 \pm 28,11$ g e $139,69 \pm 65,47$ g (estádios A e B, respectivamente), e médias de

AN $17,00 \pm 9,59$ e $33,25 \pm 14,71$ (estádios A e B, respectivamente). Estes resultados sugerem que os organismos em estágio B são significativamente mais pesados e apresentam maior taxa de AN que os organismos em estágio A.

De acordo com a citogenotoxicidade nas regiões de Cananéia, Paranaguá e Santos, no inverno/08 para *C. spixii* foram obtidas, respectivamente, médias de MN $0,15 \pm 0,37$, $0,25 \pm 0,44$ e $0,30 \pm 0,92$ e de AN $7,60 \pm 5,31$, $10,20 \pm 5,03$ e $16,20 \pm 10,08$, enquanto em *C. parallelus* nesta mesma época do ano foram obtidas, respectivamente, médias de MN $1,15 \pm 1,46$, $1,14 \pm 1,21$ e $6,00 \pm 4,62$ e de AN $21,92 \pm 13,02$, $39,71 \pm 12,51$ e $147,95 \pm 77,39$. Valores expressos nas figuras 60 e 61.

Figura 60. Médias e desvios padrão dos dados de micronúcleo (MN) e dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.

Figura 61. Médias e desvios padrão dos dados de anomalias nucleares (AN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.

Para as duas espécies, os valores de MN e AN obtidos em Santos foram maiores que os obtidos em Paranaguá e Cananéia, Cananéia mostrou os menores valores, enquanto Paranaguá obteve, na maior parte dos casos, valores intermediários.

A partir da aplicação do teste de Kruskal-Wallis foi possível detectar diferenças significativas (representadas por asterisco) entre os níveis de MN e AN em *C. parallelus* e AN em *C. spixii*. Diferenças significativas indicadas por asterisco nas figuras 60 e 61, respectivamente.

Em relação as frequências (%/1000 células), para *C. spixii* foram obtidos os valores de MN 0,008, 0,013 e 0,015, respectivamente para Cananéia, Paranaguá e Santos, e AN 0,38, 0,51 e 0,81. Para *C. parallelus*, frequências de MN 0,058, 0,057 e 0,30 e AN 1,10, 1,99 e 7,40. Valores expressos nas figuras 62 e 63.

Figura 62. Frequência de micronúcleos (MN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.

Figura 63. Frequência de anomalias nucleares (AN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.

Os mesmos resultados obtidos a partir da observação nas médias de MN e AN, nas figuras 60 e 61, também podem ser observados para as frequências (%/1000 células), nas figuras 62 e 63.

Tanto para as variáveis biométricas quanto para os biomarcadores a espécie *C. parallelus* apresentou valores maiores que em *C. spixii*. A incidência de ANs ocorreu em maior quantidade que as de MN em todos os casos.

5.2. Segunda campanha: Verão/2009

5.2.1. Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia

5.2.1.1. Dados obtidos

5.2.1.1.1. Biometria, sexagem e maturação gonadal

Os dados de comprimento (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal referentes a *C. spixii* e *C. parallelus*, coletados no verão/09 no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia estão expressos nas tabelas 32 e 33, respectivamente.

Tabela 32. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.

Nº organismo	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Sexo	Maturação Gonadal
1	182	56,95	F	B
2	183	56,56	F	B
3	169	44,78	F	B
4	175	44,27	F	B
5	170	43,41	F	B
6	195	64,41	F	B
7	162	37,09	F	B
8	183	56,93	F	B
9	174	49,34	F	B
10	173	44,31	F	B
11	165	38,86	F	B
12	174	47,60	F	B
13	164	43,66	M	A
14	165	39,90	M	B
15	179	53,71	M	B
16	188	64,23	M	B
17	193	60,06	M	A
18	192	62,67	M	B
19	182	52,64	M	B
20	166	41,51	M	B
Média	176,70	50,14		
Desvio padrão	10,27	8,82		

Tabela 33. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.

Nº organismo	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Sexo	Maturação Gonadal
21	189	52,27	M	C
22	199	66,13	M	C
23	195	56,35	M	B
24	198	63,01	M	C
25	210	68,65	F	B
26	275	188,51	M	C
27	230	92,63	F	B
28	207	85,50	M	C
29	195	59,28	M	B
30	189	57,88	M	B
31	204	77,82	M	C
32	193	63,58	M	B
33	229	106,74	M	C
34	215	86,85	F	B
35	167	40,49	M	C
36	216	94,04	F	C
37	215	89,7	M	C
38	205	71,04	M	B
39	174	46,23	M	C
40	175	47,66	M	B
Média	204,00	75,72		
Desvio padrão	23,71	32,13		

Em *C. spixii* o comprimento total variou de 162-195 mm e o peso total de 37,09-64,41 g. O peso médio dos fígados enviados para as análises químicas em “pool” foi de $0,85 \pm 0,22$ g, enquanto do tecido muscular foi de $14,48 \pm 2,70$ g.

Em *C. parallelus* o comprimento total variou de 167-275 mm e o peso total de 40,49-188,51 g. O peso médio dos fígados enviados para as análises químicas em “pool” foi de $0,45 \pm 0,15$ g, enquanto do tecido muscular foi de $29,30 \pm 28,30$ g.

5.2.1.1.2. Citogenotoxicidade

Os dados citogenotóxicos de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos a partir da leitura das lâminas de extensão sanguínea referentes ao verão/09, em Cananéia, estão expressos na tabela 34 para *C. spixii* e na tabela 35 para *C. parallelus*.

Tabela 34. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.

Nº organismo	Micronúcleo	Anomalias Nucleares
1	0	6
2	0	3
3	0	3
4	0	17
5	0	3
6	0	2
7	0	6
8	0	2
9	0	5
10	1	3
11	0	4
12	0	6
13	0	3
14	0	5
15	0	6
16	0	9
17	0	4
18	0	3
19	0	4
20	0	3
Média	0,05	4,85
Desvio padrão	0,22	3,34
Frequência	0,003	0,243

Tabela 35. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.

Nº organismo	Micronúcleo	Anomalias Nucleares
21	1	44
22	3	87
23	3	123
24	2	78
25	0	47
26	3	101
27	1	64
28	1	66
29	5	114
30	5	117
31	1	64
32	4	91
33	3	75
34	1	87
35	11	130
36	2	91
37	4	77
38	1	61
39	1	23
40	0	49
Média	2,60	79,45
Desvio padrão	2,50	28,42
Frequência	0,130	3,973

5.2.1.2. Análises estatísticas

5.2.1.2.1. Testes de normalidade

Para os dados biométricos e biomarcadores em *C. spixii* e *C. parallelus* coletados em Cananéia foi aplicado o teste de D'Agostino Pearson ($p < 0,05$). Valores de p expressos na tabela 36.

Tabela 36. Valores de p obtidos para o teste de normalidade D'Agostino Pearson ($p < 0,05$) em dados biométricos e biomarcadores nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,3885	0,0013
Peso Total (g)	0,3464	< 0,0001
Micronúcleo	< 0,0001	< 0,0001
Anomalias Nucleares	< 0,0001	0,7824

Nota-se anormalidade nos dados de MN e AN em *C. spixii* e nos dados comprimento total (mm), peso total (g) e MN em *C. parallelus*, a partir do $p < 0,05$.

5.2.1.2.2. Análises em relação ao estágio de maturação gonadal

Em *C. spixii* e *C. parallelus* foram encontrados apenas 2 estádios diferentes de maturação gonadal sendo estádios A e B para *C. spixii* e estádios B e C para *C. parallelus*. Para a observação da influência dos estádios de maturação nas outras variáveis analisadas (biométricas e biomarcadores), foi aplicado o teste t ($p < 0,05$), exceto para as variáveis micronúcleo (MN), anomalias nucleares (AN) (em *C. spixii*) e peso total (g) (em *C. parallelus*) onde foi aplicado o teste Mann Whitney ($p < 0,05$). Os respectivos valores de p obtidos estão expressos nas tabela 37.

Tabela 37. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$), para os dados de comprimento total (mm) e peso total (g) e no teste de Mann Whitney ($p < 0,05$) para valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) em relação ao estágio de maturação gonadal nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,8018	0,5962
Peso Total (g)	0,7806	0,4704
Micronúcleo	0,3313	0,5555
Anomalias Nucleares	0,1541	0,5627

Para as duas espécies, o estágio de maturação gonadal não influenciou em nenhuma das variáveis analisadas, a partir da observação do $p > 0,05$.

5.2.1.2.3. Análises em relação ao sexo

Foi aplicado o teste t para observação da influência do sexo as outras variáveis biométricas e biomarcadores, exceto micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) em *C. spixii* onde foi aplicado o teste Mann Whitney. Os respectivos valores de p obtidos estão expressos na tabela 38.

Tabela 38. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$) e Mann-Whitney (micronúcleo e anomalias nucleares em *C. spixii*) em relação ao sexo nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,5085	0,2026
Peso Total (g)	0,3872	0,5089
Micronúcleo	0,7576	0,1576
Anomalias Nucleares	0,6997	0,5850

O sexo não influenciou em nenhuma das variáveis analisadas, a partir da observação do $p > 0,05$.

5.2.1.2.4. Correlações

Para *C. spixii* foram estabelecidas correlações de Pearson para as variáveis biométricas e correlações de Spearman para as comparações com os biomarcadores. Em *C. parallelus* foram estabelecidas apenas correlações de Spearman. Valores dos coeficientes de Pearson (r) e Spearman (rs) e respectivos p (t) (quando a correlação for significativa) estão expressos nas tabelas 39 e 40, *C. spixii* e *C. parallelus*, respectivamente.

Tabela 39. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.

	Micronúcleo	Anomalias Nucleares	Comprimento Total (mm)
Peso Total (g)	rs = -0,10	rs = -0,12	r = 0,96 p<0,0001
Comprimento Total (mm)	rs = -0,10	rs = -0,12	-
Anomalias Nucleares	rs = -0,18	-	-

Tabela 40. Coeficientes de correlação de Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09.

	Micronúcleo	Anomalias Nucleares	Comprimento Total (mm)
Peso Total (g)	rs = -0,07	rs = 0,00	rs = 0,97 p<0,0001
Comprimento Total (mm)	rs = -0,15	rs = -0,03	-
Anomalias Nucleares	rs = 0,83 p<0,0001	-	-

As variáveis comprimento total (mm) e peso total (g) se correlacionaram positivamente nas duas espécies. MN e AN se correlacionaram positivamente apenas para *C. parallelus*.

5.2.1.2.5. Aderência

Os valores de p obtidos dos testes de aderência para *C. spixii* e *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia no verão/09 foram 0,3711 e 0,0073. Para *C. spixii* foi observada proporção entre machos e fêmeas de 1:1, ao contrário para *C. parallelus* onde foi observada proporção diferente de 1:1 indicada pelo $p < 0,05$.

5.2.2. Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá

5.2.2.1. Dados obtidos

5.2.2.1.1. Biometria, sexagem e maturação gonadal

Os dados de comprimento (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal referentes a *C. spixii* e *C. parallelus*, coletados no verão/09 no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá estão expressos nas tabelas 41 e 42, respectivamente.

Tabela 41. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.

Nº organismo	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Sexo	Maturação Gonadal
41	173	46,20	F	B
42	186	53,48	F	B
43	168	44,86	F	B
44	199	72,71	F	B
45	183	60,49	M	B
46	164	38,56	F	B
47	175	44,76	F	B
48	164	38,25	F	B
49	160	35,85	F	B
50	165	40,00	F	D
51	147	27,71	F	B
52	157	32,16	F	B
53	154	29,58	F	B
54	164	41,69	F	B
55	150	32,69	F	B
56	148	28,15	F	B
57	163	36,41	F	B
58	164	35,38	F	B
59	154	30,95	F	B
60	210	72,90	F	B
Média	167,40	42,14		
Desvio padrão	16,51	13,38		

Tabela 42. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.

No organismo	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Sexo	Maturação Gonadal
61	193	58,00	M	B
62	163	40,76	M	B
63	171	43,13	M	B
64	186	59,22	F	B
65	205	76,31	F	B
66	165	40,00	M	A
67	186	53,45	F	B
68	222	93,89	F	B
69	214	84,46	M	B
70	167	37,68	M	B
71	172	45,07	M	B
Média	185,82	57,45		
Desvio padrão	20,60	19,40		

Em *C. spixii* o comprimento total variou de 147-210 mm e o peso total de 27,71-72,90 g. O peso médio dos fígados enviados para as análises químicas em “pool” foi de $0,60 \pm 0,19$ g, enquanto do tecido muscular foi de 27,71-72,90 g.

Em *C. parallelus* o comprimento total variou de 163-222 mm e o peso total de 37,68-93,89 g. O peso médio dos fígados enviados para as análises químicas em “pool” foi de $0,41 \pm 0,16$ g, enquanto do tecido muscular foi de $21,61 \pm 8,64$ g.

5.2.2.1.2. Citogenotoxicidade

Os dados citogenotóxicos de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos a partir da leitura das lâminas de extensão sanguínea referentes ao verão/09 em Paranaguá estão expressos na tabela 43 para *C. spixii* e na tabela 44 para *C. parallelus*.

Tabela 43. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.

Nº organismo	Micronúcleo	Anomalias Nucleares
41	0	2
42	0	2
43	0	2
44	0	4
45	0	4
46	0	2
47	0	0
48	0	2
49	0	4
50	0	3
51	0	1
52	0	6
53	0	2
54	0	4
55	0	0
56	0	3
57	0	2
58	0	0
59	0	2
60	0	3
Média	0,00	2,40
Desvio padrão	0,00	1,54
Frequência	0,000	0,120

Tabela 44. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.

Nº organismo	Micronúcleo	Anomalias Nucleares
61	1	36
62	3	104
63	4	136
64	4	115
65	3	89
66	0	88
67	1	58
68	1	54
69	3	88
70	3	75
71	7	188
Média	2,73	93,73
Desvio padrão	1,95	42,26
Frequência	0,136	4,686

5.2.2.2. Análises estatísticas

5.2.2.2.1. Testes de normalidade

Para as variáveis biométricas e biomarcadores em *C. spixii* coletados em Paranaguá foi aplicado o teste de D'Agostino Pearson, enquanto para *C. parallelus* foi aplicado o teste de D'Agostino. Valores de p expressos na tabela 45. Para micronúcleo (MN) em *C. spixii* nenhum teste estatístico de normalidade foi processado já que os valores se mostraram nulos.

Tabela 45. Teste de normalidade de D'Agostino Pearson (*C. spixii*; $p < 0,05$) e D'Agostino (*C. parallelus*; $p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,0102	ns
Peso Total (g)	0,0068	ns
Micronúcleo	-	ns
Anomalias Nucleares	0,6332	ns

Nota-se anormalidade apenas nos dados de comprimento total (mm) e peso total (g) em *C. spixii*, a partir da observação do $p < 0,05$.

5.2.2.2.2. Análises em relação ao estágio de maturação gonadal

Para *C. spixii* e *C. parallelus* foram encontrados apenas 2 estádios de maturação gonadal diferentes: B e D para *C. spixii* e A e B para *C. parallelus*. Entretanto, não foi possível estabelecer relações entre o estágio de maturação e as variáveis analisadas, pois apenas um dos exemplares coletados apresentou o estágio D em *C. spixii* e o estágio A em *C. parallelus*.

5.2.2.2.3. Análises em relação ao sexo

Para *C. spixii* não foi possível estabelecer relações entre o sexo e as outras variáveis analisadas, visto que apenas um dos exemplares coletados era macho. Já para *C. parallelus* foi aplicado o teste t. Os respectivos valores de p obtidos expressos na tabela 46.

Tabela 46. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores em relação ao sexo em *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.

Variáveis	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,1423
Peso Total (g)	0,1338
Micronúcleo	0,3162
Anomalias Nucleares	0,4064

O sexo não influenciou em nenhuma das variáveis analisadas em *C. parallelus*, a partir da observação do $p > 0,05$.

5.2.2.2.4. Correlações

Foram estabelecidas correlações de Spearman, para *C. spixii*, e correlações de Pearson, para *C. parallelus*. Desde que os valores se mostraram nulos, nenhuma correlação foi estabelecida para a variável micronúcleo (MN) em *C. spixii*. Valores dos coeficientes de Pearson (r) e Spearman (rs) e respectivos p (t) (quando a correlação for significativa) estão expressos nas tabelas 47 e 48, *C. spixii* e *C. parallelus*, respectivamente.

Tabela 47. Coeficientes de correlação de Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.

	Micronúcleo	Anomalias Nucleares	Comprimento Total (mm)
Peso Total (g)	-	rs = 0,26	rs = 0,98 p<0,0001
Comprimento Total (mm)	-	rs = 0,20	-
Anomalias Nucleares	-	-	-

Tabela 48. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e seus respectivos p (t) em *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09.

	Micronúcleo	Anomalias Nucleares	Comprimento Total (mm)
Peso Total (g)	r = -0,20	r = -0,37	r = 0,99 p<0,0001
Comprimento Total (mm)	r = -0,23	r = -0,44 p(t) = 0,1795	-
Anomalias Nucleares	r = 0,88 p(t) = 0,0004	-	-

As variáveis comprimento total (mm) e peso total (g) se correlacionaram positivamente nas duas espécies. MN e AN se correlacionaram positivamente apenas para *C. parallelus*.

5.2.2.2.5. Aderência

Os valores de p obtidos nos testes de aderência para *C. spixii* e *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá no verão/09 foram $<0,0001$ e $0,3657$, respectivamente. Para *C. spixii* foi observada proporção entre machos e fêmeas diferente de 1:1 indicada pelo $p < 0,05$, ao contrário de *C. parallelus* onde foi observada proporção de 1:1.

5.2.3. Complexo Estuarino de Santos e São Vicente

5.2.3.1. Dados obtidos

5.2.3.1.1. Biometria, sexagem e maturação gonadal

Os dados de comprimento (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal referentes a *C. spixii* e *C. parallelus*, coletados no verão/09 no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente estão expressos nas tabelas 49 e 50, respectivamente.

Tabela 49. Comprimento total (mm), peso total (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.

Nº organismo	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Sexo	Maturação Gonadal
72	195	54,43	M	B
73	151	31,28	M	B
74	138	24,10	F	A
75	161	38,74	M	B
76	193	64,50	F	B
77	179	54,33	M	A
78	195	69,32	F	D
79	191	75,23	F	B
80	189	61,08	F	D
81	180	57,63	M	B
82	169	40,67	M	A
83	176	51,54	F	B
84	159	36,30	F	A
85	187	58,88	F	D
86	172	45,76	F	B
87	165	39,53	M	A
88	175	47,45	M	B
89	170	41,28	M	A
90	196	70,23	F	D
Média	175,84	50,65		
Desvio padrão	16,26	14,05		

Tabela 50. Comprimento total (mm), peso (g), sexo e maturação gonadal dos exemplares de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.

Nº organismo	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Sexo	Maturação Gonadal
91	296	208,72	M	D
92	254	128,57	M	B
93	229	100,93	M	B
94	219	95,63	M	B
95	197	66,92	M	B
96	220	88,93	F	B
97	219	84,68	M	B
98	187	54,79	M	A
99	277	186,65	F	B
100	219	91,24	M	A
101	216	80,05	M	B
102	190	58,95	M	B
103	179	48,48	F	A
104	171	38,17	F	A
105	204	70,20	M	A
106	180	47,02	F	B
107	224	102,47	M	D
108	196	61,32	F	B
Média	215,39	89,65		
Desvio padrão	32,44	44,45		

Em *C. spixii* o comprimento total variou de 138-196 mm e o peso total de 24,10-75,23 g. O peso médio dos fígados enviados para as análise químicas em “pool” foi de $0,73 \pm 0,20$ g, enquanto do tecido muscular foi de 13,51-5,24 g.

Em *C. parallelus* o comprimento total variou de 171-296 mm e o peso total de 38,17-208,72 g. O peso médio dos fígados enviados para as análise químicas em “pool” foi de $0,47 \pm 0,14$ g, enquanto do tecido muscular foi de $29,00 \pm 8,51$ g.

5.2.3.1.2. Citogenotoxicidade

Os dados citogenotóxicos de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos a partir da leitura das lâminas de extensão sanguínea referentes ao verão/09 em Santos estão expressos na tabela 51 para *C. spixii* e na tabela 52 para *C. parallelus*.

Tabela 51. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.

Nº organismo	Micronúcleo	Anomalias Nucleares
72	0	3
73	0	6
74	0	6
75	0	7
76	0	8
77	0	4
78	0	5
79	0	7
80	0	5
81	0	7
82	0	6
83	0	9
84	0	6
85	0	4
86	0	9
87	0	6
88	0	6
89	1	8
90	0	5
Média	0,05	6,16
Desvio padrão	0,23	1,64
Frequência	0,003	0,308

Tabela 52. Valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) obtidos na leitura das lâminas de extensão sanguínea dos exemplares de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.

Nº organismo	Micronúcleo	Anomalias Nucleares
91	1	56
92	2	97
93	7	190
94	5	140
95	1	86
96	13	247
97	2	86
98	2	96
99	5	149
100	1	55
101	1	52
102	7	167
103	3	107
104	1	73
105	2	81
106	3	112
107	3	102
108	1	62
Média	3,33	108,78
Desvio padrão	3,04	50,68
Frequência	0,167	5,439

5.2.3.2. Análises estatísticas

5.2.3.2.1. Testes de normalidade

Para os dados biométricos e dos biomarcadores nas duas espécies coletadas em Santos foi aplicado o teste de D'Agostino. Valores de p expressos na tabela 53.

Tabela 53. Teste de normalidade de D'Agostino ($p < 0,05$) para dados de comprimento total (mm), peso total (g), valores de micronúcleo (MN) e anomalias nucleares (AN) nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	ns	ns
Peso Total (g)	ns	< 0.05
Micronúcleo	< 0.01	< 0.01
Anomalias Nucleares	ns	ns

Nota-se anormalidade apenas nos dados de MN em *C. spixii* e peso total (g) e MN em *C. parallelus*, a partir da observação do $p < 0,05$.

5.2.3.2.2. Análises em relação ao estágio de maturação gonadal

Para as duas espécies foram encontrados 3 estádios diferentes de maturação gonadal: A, B e D. Para a observação da influência dos estádios de maturação nas variáveis biométricas e biomarcadores foi aplicada uma Análise de Variância (ANOVA 1 fator), exceto para micronúcleo (MN) nas duas espécies onde foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis. Os respectivos valores de p estão expressos na tabela 54.

Tabela 54. Valores de p encontrados para ANOVA 1 fator ($p < 0,05$) e teste de Kruskal-Wallis (micronúcleo em *C. spixii* e *C. parallelus*; $p < 0,05$) para os dados biométricos e biomarcadores em relação ao estágio de maturação nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,0139 ^a	0,0352 ^a
Peso Total (g)	0,0089 ^b	0,0329 ^a
Micronúcleo	0,8500	0,3746
Anomalias Nucleares	0,0834	0,2132

^a $p < 0,05$ (estádios A x D) ; ^b $p < 0,01$ (estádios A x D).

O estágio de maturação gonadal influenciou apenas nas variáveis comprimento total (mm) e peso total (g) nas duas espécies, a partir da observação do $p < 0,05$.

5.2.3.2.3. Análises em relação ao sexo

Para as duas espécies foi aplicado o teste t para observação da influência do sexo nas variáveis analisadas. Os respectivos valores de p estão expressos na tabela 55.

Tabela 55. Valores de p encontrados no teste t ($p < 0,05$) para dados biométricos e biomarcadores em relação ao sexo nas duas espécies coletadas no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.

Variáveis	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Comprimento Total (mm)	0,3012	0,3133
Peso Total (g)	0,0997	0,4784
Micronúcleo	0,6831	0,3524
Anomalias Nucleares	0,5137	0,3664

O sexo não influenciou em nenhuma das variáveis analisadas, a partir da observação do $p > 0,05$.

5.2.3.2.4. Correlações

Para as duas espécies foram estabelecidas correlações de Pearson entre as variáveis analisadas, exceto para comparações entre micronúcleo (MN) nas duas espécies e peso total em *C. parallelus* onde foram estabelecidas correlações de Spearman. Valores dos coeficientes de Pearson (r) e Spearman (rs) e respectivos p (t) (quando a correlação for significativa) estão expressos na tabela 56 e 57, *C. spixii* e *C. parallelus*, respectivamente.

Tabela 56. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.

	Micronúcleo	Anomalias Nucleares	Comprimento Total (mm)
Peso Total (g)	rs = -0,13	r = -0,16	r = 0,94 p<0,0001
Comprimento Total (mm)	rs = -0,13	r = -0,26	-
Anomalias Nucleares	rs = 0,29	-	-

Tabela 57. Coeficientes de correlação de Pearson (r) e Spearman (rs) e seus respectivos p (t) em *C. parallelus* coletados em Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09.

	Micronúcleo	Anomalias Nucleares	Comprimento Total (mm)
Peso Total (g)	rs = 0,15	rs = 0,09	rs = 0,99 p<0,0001
Comprimento Total (mm)	rs = 0,18	r = 0,04	-
Anomalias Nucleares	rs = 0,96 p(t)<0,0001	-	-

As variáveis comprimento total (mm) e peso total (g) se correlacionaram positivamente nas duas espécies. MN e AN se correlacionaram positivamente apenas para *C. parallelus*.

5.2.3.2.5. Aderência

Os valores de p obtidos nos testes de aderência para *C. spixii* e *C. parallelus* coletados em Complexo Estuarino de Santos e São Vicente no verão/09 foram 0,8185 e 0,1573, respectivamente. Foi observada proporção entre machos e fêmeas de 1:1 nas duas espécies, indicada pelo $p > 0.05$.

5.2.4. Comparações entre as três áreas de estudo

A partir dos dados biométricos obtidos pode-se observar que as médias de comprimento total (mm) obtidas para exemplares *C. spixii* coletados no verão/08 nas regiões de Cananéia, Paranaguá e Santos foram de $176,70 \pm 10,27$, $167,40 \pm 16,51$ e $175,84 \pm 16,26$ mm, respectivamente, conferindo uma média global de $173,31 \pm 5,14$ mm. Por sua vez, as médias de peso total (g) obtidas para os bagres coletados nessas três regiões foram de $50,14 \pm 8,82$, $42,14 \pm 13,38$ e $50,65 \pm 14,05$ g, respectivamente, conferindo uma média global de $47,64 \pm 4,77$ g.

Da mesma forma, para os exemplares de *C. parallelus* coletados nesta mesma campanha nas áreas de estudo pode-se observar médias de comprimento total (mm) de $204,00 \pm 23,71$, $185,82 \pm 20,60$ e $215,39 \pm 32,44$ mm, respectivamente, conferindo uma média global de $201,74 \pm 14,91$ mm. Por sua vez, as médias de peso total (g) obtidas para os robalos coletados nessas três regiões foram de $75,72 \pm 32,13$, $57,45 \pm 19,40$ e $89,65 \pm 44,45$ g, respectivamente, conferindo uma média global de $74,27 \pm 16,15$ g.

As médias e desvios padrão dos dados de comprimento total (mm) e peso total (g) os organismos coletados o verão/09 estão expressos nas figuras 64 e 65, respectivamente.

Figura 64. Médias e desvios padrão dos dados de comprimento total (mm) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.

Figura 65. Médias e desvios padrão dos dados de peso total (g) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.

A partir da análise de variância (ANOVA 1 fator), exceto para peso total (g) em *C. parallelus* onde foi aplicado o teste Kruskal-Wallis, foi observada diferenças significativas entre os valores de comprimento e peso total, de modo que os exemplares de Santos são maiores e mais pesados que os robalos coletados na região de Paranaguá. Diferença significativa indicada por asterisco nas figuras 64 e 65.

Como já observado na primeira campanha, houve correlação significativa entre comprimento total (mm) e peso total (g) em todos os casos.

Para as três áreas de estudo houve predominância de fêmeas em *C. spixii* e de machos em *C. parallelus*, porém apenas em *C. parallelus* de Cananéia e em *C. spixii* de Paranaguá que a proporção se mostrou diferente de 1:1, constatada pelo $p < 0,05$ dos testes de aderência.

Foram observados os estádios A, B e C e D, distribuídos do seguinte modo: A e B para *C. spixii* de Cananéia e *C. parallelus* de Paranaguá (tabelas 32 e 42), B e C para *C. parallelus* de Cananéia (tabela 33), B e D para *C. spixii* de Paranaguá (tabela 41) e A, B e D para as duas espécies em Santos (tabelas 49 e 50). Dentre estes resultados, apresentaram estágio D de maturação gonadal apenas um bagre-amarelo de Paranaguá, e quatro bagres-amarelos e dois robalos-peva de Santos.

Para as duas espécies na região de Santos, os estádios de maturação A e D parecem influenciar nas variáveis comprimento e peso total (tabela 54). Analisando-se separadamente cada um dos blocos nestas variáveis, para *C. spixii* podem-se observar médias de comprimento total $163,33 \pm 14,04$ mm e $191,75 \pm 4,42$ mm (estádios A e D, respectivamente), e médias de peso total $39,37 \pm 9,71$ g e $64,88 \pm 5,74$ g (estádios A e D, respectivamente). Para *C. parallelus*, por sua vez, podem-se observar médias de comprimento total $202,33 \pm 30,70$ mm e $260,00 \pm 51,91$ mm (estádios A e D, respectivamente), e médias de peso total $71,91 \pm 33,37$ g e $155,60 \pm 75,13$ g (estádios A e B, respectivamente). Estes resultados sugerem que os organismos em estágio D são significativamente maiores e mais pesados que os organismos em estágio A.

De acordo com a citogenotoxicidade nas regiões de Cananéia, Paranaguá e Santos, no inverno/08 para *C. spixii* foram obtidas, respectivamente, médias de MN $0,05 \pm 0,22$, $0,00 \pm 0,00$ e $0,05 \pm 0,2$ e de AN $4,85 \pm 3,34$, $2,40 \pm 1,54$ e $6,16 \pm 1,64$, enquanto em *C. parallelus* nesta mesma época do ano foram obtidas, respectivamente, médias de MN $2,60 \pm 2,50$, $2,73 \pm 1,95$ e $3,33 \pm 3,04$ e de AN $79,45 \pm 28,42$, $93,73 \pm 42,26$ e $108,78 \pm 50,68$. Valores expressos nas figuras 66 e 67.

Figura 66. Médias e desvios padrão dos dados de micronúcleo (MN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.

Figura 67. Médias e desvios padrão dos dados de anomalias nucleares (AN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.

Para *C. parallelus* nas duas estações do ano os valores de MN e AN obtidos em Santos foram maiores que os obtidos em Paranaguá e Cananéia, Cananéia mostrou os menores valores, enquanto Paranaguá obteve valores intermediários.

Para *C. spixii*, Paranaguá não apresentou ocorrência de MNs enquanto as taxas de Santos e Cananéia se mostraram semelhantes. Para os valores de AN Santos se mostrou maior do que Cananéia, porém o valor de Paranaguá esteve abaixo de Cananéia.

A partir da aplicação do teste de Kruskal-Wallis (*C. spixii*) e análise de variância (ANOVA 1 fator; *C. parallelus*) foi possível detectar diferenças significativas

apenas entre os valores de AN em *C. spixii*. Diferenças significativas indicadas por asterisco nas figuras 66 e 67, respectivamente.

Em relação as frequências (%/1000 células), para *C. spixii* foram obtidos os valores de MN 0,003, 0,00 e 0,003, respectivamente para Cananéia, Paranaguá e Santos, e AN 0,24, 0,12 e 0,31. Para *C. parallelus*, frequências de MN 0,13, 0,14 e 0,17 e AN 3,97, 4,69 e 5,44. Valores expressos nas figuras 68 e 69.

Figura 68. Frequência de micronúcleo (MN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.

Figura 69. Frequência de anomalias nucleares (AN) dos organismos coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.

Os mesmos resultados obtidos a partir da observação nas médias de MN e AN, nas figuras 66 e 67, também podem ser observados para as frequências (%/1000 células), nas figuras 68 e 69.

Tanto para as variáveis biométricas quanto para os biomarcadores a espécie *C. parallelus* apresentou valores maiores que em *C. spixii*. A incidência de ANs ocorreu em maior quantidade que as de MN em todos os casos.

5.3. Citogenotoxicidade quanto à sazonalidade

5.3.1. Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia

Para a espécie *C. spixii* os valores dos biomarcadores MN e AN para a região de Cananéia apresentaram uma diminuição do inverno para o verão. O contrário foi observado para a espécie *C. parallelus*. Valores expressos nas figuras 70 e 71, para *C. spixii* e *C. parallelus*, respectivamente.

Figura 70. Médias e desvios padrão de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia durante o inverno/08 e verão/09.

Figura 71. Médias e desvios padrão de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia durante o inverno/08 e verão/09.

Para a observação das diferenças sazonais significativas entre os resultados dos biomarcadores para cada espécie coletada em Cananéia, foi aplicado o teste t para AN em *C. spixii* e MN em *C. parallelus*, e o teste Mann Whitney para MN em *C. spixii* e AN em *C. parallelus*. Em *C. spixii* os valores de p, respectivamente para MN e AN, foram 0,5885 e 0,0572, enquanto para *C. parallelus* foram 0,0694 e <0,0001. Deste modo, foram observadas diferenças sazonais significativas apenas entre os resultados de anomalias nucleares (AN) em *C. parallelus*, de modo que o valor obtido para o verão em Cananéia foi maior que o obtido para o inverno. Diferença significativa expressa por asterisco na figura 71.

5.3.2. Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá

Assim como na região de Cananéia, em Paranaguá foi observado para a espécie *C. spixii* que os valores dos biomarcadores MN e AN para a região de Cananéia apresentaram uma diminuição do inverno para o verão. O contrário foi observado para a espécie *C. parallelus*. Valores expressos nas figuras 72 e 73, para *C. spixii* e *C. parallelus*, respectivamente.

Figura 72. Médias e desvios padrão de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá durante o inverno/08 e verão/09.

Figura 73. Médias e desvios padrão de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá durante o inverno/08 e verão/09.

Para a observação das diferenças sazonais entre os resultados das variáveis citogenotóxicas foi aplicado de Mann Whitney, exceto para MNs em *C. parallelus*, onde foi aplicado o teste t. Em *C. spixii* os valores de p, respectivamente para MN e AN, foram 0,1762 e <0,0001, enquanto para *C. parallelus* foram 0,0740 e 0,0024. Deste modo, foram observadas diferenças sazonais significativas apenas entre as taxas de ANs nas duas espécies, representadas por asterisco nas figuras 72 e 73.

5.3.3. Complexo Estuarino de Santos e São Vicente

Tanto a espécie *C. spixii* quanto *C. parallelus* apresentaram uma diminuição dos valores dos biomarcadores MN e AN do inverno para o verão para a região de Santos. Valores expressos nas figuras 74 e 75, para *C. spixii* e *C. parallelus*, respectivamente.

Figura 74. Médias e desvios padrão de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) de *C. spixii* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente durante o inverno/08 e verão/09.

Figura 75. Médias e desvios padrão de micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) de *C. parallelus* coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente durante o inverno/08 e verão/09.

Para a observação das diferenças sazonais entre o resultado das variáveis citogenotóxicas foi aplicado de Mann Whitney em *C. spixii* e o teste t em *C. parallelus*. Em *C. spixii* os valores de p, respectivamente para MN e AN, foram 0,5934 e <0,0001, enquanto para *C. parallelus* foram 0,0526 e 0,0869. Deste modo, foi observada diferença sazonal significativa apenas entre as taxas de ANs obtidas para *C. spixii*, representada por asterisco na figura 74.

5.4. Bioacumulação

5.4.1. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (PAHs)

Os resultados obtidos nas análises de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) nos fígados de *C. spixii* e *C. parallelus* coletados nas três áreas de estudo nas duas estações do ano estão expressos na tabela 58 e 59, respectivamente. Os valores que trazem o símbolo “menor que” (<) à frente indicam que o composto analisado está abaixo do respectivo limite de detecção (LDM).

Tabela 58. Concentrações de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) em amostras de fígado de *Cathorops spixii* coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente nas duas estações do ano (inverno/08 e verão/09). Valores expressos em ng g⁻¹ peso úmido. Sigla “n.c.” = não calculado.

Composto	Cananéia		Paranaguá		Santos	
	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão
Naftaleno	<5,8	<5,8	<5,8	<5,8	<5,8	<5,8
Metilnaftalenos	<4,71	<4,71	<4,71	<4,71	<4,71	<4,71
Bifenil	<4,75	<4,75	<4,75	<4,75	<4,75	<4,75
Dimetilnaftalenos	<9,25	<9,25	<9,25	<9,25	<9,25	<9,25
Acenaftileno	<3,83	<3,83	<3,83	<3,83	<3,83	<3,83
Acenafteno	<5,87	<5,87	<5,87	<5,87	<5,87	<5,87
Trimetilnaftalenos	9,31	7,27	8,83	20,5	7,27	15,8
Fluoreno	<5,16	<5,16	<5,16	<5,16	<5,16	<5,16
Fenantreno	3,87	<3,48	3,48	4,92	<3,48	5,62
Antraceno	<3,46	<3,46	<3,46	<3,46	<3,46	<3,46
Metilfenantrenos	8,22	<5,85	<5,85	<5,85	<5,85	<5,85
Fluoranteno	<2,63	<2,63	<2,63	<2,63	<2,63	<2,63
Pireno	<2,45	<2,45	<2,45	<2,45	<2,45	<2,45
benzo(a)antraceno	<3,71	<3,71	<3,71	<3,71	<3,71	<3,71
Criseno	<3,52	<3,52	<3,52	<3,52	<3,52	<3,52
benzo(b)fluoranteno	<2,31	<2,31	<2,31	<2,31	<2,31	<2,31
benzo(k)fluoranteno	<2,53	<2,53	<2,53	<2,53	<2,53	<2,53
benzo(e)pireno	<2,4	<2,4	<2,4	<2,4	<2,4	<2,4
benzo(a)pireno	<2,56	<2,56	<2,56	<2,56	<2,56	<2,56
Perileno	<2,03	<2,03	<2,03	<2,03	<2,03	<2,03
indeno[1,2,3,cd]pireno	<1,21	<1,21	<1,21	<1,21	<1,21	<1,21
dibenzo(a,h)antraceno	<1,14	<1,14	<1,14	<1,14	<1,14	<1,14
benzo(ghi)perileno	<1,58	<1,58	<1,58	<1,58	<1,58	<1,58
PAHs Totais	21,4	7,3	12,3	25,4	7,3	21,5
Σ PAHs Leves	21,4	7,3	12,3	25,4	7,3	21,5
Σ PAHs Pesados	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PAHs Leves/PAHs Pesados	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.

Tabela 59. Concentrações de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) em amostras de fígado de *Centropomus parallelus* coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente nas duas estações do ano (inverno/08 e verão/09). Valores expressos em ng g⁻¹ peso úmido. Sigla “n.c.” = não calculado.

Composto	Cananéia		Paranaguá		Santos	
	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão
naftaleno	<5,8	<5,8	<5,8	37,5	<5,8	10,3
metilnaftalenos	<4,71	<4,71	<4,71	39,7	<4,71	4,71
bifenil	<4,75	<4,75	<4,75	13,9	<4,75	5,52
dimetilnaftalenos	<9,25	<9,25	<9,25	110	<9,25	43,7
acenaftileno	<3,83	<3,83	<3,83	10,8	<3,83	5,36
acenafteno	<5,87	<5,87	<5,87	5,87	<5,87	5,87
trimetilnaftalenos	19,4	19,5	17,8	164	18,4	107
fluoreno	<5,16	<5,16	<5,16	15,1	<5,16	8,67
fenantreno	<3,48	6,78	5,12	40,5	7,63	22,3
antraceno	<3,46	<3,46	<3,46	<3,46	<3,46	<3,46
metilfenantrenos	<5,85	<5,85	<5,85	30,0	8,58	21,1
fluoranteno	<2,63	<2,63	<2,63	2,63	<2,63	2,63
pireno	<2,45	<2,45	<2,45	3,62	<2,45	3,02
benzo(a)antraceno	<3,71	<3,71	<3,71	<3,71	<3,71	<3,71
criseno	<3,52	<3,52	<3,52	<3,52	<3,52	<3,52
benzo(b)fluoranteno	<2,31	<2,31	<2,31	<2,31	<2,31	<2,31
benzo(k)fluoranteno	<2,53	<2,53	<2,53	<2,53	<2,53	<2,53
benzo(e)pireno	<2,4	<2,4	<2,4	<2,4	<2,4	<2,4
benzo(a)pireno	<2,56	<2,56	<2,56	<2,56	<2,56	<2,56
perileno	<2,03	<2,03	<2,03	<2,03	<2,03	<2,03
indeno[1,2,3,cd]pireno	<1,21	<1,21	<1,21	<1,21	<1,21	<1,21
dibenzo(a,h)antraceno	<1,14	<1,14	<1,14	2,19	<1,14	<1,14
benzo(ghi)perileno	<1,58	<1,58	<1,58	<1,58	<1,58	<1,58
PAHs Totais	19,4	26,3	22,9	467	34,7	240
Σ PAHs Leves	19,4	26,3	22,9	470	34,7	237,2
Σ PAHs Pesados	0,0	0,0	0,0	5,8	0,0	3,0
PAHs Leves/PAHs Pesados	n.c.	n.c.	n.c.	80,9	n.c.	78,5

Dentre os compostos PAHs que se mostraram acima dos limites de detecção (LDM), temos que: trimetilnaftaleno e PAHs totais ocorreram em todos os casos; fenantreno não foi observado apenas em *C. spixii* de Santos no inverno e Cananéia no verão e *C. parallelus* de Cananéia no inverno; metilfenantrenos ocorreram em *C. spixii* de Cananéia no inverno e em *C. parallelus* de Santos no inverno e verão e Paranaguá no verão; naftaleno, metilnaftaleno, bifenil, dimetilnaftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno e pireno apenas em *C. parallelus* de Santos e Paranaguá no verão; fluoranteno apenas em *C. parallelus* de Santos no verão; e dibenzo(a,h)antraceno apenas em *C. parallelus* de Paranaguá no verão.

As concentrações de PAHs totais para a espécie *C. spixii* (de todas as áreas e estações estudadas) variaram de 7,3 a 25,4 ng/g peso úmido e em *C. parallelus* de 19,4 a 467 ng/g peso úmido.

Em todos os casos foi possível notar a partir dos valores totais de compostos leves e pesados (Σ PAHs Leves e Pesados, presente nas tabelas 58 e 59), que a proporção de leves é sempre maior. Somente em *C. parallelus* foi observada a acumulação de dois dos compostos PAHs pesados: pireno (3.62 e 3.02 ng/g peso úmido; Paranaguá e Santos verão, respectivamente) e dibenzo(a,h)antraceno (2.19 ng/g peso úmido em Paranaguá no verão).

Para melhor observação, os valores dos compostos PAHs que estiveram acima do LDM para *C. spixii* em cada área de estudo em cada estação do ano estão expressos na figura 76. Para *C. parallelus* valores expressos na figura 77.

Figura 76. Acumulação de compostos PAHs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Figura 77. Acumulação de compostos PAHs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Pode ser observado que os *C. spixii* apresentaram menores valores de bioacumulação de compostos PAHs em fígado nas três regiões de estudo. *C. parallelus* de Paranaguá e Santos no verão apresentaram a maior variedade de compostos PAHs bioacumulados, além dos maiores níveis.

Para a comparação entre os conjuntos de dados de PAHs obtidos nas áreas de estudo em cada estação do ano para cada espécie foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis. Respectivamente para o inverno e verão, os valores de p obtidos em *C. spixii* foram 0,8653 e 0,9529 e em *C. parallelus* 0,7832 e 0,0152. Neste último caso, foi detectada diferença significativa entre os grupos de dados de PAHs obtidos para robalos-peva de Santos e Paranaguá em relação à Cananéia. Diferenças significativas expressas por asterisco na figura 77.

Na comparação sazonal entre os dados em cada área de estudo para cada espécie foi aplicado o teste de Mann Whitney, exceto para *C. parallelus* de Paranaguá onde foi aplicado o teste t. Respectivamente para Cananéia, Paranaguá e Santos, os valores de p obtidos em *C. spixii* foram 0,5919, 0,9589 e 0,7887 e em *C. parallelus* 0,7445, 0,0097 e 0,0320. Nestes dois últimos casos os a bioacumulação de PAHs para os robalos-peva coletados foram significativamente maiores no verão. Diferenças significativas expressas por letras na figura 77.

Para a melhor observação dos diferentes níveis de acumulação dos compostos PAHs que estiveram acima do LDM para as duas espécies em cada área de estudo, os valores obtidos foram plotados no gráfico da figura 78 (inverno) e 79 (verão).

Figura 78. Acumulação de compostos PAHs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* e *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.

Figura 79. Acumulação de compostos PAHs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* e *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante verão/09.

É possível observar que na maior parte dos casos a bioacumulação de compostos PAHs ocorreu de forma mais pronunciada nos fígados dos exemplares de *C. parallelus* em relação aos *C. spixii*.

Assim, para a comparação interespecífica entre os conjuntos de dados de bioacumulação de PAHs obtidos em cada área de estudo em cada estação do ano foi aplicado o teste de Mann Whitney, exceto para os dados da região de Paranaguá, onde foi aplicado o teste t. Respectivamente para Cananéia, Paranaguá e Santos, os valores de p no inverno foram 0,9120, 0,9589 e 0,5637 e no verão 0,7887, 0,0097 e 0,0154. Nestes dois últimos a bioacumulação de PAHs obtidas para os robalos-peva coletados foram significativamente maiores que os dados de *C. spixii*. Diferenças significativas expressas por asterisco na figura 79.

Para na comparação interespecífica entre todos os dados de bioacumulação obtidos em todo o estudo de cada composto PAH analisado também foi aplicado o teste de Mann Whitney. Valores de p expressos na tabela 60.

Tabela 60. Valores de p encontrados no teste de Mann Whitney ($p < 0,05$) na comparação interespecífica entre os níveis dos compostos de PAHs analisados (acima de LDM) em todo o estudo.

Composto	p
Naftaleno	0,3367
Metilnaftalenos	0,3367
Bifenil	0,3367
Dimetilnaftalenos	0,3367
Acenaftileno	0,3367
Acenafteno	0,3367
Trimetilnaftalenos	0,0250
Fluoreno	0,3367
Fenantreno	0,0547
Metilfenantrenos	0,2298
Fluoranteno	0,6310
Pireno	0,3367
Dibenzo(a,h)antraceno	0,6310
PAHs Totais	0,0250

Apenas os valores de PAHs totais e trimetilnaftalenos se mostraram significativamente diferentes para as duas espécies, de modo que a bioacumulação em *C. parallelus* se mostrou maior que na espécie *C. spixii*. A partir dos valores de bioacumulação de cada composto PAH obtidos nas áreas de estudo e estações do ano, foi calculada uma média (e desvio padrão) de bioacumulação em cada uma das espécies, por sua vez expressos na figura 80.

Figura 80. Acumulação de compostos PAHs que estiveram acima do LDM em fígados de exemplares *C. spixii* e *C. parallelus* coletados em todo o estudo.

Foram encontradas diferenças interespecíficas significativas entre os valores de PAHs totais e de trimetilnaftalenos (expressa por asterisco na figura 80), de modo que os valores para *C. parallelus* foram maiores que os obtidos em *C. spixii*.

5.4.2. Bifenilas Policloradas (PCBs)

Os resultados obtidos nas análises de bifenilas policloradas (PCBs) nos fígados de *C. spixii* e *C. parallelus* coletados nas três áreas de estudo nas duas estações do ano estão expressos nas tabelas 61 e 62. Os valores que trazem o símbolo “menor que” (<) à frente indicam que o composto analisado está abaixo do respectivo limite de detecção (LDM).

Tabela 61. Concentrações de Bifenilas Policloradas (PCBs) em amostras de fígado de *Cathorops spixii* coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente nas duas estações do ano (inverno/08 e verão/09). Valores expressos em ng/g peso úmido.

Composto	Cananéia		Paranaguá		Santos	
	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão
PCB 8	<2,70	<2,70	<2,70	<2,70	<2,70	<2,70
PCB 18	<1,21	<1,21	<1,21	<1,21	<1,21	<1,21
PCB 31	<0,59	<0,59	<0,59	<0,59	<0,59	<0,59
PCB 28	<1,86	<1,86	<1,86	<1,86	<1,86	<1,86
PCB 33	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50
PCB 52	<1,23	<1,23	<1,23	<1,23	<1,23	<1,23
PCB 49	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91
PCB 44	<1,17	<1,17	<1,17	<1,17	<1,17	<1,17
PCB 74	<1,09	<1,09	<1,09	<1,09	<1,09	<1,09
PCB 70	<2,03	<2,03	<2,03	<2,03	<2,03	<2,03
PCB 95	<2,49	<2,49	<2,49	<2,49	<2,49	<2,49
PCB 56/60	<0,82	<0,82	<0,82	<0,82	<0,82	<0,82
PCB 101	<0,88	<0,88	<0,88	<0,88	<0,88	<0,88
PCB 99	<2,78	<2,78	<2,78	<2,78	<2,78	<2,78
PCB 97	<2,23	<2,23	<2,23	<2,23	<2,23	<2,23
PCB 81	<0,86	<0,86	<0,86	<0,86	<0,86	<0,86
PCB 87	<2,19	<2,19	<2,19	<2,19	<2,19	<2,19
PCB 77	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50
PCB 110	<1,78	<1,78	<1,78	<1,78	<1,78	<1,78
PCB 151	<1,69	<1,69	<1,69	<1,69	<1,69	<1,69
PCB 123	<2,15	<2,15	<2,15	<2,15	<2,15	<2,15
PCB 149	<1,94	<1,94	<1,94	<1,94	<1,94	<1,94
PCB 118	<1,59	<1,59	<1,59	<1,59	<1,59	<1,59
PCB 114	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53
PCB 153	<1,17	<1,17	<1,17	<1,17	<1,17	3,48
PCB 132	<1,33	<1,33	<1,33	<1,33	<1,33	<1,33
PCB 105	<1,06	<1,06	<1,06	<1,06	<1,06	<1,06
PCB 141	<1,54	<1,54	<1,54	<1,54	<1,54	<1,54
PCB 138	<1,57	<1,57	<1,57	<1,57	<1,57	<1,57
PCB 158	<1,57	<1,57	<1,57	<1,57	<1,57	<1,57
PCB 126	<1,55	<1,55	<1,55	<1,55	<1,55	<1,55
PCB 187	<2,83	<2,83	<2,83	<2,83	<2,83	<2,83
PCB 183	<0,82	<0,82	<0,82	<0,82	<0,82	<0,82
PCB 128	<2,12	<2,12	<2,12	<2,12	<2,12	<2,12
PCB 167	<1,97	<1,97	<1,97	<1,97	<1,97	<1,97
PCB 174	<1,92	<1,92	<1,92	<1,92	<1,92	<1,92
PCB 177	<1,80	<1,80	<1,80	<1,80	<1,80	<1,80
PCB 156	<0,51	<0,51	<0,51	<0,51	<0,51	<0,51
PCB 157	<2,26	<2,26	<2,26	<2,26	<2,26	<2,26
PCB 180	<1,74	<1,74	<1,74	<1,74	<1,74	<1,74
PCB 169	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53
PCB 170	<3,64	<3,64	<3,64	<3,64	<3,64	<3,64
PCB 199	<4,26	<4,26	<4,26	<4,26	<4,26	<4,26
PCB 203	<6,27	<6,27	<6,27	<6,27	<6,27	<6,27
PCB 189	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50
PCB 195	<5,03	<5,03	<5,03	<5,03	<5,03	<5,03
PCB 194	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53
PCB 206	<1,72	<1,72	<1,72	<1,72	<1,72	<1,72
PCB 209	<1,92	<1,92	<1,92	<1,92	<1,92	<1,92
PCBs totais	<0,51	<0,51	<0,51	<0,51	<0,51	3,48

Tabela 62. Concentrações de Bifenilas Policloradas (PCBs) em amostras de fígado de *Centropomus parallelus* coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente nas duas estações do ano (inverno/08 e verão/09). Valores expressos em ng/g peso úmido.

Composto	Cananéia		Paranaguá		Santos	
	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão
PCB 8	<2,70	<2,70	<2,70	<2,70	<2,70	<2,70
PCB 18	<1,21	<1,21	<1,21	<1,21	<1,21	<1,21
PCB 31	<0,59	<0,59	<0,59	<0,59	<0,59	<0,59
PCB 28	<1,86	<1,86	<1,86	<1,86	<1,86	<1,86
PCB 33	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50
PCB 52	<1,23	2,8	<1,23	<1,23	4,2	<1,23
PCB 49	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91	<0,91
PCB 44	<1,17	<1,17	<1,17	<1,17	<1,17	<1,17
PCB 74	<1,09	<1,09	<1,09	<1,09	<1,09	<1,09
PCB 70	<2,03	<2,03	<2,03	<2,03	<2,03	<2,03
PCB 66	<0,72	<0,72	<0,72	<0,72	<0,72	<0,72
PCB 95	<2,49	<2,49	<2,49	<2,49	<2,49	<2,49
PCB 56/60	<0,82	<0,82	<0,82	<0,82	<0,82	<0,82
PCB 101	<0,88	<0,88	<0,88	<0,88	5,36	<0,88
PCB 99	<2,78	<2,78	<2,78	<2,78	4,76	<2,78
PCB 97	<2,23	<2,23	<2,23	<2,23	<2,23	<2,23
PCB 81	<0,86	<0,86	<0,86	<0,86	<0,86	<0,86
PCB 87	<2,19	<2,19	<2,19	<2,19	<2,19	<2,19
PCB 77	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50	<1,50
PCB 110	<1,78	<1,78	<1,78	<1,78	<1,78	<1,78
PCB 151	<1,69	<1,69	<1,69	<1,69	<1,69	<1,69
PCB 123	<2,15	<2,15	<2,15	<2,15	<2,15	<2,15
PCB 149	<1,94	<1,94	<1,94	<1,94	<1,94	<1,94
PCB 118	<1,59	<1,59	<1,59	<1,59	7,12	<1,59
PCB 114	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53
PCB 153	<1,17	<1,17	<1,17	<1,17	13,7	<1,17
PCB 132	<1,33	<1,33	<1,33	<1,33	<1,33	<1,33
PCB 105	<1,06	<1,06	<1,06	<1,06	<1,06	<1,06
PCB 141	<1,54	<1,54	<1,54	<1,54	<1,54	<1,54
PCB 138	<1,57	<1,57	<1,57	<1,57	9,92	<1,57
PCB 158	<1,57	<1,57	<1,57	<1,57	<1,57	<1,57
PCB 126	<1,55	<1,55	<1,55	<1,55	<1,55	<1,55
PCB 187	<2,83	<2,83	<2,83	<2,83	<2,83	<2,83
PCB 183	<0,82	<0,82	<0,82	<0,82	<0,82	<0,82
PCB 128	<2,12	<2,12	<2,12	<2,12	<2,12	<2,12
PCB 167	<1,97	<1,97	<1,97	<1,97	<1,97	<1,97
PCB 174	<1,92	<1,92	<1,92	<1,92	<1,92	<1,92
PCB 177	<1,80	<1,80	<1,80	<1,80	<1,80	<1,80
PCB 156	<0,51	<0,51	<0,51	<0,51	<0,51	<0,51
PCB 157	<2,26	<2,26	<2,26	<2,26	<2,26	<2,26
PCB 180	<1,74	<1,74	<1,74	<1,74	4,56	<1,74
PCB 169	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53
PCB 170	<3,64	<3,64	<3,64	<3,64	<3,64	<3,64
PCB 199	<4,26	<4,26	<4,26	<4,26	<4,26	<4,26
PCB 203	<6,27	<6,27	<6,27	<6,27	<6,27	<6,27
PCB 189	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50	<2,50
PCB 195	<5,03	<5,03	<5,03	<5,03	<5,03	<5,03
PCB 194	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53	<1,53
PCB 206	<1,72	<1,72	<1,72	<1,72	<1,72	<1,72
PCB 209	<1,92	<1,92	<1,92	<1,92	<1,92	<1,92
PCBs totais	<0,51	<0,51	<0,51	2,80	49,6	<0,51

Na grande maioria dos casos neste estudo os compostos PCBs estiveram abaixo do LDM. Dentre os compostos PCBs que se mostraram acima dos limites (tabelas 61 e 62), temos que: PCBs totais ocorreram em *C. spixii* e *C. parallelus* de Paranaguá no verão e em *C. parallelus* de Santos no inverno; PCB 153 ocorreu em *C. spixii* de Santos no verão e *C. parallelus* de Santos no inverno; PCB 52 apenas em *C. parallelus* de Santos no inverno e Paranaguá no verão; e PCB 99, PCB 101, PCB 118, PCB 153, PCB 138 e PCB 180 apenas em *C. parallelus* de Santos no inverno.

Para a espécie *C. spixii*, apenas em Paranaguá no verão foram detectados PCBs totais no valor de 3,48 ng/g peso úmido e, em *C. parallelus*, Paranaguá no verão obteve concentração 2,8 ng/g peso úmido, e Santos no inverno 49,6 ng/g peso úmido.

Para a melhor observação, os valores dos compostos PAHs que estiveram acima dos limites de detecção para *C. spixii* e *C. parallelus* em cada área de estudo em cada estação do ano estão expressos nas figuras 81 e 82.

Figura 81. Acumulação de compostos PCBs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Figura 82. Acumulação de compostos PCBs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

No verão, para *C. spixii*, apenas em Santos no verão foram detectados valores acima do LDM, enquanto em *C. parallelus* o mesmo ocorreu em Paranaguá. No inverno, apenas em *C. parallelus* a bioacumulação se mostrou acima de LDM nos fígados dos exemplares, apresentando os maiores valores e a maior variedade de compostos PCBs analisados.

Na comparação estatística entre os conjuntos de dados de PCBs obtidos nas áreas de estudo em cada estação do ano para cada espécie foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Apenas para *C. spixii* no inverno tal comparação não pode ser realizada uma vez que todos os valores de PCBs envolvidos se mostraram abaixo do LDM.

Assim, para o verão em *C. spixii* o valor de p obtido foi 0,9250, enquanto que em *C. parallelus*, respectivamente para o inverno e verão, foram 0,2874 e 0,9281. Deste modo, não houve diferenças significativas entre os conjuntos de dados analisados em nenhuma das espécies.

Para a comparação sazonal entre os dados obtidos em cada área de estudo em cada espécie foi aplicado o teste de Mann Whitney ($p < 0,05$) para os dados de Santos, e o teste t ($p < 0,05$) para os dados de *C. parallelus* de Paranaguá. Entre os dados de Cananéia (duas espécies) e *C. spixii* de Paranaguá não foi possível estabelecer esta comparação desde que todos os valores de PCBs estiveram abaixo do LDM.

Assim, em *C. spixii* de Santos e *C. parallelus* de Paranaguá o valor de p obtido foi 0,7329 e em *C. parallelus* de Santos foi 0,7329 e 0,1637. Deste modo, não houve diferenças significativas entre os conjuntos de dados analisados.

Para a melhor observação dos diferentes níveis de acumulação dos compostos PCBs, que estiveram acima do LDM, para as duas espécies em cada área de estudo, os valores obtidos foram plotados no gráfico da figura 83 (inverno) e 84 (verão).

Figura 83. Acumulação de compostos PCBs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* e *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.

Figura 84. Acumulação de compostos PCBs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* e *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o verão/08.

É possível observar que na maior parte dos casos a bioacumulação de compostos PCBs ocorreu de forma mais pronunciada nos fígados dos exemplares de *C. parallelus* em relação aos *C. spixii*.

Apenas entre os dados de Santos no inverno e Paranaguá e Santos no verão foi possível estabelecer comparações interespecíficas através do teste de Mann Whitney. Os valores de p foram 0,1722 (Santos inverno) e 0,7329 (duas áreas do verão). Deste modo, não houve diferenças significativas entre os dados de bioacumulação analisados das duas espécies.

A partir dos valores de bioacumulação de cada composto PCB obtidos nas áreas de estudo e estações do ano, foi calculada uma média (e desvio padrão) de bioacumulação em cada uma das espécies, por sua vez expressos na figura 85.

Figura 85. Acumulação de compostos PCBs que estiveram acima do LDM em fígados de exemplares *C. spixii* e *C. parallelus* coletados em todo o estudo.

Assim, para a comparação interespecífica entre os dados de bioacumulação obtidos em todo o estudo para cada um dos compostos PCBs analisados foi aplicado o

teste de Mann Whitney. Exceto para o composto PCB 52 e 153, onde os valores de p foram respectivamente 0,3367 e 0,9362, todos os outros compostos que tiveram valores acima de LDM (PCBs 101, 99, 118, 138, 180 e totais) apresentaram o p=0,6310. Assim, não foram encontradas diferenças interespecíficas significativas entre a bioacumulação de compostos PCBs, desde que p>0,05.

5.4.3. Pesticidas Organoclorados (POCs)

Os resultados obtidos nas análises de pesticidas organoclorados nos fígados de *C. spixii* e *C. parallelus* coletados nas três áreas de estudo nas duas estações do ano estão expressos nas tabelas 63 e 64. Os valores que trazem o símbolo “menor que” (<) à frente indicam que o composto analisado está abaixo do respectivo limite de detecção (LDM).

Tabela 63. Concentrações de pesticidas organoclorados em amostras de fígado de *Cathorops spixii* coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente nas duas estações do ano (inverno/08 e verão/09). Valores expressos em ng/g peso úmido.

Composto	Cananéia		Paranaguá		Santos	
	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão
α -HCH	<1,02	<1,02	<1,02	<1,02	<1,02	<1,02
β -HCH	<5,25	<5,25	<5,25	<5,25	<5,25	<5,25
γ -HCH	2,33	<2,21	3,96	3,66	2,92	4,49
δ -HCH	<3,80	<3,80	<3,80	<3,80	<3,80	<3,80
HCHs totais	2,33	<1,02	3,96	3,66	2,92	4,49
Aldrin	<1,24	<1,24	1,98	<1,24	<1,24	1,96
Isodrin	<4,73	<4,73	<4,73	<4,73	<4,73	<4,73
Dieldrin	<2,23	<2,23	<2,23	<2,23	<2,23	<2,23
Endrin	<3,71	<3,71	<3,71	<3,71	<3,71	<3,71
Drins totais	<1,24	<1,24	<1,24	<1,24	<1,24	<1,24
<i>o,p'</i> -DDE	<5,07	<5,07	<5,07	<5,07	<5,07	<5,07
<i>p,p'</i> -DDE	<1,89	2,11	4,66	4,01	2,03	7,08
<i>o,p'</i> -DDD	<2,51	<2,51	<2,51	<2,51	<2,51	<2,51
<i>p,p'</i> -DDD	<2,60	<2,60	4,05	<2,60	<2,60	2,75
<i>o,p'</i> -DDT	<4,03	<4,03	<4,03	<4,03	<4,03	<4,03
<i>p,p'</i> -DDT	<5,25	<5,25	<5,25	<5,25	<5,25	<5,25
DDTs totais	<1,89	2,11	8,70	4,01	2,03	9,83
Heptacloro	<5,00	<5,00	<5,00	<5,00	<5,00	<5,00
Heptacloro Ep.A	<5,49	<5,49	<5,49	<5,49	<5,49	<5,49
Heptacloro Ep.B	<4,26	<4,26	<4,26	<4,26	<4,26	<4,26
Oxiclordana	<4,19	<4,19	<4,19	<4,19	<4,19	<4,19
α -Clordana	<2,79	3,50	4,54	<2,79	<2,79	<2,79
γ -Clordana	<5,94	<5,94	9,70	<5,94	<5,94	8,64
Clordanas totais	<2,79	3,5	14,2	<2,79	<2,79	8,64
HCB	<1,27	<1,27	<1,27	<1,27	<1,27	<1,27
Endossulfan I	<3,81	<3,81	<3,81	<3,81	<3,81	<3,81
Endossulfan II	<5,66	<5,66	<5,66	<5,66	<5,66	<5,66
Mirex	<5,83	<5,83	<5,83	<5,83	<5,83	<5,83

Tabela 64. Concentrações de pesticidas organoclorados em a,stras de fígado de *Centropomus parallelus* coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente nas duas estações do ano (inverno/08 e verão/09). Valores expressos em ng/g peso úmido.

Composto	Cananéia		Paranaguá		Santos	
	Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão
α -HCH	3,09	<1,02	<1,02	<1,02	<1,02	2,29
β -HCH	<5,25	<5,25	<5,25	<5,25	<5,25	<5,25
γ -HCH	2,63	4,47	5,95	2,50	4,28	<2,21
δ -HCH	LDM	LDM	LDM	LDM	<3,80	<3,80
HCHs totais	5,72	4,47	5,95	2,50	4,28	2,29
Aldrin	<1,24	<1,24	<1,24	<1,24	1,88	<1,24
Isodrin	<4,73	<4,73	<4,73	<4,73	<4,73	<4,73
Dieldrin	<2,23	<2,23	<2,23	<2,23	<2,23	<2,23
Endrin	<3,71	<3,71	<3,71	<3,71	<3,71	<3,71
Drins totais	<1,24	<1,24	<1,24	<1,24	<1,24	<1,24
o,p'-DDE	<5,07	<5,07	<5,07	<5,07	<5,07	<5,07
p,p'-DDE	13,72	3,48	4,75	4,04	<1,89	7,79
o,p'-DDD	<2,51	<2,51	<2,51	<2,51	<2,51	<2,51
p,p'-DDD	5,98	<2,60	<2,60	<2,60	<2,60	<2,60
o,p'-DDT	<4,03	<4,03	<4,03	<4,03	<4,03	<4,03
p,p'-DDT	<5,25	<5,25	<5,25	<5,25	<5,25	<5,25
DDTs totais	19,70	3,48	4,75	4,04	<1,89	7,79
Heptacloro	<5,00	<5,00	<5,00	<5,00	<5,00	<5,00
Heptacloro Ep.A	<5,49	<5,49	<5,49	<5,49	<5,49	<5,49
Heptacloro Ep.B	<4,26	<4,26	<4,26	<4,26	<4,26	<4,26
Oxiclordana	<4,19	<4,19	<4,19	4,39	<4,19	<4,19
α -Clordana	4,08	<2,79	<2,79	<2,79	<2,79	4,44
γ -Clordana	<5,94	<5,94	<5,94	6,54	<5,94	<5,94
Clordanas totais	4,1	<2,79	<2,79	10,9	<2,79	4,4
HCB	<1,27	<1,27	<1,27	<1,27	<1,27	<1,27
Endossulfan I	<3,81	<3,81	<3,81	<3,81	<3,81	<3,81
Endossulfan II	<5,66	<5,66	<5,66	<5,66	<5,66	<5,66
Mirex	<5,83	<5,83	<5,83	<5,83	<5,83	<5,83

5.4.3.1 HCHs

No presente estudo, nenhum composto HCH analisado nos fígados de *C. spixii* de Cananéia no verão foi detectado. Quanto aos outros casos onde os compostos HCHs que se mostraram acima dos limites (tabelas 63 e 64), temos: α -HCH ocorreu apenas em *C. parallelus* de Cananéia no inverno e Santos no verão; γ -HCH não ocorreu apenas em *C. parallelus* de Santos no verão; HCHs ocorreram em todos os outros casos.

Para melhor observação, os valores dos compostos HCHs que estiveram acima do LDM para *C. spixii* e *C. parallelus* em cada área de estudo em cada estação do ano estão expressos nas figuras 86 e 87.

Figura 86. Acumulação de compostos HCHs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Figura 87. Acumulação de compostos HCHs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Pode ser observado que γ -HCHs ocorreram de forma mensurável, ou seja, acima de LDM nos fígados dos exemplares em todos os casos, enquanto α -HCH ocorreram apenas em *C. parallelus* de Cananéia no verão e em Santos no inverno.

No inverno as maiores concentrações de HCHs ocorreram em Paranaguá nas duas espécies. No verão, Santos apresentou as maiores bioacumulações em fígados de *C. spixii*, enquanto Cananéia em *C. parallelus*.

Para estabelecer comparação entre os conjuntos de dados de HCHs obtidos nas áreas de estudo, em cada estação do ano e espécie, foi aplicada a análise de variância (ANOVA 1 fator), exceto para a comparação em *C. spixii* no inverno onde foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis. Respectivamente para o inverno e verão, os valores de p obtidos em *C. spixii* foram 0,8350 e 0,4526 e em *C. parallelus* 0,9141 e 0,7041. Deste modo, não houve diferenças significativas entre os conjuntos de dados analisados em relação às áreas de estudo.

Para a comparação sazonal entre os dados obtidos em cada área de estudo para cada espécie foi aplicado o teste t, exceto para os dados de Paranaguá onde foi aplicado

o teste de Mann Whitney. Respectivamente para Cananéia, Paranaguá e Santos, os valores de p (obtidos em *C. spixii* foram 0,2963, 0,9298 e 0,6450 e em *C. parallelus* 0,7526, 0,4081 e 0,5220. Deste modo, não houve diferenças sazonais significativas entre os dados das três áreas de estudo nas duas espécies.

Para a melhor observação dos diferentes níveis de acumulação dos compostos HCHs que estiveram acima do LDM para as duas espécies em cada área de estudo, os valores obtidos foram plotados no gráfico da figura 88 (inverno) e 89 (verão).

Figura 88. Acumulação de compostos HCHs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* e *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.

Figura 89. Acumulação de compostos HCHs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* e *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o verão/08.

Pode ser observado que na maior parte dos casos a espécie *C. parallelus* apresentou a maior bioacumulação de compostos HCHs nos fígados dos exemplares em relação a espécie *C. spixii*. Apenas para os dados de Paranaguá e Santos no verão que a acumulação em fígados de *C. spixii* se mostrou mais pronunciada que em *C. parallelus*.

Para a comparação estatística interespecífica entre os dados obtidos em cada área de estudo em cada estação do ano foi aplicado o teste de Mann Whitney para os dados de Santos e Cananéia (verão), e o teste t ($p < 0,05$) para os dados de Paranaguá e Cananéia (inverno). Respectivamente para Cananéia, Paranaguá e Santos, os valores de

p no inverno foram 0,2967, 0,6614 e 0,6795 e no verão 0,2963, 0,6804 e 0,4962. Deste modo, não houve diferenças significativas entre os dados das duas espécies para as três áreas de estudo nas duas estações do ano.

A partir dos valores de bioacumulação de cada composto HCH obtidos nas áreas de estudo e estações do ano, foi calculada uma média (e desvio padrão) de bioacumulação em cada uma das espécies, por sua vez expressos na figura 90.

Figura 90. Acumulação de compostos HCHs que estiveram acima do LDM em fígados de exemplares *C. spixii* e *C. parallelus* coletados em todo o estudo.

Para a comparação interespecífica entre os dados de bioacumulação obtidos em todo o estudo de cada composto HCH analisado foi aplicado o teste t, exceto para o composto α-HCH onde foi aplicado o teste de Mann Whitney. Valores de p encontrados para os compostos α-HCH, γ-HCH e HCHs totais, respectivamente, foram 0,3367, 0,7083, 0,1819. Assim, não foram encontradas diferenças interespecíficas significativas entre a bioacumulação de HCHs, desde que $p > 0,05$.

5.4.3.2. DDTs

Nenhum composto DDT analisado nos fígados de *C. spixii* de Cananéia no inverno e *C. parallelus* de Santos no inverno estiveram acima de LDM. Quanto aos outros casos, os DDTs que se mostraram acima dos limites (tabelas 63 e 64), foram: o metabólito p,p'DDE não ocorreu apenas em *C. parallelus* de Santos no verão; o metabólito p,p'DDD ocorreu apenas em *C. spixii* de Paranaguá no inverno e de Santos no verão e em *C. parallelus* de Cananéia no inverno; e os DDTs totais ocorreram em todos os outros casos.

Os valores dos compostos DDTs que estiveram acima do LDM para *C. spixii* em cada área de estudo em cada estação do ano estão expressos na figura 91. Para *C. parallelus*, expressos na figura 92.

Figura 91. Acumulação de compostos DDTs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Figura 92. Acumulação de compostos DDTs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Pode ser observado que apenas a região de Santos no inverno (*C. spixii*) e Cananéia no verão (*C. parallelus*) não apresentaram valores mensuráveis (acima de LDM) de bioacumulação de compostos DDTs nos fígados dos exemplares. O composto p,p'-DDD ocorreu apenas nos fígados de *C. spixii* de Cananéia no inverno (onde apresentou o maior valor) e em *C. parallelus* de Paranaguá (inverno) e Santos (verão; onde apresentou o menor valor). A bioacumulação de compostos DDT em fígados de *C. spixii* em Cananéia no inverno se mostrou maior do que todos os outros casos neste estudo.

Comparando-se os conjuntos de dados de DDTs obtidos nas áreas de estudo, em cada estação do ano para cada espécie, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, exceto para a comparação em *C. parallelus* no verão onde foi aplicada a análise de variância

(ANOVA 1 fator). Respectivamente para o inverno e verão, os valores de p obtidos em *C. spixii* foram 0,3310 e 0,6903 e em *C. parallelus* 0,3310 e 0,6535. Deste modo, não houve diferenças significativas entre os conjuntos de dados de acumulação de DDTs nas pares de estudo, em cada estação do ano e espécie.

Para a comparação sazonal entre os dados obtidos em cada área de estudo para cada espécie foi aplicado o teste de Mann Whitney, exceto para os dados de Paranaguá onde foi aplicado o teste t. Respectivamente para Cananéia, Paranaguá e Santos, os valores de p obtidos em *C. spixii* foram 0,3711, 0,3862 e 0,4062 e em *C. parallelus* 0,4062, 0,8629 e 0,3711. Deste modo, não houve diferenças sazonais significativas entre os dados de inverno e verão nas três áreas de estudo nas duas espécies.

Para a melhor observação dos diferentes níveis de acumulação dos compostos DDTs que estiveram acima do LDM para as duas espécies em cada área de estudo, os valores obtidos foram plotados no gráfico da figura 93 (inverno) e 94 (verão).

Figura 93. Acumulação de compostos DDTs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* e *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.

Figura 94. Acumulação de compostos DDTs que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* e *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.

Pode-se observar que em boa parte dos casos a espécie *C. parallelus* tende a apresentar maior nível de bioacumulação de DDTs nos fígados dos exemplares em relação à espécie *C. spixii*. Apenas em Paranaguá e Santos nas duas estações apresentaram casos onde *C. spixii* apresentou maior acumulação em fígado do que *C. parallelus*.

Assim, para a comparação estatística interespecífica entre os dados obtidos em cada área de estudo em cada estação do ano foi aplicado o teste t ($p < 0,05$), exceto para os dados de Santos e Cananéia do inverno onde foi aplicado o teste de Mann Whitney ($p < 0,05$). Respectivamente para Cananéia, Paranaguá e Santos, os valores de p no inverno foram 0,1797, 0,4838 e 0,3711 e no verão 0,6115, 0,9936 e 0,7864. Deste modo, não houve diferenças significativas entre os dados das duas espécies nas três áreas de estudo nas duas estações do ano.

A partir dos valores de bioacumulação de cada composto DDT obtidos nas áreas de estudo e estações do ano, foi calculada uma média (e desvio padrão) de bioacumulação em cada uma das espécies, por sua vez expressos na figura 95.

Figura 95. Acumulação de compostos DDTs que estiveram acima do LDM em fígados de exemplares *C. spixii* e *C. parallelus* coletados em todo o estudo.

Para na comparação interespecífica entre todos os dados de bioacumulação obtidos em todo o estudo de cada composto DDT analisado também foi aplicado o teste t. Valores de p encontrados para os compostos p,p'-DDE, p,p'-DDT e DDTs totais, respectivamente, foram 0,3095, 0,9144, 0,5161. Assim, não foram encontradas diferenças interespecíficas significativas entre a bioacumulação de compostos DDTs, desde que $p > 0,05$.

5.4.3.3. Clordanas

Para a bioacumulação de clordanas nos fígados dos exemplares, Santos no inverno (duas espécies) e Paranaguá nas duas estações (inverno em *C. parallelus* e verão em *C. spixii*) não obtiveram resultados mensuráveis. Quanto aos outros casos onde as clordanas que se mostraram acima dos limites (tabelas 63 e 64), temos: oxiclordana ocorreu apenas em *C. parallelus* de Paranaguá no verão; α -Clordana em *C. spixii* de Paranaguá no inverno e Cananéia e Santos no verão e em *C. parallelus* de Cananéia no inverno e Paranaguá e Santos no verão; γ -Clordana ocorreu apenas em *C. spixii* de Paranaguá no inverno e Santos no verão e em *C. parallelus* de Paranaguá no verão; clodanas totais por sua vez ocorreram em *C. spixii* de Paranaguá no inverno e Cananéia e Santos no verão e em *C. parallelus* de Cananéia no inverno e de Paranaguá e Santos no verão.

Os valores dos compostos Clordanas que estiveram acima do LDM para *C. spixii* em cada área de estudo em cada estação do ano estão expressos na figura 96. Para *C. parallelus*, expressos na figura 97.

Figura 96. Acumulação de compostos Clordanas que estiveram acima do LDM em fígados de *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Figura 97. Acumulação de compostos Clordanas que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

A região de Paranaguá, nos casos em que os valores estiveram acima de LDM, apresentou os maiores valores de bioacumulação total de clordanas, e no verão em *C. parallelus* foi o púnico caso em que houve a ocorrência do composto oxiclordana. O composto γ -clordana apenas ocorreu nas áreas de estudo mais impactadas por fontes antrópicas, Paranaguá e Santos.

Para estabelecer comparação entre os conjuntos de dados de Clordanas obtidos nas áreas de estudo, em cada estação do ano para cada espécie, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, exceto para a comparação em *C. parallelus* no verão, onde foi aplicada a análise de variância (ANOVA 1 fator). Respectivamente para o inverno e verão, os valores de p obtidos em *C. spixii* foram 0,2931 e 0,5706 e em *C. parallelus* 0,3310 e 0,6535. Deste modo, não houve diferenças significativas entre os conjuntos de dados das áreas e estudo, nas estações do ano e espécies analisadas.

Para a comparação sazonal entre os dados de bioacumulação obtidos em cada área de estudo para cada espécie foi aplicado o teste de Mann Whitney. Respectivamente para Cananéia, Paranaguá e Santos, os valores de p obtidos em *C. spixii* foram 0,3711, 0,1797 e 0,3711 e em *C. parallelus* 0,3711, 0,1797 e 0,3711. Deste modo, não houve diferenças sazonais significativas entre os dados das três áreas de estudo nas duas espécies.

Para a melhor observação dos diferentes níveis de acumulação dos compostos clordanas que estiveram acima do LDM para as duas espécies em cada área de estudo, os valores obtidos foram plotados no gráfico da figura 98 (inverno) e 99 (verão).

Figura 98. Acumulação de compostos Clordanas que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* e *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08.

Figura 99. Acumulação de compostos Clordanas que estiveram acima do LDM em fígados de *C. parallelus* e *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o verão/09.

Pode-se notar que em cada região de estudo em cada estação do ano uma ou outra espécie sobressaiu na bioacumulação de clordanas em fígados, não sendo possível observação de algum padrão.

Para a comparação interespecífica entre os dados obtidos em cada área de estudo e estação do ano foi aplicado o teste de Mann Whitney, exceto para os dados de Santos no verão onde foi aplicado o teste t. Apenas para os dados de Santos do inverno não foi possível estabelecer comparações uma vez que todos os valores de todos os compostos analisados, nas duas espécies, estiveram abaixo LDM.

Os valores de p no verão foram 0,3711, 0,1797 e 0,5133 (respectivamente para Cananéia, Paranaguá e Santos), enquanto que no inverno foram 0,3711 e 0,1797 (respectivamente para Cananéia e Paranaguá). Deste modo, não houve diferenças significativas entre os dados de bioacumulação de clordanas nas duas espécies nas três áreas de estudo e estações do ano.

A partir dos valores de bioacumulação de cada composto clordana obtidos nas áreas de estudo e estações do ano, foi calculada uma média (e desvio padrão) de bioacumulação em cada uma das espécies, por sua vez expressos na figura 100.

Figura 100. Acumulação de compostos Clordanas que estiveram acima do LDM em fígados de exemplares *C. spixii* e *C. parallelus* coletados em todo o estudo.

Na comparação interespecífica entre os dados de bioacumulação de cada composto Clordana obtidos ao longo de todo o estudo também foi aplicado o teste t, exceto para o composto oxichlordane onde foi aplicado o teste de Mann Whitney. Valores de p encontrados para os compostos oxichlordane, α-chlordane, γ-chlordane e clordanas totais, respectivamente, foram 0,6310, 0,8807, 0,3972 e 0,7054. Assim, não foram encontradas diferenças interespecíficas significativas entre a bioacumulação de compostos Clordanas, desde que $p > 0,05$.

5.4.3.4. Outros

Não foi possível estabelecer comparações estatísticas entre os dados obtidos para os compostos drins, HCB, Endosulfans e mirex desde que todos os valores estiveram abaixo dos limites de detecção (LDM) (vide tabelas 63 e 64).

5.4.4. Metais

As análises de metais das amostras de tecido muscular de *C. spixii* e *C. parallelus* deste estudo foram realizadas em duplicatas obtendo-se posteriormente um valor médio de bioacumulação. Os resultados dessas análises serão apresentados ao longo deste item, enquanto os resultados referentes a análise dos materiais de referência certificados, utilizados para o controle de qualidade dos procedimentos analíticos, estão expressos nas tabelas 65 e 66, em anexo.

Os resultados obtidos nas análises de metais (arsênio, cádmio, cobalto, cromo, mercúrio, chumbo, selênio e zinco) no tecido muscular dos exemplares nas três áreas de estudo nas duas estações do ano estão expressos nas tabelas 67 e 68, para *C. spixii*, nas e nas tabelas 69 e 70, para *C. parallelus*. Os valores que trazem o símbolo “menor que” (<) à frente indicam que o composto analisado está abaixo do respectivo limite de detecção (LD) da técnica.

Tabela 67. Concentrações de metais (As, Cd, Co, Cr, Hg, Pb, Se e Zn) obtidas em amostras de tecido muscular de *C. spixii* coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente no inverno/08. Valores expressos em µg/g e ng/g (*) peso úmido.

	Composto	Replicata 1	Replicata 2	Média
Cananéia	Arsênio	4,34±0,03	4,68±0,05	4,5±0,2
	Cádmio *	1,66±0,04	1,70±0,04	1,68±0,03
	Cobalto	0,019±0,002	0,020±0,001	0,020±0,001
	Cromo	<0,016	<0,016	<0,016
	Mercúrio *	20,6±0,3	24,4±0,2	22±3
	Chumbo *	41±2	40±2	40,5±0,7
	Selênio	0,35±0,02	0,36±0,02	0,36±0,01
	Zinco	11,9±0,1	12,6±0,2	12,3±0,5
Paranaguá	Arsênio	5,13±0,03	5,71±0,05	5,4±0,4
	Cádmio *	1,77±0,08	1,76±0,06	1,765±0,07
	Cobalto	0,026±0,001	0,024±0,001	0,025±0,001
	Cromo	<0,016	<0,016	<0,016
	Mercúrio *	21,1±0,2	23,2±0,1	22±1
	Chumbo *	29,2±0,2	27±2	28±2
	Selênio	0,25±0,01	0,26±0,02	0,26±0,01
	Zinco	13,4±0,2	14,2±0,2	13,8±0,6
Santos	Arsênio	2,22±0,02	3,09±0,03	2,7±0,6
	Cádmio *	2,40±0,03	3,43±0,05	2,9±0,7
	Cobalto	0,029±0,001	0,027±0,001	0,028±0,001
	Cromo	<0,016	<0,016	<0,016
	Mercúrio *	16,49±0,07	18,87±0,02	18±2
	Chumbo *	15±2	18±2	17±2
	Selênio	0,40±0,02	0,37±0,02	0,38±0,02
	Zinco	17,8±0,2	17,6±0,3	17,7±0,1

Tabela 68. Concentrações de metais (As, Cd, Co, Cr, Hg, Pb, Se e Zn) obtidas em amostras de tecido muscular de *C. spixii* coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente no verão/09. Valores expressos em µg/g e ng/g (*) peso úmido.

	Composto	Replicata 1	Replicata 2	Média
Cananéia	Arsênio	6,78±0,04	7,15±0,06	7,00±0,30
	Cádmio *	<1	<1	<1
	Cobalto	<0,002	<0,002	<0,002
	Cromo	<0,016	<0,016	<0,016
	Mercúrio *	12,0±0,2	11,8±0,2	11,9±0,1
	Chumbo *	33,71±0,08	46,0±0,3	40±9
	Selênio	0,29±0,02	0,30±0,03	0,295±0,007
	Zinco	4,98±0,06	5,7±0,1	5,30±0,50
Paranaguá	Arsênio	6,89±0,04	6,38±0,05	6,6±0,4
	Cádmio *	2,2±0,2	2,2±0,1	2,2±0,2
	Cobalto	0,025±0,001	0,025±0,002	0,025±0,001
	Cromo	<0,016	<0,016	<0,016
	Mercúrio *	18,30±0,06	19,2±0,4	18,8±0,6
	Chumbo *	<11	<11	<11
	Selênio	0,44±0,02	0,46±0,03	0,45±0,01
	Zinco	16,9±0,2	16,5±0,3	16,7±0,3
Santos	Arsênio	2,65±0,04	2,43±0,05	2,5±0,2
	Cádmio *	<1	<1	<1
	Cobalto	0,021±0,001	0,022±0,001	0,022±0,001
	Cromo	<0,016	<0,016	<0,016
	Mercúrio *	16,22±0,01	14,8±0,1	16±1
	Chumbo *	<11	<11	<11
	Selênio	0,32±0,02	0,29±0,02	0,31±0,02
	Zinco	13,2±0,2	12,8±0,2	13,0±0,3

Tabela 69. Concentrações de metais (As, Cd, Co, Cr, Hg, Pb, Se e Zn) obtidas em amostras de fígado de *C. parallelus* coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente no inverno/08. Valores expressos em µg/g e ng/g (*) peso úmido.

	Composto	Replicata 1	Replicata 2	Média
Cananéia	Arsênio	0,66±0,01	0,73±0,02	0,70±0,05
	Cádmio *	<1	<1	<1
	Cobalto	<0,002	<0,002	<0,002
	Cromo	<0,016	<0,016	<0,016
	Mercúrio *	6,6±0,1	7,7±0,4	7,2±0,8
	Chumbo *	35,1±0,1	44±6	40±6
	Selênio	0,31±0,02	0,26±0,02	0,28±0,03
	Zinco	5,99±0,09	6,00±0,1	6,00±0,01
Paranaguá	Arsênio	0,17±0,01	0,22±0,01	0,20±0,03
	Cádmio *	2,3±0,2	2,56±0,07	2,4±0,2
	Cobalto	<0,002	<0,002	<0,002
	Cromo	<0,016	<0,016	<0,016
	Mercúrio *	9,2±0,2	9,227±0,001	9,21±0,02
	Chumbo *	<11	<11	<11
	Selênio	0,28±0,02	0,31±0,02	0,30±0,02
	Zinco	5,45±0,09	6,1±0,1	5,8±0,5
Santos	Arsênio	0,29±0,01	0,31±0,01	0,30±0,01
	Cádmio *	<1	<1	<1
	Cobalto	<0,002	<0,002	<0,002
	Cromo	<0,016	<0,016	<0,016
	Mercúrio *	26,2±0,1	25,2±0,3	25,7±0,7
	Chumbo *	<11	<11	<11
	Selênio	0,30±0,02	0,31±0,02	0,31±0,01
	Zinco	5,33±0,01	6,2±0,1	5,8±0,6

Tabela 70. Concentrações de metais (As, Cd, Co, Cr, Hg, Pb, Se e Zn) obtidas em amostras de tecido muscular de *C. parallelus* coletados nos Complexos Estuarinos de Paranaguá, Cananéia e Santos/São Vicente no verão/09. Valores expressos em µg/g e ng/g (*) peso úmido.

	Composto	Replicata 1	Replicata 2	Média
Cananéia	Arsênio	0,243±0,004	0,229±0,009	0,24±0,01
	Cádmio *	<1	<1	<1
	Cobalto	<0,002	<0,002	<0,002
	Cromo	<0,016	<0,016	<0,016
	Mercúrio *	5,1±0,4	6,1±0,9	5,6±0,7
	Chumbo *	<11	<11	<11
	Selênio	0,35±0,02	0,33±0,04	0,34±0,01
	Zinco	5,15±0,07	5,0±0,1	5,1±0,1
Paranaguá	Arsênio	0,219±0,009	0,208±0,009	0,214±0,008
	Cádmio *	<1	<1	<1
	Cobalto	<0,002	<0,002	<0,002
	Cromo	<0,016	<0,016	<0,016
	Mercúrio *	7,6±0,2	7,37±0,07	7,5±0,2
	Chumbo *	<11	<11	<11
	Selênio	0,34±0,02	0,34±0,03	0,34±0,02
	Zinco	6,73±0,08	7,1±0,1	6,9±0,3
Santos	Arsênio	0,142±0,007	0,133±0,007	0,38±0,006
	Cádmio *	<1	<1	<1
	Cobalto	<0,002	<0,002	<0,002
	Cromo	<0,016	<0,016	<0,016
	Mercúrio *	18,0±0,1	21,9±0,3	20±3
	Chumbo *	<11	<11	<11
	Selênio	0,23±0,03	0,27±0,03	0,25±0,03
	Zinco	6,3±0,1	6,4±0,1	6,4±0,1

Apenas os elementos arsênio, zinco, mercúrio e selênio ocorreram em todos os casos neste estudo.

O elemento cromo esteve abaixo do LD nos tecidos musculares dos exemplares em todos os casos neste estudo. O elemento cobalto foi observado apenas na espécie *C. spixii*. Devido ao fato dos elementos Cd, Hg e Pb ocorrerem em quantidades muito baixas, os valores de bioacumulação nos tecidos dos exemplares foram expressos em ng/g.

De modo geral, os valores de bioacumulação dos elementos As e Zn ocorreram em uma ordem de grandeza acima dos obtidos para os outros compostos analisados. Desta forma, para a melhor observação dos valores de todos os compostos, os gráficos apresentados ao longo deste item estão expressos em diferentes escalas.

Os valores médios dos diferentes metais analisados, que estiveram acima de LD, encontrados no tecido muscular dos *C. spixii* em cada área de estudo nas duas estações do ano estão expressos nas figuras 101 e 102. Para *C. parallelus* os valores estão expressos na figura 103 e 104, em µg/g.

Figura 101. Valores médios e desvio padrão de acumulação de As, Zn e Se em tecido muscular de *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Figura 102. Acumulação de metais (Cd, Co, Hg, Pb) em tecido muscular de *C. spixii* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Figura 103. Acumulação de As, Zn e Se em tecido muscular de *C. parallelus* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Figura 104. Acumulação de metais (Cd, Hg, Pb) em tecido muscular de *C. parallelus* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Foram observadas bioacumulações de metais nas duas espécies em todas as áreas de estudo e estações do ano. O elemento As teve sua menor acumulação na região de Santos nas duas espécies. Na maioria dos casos, Zn apresentou os menores valores em Cananéia. Para o Se, a bioacumulação se mostrou variável entre as espécies nas

áreas de estudo e estações do ano. O Pb ocorreu de maneira mais pronunciada em Cananéia, e as regiões de Santos e Paranaguá apresentaram valores de bioacumulação apenas nos músculos dos exemplares de *C. spixii* no inverno. O Hg apresentou menor concentração nos exemplares das duas espécies de Cananéia, enquanto as maiores concentrações foram atribuídas à *C. spixii* de Paranaguá e *C. parallelus* de Santos. O elemento Co (que ocorreu acima de LD apenas em *C. spixii*) apresentou os menores valores para a região de Cananéia. O Cd não ocorreu em nenhuma área de estudo apenas para *C. parallelus* do verão; ocorreu em todas as áreas em *C. spixii* do inverno (Santos obteve o maior valor, seguido de Paranaguá, e Cananéia o menor valor); e ocorreu apenas em Paranaguá em *C. spixii* do verão e *C. parallelus* do inverno.

Para a comparação entre os valores de bioacumulação dos metais obtidos nas áreas de estudo, em cada estação do ano para cada espécie, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis e ANOVA (1 fator). Valores de p estão expressos na tabela 71.

Tabela 71. Valores de p encontrados no teste ANOVA/Kruskal Wallis na comparação entre os níveis de metais (As, Cd, Co, Cr, Hg, Pb, Se e Zn) obtidos no tecido muscular dos exemplares das três áreas de estudo.

	Inverno		Verão	
	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>	<i>Cathorops spixii</i>	<i>Centropomus parallelus</i>
Arsênio	0,0181	0,0016	0,0009	0,0023
Cádmio	0,0885	0,1801	0,1712	-
Cobalto	0,0130	-	0,0951	-
Cromo	-	-	-	-
Mercúrio	0,1651	0,0951	0,0046	0,0054
Chumbo	0,0014	0,1801	0,1801	-
Selênio	0,0045	0,7352	0,0032	0,1712
Zinco	0,0023	0,8489	0,0003	0,0033

Houve diferença significativa entre os níveis de: As, Co, Pb, Se e Zn, das três áreas de estudo para *C. spixii* no inverno; As em *C. spixii* no verão; As, Hg Se e Zn em *C. parallelus* no inverno; e As, Hg e Zn em *C. parallelus* no verão. Diferenças significativas expressas por asterisco nas figuras 106, 107, 108 e 109.

Para a comparação sazonal entre o conjunto de dados de bioacumulação de metais em cada área de estudo para cada espécie foi aplicado o teste t (<0,05). Respectivamente para Cananéia, Paranaguá e Santos, os valores de p obtidos em *C. spixii* foram 0,7607, 0,8493 e 0,8208 e em *C. parallelus* 0,8650, 0,8929 e 0,9759. Deste modo, não houve diferenças sazonais significativas entre as bioacumulações de metais obtidas nas três áreas de estudo para as duas espécies.

Apesar disto, algumas tendências puderam ser observadas a partir das médias de bioacumulação dos elementos analisados e que estiveram acima do limite de detecção. Para *C. spixii*, temos: em Cananéia todos os elementos analisados, exceto o As, apresentaram uma diminuição do inverno para o verão; Paranaguá apresentou aumento em As, Zn, Cd e Se, uma diminuição para o Hg e Pb e manteve-se igual para Co; e em Santos todos os compostos tiveram uma diminuição dos valores. Para *C. parallelus*, temos: Cananéia apresentou diminuição em todos os elementos, exceto Se; em Paranaguá houve aumento nas concentrações de As, Zn e Se e uma diminuição de Cd e Hg; Santos houve diminuição em todos os níveis, exceto Zn. A partir disto pode-se observar que em boa parte dos casos, para as duas espécies, houve uma diminuição dos níveis de acumulação dos diversos metais do inverno para o verão, sendo que os elementos Hg e Pb foram os únicos que apresentaram diminuição em todos os casos neste estudo.

Para a melhor observação dos diferentes níveis de acumulação dos metais analisados nas duas espécies em cada área de estudo, os valores obtidos foram plotados nos gráficos da figura 105.

Figura 105. Acumulação de metais em tecido muscular de *C. spixii* e *C. parallelus* coletados nas três regiões de estudo durante o inverno/08 e verão/09.

Pode ser observado que os níveis de acumulação nos tecidos musculares dos exemplares da espécie *C. parallelus* se mostrou mais pronunciado que na espécie *C. spixii* apenas para Se em Paranaguá no inverno e Cananéia no verão, Hg em Santos (duas estações), e Cd em Paranaguá no inverno. O elemento Pb apresentou níveis de acumulação semelhantes nas duas espécies para a região de Paranaguá no inverno. Todos os outros casos, conferindo a maioria, *C. spixii* bioacumulou metais em maior quantidade.

Assim, para a comparação interespecífica entre o conjunto de dados de bioacumulação de metais obtidos em cada área de estudo em cada estação do ano foi aplicado o teste t (Cananéia nas duas estações e Santos no verão) e o teste de Mann Whitney (Paranaguá nas duas estações do ano e Santos no inverno). Respectivamente para Cananéia, Paranaguá e Santos, os valores de p no inverno foram 0,4690, 0,3720 e 0,3446 e no verão 0,4767, 0,4008 e 0,5378. Deste modo, não houve diferenças significativas entre os conjuntos de dados de metais das duas espécies, para as três áreas de estudo e estações do ano.

A partir dos valores de bioacumulação de cada um dos metais obtidos nas áreas de estudo e estações do ano, foi calculada uma média (e desvio padrão) de bioacumulação em cada uma das espécies, por sua vez expressos na figura 106.

Figura 106. Bioacumulação de metais em tecidos de *C. spixii* e *C. parallelus* coletados em todo o estudo.

Para a comparação interespecífica entre os dados de bioacumulação dos metais obtidos em todo o estudo também foi aplicado o teste t (Hg, Pb e Se) e o teste de Mann Whitney ($p < 0,05$) (As, Cd, Co e Zn). Valores de p expressos na tabela 72.

Tabela 72. Valores de p encontrados no teste t e Mann Whitney ($p < 0,05$) na comparação interespecífica entre os níveis de bioacumulação de metais analisados nos tecidos dos exemplares em todo o estudo.

Composto	p
Arsênio	0,0039
Cádmio	0,1311
Cobalto	0,0163
Cromo	-
Mercúrio	0,1645
Chumbo	0,1860
Selênio	0,2402
Zinco	0,0374

A partir do $p < 0,05$, foram encontradas diferenças interespecíficas significativas entre a bioacumulação de arsênio, cobalto e zinco, de modo que os níveis encontrados para *C. spixii* se mostram maiores que os níveis em *C. parallelus*. Diferenças significativas expressas por asterisco na figura 106.

5.4.5. Comparações entre os dados de bioacumulação

Compostos PAHs e elementos metais foram observados em todos os casos neste estudo. HCHs somente não ocorreram em *C. spixii* de Cananéia no verão. As regiões de Paranaguá no verão (em *C. parallelus*) e Santos no inverno (em *C. spixii*) apresentaram a maior diversidade de compostos e elementos analisados nos tecidos dos organismos (PAHs, PCBs, HCHs, DDTs, clordanas e metais).

Para a comparação estatística entre os conjuntos de dados de todas as análises químicas realizadas (PAHs, organoclorados e metais) foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, comparando-se os conjuntos de dados de bioacumulação de cada grupo de cada área de estudo, onde ocorreram valores acima de LDM, em cada espécie e estação do ano separadamente. Os valores de p obtidos estão expressos na tabelas 73 e 74, para *C. spixii* e *C. parallelus*, respectivamente.

Tabela 73. Valores de p e p(SNK) (somente os significativos) encontrados no teste de Kruskal Wallis na comparação entre os níveis de PAHs, organoclorados e metais, obtidos no tecido muscular dos exemplares de *C. spixii* nas três áreas de estudo em cada uma das estações do ano.

			p	p (SNK)
<i>Cathorops spixii</i>	Inverno	Cananéia	0,0029	0,0007 (1); 0,0456 (3)
		Paranaguá	0,0063	0,0002 (1); 0,0342 (3); 0,0371 (4)
		Santos	0,0027	0,0002 (1); 0,0122 (4)
	Verão	Cananéia	0,0384	0,0065 (1)
		Paranaguá	0,0415	0,0042 (1)
		Santos	0,0021	0,0005 (1); <0,0001 (2); 0,0267 (5)

Tabela 74. Valores de p e p(SNK) (somente os significativos) encontrados no teste de Kruskal Wallis na comparação entre os níveis de PAHs, organoclorados e metais, obtidos no tecido muscular dos exemplares de *C. parallelus* nas três áreas de estudo em cada uma das estações do ano.

		p	p (SNK)
<i>Centropomus parallelus</i>	Inverno	Cananéia	0,0373
		Paranaguá	0,0372
		Santos	0,2726
	Verão	Cananéia	0,3253
		Paranaguá	0,0015
		Santos	0,3931

1 = metais > PAHs; 2 = metais > PCBs; 3 = metais > HCHs; 4 = metais > DDTs;
5 = metais > clordanas; 6 = PAHs > PCBs.

Pode ser observada diferença significativa entre a bioacumulação de metais em relação aos outros compostos na maioria dos casos, de modo que os valores referentes aos metais foram sempre maiores. Além disso, a acumulação de PAHs se mostrou significativamente maior que PCBs em *C. parallelus* de Paranaguá no verão.

Os resultados das razões entre compostos químicos (PAHs e organoclorados) aplicadas neste estudo (descritas no item 4.2.6.3) estão expressas na tabela 75 para *C. spixii* e na tabela 76 para *C. parallelus*. No caso dos PCBs, nas tabelas estão expressas apenas as razões entre o PCB 153 onde o outro congênere se encontra acima do LDM, assim em *C. spixii* não constam resultados.

Tabela 75. Razões entre os compostos químicos PAHs e organoclorados obtidos em fígados de *C. spixii*.

		Paranaguá		Cananéia		Santos	
Razão		Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão
PAHs	Fenantreno/Antraceno	1,00 ^b	1,42 ^b	1,11 ^b	-	-	1,62 ^b
	Fluoranteno/Pireno	-	-	-	-	-	-
Pesticidas Organoclorados	p,p'DDE/ΣDDT	0,54	1,00	-	1,00	1,00	0,72
	p,p'DDT/ΣDDT	0,60 ^a	1,31 ^a	-	2,48 ^a	2,58 ^a	0,50 ^a
	γ-HCH/α-HCH	3,88 ^a	3,60 ^a	2,28 ^a	-	2,86 ^a	4,40 ^a
	ΣDDTs/ΣPCBs	17,06 ^b	7,86 ^b	-	4,14 ^b	3,98 ^b	2,82

^a Composto no numerador - valor LDM

^b Composto no denominador - valor LDM

Tabela 76. Razões entre os compostos químicos PAHs e organoclorados obtidos em fígados de *C. parallelus*.

		Paranaguá		Cananéia		Santos	
Razão		Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão
PAHs	Fenantreno/Antraceno	1,48 ^b	11,70 ^b	-	1,96 ^b	2,21 ^b	6,44 ^b
	Fluoranteno/Pireno	-	0,73 ^a	-	-	-	0,87
PCB “x” ----- PCB 153	PCB 52/ PCB 153	-	2,39	-	-	0,31	-
	PCB 101/ PCB 153	-	-	-	-	0,39	-
	PCB 99/ PCB 153	-	-	-	-	0,35	-
	PCB 118/ PCB 153	-	-	-	-	0,52	-
	PCB 138/ PCB 153	-	-	-	-	0,72	-
	PCB 180/ PCB 153	-	-	-	-	0,33	-
Pesticidas Organoclorados	p,p'DDE/ΣDDT	1,00	1,00	0,70	1,00	-	1,00
	p,p'DDT/ΣDDT	1,11 ^a	1,30 ^a	0,26 ^a	1,51 ^a	-	0,67 ^a
	γ-HCH/α-HCH	5,83 ^a	2,45 ^a	0,85	4,38 ^a	4,19 ^a	0,97 ^b
ΣDDTs/ΣPCBs		9,31 ^b	1,44	38,63 ^b	6,82 ^b	0,04 ^a	15,27 ^b

^a Composto no numerador - valor LDM

^b Composto no denominador - valor LDM

De acordo com as razão fenantreno/antraceno, a região Paranaguá no verão (para *C. parallelus*) obteve valor acima de 10 (11,7) e, para a razão fluoranteno/pireno tanto Paranaguá quanto Santos no verão os valores estiveram abaixo de 1 (0,72 e 0,87, respectivamente). Estes resultados caracterizam uma maior contaminação por PAHs de origem petrogênica. Em todos os outros casos, inclusive no caso de Santos no verão (*C. parallelus*), a razão fenantreno/antraceno se mostrou abaixo de 10, o que caracteriza contaminação de origem pirogênica.

A partir do nível de acumulação de PAHs totais, exceto para a região de Santos e Paranaguá no verão, os valores se mantiveram entre 7,3 e 34,7 ng/g peso úmido, encaixando-se na classificação de baixo nível de poluição, proposto por Baumard *et al.* (1998b), para este composto. Santos e Paranaguá no verão, por sua vez, encaixam-se no nível moderado de poluição.

Uma vez que os resultados das razões PCB “x” / PCB 153 se mostraram menores do que 1,0, todos os compostos PCBs que estiveram acima de LDM em *C. parallelus* de Santos no inverno são melhor metabolizados pelos organismos em relação ao congênere 153. O contrário ocorreu em Paranaguá no verão para o PCB 52, se mostrando menos metabolizável que o congênere 153.

Os resultados mais baixos da razão γ-HCH/α-HCH aplicada no presente estudo indicou contaminação de todas as regiões estudadas pelo composto Lindano, exceto para *C. parallelus* de Cananéia (inverno) e Santos (verão) onde os resultados mais altos indicaram a contaminação por mistura técnica.

Os resultados $>1,0$ da razão $\sum\text{DDT}/\sum\text{PCB}$ indicou a maior influência de aportes de origem agrícola em todas as áreas de estudo, exceto para *C. parallelus* na região de Santos, onde o resultado $<1,0$ da razão indicou maior impacto de aportes de origem industrial.

Para *C. parallelus* o maior valor de clordanas totais (CHL) obtido (10,9 ng/g peso úmido) esteve abaixo do maior valor de DDT total (19,79 ng/g peso úmido) e acima do máximo de HCH total (5,95 ng/g peso úmido) obtido neste estudo (padrão $\text{DDT} > \text{CHL} > \text{HCH}$), enquanto que em *C. spixii* as clordanas (14,2 ng/g peso úmido) estiveram acima do máximo de DDT (9,83 ng/g peso úmido) que, por sua vez, esteve acima dos HCHs (4,49 ng/g peso úmido) obtidos neste estudo (padrão $\text{CHL} > \text{DDT} > \text{HCH}$).

Através das maiores concentrações obtidas dos compostos PAHs, PCBs e de cada POCs avaliados nos fígados de cada espécie, pode se observar o seguinte padrão de acumulação em *C. spixii* $\text{PAHs} > \text{CLH} > \text{DDT} > \text{HCH} > \text{PCB} > \text{Demais POCs}$. Para *C. parallelus*, por sua vez, o padrão obtido foi $\text{PAHs} > \text{PCB} > \text{DDT} > \text{CLH} > \text{HCH} > \text{Demais POCs}$.

5.4.6. Legislação

Em relação aos compostos PAHs e organoclorados analisados no presente estudo que se têm registro nas legislações nacionais e internacionais para consumo humano (previamente citadas no item 4.2.6.4) temos que a bioacumulação de PCBs totais em fígados de *C. parallelus* de Santos no inverno esteve acima dos limites permitidos pela USEPA (Environmental Protection Agency dos Estados Unidos).

Em relação aos metais analisados neste estudo, pode-se notar que o arsênio e selênio se encontraram acima dos limites recomendados. O elemento As ultrapassou os limites da legislação brasileira em todos os casos para *C. spixii*. O Se ultrapassou limites da legislação brasileira em Paranaguá (verão) e Santos (inverno) para as duas espécies, Cananéia (verão) e Paranaguá (inverno) em *C. parallelus*, Cananéia (inverno) e Santos (verão) em *C. spixii*; demais valores estiveram muito próximos aos valores recomendados. Para o elemento Zn, os níveis em *C. spixii* deste estudo estiveram dentro do intervalo de concentrações recomendados pela USEPA (exceto Cananéia no verão que esteve abaixo deste limite), porém abaixo do permitido na legislação brasileira,

assim como todos os outros resultados. No mais, todos os níveis estiveram abaixo dos sugeridos nas legislações nacionais e internacionais.

5.5. Bioacumulação e citogenotoxicidade: Análise Fatorial (ACP-AF)

O conjunto de dados original considerou dois parâmetros biológicos (frequência de MN e NA), doze parâmetros químicos (PAHs totais, PCBs totais, HCHs totais, DDTs totais, clordanas totais, As, Cd, Co, Hg, Pb, Se e Zn) para *C. spixii* e onze parâmetros químicos para *C. parallelus* (PAHs totais, PCBs totais, HCHs totais, DDTs totais, clordanas totais, As, Cd, Hg, Pb, Se e Zn). Os compostos e elementos que apresentaram valores abaixo de LDM em todos os casos, não foram empregados nas matrizes de análise, por sua vez, presentes nas tabelas 77 e 78, para *C. spixii* e *C. parallelus*, respectivamente.

Tabela 77. Matriz para Análise Fatorial (método de Análise de Componentes Principais - ACP) com dados obtidos em *C. spixii*.

Áreas e estações do ano	Variáveis											
	MN	AN	PAH	PCB	HCH	DDT	Clordana	As	Cd	Co	Hg	Pb
Cananéia Inverno	0,008	0,380	12,3	0	2,33	0	0	4,5	0,002	0,02	0,0220	0,0405
Paranaguá Inverno	0,013	0,510	25,4	0	3,96	8,7	14,2	5,4	0,002	0,025	0,0220	0,0280
Santos Inverno	0,015	0,810	21,4	0	2,92	2	0	2,7	0,003	0,028	0,0180	0,0170
Cananéia Verão	0,003	0,243	7,27	0	0	2,1	3,50	7,0	0	0	0,0119	0,0400
Paranaguá Verão	0,000	0,120	7,27	0	3,66	4	0	6,6	0,002	0,025	0,0188	0
Santos Verão	0,003	0,308	21,5	3,5	4,49	9,8	8,64	2,5	0	0,022	0,0160	0

Tabela 78. Matriz para Análise Fatorial (método de Análise de Componentes Principais - ACP) com dados obtidos em *C. parallelus*.

Áreas e estações do ano	Variáveis											
	MN	AN	PAH	PCB	HCH	DDT	Clordana	As	Cd	Co	Hg	Pb
Cananéia Inverno	0,058	1,096	19,4	0	5,72	20	4,1	0,700	0	0,0072	0,04	0,28
Paranaguá Inverno	0,057	1,986	22,9	0	5,95	4,8	0	0,200	0,002	0,0092	0	0,30
Santos Inverno	0,300	7,397	34,7	50	4,28	0	0	0,300	0	0,0257	0	0,31
Cananéia Verão	0,130	3,973	26,3	0	4,47	3,5	0	0,240	0	0,0056	0	0,34
Paranaguá Verão	0,136	4,686	467,0	2,8	2,50	4	10,9	0,214	0	0,0075	0	0,34
Santos Verão	0,167	5,439	240,0	0	2,29	7,8	4,4	0,138	0	0,0200	0	0,25

Os resultados extraídos para cada componente principal nas duas espécies estão expressos nas tabelas 79, 80 e 81.

Tabela 79. Resultado extraído para cada componente principal, para as duas espécies.

Espécie	Fator	Extração: Componentes Principais			
		Autovalores			
		Autovalores	% Total variância	Autovalores acumulados	% acumulada
<i>Cathorops spixii</i>	1	5,547026	39,62162	5,54703	39,62162
	2	3,765485	26,89632	9,31251	66,51794
	3	2,826332	20,18809	12,13884	86,70602
<i>Centropomus parallelus</i>	1	5,165511	39,73470	5,16551	39,73470
	2	3,504241	26,95570	8,66975	66,69040
	3	2,318115	17,83165	10,98787	84,52205

Tabela 80. *Factor Loadings* extraídos para cada um dos 3 Fatores principais, para as duas espécies.

Variáveis	Factor Loadings (Varimax normalized)					
	Extração: Componentes Principais					
	Autovalores					
	<i>Cathorops spixii</i>			<i>Centropomus parallelus</i>		
	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 1	Fator 2	Fator 3
MN	-0,07	0,10	0,98	-0,966826	0,055261	0,212112
AN	0,01	0,09	0,90	-0,882703	0,241881	0,393217
PAH	0,30	0,68	0,66	0,051631	0,957697	0,262458
PCB	0,42	0,69	-0,39	-0,874520	-0,240241	0,043658
HCH	0,88	0,36	0,19	0,361124	-0,834326	-0,289365
DDT	0,42	0,85	-0,12	0,433150	0,063159	-0,887443
Clordana	-0,03	0,89	0,13	0,210029	0,945638	-0,099404
As	-0,47	-0,36	-0,42	0,154015	-0,202347	-0,902790
Cd	0,39	-0,57	0,69	0,480562	-0,466889	0,367346
Co	0,84	-0,02	0,53	-	-	-
Hg	0,38	-0,12	0,62	-0,914659	-0,014989	0,016707
Pb	-0,90	-0,12	0,30	0,280925	-0,090841	-0,943379
Se	0,55	-0,82	-0,16	0,137662	-0,035439	0,519129
Zn	0,85	-0,23	0,46	0,008437	0,887148	-0,086016

Tabela 81. *Factor Scores* extraídos para cada um dos locais de coleta, para cada espécie.

Espécies	Áreas e estações do ano	Factor Scores (PCA)		
		Rotation: Varimax normalized		
		Extração: Componentes principais		
		Fator 1	Fator 2	Fator 3
<i>Cathorops spixii</i>	Cananéia Inverno	-0,38371	-0,70078	0,366270
	Paranaguá Inverno	-0,17309	0,99014	0,982438
	Santos Inverno	0,32796	-0,51703	1,268641
	Cananéia Verão	-1,68940	-0,04385	-0,912045
	Paranaguá Verão	1,06250	-1,13358	-0,904398
	Santos Verão	0,85574	1,40510	-0,800906
<i>Centropomus parallelus</i>	Cananéia Inverno	0,57344	-0,185428	-1,92566
	Paranaguá Inverno	0,98094	-0,953032	0,74984
	Santos Inverno	-1,79005	-0,576315	0,05663
	Cananéia Verão	0,32940	-0,700220	0,63752
	Paranaguá Verão	0,39571	1,606745	0,56014
	Santos Verão	-0,48944	0,808250	-0,07847

Através da Análise de Componentes Principais, os dados de bioacumulação e as respostas dos biomarcadores obtidas nas duas espécies foram representados por 3 fatores principais (tabela 79), os quais representaram, respectivamente para *C. spixii* e *C. parallelus*, 86,7 % e 84,5% da variância total do conjunto inicial de dados. Cada fator é descrito a seguir de acordo com o grupo de variáveis associadas.

O primeiro fator (F1) é predominante e representa 39,6 e 39,7% (respectivamente para *C. spixii* e *C. parallelus*) da variância total dos dados.

Em *C. spixii*, a este fator estão associadas de forma significativa as concentrações de PCBs, HCHs, DDTs com os metais Co, Se e Zn, porém não foram associados ao biomarcadores citogenotóxicos. O F1 é representativo para as regiões de Santos nas duas estações e Paranaguá no verão, os quais apresentaram *Scores* positivos, conforme demonstram as tabelas 80 e 81.

Em *C. parallelus*, ao fator 1 estão associadas de forma significativa as concentrações de PCBs e Hg, associados ao biomarcadores citogenotóxicos (valores negativos). O F1 é representativo apenas para a região de Santos nas duas estações, os quais apresentaram *Scores* negativos, conforme demonstram as tabelas 80 e 81.

O segundo fator (F2) representa 26,9 e 27% (respectivamente para *C. spixii* e *C. parallelus*) da variância total dos dados.

Em *C. spixii*, a este fator estão associadas de forma significativa as concentrações de PAHs e organoclorados (exceto HCH) e, assim como o F1, não foram associados ao biomarcadores citogenotóxicos. O F2 é representativo para as regiões de Santos no verão e Paranaguá no inverno, os quais apresentaram *Scores* positivos, conforme demonstram as tabelas 80 e 81.

Em *C. parallelus*, ao fator 2 estão associadas de forma significativa as concentrações de PAHs, clordanas e Zn, porém não foram associadas aos biomarcadores. O F2 é representativo apenas para a região de Santos e Paranaguá, ambas no verão, as quais apresentaram *Scores* positivos, conforme demonstram as tabelas 80 e 81.

O terceiro fator (F3) representa 20,2 e 17,8% (respectivamente para *C. spixii* e *C. parallelus*) da variância total dos dados.

Em *C. spixii*, a este fator estão associadas de forma significativa as concentrações de PAHs, Cd, Co, Hg e Zn, associados ao biomarcadores citogenotóxicos MN e AN. O F3 é representativo para as três regiões de estudo na época do inverno, os quais apresentaram *Scores* positivos, conforme demonstram as tabelas 80 e 81.

Em *C. parallelus*, ao fator 3 nenhuma associação significativa foi determinada. As concentrações de PAHs, clordanas e Zn, porém não foram associadas aos biomarcadores. O F3 é representativo apenas para a região de Santos e Paranaguá, ambas no verão, as quais apresentaram *Scores* positivos, conforme demonstram as tabelas 80 e 81.

6. Discussão

Devido às atividades industriais e a urbanização, os estuários e zonas costeiras são impactados diariamente por uma gama de compostos químicos e despejos que reduzem a qualidade dos diferentes compartimentos ambientais, comprometendo a saúde de seus habitantes, o ecossistema como um todo e afetando inclusive a saúde humana.

A preocupação com a toxicidade dos xenobióticos no ambiente aquático vem crescendo a cada dia, para tanto, os peixes que ocupam estas áreas têm sido propostos como sentinelas para o monitoramento ambiental através de ensaios com biomarcadores sensíveis (Amado *et al.*, 2006) como as Anomalias Nucleares (AN) e Micronúcleo (MN) que detectam a citogenotoxicidade.

A interação das genotoxinas com o DNA causa danos muitas vezes irreversíveis que podem ainda ser transmitidos para outros níveis de organização biológica. Neste contexto, a avaliação da genotoxicidade ambiental fornece informações sobre os primeiros sinais biológicos que desencadeiam os efeitos adversos de longo prazo (Rybakovas *et al.*, 2009). Muitos são os biomarcadores utilizados para este fim e dentre eles o MN e AN têm se mostrado ferramentas importantes e sensíveis de avaliação da exposição dos organismos a poluentes ambientais (Silva *et al.*, 2009; Yadav & Trivedi, 2009), podendo ser aplicados tanto em avaliações *in situ* (Al-Sabti & Hardig, 1990; Petrapiana *et al.*, 2002; Mallick & Khuda-Bukhsh, 2003; Russo *et al.*, 2004; Andrade *et al.*, 2004; Çavas & Ergene-Gözükara, 2005b; Matsumoto *et al.*, 2006; Amado *et al.*, 2006; Rybakovas *et al.*, *op. cit.*; Kirschbaum *et al.*, 2009; Barbosa *et al.*, 2010) quanto em condições laboratoriais (Al-Sabti, 1994; Ayllón & Garcia-Vazquez, 2000; Pacheco & Santos, 2002; Diekmann *et al.*, 2004; Çavas *et al.*, *op. cit.*; Çavas, *op. cit.*; Yadav & Trivedi, *op. cit.*), além de aplicações em estudos *in vitro* (Andrade *et al.*, 2004; Hashimoto *et al.*, 2010).

Estudos de genotoxicidade em peixes são realizados geralmente em eritrócitos devido a sua fácil obtenção e observação (Al Sabti, 1986; Çavas *et al.* 2005; Çavas, 2008, Grisolia *et al.*, 2009).

Uma das principais vantagens da utilização de teleósteos em estudos ambientais consiste no fato de responderem de maneira similar aos vertebrados superiores, podendo os resultados ser utilizados como referência para os efeitos de compostos teratogênicos e carcinogênicos em humanos (Al-Sabti & Metcalfe, 1995;

Çavas & Ergene-Gözükara, 2005b). Além disso, desempenham diferentes papéis na cadeia trófica sofrendo bioacumulação de vários compostos tóxicos e respondem sensivelmente à inúmeros agentes mutagênicos/carcinogênicos ambientais em baixas concentrações (Kocan *et al.*, 1985; Al-Sabti & Metcalfe, *op. cit.*).

Durante campanhas de coleta dos organismos do presente estudo, a captura de *C. parallelus* juvenis se mostrou mais difícil que a captura de *C. spixii*, acarretando em baixo número amostral, principalmente no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá, e tornando necessária a utilização de diversas artes de pesca conforme o exposto no item 4.2.1.

Provavelmente, esta dificuldade deve-se primeiramente ao hábito de vida dos robalos-peva juvenis nas regiões de berçário (habitat primário). Nesta fase da vida, os organismos preferem locais de águas rasas e mais quentes, como córregos e canais de drenagem, com baixa corrente (Rodrigues, 2005), beirando o manguezal onde buscam abrigo e proteção sob as raízes do mangue, dificultando assim o acesso da embarcação a estes locais e a captura dos organismos em redes como a tarrafa.

Segundo pescadores do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá em comunicação pessoal, outra característica determinante é a agilidade destes organismos, o que facilita sua fuga em redes de picaré, cerco, arrasto e pesca com vara.

Na tentativa de minimizar estas dificuldades impostas pela bioecologia dos *C. parallellus*, as capturas foram realizadas preferencialmente na maré baixa, promovendo uma redução da área de fuga dos organismos, encurralando-os em poças e abaixo das raízes. Aliado a isto, o CEP compreende uma área muito extensa impossibilitando assim a investida em diferentes pontos do estuário em um mesmo dia, prolongando o tempo de duração da campanha de coleta.

Uma menor frequência de captura de *C. parallelus* em relação aos *C. spixii* também pode ser observada em amostragens de ictiofauna já realizadas no CEP em estudos de abundância e padrões temporais como os de Corrêa (1987) e Spach *et al.* (2003). Nota-se que os *Centropomus* estão entre os grupos de menor contribuição percentual e menor frequência relativa na captura ao longo do ano. Em contraste, como pode ser observado nos estudos de Corrêa (1987), Nakayama (2004) e Queiroz *et al.* (2006), os Ariides são organismos comumente encontrados em arrastos realizados na região, com alta contribuição nas capturas, sendo caracterizado como um dos grupos mais abundantes da ictiofauna demersal.

6.1. Variáveis biométricas, sexo e maturação gonadal

6.1.1. Primeira campanha: Inverno/2008

Em relação as variáveis biométricas, pode ser observado que os *C. parallelus* provenientes da região de Santos se mostraram maiores e mais pesados em relação as outras áreas de estudo. No entanto, este resultado não exerceu influência nos níveis de danos citogenotóxicos obtidos desde que nenhuma correlação foi observada entre estas variáveis e os biomarcadores MN e AN, nesta campanha.

Em contraste, estas variáveis biométricas se correlacionaram positivamente com as taxas de AN para os bagres de Santos sugerindo que quanto maior o organismo, maiores os valores de AN nos eritrócitos dos peixes.

Como já discutido anteriormente, segundo Zagatto & Bertoletti (2006) o peso e a idade dos organismos são fatores que podem influenciar na resposta à toxicidade. Espera-se que peixes mais jovens, geralmente menores em comprimento e peso, apresentem taxas metabólicas (Chapman & Wang, 2001) e índice mitótico mais elevados em relação aos organismos adultos, estando assim predispostos a maiores taxas de danos ao DNA, ao contrário do que foi observado para os bagres de Santos deste estudo. Sendo assim, esta correlação deve ser melhor investigada a partir de mais estudos, uma vez que o fato se mostrou isolado a este caso.

O sexo não influenciou nos resultados das variáveis biométricas e citogenotóxicas, enquanto que os estádios de maturação gonadal A e B parecem influenciar nas variáveis peso total e AN apenas para *C. parallelus* de Cananéia.

Em relação à influência do estágio de maturação nos valores de AN, temos que a partir do momento em que a gônada dos peixes passa do estágio A para o estágio B, há um aumento da vascularização no local que implica no início do processo de maturação das células germinativas (Vazzoler, 1996; Zavala-Camin, 2004). Nisto, segundo Tavares-Dias & Moraes (2004), um intenso processo de divisões celulares é desencadeado, visando um aumento do número de eritrócitos circulantes no sangue (Er) a fim de suprir a demanda energética das gônadas nesta fase. Assim, as ANs podem ter sido formadas naturalmente durante estas divisões celulares sucessivas, justificando os maiores valores encontrados neste estudo para estes biomarcadores nos robalos-peva de Cananéia em estágio B de maturação comparados àqueles em estágio A.

Entretanto, após ter acesso aos resultados ainda não publicados do estudo de avaliação hematológica (supervisionado por Robson Seriani¹) realizado juntamente às campanhas de coletas de dados deste trabalho, nas regiões de Santos e Cananéia para *C. spixii* e *C. parallelus* nas duas estações do ano, pode ser observado que os valores de eritrócitos totais (Er) presentes na mesma alíquota de sangue coletada destes mesmos exemplares de *C. parallelus* de Cananéia não apresentaram diferença significativa entre os indivíduos em estágio A e dos indivíduos em estágio B. Além disso, nenhuma correlação significativa foi encontrada entre os valores de Er e dos biomarcadores analisados. Deste modo, a variável Er parece não exercer de fato influência nos resultados de AN dos organismos (bem como nas de MN) conforme o mecanismo descrito no parágrafo anterior.

Ainda, tendo em vista que este fato se mostrou isolado neste trabalho ocorrendo apenas para a espécie *C. parallelus* da região de Cananéia, mais estudos devem ser realizados no âmbito da influência do estágio de maturação gonadal nas taxas de AN.

Segundo Zagatto & Bertolotti (2006) e Al-Sabti & Metcalfe (1995) são vários os fatores que podem influenciar na biotransformação e toxicidade dos xenobióticos, e dentre os chamados fatores internos estão o sexo, peso, idade e status reprodutivo dos organismos.

Desde que não foram observadas influências das características dos organismos, abordadas neste item, sobre as variáveis citogenotóxicas (salvo raras exceções estatísticas já discutidas), provavelmente as alterações genéticas encontradas nas duas espécies estudadas em cada um dos estuários estejam principalmente vinculadas às condições do próprio ambiente em que viviam estes exemplares e à resposta intrínseca destas diferentes espécies frente à contaminação.

6.1.2. Segunda campanha: Verão/2009

Em relação as variáveis biométricas, pode ser observado que apenas os *C. parallelus* provenientes da região de Santos se mostraram maiores e mais pesados que os robalos de Paranaguá. No entanto, este resultado não exerceu influência nos níveis

¹ Aluno de pós-graduação do Departamento de Fisiopatologia da FMUSP.

citogenotóxicos obtidos, pois nenhuma correlação foi observada entre estas variáveis e os biomarcadores MN e AN, nesta campanha.

O sexo não influenciou nos resultados das variáveis biométricas e citogenotóxicas. Enquanto que para as duas espécies na região de Santos, os estádios de maturação A e D parecem influenciar nas variáveis comprimento e peso total, porém não houve influência nos resultados dos biomarcadores.

Conforme já observado na campanha do inverno, desde que não foram observadas estatisticamente influências das características dos organismos abordadas neste item, sobre as variáveis citogenotóxicas, provavelmente as alterações genéticas encontradas nas duas espécies estudadas em cada um dos estuários estão vinculadas principalmente às condições do próprio ambiente em que viviam estes exemplares e à resposta intrínseca destas diferentes espécies frente à contaminação.

6.2. Citogenotoxicidade

Os valores de MN em robalos-peva coletados na região de Santos no inverno se mostraram significativamente maiores do que os obtidos na região de Cananéia ($p=0,0006$), e Paranaguá ($p=0,0064$), representando um aumento de pouco mais de 5 vezes para os dois casos. Já para as ANs, os valores para a região de Santos também se mostraram significativamente maiores que a região de Cananéia ($p<0,0001$) e Paranaguá ($p=0,0102$), representando um aumento aproximado de 8 vezes e 4 vezes, respectivamente. Ainda para esta estação do ano, ANs em bagres-amarelos coletados em Santos também diferiram significativamente das taxas obtidas em Cananéia ($p=0,0007$), representando um aumento de pouco mais de 2 vezes.

No verão, apenas nos valores de AN em bagre-amarelo foram detectadas diferenças significativas ($p=0,0000$). Os organismos coletados na região de Santos no verão mostraram taxas 1,3 vezes maiores que os da região de Cananéia ($p=0,0160$) e aproximadamente 3 vezes maiores que a região de Paranaguá ($p<0,0001$). Ainda foram encontrados para Paranaguá valores de AN 2 vezes menores que os de Cananéia ($p<0,0046$).

A partir dos resultados obtidos nas duas épocas do ano, nota-se que os maiores valores dos biomarcadores MN e AN analisados foram conferidos aos organismos das duas espécies coletados na região de Santos nas duas estações do ano estudadas, por

vezes se mostrando significativamente maiores que os encontrados em Cananéia e Paranaguá.

Segundo Sousa *et al.* (2008) a região de Santos é reconhecida como um ambiente altamente perturbado e poluído. Sua contaminação é oriunda principalmente das indústrias, do sistema de deposição oceânica, esgotos clandestinos, alta densidade populacional e operações portuárias que induzem a perturbação ambiental na área. Abriga contaminantes em concentrações suficientes para causar efeitos biológicos como constatado por Lamparelli *et al.* (2001), Abessa (2002), Cesar *et al.* (2006), Abessa *et al.* (2008) e recentemente documentado em Kirschbaum *et al.* (2009).

De acordo com estes estudos, amostras de sedimento oriundos do Complexo Estuarino de e Santos e São Vicente apresentaram níveis de cobre ($\text{Cu} = 53,8 \mu\text{g.g}^{-1}$), zinco ($\text{Zn} = 125 \mu\text{g.g}^{-1}$) e chumbo ($\text{Pb} = 105 \mu\text{g.g}^{-1}$) entre o limiar de efeito (*Threshold Effect Level* - TEL) e o nível de efeito provável (*Probable Effect Level* - PEL) na biota (limites estabelecidos pelo Canadian Council of Ministers of the Environment, 1999). Os níveis de mercúrio ($\text{Hg} = 1,36 \mu\text{g.g}^{-1}$) estiveram acima de PEL. Ainda, PAHs como benzo(a)pireno ($198 - 206 \mu\text{g.g}^{-1}$) e dibenzo(a)antraceno ($87,4 - 90,9 \mu\text{g.kg}^{-1}$) estiveram acima de TEL. Em Nishigima *et al.* (2001) foi constatada a presença de PAHs no sedimento da região de Santos em todas as estações amostradas e em níveis que podem causar efeitos carcinogênicos e teratogênicos.

Estes contaminantes são capazes de induzir danos a níveis moleculares, bioquímicos, celulares e fisiológicos, acarretando prejuízos reprodutivos, desenvolvimento anormal do indivíduo, câncer, mutações letais bem como alterações de variabilidade genética (Dickmann *et al.*, 2004), contribuindo então para os efeitos citogenotóxicos nos organismos estudados e corroborando os altos níveis dos biomarcadores MN e AN encontrados nas duas espécies estudadas na região de Santos, em comparação aos encontrados nas regiões de Cananéia e Paranaguá.

Uma maior incidência de danos em DNA através da análise de MN e AN em eritrócitos de *C. parallelus* provenientes da região de Santos em relação aos exemplares coletados na região de Cananéia já foi documentada em Kirschbaum *et al.* (2009) para o inverno/2006 e verão/2007, diferindo significativamente entre si para $p < 0,05$. Estabelecendo comparação entre os dados dos biomarcadores obtidos para a região de Santos em Kirschbaum *et al.* (*op. cit*) e os do presente estudo foi possível notar que as frequências de MNs para o inverno e verão se mostram semelhantes ao obtido em Kirschbaum *et al.* (*op. cit*) (0,325 e 0,125, respectivamente), enquanto que as

frequências de ANs deste estudo são maiores que as obtidas em Kirschbaum *et al.* (*op. cit.*) (3,575 e 2,935, respectivamente). Para a região de Cananéia, todas as frequências de MN (0,0325 e 0,065) e AN (0,03 e 0,355) obtidas no estudo de Kirschbaum *et al.* (2009) se mostram menores em relação às obtidas neste estudo, o que pode indicar um aumento nos níveis de degradação ambiental nesta região ao longo destes anos, já evidenciado pelos maiores níveis de danos genéticos em *C. parallelus*.

O estudo de Azevedo (2008) encontrou diferenças significativas entre os níveis de alterações nucleares eritrocitárias (MN+ANs) em *C. spixii* coletados na região de Cananéia em relação à região de Santos, de modo que peixes de Cananéia obtiveram os menores valores. As médias de MN obtidas no inverno para esta espécie foram: 0 (Cananéia), 0,10 (Baía de Santos), 0,06 (Canal de Santos) e 0,14 (Canal de São Vicente), colocando-se assim pouco abaixo dos resultados obtidos no presente estudo.

O estudo com exemplares da Família Centropomidae realizado por Mallick & Khuda-Bukhsh (2003), na Índia, também constatou um aumento significativo ($p < 0,001$) nos valores destes mesmos biomarcadores (em eritrócitos) em regiões com maior grau de contaminação (Canning e Kakdwip) em relação à área de referência (Haldia). Para a espécie *Lates calcarifer* (Robalo – Asiático; Família Centropomidae) foram encontrados níveis seis vezes maiores de MN (para um controle de aproximadamente 0,11%) e pouco mais que o dobro de AN (para um controle de 4%) nas regiões impactadas. Nesse mesmo estudo, peixes da espécie *Liza tade* apresentaram o maior valor de MN (aumento de 7 vezes - controle de aproximadamente 0,1%) e *Terapon jarbua* o maior valor de AN (aumento de 5 vezes - controle aproximadamente 0,1%). Canning e Kakdwip são regiões impactadas pelas mesmas fontes antrópicas que a região de Santos.

Çavas & Ergene-Gözükara (2005b) encontraram resultados significativamente maiores ($p < 0,001$) de MN e AN em eritrócitos de taíñas (*Mugil cephalus*) coletadas em duas regiões na província de Mersin (Turquia - Mar Mediterrâneo) impactadas por indústrias de produção de cromo, soda, refinarias de petróleo (Karaduvar) e por intenso tráfego de navios (Mersin Harbour), em relação à área de referência (Erdemli), de modo que, para o inverno em Karaduvar, Mersin Harbour e Erdemli foram obtidas, respectivamente, frequências de MN 4,01, 3,52 e 0,82 e de ANs 2,82, 2,65 e 0,95, e para o verão frequências de MN 7,05, 6,56 e 2,07 e frequências de AN 5,09, 4,67 e 2,78.

Rybakovas *et al.* (2009), em estudo de MN em eritrócitos de linguados *Paralichthys flesus* coletados no Mar Báltico (impactada principalmente por intenso

tráfego de navios e poluentes trazidos pelos rios da região), obtiveram frequências significativamente maiores ($p < 0,0001$) nas amostras de peixes referentes aos pontos com maior grau de contaminação, sendo 0,33% a maior frequência obtida. Neste mesmo estudo, solhas *Limanda limanda* coletadas no Mar do Norte (região impactada por tráfego de navios, porto, urbanização e plataformas de extração de petróleo e gás) apresentaram o mesmo padrão de resposta, sendo 0,5% a maior frequência obtida para a região vinculada à extração de óleo.

Outro trabalho no Mar Báltico, realizado por Al-Sabti & Hardig (1990) com percas (*Perca fluviatilis*), demonstrou que quanto mais próximo ao ponto de despejo de esgoto do Golfo de Bothnia maiores as frequências de MN encontradas nos eritrócitos dos peixes coletados.

De modo semelhante, Souza & Fontanetti (2006) constataram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as frequências de MN obtidas para tilápias (*Oreochromis niloticus*) expostas por 72 horas a amostras de água coletadas, durante o outono e inverno (0,18 e 0,31, respectivamente), próximo ao despejo de efluentes de uma refinaria de petróleo no Rio Paraíba do Sul em São José dos Campos - SP, em relação às frequências obtidas para os organismos expostos à água controle (0,0067 e 0,02, respectivamente).

Andrade *et al.* (2004) no Rio Grande do Sul (Brasil), por sua vez, em estudo de MN em eritrócitos de tainhas *Mugil* sp e bagres *Netuma* sp coletados em Tramandaí e Mampituba, regiões impactadas principalmente pelo aumento populacional e conseqüente despejo de poluentes durante o verão, e na Lagoa do Armazém considerada como referência, obteve frequências anuais de MN (para 4000 células) respectivamente em Tramandaí e Mampituba e Lagoa do Armazém de 1,5, 1,4 e 0,6, para a tainha (frequências de Tramandaí e Mampituba significativamente maiores que o controle, $p < 0,05$), e de 1,4, 1,2 e 0,5 para o bagre. Neste mesmo estudo, os níveis de danos genotóxicos a partir do teste do cometa para as duas espécies seguiram o mesmo padrão de resposta, para $p < 0,05$.

Resultados semelhantes ainda foram encontrados no estudo de Russo *et al.* (2004) na Itália para MN em eritrócitos de peixes gambusia (*Gambusia holbrooki*) coletados em duas regiões, sendo uma delas impactada por inúmeros poluentes, muitos deles genotóxicos (Sarno River - frequência aproximada de 0,95), e a outra considerada como referência (Astroni - frequência aproximada de 0,2), frequências estas significativamente diferentes ($p < 0,05$). Neste mesmo estudo, os níveis de danos

genotóxicos a partir do teste do cometa seguiram o mesmo padrão de resposta, de modo que o comprimento da cauda obtido foi de 7,5 e 2,6 μm , Sarno e Astroni, respectivamente, sendo significativamente diferentes ($p < 0,001$).

Ainda, Woo *et al.* (2006), em estudo na Coreia, expôs *in vitro* eritrócitos de linguados *Paralichthys olivaceus* a extratos de sedimentos coletados ao longo da costa de Gwangyang Bay, caracterizada por abrigar um extenso parque industrial composto principalmente por indústrias de aço e complexo petroquímico. Através da análise do teste do cometa, os maiores comprimentos de cauda foram conferidos ao grupo de células exposto aos extratos de sedimentos coletados nos pontos de maior grau de contaminação, diferindo significativamente do controle (células expostas à água limpa; $p < 0,05$).

Assim, tendo em vista que a análise de MN e AN nos eritrócitos dos peixes possibilitou a observação de danos genéticos significativamente maiores em regiões mais impactadas em relação a situações consideradas como referências, conforme o obtido neste e em outros estudos, estes biomarcadores, aplicados inclusive a estes sistemas, podem ser considerados ferramentas sensíveis e, deste modo, úteis e eficientes em avaliações da genotoxicidade ambiental, bem como no monitoramento da qualidade da água (Al-Sabti & Metcalfe, 1995). Além disso, tem se mostrado um método rápido, prático, de fácil observação e baixo custo.

Analizando-se os resultados dos biomarcadores MN e AN obtidos neste estudo para exemplares coletados nas três regiões de estudo, nota-se que os valores em Paranaguá tendem a ocupar posição intermediária àquelas obtidas em Santos e Cananéia, mesmo não sendo observadas diferenças significativas entre os dados, demonstrando que a condição ambiental do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá também é capaz de causar efeitos citogenotóxicos nos organismos estudados, porém em menor grau que o obtido no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente.

O CEP é uma área comprometida ambientalmente, abrigando adensamento urbano (principalmente na cidade de Paranaguá) bem como atividades industriais e portuárias, o que contribui com a presença de contaminantes em concentrações capazes de causar efeitos à biota, como constatado por Choueri *et al.* (2009) e Santos *et al.* (2009).

No estudo de Choueri (*op. cit.*) foi observada uma maior contaminação por metais nos sedimentos coletados no CEP. Além de detectadas altas concentrações de cobre ($\text{Cu} = 16,20 \text{ ppm}$) e chumbo ($\text{Pb} = 29,75 \text{ ppm}$), as maiores concentrações de

arsênio (As = 8,33 ppm), níquel (Ni = 21,90 ppm) e cromo (Cr = 58,00 ppm) estiveram acima de TEL. Ainda neste estudo, PCBs e PAHs ocorreram em baixas concentrações, portanto, não são os compostos prioritários do CEP. Em Santos *et al.* (2009) foi constatada a presença de compostos organoestênicos, como TBT, DBT, MBT, entre outros, utilizados como biocidas em embarcações, em atividades industriais e agrícolas. Estes compostos foram introduzidos no ambiente por efluentes urbanos e industriais, sendo detectados em todas as amostras de sedimento coletadas, sendo que os maiores valores foram atribuídos à região do Porto de Paranaguá, em concentrações capazes de causar danos à organismos aquáticos e bentônicos.

Froehner & Maceno (2010) encontraram PCBs em água e sedimento coletados na Baía de Paranaguá em concentrações $0,82 \pm 0,1$ ng/L e $17 \pm 0,5$ µ/g (peso seco). Neste mesmo estudo, as concentrações em água ultrapassaram o limite máximo permitido de 0,0064 ng/L presente na Resolução 357/2005 do CONAMA. Em Froehner *et al.* (2010) foram observadas concentrações de PAHs totais entre 40,8 to 406,8 ng/g em sedimento coletados na Baía de Paranaguá em pontos próximos ao porto. Apesar de não ultrapassar os limites estabelecidos em normas brasileiras, foi detectada a presença de benzo(a)pireno em três das amostras e benzo(ghi)perileno e indeno(1,2,3-cd)pireno em todas as amostras de sedimento coletados no estuário.

Além disso, Van Bressem *et al.* (2009) constatou a presença de patologias (geralmente relacionadas aos organismos habitantes de regiões ambientalmente afetadas) na comunidade de golfinhos *Sotalia guianensis* residentes de Paranaguá reforçando o quadro de comprometimento do local.

Em comparação com os dados de contaminação obtidos em bibliografias na região de Santos, em Paranaguá são apenas alguns compostos que se apresentam acima dos limites estabelecidos e os maiores valores estão associados geralmente à região portuária da Baía de Paranaguá e Antonina, ou seja, na região mais interna do estuário.

Além disso, a área de extensão do Complexo Estuarino de Paranaguá, bem como seu dinâmico padrão de circulação e sedimentação parece minimizar a contaminação do local, como proposto por Lana *et al.* (2000, *apud* Santos *et al.*, 2009). Segundo este estudo, as fortes correntes estabelecidas durante a variação da maré (que atingem 80 cm.s^{-1} na maré enchente e 110 cm.s^{-1} na maré vazante) contribuem para a melhor dispersão das partículas de contaminantes. A maré pode alcançar 2,2 m e a renovação da água ocorre aproximadamente a cada 3,5 dias (Santos *et al.*, 2009).

Deste modo, apesar da região de Paranaguá também ser impactada fontes antrópicas semelhantes às da região de Santos, sua contaminação ocorre de forma menos pronunciada, corroborando as menores frequências de biomarcadores MN e AN obtidas neste estudo, em comparação às obtidas em Santos.

Em Cananéia, por sua vez, os valores dos biomarcadores se mostraram sempre mais baixos que os obtidos em Santos e, na sua maioria, em Paranaguá.

O Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia abriga principalmente atividades primárias como pesca e agricultura e apenas na região de Ribeira do Iguape ocorre extrativismo mineral, o que fornece algum aporte de metais para este local. Esta região é considerada como não poluída por Lamparelli *et al.* (2006 e 2007) uma vez que os contaminantes encontrados estão presentes em concentrações bem abaixo dos limites estabelecidos em legislações, além de estar dentro de uma área de proteção ambiental. É comumente utilizada como área de referência em análises ambientais como nos estudos de Nishigima *et al.* (2001), Kirschbaum *et al.* (2007 e 2009), Azevedo (2008 e 2009a), Bergmann Filho (2009), Van Bressem *et al.* (2009), entre outros.

Após 10 anos de banco de dados, Van Bressem *et al.* (*op.cit*) constatou a ausência de patologias (relacionadas às regiões comprometidas ambientalmente) na comunidade de golfinhos *Sotalia guianensis* residentes de Cananéia. Em Nishigima *et al.* (2001) foi observada no sedimento da região de Cananéia a presença de hidrocarbonetos alifáticos apenas de origem biogênica (como n-alcanos), devido ao bosque de mangue bem estabelecido no local, e a ocorrência dos PAHs abaixo dos limites de detecção, em contraste com a região de Santos já discutida anteriormente. E em Saito *et al.* (2006) foram encontrados os metais Zn, Cu e Pb em sedimentos coletados em Iguape na região de Valo Grande, mas apenas o chumbo ocorreu em níveis que caracterizam os sedimentos como poluídos. Os autores atribuíram o fato à grande deposição de sedimento neste local (é a maior do complexo estuarino) devido ao grande aporte vindo do Rio Ribeira do Iguape, e também ao padrão de circulação da água nas variações de maré do estuário que não dispersa facilmente esses sedimentos para outros locais do complexo e tende a acumulá-los ainda mais nesta porção, fato este que contrasta com a região do Mar de Cananéia - local de coleta dos organismos deste estudo - onde há pouca sedimentação e maior dispersão pela maior ação das correntes e marés. Vale ainda lembrar que na região de Iguape ocorre o extrativismo mineral, o que provavelmente está acarretando esse tipo de contaminação naquele local.

Deste modo, a bibliografia corrobora os menores valores dos biomarcadores de citogenotoxicidade obtidos neste trabalho, podendo esta área ser considerada como referência.

Em *C. parallelus*, apenas na época do inverno foram obtidas médias e frequências de MN muito semelhantes em Paranaguá e Cananéia. Visto que para os valores de ANs do inverno e para MNs e ANs do verão isto não ocorreu, nas quais a região de Paranaguá obteve maiores valores em relação a Cananéia, este resultado pode ter sido influenciado pelo baixo número amostral de robalos na região de Paranaguá nesta campanha, já discutido no início desta seção.

Em *C. spixii*, por sua vez, na época do verão os menores valores de MN e AN foram atribuídos aos organismos coletados em Paranaguá, mostrando-se significativamente diferentes em relação as outras duas áreas de estudo para os valores de ANs. Além disso, os valores de MN para a região de Santos e Cananéia se equipararam, o que não ocorreu em nenhum outro caso neste estudo.

Segundo Petrapiana *et al.* (2002), cada espécie possui uma sensibilidade diferente a cada agente tóxico. Devido a universalidade das moléculas de DNA, agentes que não são genotóxicos para um grupo de organismos são tipicamente genotóxicos para outros grupos (Kiceniuk & Khan, 1983 *apud* Petrapiana *et al.* 2002). As diferenças interespecíficas no metabolismo dos xenobióticos, o sistema de reparo de DNA e a proliferação celular no órgão-alvo são fatores que afetam potencialmente a sensibilidade de cada espécie à genotoxicidade (Al-Sabti & Metcalfe, 1995). Da mesma forma, Pantaleão *et al.* (2006) afirmam que alguns peixes são mais sensíveis do que outros através da análise da frequência de MNs.

Deste modo, a partir dos resultados aqui obtidos, os bagres-amarelos parecem ser menos sensíveis a alta contaminação, no âmbito citogenotóxico, do que os robalos-peva, mesmo sobrevivendo em constante contato com o sedimento, compartimento este que, comparativamente, abriga as maiores concentrações dos contaminantes.

De acordo com Thomas *et al.* (1999) a perda de sensibilidade aos agentes genotóxicos se deve a um aumento nas respostas fisiológicas à exposição crônica aos poluentes. Dentre estas respostas, um aumento na capacidade de reparo no DNA pode ter ocorrido, resultando assim em menor frequência de formação de MNs, como o observado para a espécie *C. spixii* em comparação aos *C. parallelus* do presente estudo.

Recentemente foi constatado pelo estudo de Bergmann-Filho (2009) que bagres-amarelos (*Cathorops spixii*) respondem satisfatoriamente a diversos marcadores

bioquímicos (atividade EROD, GST, CAT, LPO e ChE), apontando diferenças significativas entre os resultados obtidos em organismos provenientes da região do Complexo Estuarino de Santos e São Vicente em relação aos organismos da região referência Cananéia, tanto para o inverno/2008 quanto para o verão/2009.

De mesmo modo, Azevedo *et al.* (2009) observou diferenças significativas entre as respostas dos biomarcadores bioquímicos metalotioneína (MT), peroxidação lipídica (LPO) e atividade enzimática da desidratase do ácido aminolevulínico (ALAD) obtidas para bagres-amarelos coletados em pontos do estuário de Santos/São Vicente em relação aos pontos de referência do estuário de Cananéia, tanto para o inverno/2005 quanto para o verão/2006.

Ainda, em Katsumiti *et al.* (2008), foi avaliado o impacto causado por um derrame de óleo e metanol (Vicuña) que ocorreu em frente ao porto de Paranaguá após a explosão de um navio-tanque em novembro/2004, através de biomarcadores fisiológicos, morfológicos (histopatologia) e genéticos aplicados em exemplares *C. spixii*. Os peixes foram coletados duas semanas após o derramamento na área de diretamente afetada pelo derrame e em área considerada referência. Os marcadores fisiológicos foram os que melhor refletiram o efeito agudo do derrame de óleo.

Neste último trabalho, as médias de anormalidades nucleares encontradas (MN + AN) antes do derrame foram de aproximadamente 3,5 e 7,5 respectivamente para a região considerada referência e contaminada e após o derrame de 1,0 e 6,0, respectivamente. Diferiram significativamente apenas as taxas das duas áreas estudadas antes do derrame. As médias de anormalidades após o derrame de óleo se mostraram menores em relação as obtidas antes do ocorrido, tanto para a região de referência quanto para a região atingida. As médias do estudo de Katsumiti *et al.* (2008) estiveram entre as médias encontradas para a espécie nas áreas estudadas no presente estudo.

Assim sendo, a partir dos resultados documentados nos estudos de Katsumiti *et al.* (*op. cit.*), Azevedo *et al.* (*op. cit.*) e Bergmann-Filho (*op. cit.*), a espécie *C. spixii* parece responder melhor à contaminação em nível bioquímico e fisiológico do que em nível molecular.

Caso semelhante já foi documentado por Petrapiana *et al.* (2002) em seu estudo comparativo em três regiões com diferentes graus de contaminação a partir dos biomarcadores MN e outros danos em DNA, aplicados em peixes *Lepidorhombus boscii*. Assim como o bagre-amarelo, esta espécie tem o hábito de nadar próximo à interface água-sedimento e se alimentar de diversos organismos bentônicos, e, de

mesma forma, evidenciou uma menor habilidade de produzir respostas genotóxicas aos xenobióticos não indicando diferenças significativas dos resultados, ao contrário do que ocorreu com as respostas enzimáticas obtidas em outros trabalhos citados pelos autores.

Ainda neste estudo, os resultados de MN com a merluza-européia (*Merluccius merluccius*) se mostraram satisfatórios aos biomarcadores genotóxicos, indicando diferenças significativas entre as três áreas estudadas. Esta espécie, assim como o robalo-peva, apresenta hábito de vida necto-bentônico e se alimenta de organismos necto-bentônicos.

Barbosa *et al.* (2010) observou em tilápias *Oreochromis niloticus*, coletadas em diferentes pontos da Lagoa de Extremoz no Rio Grande do Norte (Brasil) durante três estações do ano, que os resultados diferiram significativamente entre os pontos de maior e menor contaminação na lagoa, a partir do teste do cometa que avalia a fragilidade do DNA, enquanto que os valores de MN não se mostraram significativos. Resultados semelhantes foram observados em Andrade *et al.* (2004) em estudo com bagres *Netuma* sp coletados em três regiões do Rio Grande do Sul (Brasil), a partir dos mesmos ensaios aplicados por Barbosa *et al.* (2010).

Muitos biomarcadores vêm sendo utilizados para avaliar os efeitos dos contaminantes no ambiente aquático, entretanto a ausência de um efeito específico nem sempre reflete a ausência de contaminação e toxicidade (Gravato & Santos, 2002). Os efeitos da contaminação são apenas detectados quando se utilizam biomarcadores, análises ou testes específicos e sensíveis para cada padrão de resposta para cada espécie utilizada (Petrapiana *et al.*, 2002). Deste modo, pode-se inferir que a análise por biomarcadores citogenotóxicos MN e AN foi neste caso mais indicada à espécie *C. parallelus* do que à espécie *C. spixii*, que por sua vez se mostrou mais adequada à análise com biomarcadores bioquímicos conforme constatado pelo estudo de Bergmann Filho (2009), que por sua vez realizou as coletas de exemplares de bagres-amarelos juntamente às campanhas de coleta desta mesma espécie (em Santos e Cananéia no inverno e verão) do presente estudo.

As taxas de AN se mostraram maiores que as taxas de MN em todos os casos, fato este amplamente discutido em Savage (1988) e observado por Kirschbaum *et al.* (2007 e 2009) e Seriani *et al.* (2009 - artigo em fase de publicação²). De acordo com Savage (1988) esta diferença ocorre devido ao próprio mecanismo de formação de danos genotóxicos na divisão celular, onde os fragmentos quebrados e/ou cromossomos que não foram transportados pelas fibras do fuso aos pólos opostos da célula em anáfase ficam soltos, e à medida que são formados os envelopes nucleares na telófase, estes elementos podem ou não ser incluídos (juntamente à cromatina) no núcleo das células-filhas, fato este que dependerá da sua localização ao acaso na célula. Se incluídos formam as anomalias nucleares, mas se excluídos formam os micronúcleos no citoplasma da célula-filha. O fato é que, segundo o autor, há uma probabilidade muito maior desses elementos serem incluídos ao invés de excluídos do núcleo em forma de MN, corroborando então as maiores níveis de ANs em relação aos MNs deste estudo.

Segundo Çavas (2008), as anomalias nucleares são consideradas um complemento das taxas de micronúcleos em pesquisas rotineiras corroborando as fortes correlações que ocorreram entre AN e MN deste estudo. Estes resultados sugerem que quanto maior a incidência de ANs maiores as chances de ocorrência de MNs, fato este já documentado por Kirschbaum *et al.* (2007 e 2009) em seu estudo com *C. parallelus*.

As anomalias nucleares muitas vezes podem ser precursoras de micronúcleos de modo que quando a célula detecta uma região ou fragmento danificado do DNA, ela o expulsa direcionando-o à periferia da célula (formando a AN) até sua completa exclusão do núcleo (formando o MN) como mostram Stopper & Müller (1997) e Shimizu *et al.* (1998) (figura 107, em apêndice). Este mecanismo de formação de MN ocorre como uma forma do organismo eliminar os danos genéticos e estabilizar seu cariótipo (Stopper & Müller, *op. cit*) e também auxilia no processo de inibição de câncer em mamíferos (Shimizu *et al.*, *op. cit*; Tucker & Preston, 1996).

² Robson Seriani, Denis Moledo de Souza Abessa, Aline Alves Kirschbaum, Camilo Dias Seabra Pereira, Maria José Tavares Ranzani-Paiva, Andrea Assunção, Fabiana Lima Silveira, Priscilla Romano & José Luiz Negrão Mucci. Water Toxicity and cyto-genotoxicity biomarkers in *Oreochromis niloticus*. Submetido a Genetics and Molecular Biology em dezembro/2009.

6.2.2. Citogenotoxicidade quanto à sazonalidade

Comparando-se sazonalmente os resultados dos biomarcadores citogenotóxicos obtidos em *C. spixii*, pode ser observado que houve uma diminuição nas frequências do inverno/08 para o verão/09 nas três regiões estudadas, sendo detectadas diferenças significativas entre os valores de AN obtidos em Paranaguá e Santos.

A diminuição significativa nas taxas ANs do inverno para o verão pode estar sendo determinada pelo mecanismo sugerido por Thomas *et al.* (1999), já discutido no subitem anterior, onde uma exposição crônica aos poluentes pode levar a um aumento das respostas fisiológicas no organismo como por exemplo, uma melhora no sistema de reparo do DNA, acarretando uma diminuição da sensibilidade dos organismos aos agentes genotóxicos, refletindo-se nas menores taxas dos biomarcadores. Mersch *et al.* (1996) sugerem ainda que podem ser desenvolvidos mecanismos adaptativos de tolerância ao estresse causado por agentes tóxicos que promovem um aumento na taxa de substituição de células mortas ou danificadas a fim de manter as condições fisiológicas normais.

A exposição crônica aos contaminantes neste caso está provavelmente associada ao hábito demersal dos bagres-amarelos que, ao viverem constantemente em contato com o sedimento e se alimentarem de organismos associados a ele, estão expostos a uma concentração maior de poluentes, uma vez que este compartimento funciona como “depósito” de muitos dos contaminantes do ambiente aquático. Assim, mesmo habitando as regiões menos impactadas, os mecanismos de adaptação parecem ocorrer naturalmente nesta espécie, sendo assim observada a diminuição de todas as frequências dos biomarcadores para esta espécie, tanto em áreas mais contaminadas (conferindo as diferenças significativas) quanto para região considerada como referência.

Em Bergmann Filho (2009) foi observada uma diminuição significativa entre os níveis de acetilcolinesterase (ChE) obtidos no músculo de bagres-amarelos coletados na região de Cananéia do inverno/08 para o verão/09, diminuição esta atribuída ao aumento do uso de pesticidas nas plantações de banana durante verão na região de Cananéia que resulta no carreamento de pesticidas organoclorados e bifenilas policloradas em maior quantidade nesta época do ano para o ambiente aquático através da ação das chuvas. O mesmo foi observado para a região de Santos, neste caso atribuído aos maiores níveis de contaminação da água e de Hg no sedimento. Vale

lembrar que as coletas dos organismos do estudo de Bergmann Filho nas regiões de Cananéia foram realizadas juntamente às do presente estudo.

Azevedo *et al.* (2009b) observou para alguns dos pontos de coleta dos bagres-amarelos no Estuário de Santos/São Vicente um aumento da atividade enzimática da desidratase do ácido aminolevulínico (ALAD) e dos níveis de metalotioneína (MT) nos fígados destes organismos do inverno para o verão. Os autores justificaram que por ser uma época chuvosa, nesta estação do ano ocorre o carregamento de contaminantes para o estuário. Em Azevedo (2008), podem ser observadas diferenças sazonais nos dados de MN nos *C. spixii* coletados em Cananéia e na região de Santos assim como ocorreu no presente estudo. As médias obtidas no inverno em Azevedo foram: 0,00 (Cananéia), 0,10 (Baía de Santos), 0,06 (Canal de Santos) e 0,14 (Canal de São Vicente) enquanto no verão a ocorrência de MNs foi nula para todas as áreas de estudo.

Em estudo realizado por Torteli *et al.* (2006) com *C. spixii* coletados na Baía de Paranaguá no verão foi observada a maior inibição do ChE a partir de estudo cinético da atividade ChE no cérebro. O fato foi atribuído ao aumento do turismo na região e conseqüente aumento da quantidade de esgotos, além do aumento nos índices de chuva que carregam xenobióticos oriundos do continente para o estuário.

Assim sendo, os estudos de Torteli *et al.* (*op. cit.*), Bergmann Filho (*op. cit.*) e Azevedo (2008 e 2009b) parecem reforçar a hipótese do aumento da eficiência no sistema de reparo do DNA e adaptações fisiológicas em *C. spixii* do inverno para o verão, desde que documentaram para as três regiões de estudo um aumento nos níveis de contaminação no verão a partir da observação de alterações significativas nas taxas dos biomarcadores bioquímicos estudados por eles, o que também deveria acarretar valores mais altos de danos genéticos em relação ao inverno. Porém, não foi o que ocorreu em nenhuma das áreas estudadas.

Ao contrário do que foi observado para as regiões de Cananéia e Paranaguá em *C. spixii*, para *C. parallelus* ocorreu um aumento das frequências de MN e AN no verão nestas áreas, sendo detectadas diferenças significativas entre os valores de AN. Entretanto, para a região de Santos foi observada a mesma diminuição sazonal das frequências dos biomarcadores já ocorrida em *C. spixii*, apesar de não ter sido detectada diferença sazonal significativa entre os dados.

Primeiramente, as frequências e médias que se mostraram mais altas no verão podem ter sido influenciadas pela elevação da contaminação decorrente do aumento no aporte de efluentes nos estuários, determinados principalmente pelo incremento da

densidade populacional, devido a ocorrência da população de veraneio nestes locais. Neste caso, os robalos-peva se mostraram mais sensíveis a esta elevação da contaminação do que *C. spixii*, o que se refletiu em maiores níveis de danos no DNA para esta espécie, ao contrário do observado para os bagres-amarelos.

Desde que habitam a coluna d'água (um compartimento onde as concentrações dos xenobióticos costumam ser menores) e se alimentam por vezes no bentos, os robalos-peva estão menos expostos a maiores concentrações dos poluentes ao longo dos compartimentos ambientais, não experimentando a contaminação crônica da maneira como os organismos demersais, conforme discutido anteriormente, ainda mais quando se trata de organismos provenientes do Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia (região de referência) e Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP; região altamente hidrodinâmica). Assim, as adaptações fisiológica descritas por Thomas *et al.* (1999) e Mersch *et al.* (1996) parecem não ser desencadeadas nestes casos, permitindo que os robalos-peva respondam sensivelmente ao aumento da contaminação nestes estuários através de uma maior fragilidade e danos no DNA.

Cabe a ressalva de que o CEP é impactado por diversas fontes antrópicas, entretanto o padrão de circulação muito dinâmica promove uma rápida renovação da água, dispersando facilmente os poluentes na coluna. Este fato também parece contribuir para a diminuição da toxicidade neste compartimento ambiental, evitando que os organismos pelágicos, como os robalos-peva fiquem em contato prolongado com os altos níveis dos contaminantes.

Diversos autores encontraram este mesmo padrão de resposta como, por exemplo, no estudo de Andrade *et al.* (2004), em estudo realizado nos estuários dos rios Tramandaí e Mampituba e Lagoa do Armazém (referência), onde foram encontrados maiores níveis de danos em DNA através do teste do cometa e MN em eritrócitos de tainhas (*Mugil* sp) e bagre-marinho (*Netuma* sp) para a época do verão. Para as áreas contaminadas, este aumento foi atribuído ao aumento no número de habitantes na região nesta época do ano, o que provavelmente está associado com o aumento no despejo de efluentes e esgoto municipal.

O estresse causado por um tensor ambiental acarreta um aumento do metabolismo dos organismos sendo necessário um maior aporte de oxigênio nos tecidos (Kirschbaum & Assunção, 2006). Deste modo, quando o estresse passa a ser oxidativo, um dos primeiros locais a ser afetado é a membrana celular (Pereira, 2003) que ao alterar sua permeabilidade pode tornar o núcleo mais suscetível a anomalias.

Muitos contaminantes como metais, PAHs e organoclorados também podem induzir o mecanismo de estresse oxidativo. Segundo Silva *et al.* (2009), espécies reativas de oxigênio (EROS) como o radical superóxido (O_2^-) podem ser produzidos durante o processo de detoxificação. Além do mais, metais de transição como Fe^{2+} são capazes de catalizar a formação do íon hidroxila (OH^+) a partir do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), sendo este íon capaz de danificar a estrutura de macromoléculas como DNA, proteínas, carboidratos e lipídeos. De acordo com Prá *et al.* (2006), estas EROS e o estresse oxidativo gerado pelos contaminantes induzem a peroxidação de lipídeos, danos no DNA e alteram a homeostasia de diversos minerais essenciais. Adicionalmente, o estresse oxidativo afeta diversas rotas metabólicas, incluindo aquelas envolvidas no reparo de danos ao DNA, acarretando danos permanentes da fita, como a formação de MNs.

O metabolismo dos organismos também pode ser alterado pelo efeito da temperatura. Çavas & Ergene-Gözükara (2005b), na Turquia, encontraram diferenças significativas entre as frequências de MN e ANs ($p < 0.01$) em eritrócitos de tainhas (*Mugil cephalus*) coletadas tanto na região controle (Erdemli) e nas duas áreas comprometidas ambientalmente (Karaduvar e Mersin harbour) (frequências descritas no subitem anterior), fato este atribuído pelos autores a fatores como variação na poluição e também a variação da temperatura da água que, por sua vez, diferiu quase $14^{\circ}C$ do inverno ($14^{\circ}C$) para o verão ($27,5^{\circ}C$) nas regiões de estudo.

De mesma forma, Rybakovas *et al.* (2009) atribuiu o aumento das frequências de MN em bacalhau-do-Atlântico (*Gadus morhua*) coletados no Mar Báltico e no Mar do Norte de dezembro/2003 (inverno) para setembro/2004 (fim do verão) à variação da temperatura nestes dois corpos d'água, registrando variações de $9^{\circ}C$ de uma estação do ano para a outra.

Segundo estes autores, desde que os peixes são organismos ectotérmicos a temperatura da água também pode influenciar os níveis de MN e AN, de modo que em temperaturas ambientais mais altas o metabolismo e o índice mitótico celular se elevam naturalmente podendo acarretar em aumento nas frequências dos biomarcadores nestes organismos. Desde que no presente estudo foram observados pequenos aumentos de $4^{\circ}C$ para Cananéia, $5^{\circ}C$ para Paranaguá e $2^{\circ}C$ em Santos, bem diferente da variação de quase $14^{\circ}C$ entre as temperaturas do estudo Çavas & Ergene-Gözükara (2005b) e $9^{\circ}C$ no estudo de Rybakovas *et al.* (2009), talvez neste caso a temperatura da água não

exerceu uma influencia tão significativa. Entretanto, mais estudos neste sentido devem ser realizados.

Outros fatores abióticos, ou fatores externos, como salinidade e pH da água podem influenciar indiretamente na resposta à toxicidade dos organismos, atuando nos mecanismos de estresse. Segundo Zagatto & Bertoletti (2006), a salinidade, além de afetar a bioacumulação através de seus efeitos sobre os processos fisico-químicos (como os mecanismos de adsorção e solubilidade), afeta os processos fisiológicos como osmorregulação, permeabilidade da membrana e taxa respiratória dos organismos. O pH por sua vez, além de ser um dos principais fatores que controlam a adesão dos compostos orgânicos hidrofóbicos e metais ao sedimento, de acordo com Zavala-Camin (2004), regulam a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio (efeito Bohr) de modo que a acidez diminui a afinidade (através do estímulo à liberação do oxigênio), acarretando um prejuízo na difusão deste gás das brânquias para a corrente sanguínea e conseqüente comprometimento da respiração.

Entretanto tais fatores apresentaram pouca variação sazonal nas áreas estudadas, de modo geral apontando pequena variação de 2 a 3 partes para a salinidade, e valores entre 7,05 a 7,83 para o pH. Assim como a temperatura, provavelmente a salinidade e o pH também não exerceram influências significativas nas respostas obtidas através dos biomarcadores de citogenotoxicidade deste estudo.

Na região de Santos o aumento sazonal na contaminação do estuário também ocorre, visto que esta é um local de intenso turismo e de fácil acesso para a população residente na região metropolitana de São Paulo. Porém, é considerada de alto impacto antrópico, assumindo altos níveis de degradação durante todo o ano, e desta forma, tanto os organismos que vivem ao fundo quanto os pelágicos experimentam a contaminação crônica, o que não ocorre nos dois outros estuários deste estudo. Assim sendo, mesmo que os valores dos biomarcadores no inverno e verão não tenham diferido significativamente entre si, pode ser que os robalos-peva da região de Santos estejam iniciando os mecanismos adaptativos propostos por Tomas *et al.* (1999) e Mersch *et al.* (1996), o que se refletiu nas menores frequências de MN e ANs obtidas no verão, divergindo do ocorrido para Paranaguá e Cananéia.

A diminuição nos níveis de MN e ANs do inverno para o verão para a região de Santos e o aumento para a região de Cananéia em eritrócitos de *C. parallelus* também foram observadas através do estudo de Kirschbaum *et al.* (2009), fato este atribuído pelos autores à uma melhora no sistema de reparo do DNA dos robalos-peva

da região de Santos. Assim como no presente estudo, não foram detectadas diferenças significativas entre os valores de MN obtidos nas duas estações do ano em Santos.

Situação semelhante foi documentada no estudo de Amado *et al.* (2006) através da observação de danos genéticos a partir do teste do cometa e MNs em eritrócitos de corvinas (*Micropogonias furnieri*) capturadas no inverno e verão em área poluída e não poluída do estuário Lagoa dos Patos (Rio Grande do Sul – Brasil). Os resultados obtidos para a área poluída no verão mostram uma tendência de aumento na fragilização do DNA dos organismos a partir do teste do cometa, porém uma significativa diminuição nos níveis de MN em relação ao obtido no inverno ($p < 0,05$). Os autores atribuíram o fato a um aumento na eficácia do sistema de reparo do DNA, desde que a fragilização da fita continua ocorrendo, assumindo valores até mais elevados, porém neste caso são reparadas de modo mais eficiente, implicando em redução na formação de MNs nos eritrócitos das corvinas.

Neste mesmo estudo, os maiores valores de MN encontrados para as corvinas no inverno, por sua vez, parecem ter sido determinadas por uma provável exposição a alguns contaminantes ou a uma mistura deles causando uma inibição ou exaustão dos mecanismos de reparo, levando ao dano permanente no DNA (formação de MN).

Desta mesma forma os maiores valores de inverno para MN e AN nas duas espécies deste estudo na região de Santos em relação ao verão podem ter sido influenciados, desde que o estudo de Bergmann Filho (2009) observou uma diminuição nos índices de LDH no músculo de *C. spixii* coletados neste local no inverno/08 (coleta esta realizada juntamente à do presente estudo), o que foi relacionado à maior contaminação por fertilizantes devido ao aumento das operações portuárias bem como do tráfego de navios de carregamento destes produtos na região nesta época do ano, o que se soma ao constante quadro de degradação ambiental nesta região.

6.3. Bioacumulação

A disseminação de diversos xenobióticos no ambiente é preocupante para a vida selvagem e para a saúde humana. Muitos compostos, mesmo aqueles já banidos no passado, persistem no ambiente e continuam acumulando no ecossistema (Maes *et al.*, 2008) causando prejuízos.

De maneira geral, os contaminantes tendem a se acumular em maior quantidade no sedimento, agindo como depósito e como fonte de poluentes (Zagatto &

Bertoletti, 2006). Os níveis neste compartimento podem variar de acordo com diversos fatores como o diâmetro dos grãos, concentração de matéria orgânica, composição química da água intersticial (Chapman & Wang, 2001), bem como através da ação dos processos de deposição, erosão e mistura (Mantovanelli *et al.*, 2004), que por sua vez disponibilizam os compostos do sedimento para a coluna d'água e biota.

De acordo com Zagatto & Bertoletti (2006), a assimilação e a retenção de um contaminante por um organismo podem acarretar a concentração elevada do mesmo, com probabilidade de causar efeitos deletérios. Este processo pode ocorrer por absorção direta, a partir do ambiente, ou por absorção indireta, através do alimento contaminado. Consequentemente, em uma cadeia alimentar, os contaminantes podem ser transferidos de um nível trófico para outro, concretizando sua biomagnificação. Os autores Silva *et al.* (2007b; c), Li *et al.* (2008) e Ferrante *et al.* (2010) afirmam que o consumo de peixes é a mais significativa via de exposição humana aos diferentes contaminantes ambientais.

Os problemas de contaminação ambiental são complexos desde que envolvem misturas de agentes químicos, em uma ou mais matrizes ambientais como água, sedimento e organismos (Li *et al.*, 2008). Para Zagatto & Bertoletti (2006) a exposição da biota a uma mistura de contaminantes pode levar a interações toxicológicas que acarretam uma resposta biológica diferente daquela esperada para a exposição a um contaminante isoladamente e os efeitos subletais são geralmente mais insidiosos que a letalidade, e o agente causador, geralmente não aparente, é mais difícil de detectar.

6.3.1. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (PAHs)

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (PAHs) formam um importante grupo de contaminantes do ambiente marinho (Bícego *et al.*, 2006) sendo onipresentes neste local (Aboigor *et al.* 2005) e raramente encontrados como produtos de biosíntese (Nishigima *et al.*, 2001). Aqueles ligados às atividades antrópicas são provenientes da deposição atmosférica, rios, efluentes domésticos e industriais, e derrames de petróleo e derivados (Pietrapiana, 2002; Silva *et al.*, 2009).

São caracterizados por sua baixa biodegradabilidade e alta lipofilicidade (Tanigushi, 2001), aliado a capacidade de associação ao sedimento, completam um quadro de persistência no meio ambiente e por este motivo, segundo Jones & Voogt (1999), estão incluídos na lista dos POPs da USEPA e considerados poluentes prioritários na UNECE (United Nations Economic Commission for Europe).

Por serem lipofílicos, os PAHs acumulam-se geralmente nos tecidos graxos dos organismos. Participam do processo de bioacumulação e biomagnificação podendo atingir os níveis mais altos da cadeia trófica.

A partir dos dados de bioacumulação no fígado dos exemplares, pode ser observado, exceto para Cananéia no inverno onde os valores se mostraram semelhantes, que robalos-peva bioacumularam PAHs, em maior quantidade que o bagre-amarelo, sendo detectadas diferenças significativas interespecíficas entre os grupos de dados de bioacumulação de PAHs nas regiões de Santos e Paranaguá no verão, e entre os dados obtidos em todos o estudo para o composto trimetilnaftaleno e PAHs totais. Além disso, *C. parallelus* acumulou uma maior variedade de compostos PAHs.

As diferenças interespecíficas observadas neste e em outros estudos se devem aos diversos fatores que influenciam a bioacumulação dos xenobióticos nos tecidos, que podem estar diretamente relacionados à resposta do próprio organismo ou aos níveis e condições do ambiente em que vivem.

A biotransformação de um xenobiótico hidrofóbico em peixes é a maior determinante de sua toxicidade, distribuição e habilidade de excreção, de acordo com Tuvikene (1995). Assim, a capacidade de biotransformação, ou seja, de metabolização destes compostos em cada espécie (Meador *et al.*, 1995; Leonards *et al.*, 1997; Baumard *et al.*, 1998a) é um dos fatores intrínsecos ao indivíduo que influencia no padrão de acumulação da espécie. Este fato já foi observado no estudo de Van der Oost *et al.* (1991) com enguias *Anguilla anguilla*, ruivo *Rutilus rutilus*, e peixe Lúcio (pike) *Esox lucius*, onde as enguias apresentaram a menor acumulação em gordura (1,74 µg/g) e o peixe Lúcio a maior acumulação (2,07 µg/g).

A biotransformação é a principal etapa de eliminação de substâncias lipossolúveis do organismo e ocorre na sua maioria nos retículos endoplasmáticos das células hepáticas (Zagatto & Bertoletti, 2006). Segundo Tuvikene (1995) consiste na modificação da forma química de um contaminante por meios biológicos. O mecanismo de detoxificação de poluentes orgânicos envolve um sistema de multi-enzimas geralmente divididas em Fase 1 (biotransformação) e Fase 2 (conjugação) (Pereira, 2008) e, de acordo com Zagatto & Bertoletti (*op.cit*), os produtos do metabolismo são geralmente mais hidrossolúveis que o composto inicial, visando o aumento da solubilidade em água facilitando a eliminação do xenobiótico do organismo através da urina, bile e da respiração. Assim a meia-vida é diminuída e o potencial tóxico

minimizado (Tuvikene, *op.cit*; Zagatto & Bertoletti, *op.cit*), além de resultar em diminuição do armazenamento da substância no organismo.

Tendo em vista apenas este fator, bagres-amarelos parecem biotransformar os PAHs de maneira mais eficiente que os robalos-peva, eliminando-os mais facilmente do organismo, resultando menor acumulação nos tecidos.

Entretanto, a acumulação também está ligada ao tipo de dieta alimentar bem como o nível trófico que o organismo ocupa (Leonards *et al.*, 1997; Broman *et al.*, 1990 *apud* Baumard *et al.*, 1998a). A biomagnificação depende do número de níveis, das espécies que compõe a teia, e da concentração do composto em cada nível (Zagatto & Bertoletti, 2006). Assim, organismos que se alimentam diretamente no sedimento, aqueles que ingerem presas com maiores níveis de contaminação e os organismos carnívoros de topo de cadeia, adquirem mais facilmente os contaminantes tornando-se suscetíveis a maior bioacumulação.

Em Perugini *et al.* (2007), por exemplo, foi observada uma acumulação 3 vezes maior ($p < 0,05$) de PAHs em cavalas, merluza-européia e verdinhos (44,1 a 63,3 ng/g peso úmido) em relação ao obtido para os bivalves. Além do padrão alimentar e trófico, os autores atribuíram estas diferenças à biotransformação dos PAHs, neste caso ausente em bivalves.

Já no estudo de Baumard *et al.* (1998a) os peixes salmonete *Mullus barbatus* e comber-pintado *Serranus scriba* registraram maiores acumulações de PAHs do que o mexilhão *Mytilus edulis*.

No presente estudo, as maiores acumulações, encontradas em robalos-peva em relação ao bagre, podem estar sendo influenciadas pelo seu alto nível trófico, além de participarem de uma cadeia trófica de base de organismos bentônicos. Mas, em bagres, a alimentação carnívora e o contato constante com o sedimento também deveriam acarretar maiores acumulações, o que não ocorreu neste estudo. Provavelmente a alimentação e o nível trófico não são os principais fatores que direcionam estes resultados.

A biodisponibilidade do contaminante no meio é outro fator que influencia no padrão de acumulação dos compostos nos tecidos dos organismos (Chapman & Wang, 2001; Zagatto & Bertoletti, 2006).

Segundo Tuvikene (1995), PAHs de alto peso molecular são relativamente imóveis devido ao seu maior volume molecular, baixa volatilidade e solubilidade. Assim, em contato com o meio aquático, eles são rapidamente adsorvidos ao material

orgânico e inorgânico particulado e na sua maioria depositados no sedimento, tornando-se persistentes neste compartimento (Nishigima *et al.*, 2001) e menos biodisponíveis do que os de baixo peso molecular. Em um episódio de bioturbação, como nas dragagens que ocorrem constantemente nos canais de navegação dos portos, estes compostos são disponibilizados para coluna d'água podendo então ser acumulados nos organismos.

Assim, de maneira geral, os PAHs de menor peso molecular (possuem menos anéis em sua estrutura) estão mais biodisponíveis mantendo-se por mais tempo na coluna d'água, sendo carregados por maiores distâncias e tendendo a acumular mais nos tecidos das diferentes formas de vida, em comparação aos de peso molecular mais alto.

No estudo de Perugini *et al.* (2007) foram encontradas altas porcentagens de PAHs de menor peso (62% - 3 anéis) em relação aos de alto peso molecular (37% - 4 anéis, 1% - 5 anéis) tanto nos peixes salmonete, cavala, merluza-européia e verdinho quanto nos mexilhões, lagostas e lulas provenientes do Mar Adriático. De mesma forma em Lamparelli *et al.* (2001) pode ser observado uma acumulação mais significativa de naftaleno em peixes (carapebas, robalos, tilápias, tainhas), crustáceos e bivalves coletados em diversos pontos do Complexo Estuarino de Santos e São Vicente.

Em Deb *et al.* (2000) este mesmo padrão foi observado em diferentes tecidos coletados de 11 espécies de peixes provenientes de Hiroshima Bay no Japão, sendo o naftaleno o composto que prevaleceu apesar de haver diferenças nos níveis de bioacumulação de PAHs totais entre as espécies.

Em Vives *et al.* (2004), 57 espécimes de truta foram coletados em sete lagos nas montanhas da Europa e em um lago na Groenlândia. Em todos os casos houve a predominância por fenantreno (cerca de 52% do total de PAHs analisado) seguido pelo fluoreno, fluoranteno e pireno (10% cada). Compostos de alto peso molecular ocorreram em quantidades muito pequenas.

No presente estudo este mesmo fato pode ser observado para as duas espécies estudadas, que por sua vez acumularam majoritariamente compostos de 2 a 3 anéis, apresentando em todos os casos uma proporção sempre maior de compostos leves. Somente em *C. parallelus* foi observada a acumulação de dois dos compostos PAHs pesados: pireno e dibenzo(a,h)antraceno.

Segundo Baumard *et al.* (1998a) a acumulação de compostos mais hidrofóbicos (de maior peso molecular que se associam facilmente ao fundo) também está diretamente condicionada ao maior contato com as partículas do sedimento. Assim, organismos demersais e de hábitos bentônicos estão predispostos a acumular PAHs de

alto peso molecular. Isto porque, para organismos bentônicos a ingestão de partículas de sedimento pode ser uma significativa via de bioacumulação (Zagatto & Bertolotti, 2006).

Nesse mesmo estudo, os peixes salmonete *Mullus barbatus* e comber-pintado *Serranus scriba* vivem em contato constante com o sedimento, porém o salmonete registrou uma maior acumulação de compostos pesados que o comber. O resultado foi atribuído ao hábito do salmonete de se enterrar no sedimento enquanto se alimenta de organismos bentônicos (pequenos crustáceos bentônicos, poliquetos e moluscos), estabelecendo um contato muito mais próximo com os compostos mais pesados previamente aderidos as camadas mais fundas do sedimento do que o comber-pintado que é, por sua vez, sedentário e carnívoro, tendo contato apenas com a superfície.

Deste modo, esperava-se que os bagres-amarelos do presente estudo apresentassem uma maior acumulação de compostos PAHs de alto peso molecular por estar em constante contato com o sedimento e se alimentar nele, porém os compostos de alto peso foram encontrados apenas em robalos-peva. Talvez outros fatores como o padrão de biotransformação da espécie, já citado anteriormente, podem estar auxiliando na melhor eliminação destes compostos do organismo.

Uma menor acumulação de PAHs em organismos de fundo também ocorreu em Perugini *et al.* (2007) onde pode ser observado que os salmonetes (demersais que se alimentam de organismos bentônicos) apresentaram a menor acumulação de PAHs nos tecidos (16,52 ng/g peso úmido). A merluza-européia (demersal que se alimenta tanto de organismos bentônicos quanto de peixes da coluna d'água) veio na sequência acumulando 44,14 ng/g. Por último estão os peixes verdinho (pelágico que se alimenta de organismos bentônicos e pequenos peixes, como o robalo-peva) e a cavala (pelágico que se alimenta de zooplâncton e pequenos peixes), acumulando 55,53 e 63,33 ng/g, respectivamente.

Além desta influência da biodisponibilidade dos diferentes compostos, segundo o exposto por Varanasi & Gmur (1981), Meador *et al.* (1995) e já discutido em Baumard *et al.* (1998a) e Perugini *et al.* (2007), os diferentes padrões de PAHs encontrados nos peixes, com uma maior quantidade de contaminantes de menor peso molecular, também é dependente do padrão de transformação dos PAHs no fígado destas formas de vida, de modo que, estes organismos dão preferência à biotransformação dos compostos mais pesados (biotransformação parcial ou seletiva) acumulando os leves. Provavelmente isto ocorre devido ao custo-benefício para os

organismos, de modo que, mesmo os compostos leves sendo mais tóxicos aos peixes (La Rocca *et al.*, 1996; USEPA, 1996; Nishigima *et al.*, 2001; Lamparelli *et al.*, 2001; Pietrapiana, 2002), segundo Meador *et al.* (1995) sua meia-vida é muito curta (de seis a nove dias para fluoreno, fenantreno, antraceno e fluoranteno, por exemplo) enquanto que os compostos de alto peso molecular possuem um alto potencial carcinogênico/mutagênico (La Rocca *et al.*, 1996; USEPA, 1996; Jones & Voogt, 1999; Nishigima *et al.*, 2001; Lamparelli *et al.*, 2001; Pietrapiana, 2002) e são altamente persistentes.

Este fato foi comprovado em Varanasi & Gmur (1981). Neste estudo, diferentes espécies de peixes de diferentes hábitos foram expostas a formas radioativas (para melhor rastreabilidade dos compostos ao longo do experimento) de naftaleno (NPH) e benzo(a)pireno (B[a]P). Foi observado que os dois compostos foram prontamente absorvidos pelos organismos, porém as concentrações de NPH nos tecidos se mostraram substancialmente maiores que B[a]P. O nível de radioatividade relacionado aos níveis de NPH nos tecidos diminuiu mais rápido que aquela ligada ao B[a]P. Além do mais, B[a]P foram metabolizados extensivamente em relação ao NPH no fígado dos peixes e um número de metabólitos tóxicos foram formados no fígado e excretados na vesícula biliar, para posterior eliminação pelo trato digestório.

Provavelmente foi devido a este mecanismo de biotransformação parcial ou seletiva que os bagres-amarelos deste estudo não acumularam os compostos mais pesados presentes no sedimento apesar de estarem em maior contato com este compartimento do que os robalos-peva. A acumulação deste tipo de composto, observada nos robalos de Paranaguá e Santos no verão, pode estar relacionada à transferência trófica, desde que estes são mais persistentes nos tecidos do que os compostos mais leves, sofrendo o processo de biomagnificação.

Como dito no início desta seção, diferentes padrões de acumulação de PAHs podem ser observados em organismos de níveis tróficos diferentes (Djomo *et al.*, 1998 *apud* Baumard *et al.*, 1998a). De acordo com Baumard *et al.* (1998a) este fato também pode ser atribuído ao mecanismo de biotransformação parcial ou seletiva, que ocorre de forma significativa em organismos que ocupam os níveis tróficos mais altos, desde que tendem a receber uma grande quantidade de contaminantes transferidos pela cadeia trófica e através de seus hábitos e do meio.

Segundo Tuvikene (1995) os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos revelam sua toxicidade após sua biotransformação. Do ponto de vista fisiológico e toxicológico é

importante ter em mente que este processo produz uma nova entidade química de características distintas do composto inicial e em geral, o aumento da polaridade decorrente da biotransformação resulta em menor toxicidade, porém vários são os exemplos de maior toxicidade (Zagatto & Bertoletti, 2006). Estes metabólitos (compostos intermediários de PAHs), geralmente são altamente reativos formando ligações covalentes com macromoléculas celulares como o DNA, RNA e proteínas, causando danos celulares, mutagênese, teratogênese e câncer (Tuvikene, 1995; Maria *et al.*, 2003; Petrapiana *et al.*, 2002; Woo *et al.*, 2006). Além disso, de acordo com Woo *et al.* (2006) a acumulação desses compostos afeta o DNA de modo a acarretar modificações estruturais que induzem diversas disfunções metabólicas.

O processo de biotransformação de PAHs está geralmente associado a uma elevação intracelular de espécies reativas de oxigênio (ROS), na sua maioria radicais hidroxilas, altamente tóxicos ao DNA (Katsumiti *et al.*, 2009).

Deste modo, devido ao seu efeito carcinogênico e genotóxico nos organismos, os PAHs vêm sendo amplamente estudados, tanto em condições laboratoriais quanto em campo. Como por exemplo, em Maria *et al.* (2003), onde enguias *Anguilla anguilla* foram expostas *in situ* (em gaiolas) às águas portuárias de Aveiro em Portugal durante 8 e 48 horas de exposição, mantendo um grupo controle em laboratório. Comparando-se a situação controle, a genotoxicidade observada através de anormalidades nucleares em células sanguíneas, rins e fígado foi atribuída a presença de PAHs, considerados genotoxinas e os principais contaminantes dessas e outras águas portuárias.

No estudo de Pacheco & Santos (2002) juvenis de enguias *Anguilla anguilla* foram expostos a 3 concentrações de benzo(a)pireno (0,22, 0,45 e 0,9 μM). Significante indução de anomalias nucleares em eritrócitos foi observada durante as exposições. Alguns dos resultados obtidos sugeriram que o aumento das frequências destas alterações ocorre em curto prazo nas concentrações mais altas do contaminante e em longo prazo nas concentrações mais baixas.

Em Pretti *et al.* (2007) foram observadas taxas significativamente maiores de danos em DNA pelo teste do cometa e MN, aplicados em eritrócitos de peixes curimatá (*Prochilodus lineatus*) expostos à fração solúvel da gasolina (FSG). Esses resultados comprovam o efeito genotóxico e mutagênico da gasolina.

Çavas e Gozukara (2005a) avaliaram os efeitos genotóxicos de efluentes de uma refinaria de petróleo e de uma indústria de produção de cromo em eritrócitos de tilápias *Oreochromis niloticus* através do teste de MNs e ANs. Os peixes foram

expostos a diferentes concentrações (5, 10 e 20%) e períodos (3, 6 e 9 dias). Os danos em DNA foram muito mais severos ocorrendo em maiores frequências para as exposições ao efluente da refinaria. Segundo Hamoutene *et al.* (2002) os PAHs presentes em efluentes de refinarias de petróleo são descritos como os principais componentes capazes de causar danos no DNA.

Em Woo *et al.* (2006) foram coletadas amostras de sedimentos em 13 pontos da Baía de Gwangyang, na Coreia. Células sanguíneas de linguados *Paralichthys olivaceus* foram expostas aos extratos de cada uma destas amostras. Os níveis de danos em DNA através do teste do cometa foram significativamente maiores para os extratos referentes aos pontos com maior teor de PAHs. Neste mesmo estudo, as células sanguíneas dos linguados foram expostas a 5 diferentes PAHs (benzo(a)pireno, fluoranteno, antraceno, pireno e fenantreno) e todos causaram danos significativos em DNA, sendo o benzo(a)pireno o composto que apresentou o maior nível. Ainda, linguados foram expostos *in vivo* em concentrações 10 e 100 ppm de benzo(a)pireno durante 2 e 4 horas e os danos em DNA também se mostraram significativamente maiores do que o grupo controle nos dois casos.

Siu *et al.* (2008) observou fortes correlações entre os níveis de MN e a biacumulação PAHs cancerígenos em tecidos de mexilhões *Perna viridis* transplantados para locais poluídos em Hong Kong (Tsim As Tsui e Sai Wan Ho).

O estudo de Petrapiana *et al.* (2002), por sua vez, teve como finalidade observar os danos genotóxicos através de MNs aplicados em hepatócitos de três espécies de peixes como indicador ambiental de exposição à hidrocarbonetos relacionados ao derramamento de óleo “Heven” no mar Langurian, no Mar Mediterrâneo, passado 9 anos. Foram avaliadas duas áreas impactadas: Savona, diretamente influenciada pelo derramamento, e Genova, área altamente impactada por fontes antrópicas (indústrias e urbanização) registrando altas concentrações de PAHs no sedimento; além de uma região controle (Sestri Levante). A frequência de MNs foi significativamente maior nas áreas impactadas, sendo Savona a região que obteve os maiores níveis de danos nos hepatócitos dos peixes. Independente da resposta de cada espécie, a diferença genotóxica entre as áreas estudadas se mostrou compatível com os níveis de contaminação por óleo, ou seja, compatível com os níveis de PAHs de cada região.

É de se esperar que a concentração de xenobióticos na biota esteja diretamente relacionada à concentração no sedimento e na água (Pazdro *et al.*, 2005). Regiões com

maior quantidade de fontes de contaminação (indústrias, urbanização, etc) abrigam maiores níveis de xenobióticos em seus compartimentos ambientais devido ao lançamento contínuo por períodos prolongados (Zagatto & Bertoletti, 2006). Segundo Perugini *et al.* (2007), peixes que vivem em áreas industrializadas devem apresentar altos níveis de contaminação durante todo o ano.

No presente estudo, para *C. spixii* no verão e *C. parallelus* nas duas estações do ano foi observada uma maior acumulação de PAHs totais nas regiões de Santos e Paranaguá, mostrando-se significativamente diferentes da acumulação encontrada em Cananéia para *C. parallelus* na época do verão. É notável a acumulação de maior variedade de congêneres de PAHs por parte dos robalos-peva destas duas regiões.

Como já observado nos itens anteriores, a região de Santos e Paranaguá são impactadas por diversas fontes antrópicas responsáveis pelo lançamento diário de contaminantes em suas águas em quantidades suficientes para causar efeitos danosos aos seus habitantes e ao ecossistema.

Na região de Santos, Lamparelli *et al.* (2001) já observaram alta bioacumulação de naftaleno ($220 \mu\text{g.g}^{-1}$) e outros PAHs em robalos no estuário de Santos além de dibenzo(a)antraceno em ostras ($104 \mu\text{g.Kg}^{-1}$) em níveis pouco abaixo dos limites para consumo humano estabelecidos pela U.S. Environmental Protection Agency (USEPA). Não há dados disponíveis sobre a acumulação de PAHs em peixes de Paranaguá.

Assim sendo, a acumulação de PAHs observada nos tecidos musculares dos organismos coletados nesse estudo podem estar influenciando nos resultados obtidos a partir dos biomarcadores MN e AN, o que será discutido no item 6.4 deste estudo.

A presença de PAHs de alto peso molecular no sedimento confirma a presença de baixos níveis destes compostos nos organismos (Nakata *et al.*, 2003). Estudos realizados no sedimento da região de Santos indicam a presença de diversos PAHs e, dentre eles, o benzo(a)pireno ($198 - 206 \mu\text{g.g}^{-1}$) e dibenzo(a)antraceno ($87,4 - 90,9 \mu\text{g.kg}^{-1}$) estiveram acima de TEL. No estudo de Choueri *et al.* (2009) (já discutido no item 6.2) na região de Paranaguá, os PAHs foram detectados no sedimento, porém em concentrações mais baixas.

Entretanto, sabe-se que nestas duas regiões ocorre constantemente o processo de dragagem do fundo dos canais, segundo Sá (2003) essencial para o desenvolvimento e a manutenção da navegação para o gerenciamento de outros usos. Neste processo os

contaminantes aderidos ao sedimento são disponibilizados à coluna d'água, podendo justificar o aparecimento de compostos mais pesados nos tecidos dos organismos.

Os compostos mais solúveis são, portanto, mais abundantes na fração aquosa e são acumulados em maior quantidade pelos organismos marinhos (Baumard *et al.* 1999). A partir disto podemos perceber que provavelmente a contaminação por PAHs em Santos, Paranaguá e também em Cananéia deve estar vinculada principalmente aos compostos de menor peso molecular. A predominância de PAHs de baixo peso molecular é indicativa de introduções de petróleo e seus derivados que podem ser introduzidos através de derrames, embarcações ou por efluentes de esgoto doméstico ou industrial na região (DouAbu *et al.*, 1997; Sericano *et al.*, 2001; Pereira, 2008). Assim, a maior acumulação dos tecidos dos organismos por compostos de baixo peso molecular também pode ser determinada pela contaminação do local (resultados de DouAbu *et al.*, 1997).

Hidrocarbonetos aromáticos pirolíticos são formados a partir da combustão incompleta de gasolina, diesel e outros produtos refinados do petróleo (CETESB, 1994 *apud* Nishigima *et al.*, 2001; Bícigo *et al.*, 2006), caracterizados pela ocorrência de compostos de vários pesos moleculares, principalmente os mais pesados, enquanto os hidrocarbonetos petrogênicos são originados de derrames de óleo na água do mar e de efluentes domésticos e industriais, dominados pelos PAHs de menores pesos moleculares (Baumard *et al.*, 1999).

A razão fenantreno/antraceno aplicada à região Paranaguá no verão (para *C. parallelus*) e a razão fluoranteno/pireno tanto em Paranaguá quanto Santos no verão, caracterizam uma maior contaminação por PAHs de origem petrogênica, ou seja, por compostos derivados da não combustão nestas regiões, corroborando a hipótese apresentada nos parágrafos anteriores.

Em todos os outros casos a razão fenantreno/antraceno caracteriza a contaminação de origem pirogênica, ou seja, por compostos derivados da combustão incompleta da matéria orgânica.

Entretanto, vale lembrar que o composto antraceno nestes casos esteve abaixo do detectável, assim para a realização deste cálculo foi aplicado o seu valor de LDM (3,46 ng/g peso úmido). A medida que nos afastamos do valor inicial de LDM, diminuindo-o, o resultado da razão se torna maior chegando ao ponto de caracterizar a origem petrogênica. Neste caso, sem o valor exato da acumulação por antraceno o resultado desta razão não é conclusivo.

No caso de Santos no verão para *C. parallelus*, mesmo a razão fenantreno/antraceno não sendo conclusiva (conforme observado no parágrafo anterior) a razão fluoranteno/pireno sustenta uma maior contaminação do estuário por PAHs de origem petrogênica, visto que os dois compostos envolvidos na razão, para este único caso, estiveram acima do LDM.

O fenantreno é 20 vezes mais solúvel em água do que o antraceno assim, certamente é mais absorvido através das brânquias (Baumard *et al.*, 1999)

Todas as regiões deste estudo foram classificadas como de baixo nível de poluição, conforme proposto por Baumard *et al.* (1998b), exceto para a região de Santos e Paranaguá no verão, onde ao valores de bioacumulação de PAHs totais no fígado dos organismos, classificaram estas regiões como de nível moderado de poluição.

Pereira (2008) também já documentou níveis baixos de poluição baseando-se neste mesmo índice, aplicado na acumulação de PAHs em tecidos de mexilhões *Perna perna* coletados na região de Santos. Juntamente a Caraguatatuba e São Sebastião os níveis encontrados estiveram entre 48,12 e 159,75 ng/g no final do inverno.

Os valores de PAHs totais do presente estudo estiveram acima dos encontrados no estudo de DouAbul *et al.* (1997) em tecidos de peixes *Solea solea*, *Scombermorus malculatus*, *Rhynchocentron canadum*, *Chorinemus lysan* and *Variola louti* (valor médio 12,3 ng/g peso úmido) coletados na costa do Mar Vermelho. A região é conhecida pela poluição crônica, oriunda de indústrias e outras fontes antrópicas, e aguda, por poluição por óleo em área de pesca. Entretanto, a partir de limites estabelecidos por outras bibliografias tomadas pelos autores, a região foi considerada como não poluída de maneira significativa por esses compostos.

Por outro lado, as concentrações documentadas por Perugini *et al.* (2007) em tecidos de peixes *Mullus barbatus*, *Scomber scombrus*, *Micromesistius poutassou* e *Merluccius merluccius* coletados no Mar Adriático (4,74 a 63,33 ng/g peso úmido) estiveram dentro dos limites encontrados no presente estudo, região esta caracterizada por abrigar adensamento urbano costeiro, agricultura e industrialização, além da presença de rios poluídos (em algumas áreas) que auxiliam na entrada de PAHs nas águas estuarinas. O mesmo ocorreu para peixes *Mullus barbatus* e *Serranus scriba* coletados em diversos pontos no Mar Mediterrâneo em Baumard *et al.* (1998a).

Em relação à sazonalidade, exceto para *C. spixii* de Cananéia, foi possível notar um aumento dos níveis de PAHs nos tecidos dos organismos no verão, ocorrendo diferenças significativas para as regiões de Paranaguá e Santos em *C. parallelus*.

Isso pode ter ocorrido devido principalmente ao aumento da população nestas áreas para esta época do ano, já discutido no item anterior, que acarreta um aumento nos despejos de esgoto. Além disso, o aumento nos índices de chuvas na região sudeste no verão traz para o estuário os demais contaminantes oriundos do continente e mobilizando também aqueles que se concentram na parte inferior dos estuários. Ainda, na região de Santos e Paranaguá há um aumento no tráfego de embarcações como navios de cruzeiro e embarcações de recreação, o que contribui com a maior contaminação por PAHs.

Na região de Cananéia, mesmo não sendo detectada diferença significativa, foi observada uma diminuição dos níveis do inverno para o verão em *C. spixii*, porém um aumento para *C. parallelus*. Nesta região também ocorre o aumento populacional, porém parece não estar refletindo em maior acumulação nos tecidos dos bagres-amarelos, provavelmente devido ao mecanismo de biotransformação da espécie. Entretanto, o pico de PAHs totais em *C. spixii* do inverno, pouco maior que Santos e Paranaguá, já caracteriza a contaminação neste local.

Alguns estudos afirmam que a taxa de eliminação de PAHs pode ser afetada pela temperatura da água. A temperatura eleva naturalmente o metabolismo dos organismos ectotérmicos e, segundo Zagatto & Bertolotti (2006), essa elevação resulta em aceleração da assimilação dos contaminantes. Contudo, os processos de biotransformação e excreção também podem ser incrementados, e o resultado final da bioacumulação dependerá do predomínio de um processo ou outro.

Tomando Cananéia como referência de resposta das respectivas espécies, temos para *C. spixii* que as maiores temperaturas do verão podem estar promovendo os processos de biotransformação e eliminação dos compostos do organismo nesta espécie, sobrepondo a assimilação. Comparando-se às áreas de Paranaguá e Santos, nesta região há um menor *input* de PAHs, provenientes de esgoto e embarcações principalmente, assim a menor quantidade de compostos disponível aliada a promoção da biotransformação e excreção devido ao efeito da temperatura, acarreta em diminuição do nível de bioacumulação do inverno para o verão nesta região. Supondo que esta seja a resposta padrão desta espécie, um maior *input* de PAHs devido a maior contaminação de verão nas regiões de Paranaguá e Santos equilibram as a taxas através de uma assimilação maior dos compostos, visto que estes estão disponíveis em maior quantidade nos estuários. Neste caso, as concentrações no verão se mostraram acima das obtidas no inverno, porém não significativas.

Já para *C. parallelus* de Cananéia uma maior promoção dos mecanismos de biotransformação e excreção observados anteriormente para *C. spixii*, parece ocorrer de forma menos pronunciada, favorecendo assim o mecanismo de assimilação. Devido ao fato de Cananéia apresentar um *input* menor de PAHs de verão, comparativo às outras duas regiões, as concentrações se mostraram maiores que o inverno, porém não significativas. Assim no caso de Santos e Paranaguá, a pequena promoção da biotransformação e excreção da espécie não é capaz de equilibrar a assimilação, neste caso muito maior devido ao aumento da contaminação de verão.

Apesar dos altos valores de PAHs totais obtidos principalmente em *C. parallelus* de Paranaguá e Santos, nenhum dos compostos PAHs analisados ultrapassou os limites estabelecidos nas legislações nacionais e internacionais para consumo humano.

6.3.2. Compostos Organoclorados

Os compostos organoclorados (OCs), como pesticidas e PCBs, são caracterizados por possuírem átomos de carbono, hidrogênio e cloro na sua estrutura. Segundo Tanigushi (2001) não são facilmente degradados por oxidação química ou bacteriológica e por serem compostos sintéticos, não ocorrem naturalmente no ambiente.

Estão entre os doze compostos banidos ou restritos pela Convenção de Estocolmo (*Dirty Dozen*) de maio de 2001, caracterizados como poluentes orgânicos persistentes (POPs) devido a três características básicas: persistência ambiental, bioacumulação e alta toxicidade (Yogui, 2002). Para Jones & Voogt (1999) são considerados poluentes prioritários pela UNECE (United Nations Economic Commission for Europe) e são constituintes da lista de poluentes POPs da USEPA (United States Environmental Protection Agency).

Os POPs abrangem várias famílias de substâncias aromáticas e halogenadas como as bifenilas policloradas (PCBs), as dioxinas e furanos (PCDD/Fs-polychlorinated dibenzo-p-dioxins/furans), além dos diferentes agrotóxicos organoclorados, como o DDT e seus metabólitos (Quinete, 2005). De acordo com o International Programme on Chemical Safety (IPCS, 1995) os POPs são compostos orgânicos que, em vários níveis, resistem à degradação fótica, biológica e química, caracterizados pela baixa solubilidade em água e alta solubilidade em gorduras, bioacumulando em tecidos adiposos. São

geralmente semi-voláteis, permitindo sua mobilidade para grandes distâncias através do transporte atmosférico antes de sua deposição, podendo atingir a atmosfera, o ambiente marinho e a biota de regiões remotas como a Antártica, como já observado nos estudos de Yogui (2002), Montone (1995), Montone *et al.* (2005), Cipro (2007), entre outros.

Por serem lipossolúveis (Silva *et al.*, 2009) acumulam-se no fígado e gônadas dos peixes (porção lipídica), em tecidos de bivalves e outros invertebrados marinhos (Woo *et al.*, 2006), atingindo os níveis mais altos da cadeia trófica a partir do processo de biomagnificação, alcançando até mesmo os seres humanos.

6.3.2.1. Bifenilas Policloradas

As Bifenilas Policloradas (PCBs) consistem em 209 isômeros e congêneres. São compostos resultantes da reação do grupo bifenila com cloro anidro na presença de catalisador (Penteado & Vaz, 2001), sintetizados primeiramente por Shimitdt & Shultz na Alemanha, no final do século 19 (Montone, 1995; Yogui, 2002). Estes congêneres têm uma numeração que segue as regras da IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) e nem todos estão presentes no ambiente marinho (Montone, 1995).

Por serem lipofílicos, os PCBs acumulam-se geralmente na porção lipídica do fígado e rins dos organismos. Assim como os outros compostos organoclorados, os PCBs sofrem os processos de bioconcentração e biomagnificação (Kannan *et al.*, 1989; Yogui *et al.*, 2003; Penteado & Vaz, 2001) e sua taxa de absorção nos organismos depende da sua biodisponibilidade (Harding & Addison, 1986).

De mesma forma que os PAHs, os PCBs parecem ser mais bioacumulados por robalos-peva do que por bagres-amarelos deste estudo, apesar de não terem sido detectadas diferenças significativas. Conforme amplamente discutido anteriormente, vários são os fatores que influenciam no padrão de acumulação dos compostos nos tecidos.

No estudo de Voorspoels *et al.*, (2004), por exemplo, dentre os organismos utilizados estiveram invertebrados bentônicos (siri, camarão e estrela-do-mar) e 3 espécies diferentes de linguados (*Solea solea*, *Limanda limanda*, *Pleuronectus platessa*) coletadas na Bélgica. Os resultados obtidos mostraram diferenças significativas na acumulação de grupos homólogos de PCBs entre os invertebrados, sendo o camarão o que obteve menores valores, fato este atribuído pelo autor a três fatores principais: ao metabolismo e eliminação dos compostos PCBs do organismo, provavelmente mais

eficiente nesta espécie; ao hábito alimentar e nível trófico, uma vez que esta espécie se alimenta principalmente de misidáceos e anfípodos, organismos estes com menor concentração de PCBs, enquanto o siri e estrela-do-mar são detritívoros alimentando-se de material orgânico depositado (carcaças de todo o tipo com diversas concentrações de PCBs) colocando-se assim em nível trófico mais alto; e ao habitat, uma vez que camarões são pelágicos vivendo em contato somente com a superfície do sedimento, o que resulta em menor contato com as partículas em comparação as outras espécies bentônicas do estudo. Entre os linguados, por sua vez, não foi detectada diferença significativa, entretanto as solhas obtiveram o maior *range* de bioacumulação de PCBs totais (96 a 1400 ng/g peso úmido).

No estudo de Storelli *et al.* (2007) a bioacumulação obtida em fígados de peixes de fundo *Nezumia sclerorhynchus* e *Coelorhynchus coelorhynchus* coletados no Mar Adriático foram comparados a dados de bioacumulação em outros peixes obtidos em bibliografias. Os autores concluíram que organismos de fundo estão predispostos à maior acumulação. Além disso, comparando-se aos valores de outras espécies de fundo da literatura, observaram que o processo de metabolismo também influencia a bioacumulação.

Li *et al.* (2008) encontraram diferenças entre as bioacumulações de PCBs em peixes das espécies *Carassius auratus*, *Misgurnus anguillicaudatus* e *Hemiculture leuciscultures* ($7,9 \pm 1,98$, $6,43 \pm 0,82$ e $22,7 \pm 15,4$ ng/g peso úmido, respectivamente) coletadas na região impactada por fontes antrópicas Gaobeidian Lake (China), fato este atribuído pelos autores às diferentes características ecológicas como hábitos alimentares e habitat.

A diferença de bioacumulação nos tecidos dos organismos também pode estar condicionada ao peso molecular do composto PCB. Assim como ocorre em PAHs de menor peso molecular, segundo Penteado & Vaz (2001), os congêneres de PCBs menos clorados possuem maior pressão de vapor e solubilidade em água, e assim possuem maior mobilidade (De Boer *et al.*, 2001) tornando-se mais biodisponíveis para a acumulação nos organismos. Entretanto, devido à sensibilidade ao metabolismo e rápida eliminação do organismo bem como sua volatilidade, acabam não acumulando nos compartimentos ambientais e desaparecem mais facilmente dos ambientes com maior tempo de residência (De Boer *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2006), como os estuários. Os mais clorados, por sua vez, estão menos biodisponíveis (por se associarem mais facilmente ao sedimento) e são eliminados de forma mais demorada, o que resulta em

maior acumulação e persistência. Segundo Penteado & Vaz (*op. cit*), são mais lipofílicos que as formas menos cloradas.

Provavelmente este fato fez com que o PCB 153 (hexa-CB), um congênere extremamente persistente (Storelli *et al.*, 2007), aparecesse em maiores quantidades neste estudo e sendo o único congênere que ocorreu nas duas espécies. Por outro lado, dentre os compostos que estiveram acima de LDM, o PCB 52 (tetra-CB) apresentou o menor valor de acumulação em *C. parallelus* de Santos no inverno e esteve abaixo do LDM em *C. spixii*. Em *C. parallelus* outros congêneres puderam ser detectados e os maiores valores foram atribuídos aos compostos de maior cloração. No caso do PCB 52 em *C. parallelus* de Paranaguá no verão, único congênere acima do LDM, talvez possa indicar o processo de bioacumulação parcial ou seletiva já descrita anteriormente.

Corroborando o proposto no parágrafo anterior estão os resultados da razão PCB “x” / PCB 153 da região de Santos, aplicada para observar o grau de metabolização de um congênere em comparação ao PCB 153. No presente estudo bem como em Storelli *et al.* (2007) os resultados menores do que 1,0 nas razões demonstraram que os demais congêneres avaliados são melhor metabolizados, atingindo assim menores valores nos tecidos dos organismos. No caso da região de Paranaguá no verão em *C. parallelus*, a maior acumulação do congênere 52 em relação ao 153, resultando em valor maior do que 1 da razão, pode indicar que neste caso os organismos realizaram o processo de bioacumulação parcial ou seletiva, conforme descrito no item anterior.

Uma maior representatividade do PCB 153 entre os congêneres avaliados também foi observada em Silva *et al.* (2007b) assumindo uma contribuição de 11,89% para os tubarões-azuis e 13,12% para os peixes-espada, ambos coletados ao longo da ZEE brasileira.

Em Storelli *et al.* (2007) o mesmo ocorreu para as espécies de peixes de fundo *Nezumia sclerorhynchus* e *Coelorhynchus coelorhynchus*. Além disso, os congêneres 118, 138 e 180 também obtiveram valores de acumulação altos em relação aos menos clorados, de forma semelhante ao ocorrido para *C. parallelus* de Santos no inverno neste estudo.

De mesma forma, em Maes *et al.* (2006) os congêneres encontrados em maiores níveis em músculos de enguias *Anguilla anguilla* coletadas ao norte da Bélgica foram 138, 153 e 180.

De acordo com Voorspoels *et al.* (2004) a presença de determinado congêneres nos tecidos dos organismos também depende da espécie e seu habitat. Este fato foi documentado no estudo de Li *et al.* (2008) onde diferentes percentagens de PCB 153 foram detectadas nos diferentes peixes coletados: 0,71 para *Misgurnus anguillicaudatus*, 0,56 para *Carassius auratus* e 0,29 para *Hemiculter leuciscultures*. O maior nível de PCB 153 encontrado (*M. anguillicaudatus*) foi atribuído ao hábito de vida bentônico do organismo, o que acarreta em maior predisposição a contaminação por compostos mais clorados que estão associados ao sedimento.

Entretanto, o mesmo fato não pode ser observado no presente estudo, uma vez que os bagres-amarelos, que estão em constante contato com o sedimento em comparação ao robalo-peva, apresentaram uma menor bioacumulação do congêneres 153. Provavelmente, fatores como os padrões de biotransformação da espécie estão direcionando o resultado obtido em *C. spixii*.

A grande disseminação dos produtos contendo PCBs no ambiente deve-se principalmente a suas propriedades físico-químicas, destacando-se a alta constante dielétrica e elevada estabilidade química e térmica, o que possibilitou seu emprego de misturas técnicas contendo PCBs em diversos setores industriais, como o de capacitores e transformadores. A produção em escala comercial foi iniciada em 1929 (Yogui, 2002) e desde então os compostos PCBs são utilizados como isolantes líquidos, refrigerantes, fluidos térmicos e hidráulicos, solventes, aditivos em plásticos, pinturas e inclusos em papel decalque sem carbono (Tommasi, 1979; Santamarta, 2001).

Assim, segundo Penteado & Vaz (2001), as principais rotas de contaminação do ambiente por PCBs são: acidentes ou perdas de PCBs e/ou fluídos contendo PCBs durante o manuseio, vaporização de componentes contaminados com PCBs, vazamentos em transformadores, capacitores ou trocadores de calor, vazamento de fluídos hidráulicos contendo PCBs, armazenamento irregular de resíduo contendo PCBs ou resíduo contaminado, fumaça decorrente da incineração de produtos contendo PCBs, efluentes industriais e/ou esgotos despejados nos rios e lagos e, segundo, Magalhães (2006), lixiviação dos depósitos de resíduos e solos já contaminados.

As áreas de maior pressão antrópica abrigam maiores quantidades de PCBs em seus compartimentos ambientais, principalmente no sedimento, ocasionando maiores concentrações destes contaminantes nos tecidos dos organismos habitantes.

Sudaryanto *et al.* (2007), por exemplo, documentou concentrações significativamente maiores de PCBs em diversas espécies de peixes provenientes de

cidades industrializadas e densamente urbanizadas ao redor da Ilha de Java em comparação a área rural de Lampung Bay, ambas as áreas na Indonésia.

Li *et al.* (2008), na China, encontrou maiores acumulações de PCBs em peixes coletados em Gaobeidian Lake, região impactada principalmente por uma unidade de tratamento de efluentes industriais (que recebem 70% dos efluentes da região para tratamento) em relação a região rural de Huairou Reservoir.

Voorspoels *et al.* (2004), na Bélgica, documentou concentrações de PCB significativamente maiores em tecidos de invertebrados e peixes bentônicos e peixes pelágicos provenientes da região do Estuário Sheldt, área pesqueira que recebe os poluentes decorrentes da alta urbanização e industrialização circundantes, em relação ao Mar do Norte (porção belga).

Em De Boer *et al.* (2001), na Holanda, concentrações significativamente menores de PCBs foram encontradas em linguados coletados nas duas áreas de referência em relação aos linguados coletados em Noordwijk e no porto de Ijmuiden.

De mesma forma, pode ser observado no presente estudo que apenas as áreas mais industrializadas e urbanizadas apresentaram alguma acumulação de PCBs nos peixes coletados. Contudo, os níveis e acumulação nos tecidos não se mostraram suficientes a detecção de diferenças significativas entre as regiões estudadas, para cada estação do ano e espécie.

Para a região do Complexo Estuarino de Santos e São Vicente, Lamparelli *et al.* (2001) já observaram a bioacumulação de PCBs em robalos no estuário de Santos (0,15-6,82 µg/g peso úmido) e bioacumulação acima dos limites estabelecidos pela USEPA (14 ng/g) em outros peixes, moluscos e artrópodes (45,05, 55,40 e 27,13 µg/kg, respectivamente). Em Magalhães (2006) foi obtido o intervalo de concentração de PCBs 51,98-461,91 ng/g (lipídeos) em tecidos de *C.spixii* coletados nesta mesma região, sendo a variação 51,98-67,92 ng/g (lipídeos) referentes a bioacumulação no fígado dos exemplares. Não há dados disponíveis sobre a acumulação de PCBs em peixes de Paranaguá.

Segundo Sudaryanto *et al.* (2007), as concentrações de PCBs nos compartimentos ambientais de regiões desenvolvidas são maiores que as de regiões em desenvolvimento. Isto ocorre, pois mais de 80% das regiões industrializadas se encontram em países desenvolvidos no hemisfério norte (Tanabe *et al.*, 2004), e nestes locais as fontes de contaminação atuam a muito mais tempo no despejo de poluentes (Ferrante *et al.*, 2010).

Assim, observando-se alguns dos dados obtidos em estudos realizados em regiões do hemisfério norte, tem-se os seguintes valores de acumulação de PCBs totais, em ng/g peso úmido: atuns, 930; peixe-espada, 745; cormorões, 1420; andorinhas, 1230 (Kannan *et al.*, 2002); 1100 ng/g em atum (Ueno *et al.*, 2003); 1,5-280, 23-120, 20-1400 e 230-3200 ng/g peso úmido, respectivamente, para invertebrados bentônicos, gobides, linguados e exemplares da família Gadidae (Voorspoels *et al.*, 2004); 1,11 a 11,4 ng/g peso úmido em diversos peixes e bivalves (Yang *et al.*, 2006); 9,7 to 2700 ng/g em diversas espécies de peixes (Sudaryanto *et al.*, 2007); 167-875 e 113-605 ng/g, respectivamente, em duas espécies de peixes-rato *Coelorhynchus coelorhynchus* e *Nezumia sclerorhynchus* (Storelli *et al.*, 2007); entre outros.

Enquanto que a partir dos dados obtidos em bibliografias no Brasil, temos: 0,55-10,85, 0,86-44,13, 0,15-6,82, 0,08-45,05, 0,01-27,13, 0,24-55,44 µg/g peso úmido respectivamente em tilápia, tainha, robalo, carapeba, invertebrados bentônicos e bivalves (Lamparelli *et al.*, 2001); 17,4 ng/g peso seco para siris *Callinectes ornatus* (Gorni & Weber, 2004); 3,15 e 0,93 ng/g peso úmido respectivamente em tubarão-azul (*Prionace glauca*) e peixe-espada (*Xiphias gladius*) (Silva *et al.*, 2007); 3,48 e 2,8-49,6 ng/g peso úmido respectivamente em bagres-amarelos (*Cathorops spixii*) e robalos-peva (*C. parallelus*) (presente estudo); entre outros.

Segundo Penteado & Vaz (2001), no Brasil não se tem registros da produção de PCBs, sendo todo o produto importado principalmente dos Estados Unidos e Alemanha. As restrições para seu uso foram implementadas através da Portaria Interministerial 19, de 2 de janeiro de 1981. Essa portaria estabelece, entre outras coisas, a proibição de fabricação, comercialização e uso de PCBs em todo território nacional, entretanto permite que os equipamentos já instalados continuem em funcionamento até sua substituição integral ou a troca do fluído dielétrico por produto isento de PCBs, tornando-se assim, possíveis fontes de contaminação ambiental. Além disso, também proíbe o descarte de PCBs ou produtos contaminados em cursos d'água, exposição de equipamentos contendo PCBs a intempéries, além de regulamentar o local de instalação dos equipamentos que contenham PCBs que ainda estejam funcionando.

Assim sendo, embora os compostos PCBs tenham sido banidos a tempos no Brasil, devido à grande estabilidade química e térmica e a ampla disseminação de produtos contendo PCBs, principalmente na primeira metade deste século, consideráveis quantidades de PCBs podem estar armazenadas em áreas de depósitos de resíduos (Penteado & Vaz, 2001) e atingem o ambiente marinho através da precipitação

atmosférica, vazamentos de produtos de PCBs e despejo de efluentes industriais e domésticos. Como resultado disto, a bioacumulação ainda pode ser observada nos tecidos dos organismos neste e em outros estudos, refletindo não só uma exposição histórica, mas também a presente contaminação decorrente da alta urbanização e industrialização.

Não houve diferenças significativas entre as concentrações de PCBs quanto à sazonalidade nas áreas estudadas em cada espécie.

Apenas a concentração total de PCBs em *C. parallelus* de Santos, no inverno, ultrapassou o limite de 14 µg/kg peso úmido (ou 14 ng/g) estabelecidos em norma internacional USEPA para consumo humano, apresentando assim um sério risco a saúde humana desde que, segundo Kirschbaum *et al.* (2009), os robalo-peva são itens alimentares importantes para a população costeira local, além de serem altamente valorizados economicamente devido a boa qualidade da carne.

Mesmo que o fígado não seja normalmente consumido por seres humanos, segundo De Souza Lima *et al.* (2002), altas concentrações neste e em outros órgãos indicam cuidados no consumo e o monitoramento dos níveis.

Segundo Kannan *et al.* (1989) cada um dos isômeros e congêneres de PCBs assumem diferentes toxicidades e efeitos biológicos. De acordo com Penteado & Vaz (2001), o potencial genotóxico para alguns congêneres de PCBs, por exemplo, depende da sua conformação espacial que pode ser planar ou coplanar, por sua vez definida pelo número e posição dos átomos de cloro na molécula dos PCBs. A conformação planar apresenta átomos de cloro na posição *orto* (2,2') enquanto que na coplanar não existem átomos de cloro nesta posição. A conformação coplanar é a forma mais tóxica (Kannan *et al.*, 1989; Penteado & Vaz, 2001).

O potencial genotóxico dos PCBs também pode estar relacionado a sua metabolização. Os metabólitos gerados neste processo interagem com macromoléculas, como o DNA, ligando-se covalentemente formando adutos de DNA (Safe, 1989; Carvalho, 2001) que, se não reparados provocam mutações. Além dos danos em DNA, os PCBs também são capazes de causar diversas disfunções no organismo exposto, dentre eles distúrbios na maturação sexual (Penteado & Vaz, 2001) hepatomegalia (aumento do fígado), atrofia do timo, imunossupressão, neurotoxicidade, toxicidade dérmica e alterações da homeostase dos hormônios tireoidianos (Silva *et al.*, 2007c).

A fácil ativação metabólica de congêneres menos clorados faz com que ocorra maior formação de adutos de DNA causando mutagenicidade. Ao contrário, por serem

pouco metabolizados, os congêneres mais clorados tendem a exibir menores taxas de ligação com as macromoléculas, entretanto induzem a carcinogenia (Safe, 1989; Silva *et al.*, 2007c). Nisto, segundo Belpaeme *et al.* (1996), a mutagenicidade destes últimos compostos está relacionada a geração ou indução da formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), altamente tóxicas ao DNA. Al-Sabti & Metcalfe (1995), propôs ainda que PCBs, assim como DDTs e metilmercúrio, induzem a formação de micronúcleos através da inativação das fibras do fuso (efeito aneugênico).

A contaminação por estes compostos pode alterar principalmente as funções reprodutivas dos organismos, sendo observados distúrbios na maturação sexual e efeitos teratogênicos (Erickson, 1992 *apud* Penteado & Vaz, 2001). Nos seres humanos as consequências da contaminação por PCBs somente podem ser avaliadas no caso de exposição em acidentes ou por exposição ocupacional onde os principais sintomas observados são cloracnes (erupções cutâneas severas que atingem o corpo inteiro), hiperpigmentação, problemas oculares, além da elevação do índice de mortalidade por câncer no fígado e vesícula biliar (Penteado & Vaz, 2001).

O potencial mutagênico e carcinogênico dos PCBs comerciais tem sido investigado em estudos *in vivo* e *in vitro*. De acordo com Safe (1989) acredita-se que os efeitos carcinogênicos estão ligados à exposição crônica ao poluente. Além disso, os PCBs são conhecidos por interagirem com outros carcinógenos, alterando o potencial mutagênico e carcinogênico destes compostos.

Em Costa *et al.* (2008), linguados *Solea senegalensis* foram expostos em laboratório a amostras de sedimentos coletados em três regiões no Estuário de Sado (Portugal) com diferentes níveis e fontes de contaminação. Um aumento significativo das taxas de alterações nucleares eritrocitárias (ENAs) e danos em DNA através do teste do cometa foram observados após a exposição às amostras coletadas na região afetada por efluentes industriais e agrícolas. Os resultados da genotoxicidade se correlacionaram com as concentrações de PAHs e PCBs presentes no sedimento.

Belpaeme *et al.* (1996) observou uma elevação das taxas de danos em DNA, embora não significativos, através do teste do cometa e MN em trutas *Salmo irutla fario* expostas a diferentes concentrações de PCB 77 em diferentes tempos de exposição.

Hose *et al.* (1987), na Califórnia, observou altos níveis de formação de MN em eritrócitos de corvinas *Genyonemus lineatus* (4 vezes maior) e de robalos *Paralabrax clathratus* (11 vezes maior) provenientes de regiões contaminadas com DDTs e PCBs em relação a locais de menor contaminação.

Assim sendo, os compostos PCBs presentes nos estuários de Paranaguá e Santos podem ter influenciado as taxas dos biomarcadores genotóxicos MN e ANs, o que será discutido no item 6.4 deste estudo, através de sua ação direta ou indiretamente por meio de interação com os outros compostos.

6.3.2.2. Pesticidas Organoclorados (POCs)

Os pesticidas organoclorados são relativamente inertes e sua alta estabilidade está relacionada às ligações carbono-cloro. Segundo D'Amato *et al.* (2002) incluem os derivados clorados do difenil etano (onde se inclui o DDT, seus metabólitos DDE e DDD, e o metoxicloro); o hexaclorobenzeno (HCB); o grupo dos hexaclorocicloexanos (a-HCH, b-HCH, d-HCH e g-HCH ou lindano); o grupo dos ciclodienos (aldrin, dieldrin, endrin, clordano, nonaclor, heptaclor e heptaclor-epóxido), e os hidrocarbonetos clorados (dodecacloro, toxafeno, e clordecone).

São introduzidos no ecossistema pelo homem, na proteção de suas culturas, de reservas alimentícias, contra pragas, no combate a vetores de doenças transmissíveis, ou de espécies consideradas indesejáveis (Tommasi, 1979). Segundo Yogui (2002) formaram a primeira geração de praguicidas usados pelo homem em larga escala. Seu poder residual era a principal razão do avanço no combate às pragas (Tanigushi, 2001).

Assim como para outros compostos, a acumulação de pesticidas organoclorados também é dependente dos padrões interespecíficos de assimilação e eliminação, bem como das características ecológicas (Yang *et al.*, 2006). Entretanto, para este estudo, além de não terem sido detectadas diferenças significativas entre os valores de pesticidas avaliados, os níveis variaram muito entre as campanhas, não sendo possível a observação de tendências interespecíficas de acumulação.

Os HCHs foram os compostos que ocorreram com maior frequência ao longo do estudo, não sendo detectados apenas em *C. spixii* de Cananéia no verão, sendo sua maior concentração detectada em *C. parallelus* de Paranaguá no inverno. Na sequência estão os DDTs, não ocorrendo em *C. spixii* de Cananéia e *C. parallelus* de Santos, ambos no inverno, sendo sua maior concentração detectada em *C. parallelus* de Cananéia no inverno.

Segundo Sanches *et al.* (2003), após a Segunda Guerra Mundial, o número de substâncias novas e o uso extensivo destas na agricultura aumentaram enormemente. O HCH e o DDT surgiram como um dos mais importantes produtos químicos, sendo

aplicados em larga escala nas lavouras para combater insetos e posteriormente como pesticidas.

No Brasil, o HCH foi especificamente utilizado nas culturas de café, soja e algodão, e também no controle de doenças como a de Chagas (Sanches *et al.*, *op. cit.*; Weber & Montone, 1990 *apud* Cipro, 2007). A composição da mistura técnica abrange uma série de isômeros, entretanto somente a forma γ -HCH possui propriedades inseticidas. Este último composto também é vendido purificado com o nome Lindano (Yogui, 2002; Maes *et al.*, 2008).

O DDT, por sua vez, é considerado uma das substâncias sintéticas mais utilizadas e estudadas no século XX (D'Amato *et al.*, 2002). Sua propriedade inseticida foi descoberta pelo entomologista suíço Paul Müller em 1939 e, devido ao uso no combate à malária, foi utilizado em soldados no combate ao tifo na Segunda Guerra e depois aplicado na agropecuária (durante 25 a 30 anos) devido seu baixo custo e elevada eficiência. Assim como outros hidrocarbonetos clorados, após a utilização em larga escala durante os anos 70 e 80 (Yogui *et al.*, 2003), o seu poder residual, antes tido como qualidade, começou a ser encarado como sério inconveniente de grande significado ecológico, dados os diversos efeitos deletérios reportados (Cipro, 2007), tendo assim sua proibição de uso em 1985 (Quinete, 2005), exceto para o uso em saúde pública no controle de zoonoses, como a malária.

Segundo Cipro (2007), os metabólitos de DDT apresentam menor toxicidade em relação ao composto inicial e são formados através de diferentes vias nos organismos: a via oxidativa onde as moléculas de DDT perdem um átomo de cloro e hidrogênio transformando-se em DDE, e a via redutiva onde há apenas a perda de um átomo de cloro transformando-se em DDD. O DDD apresenta alguma atividade inseticida e o DDE é o menos tóxico dos metabólitos, porém o mais persistente (D'Amato *et al.*, 2002; Yogui *et al.*, 2003; Cipro, 2007; Silva *et al.*, 2007b; Storelli *et al.*, 2007).

Altas concentrações de HCHs e DDTs, assim como outros POCs, nos tecidos geralmente são encontradas nos organismos provenientes de regiões rurais onde o impacto da agricultura e o uso de compostos inseticidas e pesticidas é comparativamente maior.

Este fato pode ser observado no estudo de Covaci *et al.* (2001), na Romênia, onde altas concentrações de pesticidas organoclorados como o DDT e HCH foram

encontradas em gorduras de animais (mamíferos) e sedimentos coletados na região rural de Iassy em relação as regiões urbanas do estudo.

Voorspoels *et al.* (2004) em estudo realizado no Esturário Scheldt na Bélgica, verificaram que as concentrações de DDT (máximo 810 ng/g peso úmido) nos tecidos dos diferentes organismos (invertebrados e peixes) se mostraram altas em relação a outros estudos tomados pelos autores.

Da mesma forma, em Sudaryanto *et al.* (2004), concentrações significativamente maiores de DDTs (12-1100 ng/g em lipídeos) e HCH (máximo de 24 ng/g) foram observadas em tecidos de peixes coletados na área rural e suburbana na Indonésia.

Em Li *et al.* (2008) altas concentrações de DDTs (7,54 a 88,3 ng/g peso úmido) foram encontradas em 4 espécies de peixes coletadas em duas regiões da China, indicando um grande uso deste composto desde as décadas passadas nesta região. Ainda neste estudo foi constatada a presença de DDTs e HCHs em maior quantidade na espécie *Misgurnus anguillicaudatus* da região rural de Huairou Reservoir (44,2 e 6,41 ng/g, respectivamente) em relação a mesma espécie na região industrializada de Gaobeidian Lake (15,44 e 2,99 ng/g, respectivamente).

Yang *et al.* (2006) encontrou resultados semelhantes em outras três regiões da China sendo que os níveis de DDT sobrepuseram os outros compostos (28,9 ng/g peso úmido). Além do uso antigo, o uso recente continua ocorrendo nesta região. Ainda nesse estudo foram encontradas diferenças regionais nas bioacumulações de HCHs e HCBs, de modo que a região de Dalian apresentou maiores níveis em relação à região de Shangai (Ningbo), sugerindo uma maior influência de resíduos agrícolas nesta região.

As concentrações de HCH do presente estudo estiveram: acima do valor médio obtidos em Yang *et al.* (2006) (0,38 ng/g); semelhante ao encontrado para a Huairou Reservoir e acima (na maioria dos casos) do obtido na região industrializada de Gaobeidian Lake de Li *et al.* (2008) (valor 2,99 ng/g peso úmido). Os DDTs do presente estudo, por sua vez, estiveram: abaixo do máximo encontrado em diversos organismos no estudo de Voorspoels *et al.* (2004) (máximo 810 ng/g peso úmido); abaixo (maioria dos casos) e entre (para *C. spixii* de Paranaguá e *C. parallelus* de Cananéia no inverno, Santos no verão para as duas espécies) o obtido na China em Li *et al.* (2008) (7,54 a 88,3 ng/g peso úmido); menor do que o observado na região rural de Huairou Reservoir (44,2 ng/g peso úmido) e acima (para *C. parallelus* Cananéia inverno) do obtido na

região industrializada de Gaobeidian Lake (15,44 ng/g peso úmido) de Li *et al.* (2008); e abaixo do obtido na China em Yang *et al.* (2006) (28,9 ng/g peso úmido).

Assim, comparando-se aos dados da bibliografia, os resultados indicam que as regiões de Cananéia, Paranaguá e Santos não somente sofrem com a acumulação de pesticidas organoclorados pela influência do uso descontrolado destes compostos no passado, mas também refletem alguma contribuição no presente, principalmente na região de Cananéia, onde foram encontrados níveis maiores destes dois compostos, sendo esta última uma região que abriga principalmente as atividades pesqueiras e agrícolas, como o cultivo da banana. Inseticidas clorados como DDT, HCH, aldrin, endrin, heptacloro e mirex foram os compostos mais comumente utilizados em 1975 no Vale do Ribeira (Ferreira *et al.*, 1980 *apud* Yogui *et al.*, 2003).

Os pesticidas atingem o ambiente aquático a partir da lixiviação dos solos, através da atmosfera e sedimentos, efluentes industriais e domésticos e por contaminação direta durante a aplicação (Dores & De-Lamonica-Freire, 2001; Rissato *et al.*, 2004), portanto, não estão restritos às regiões rurais, onde seu uso é intensificado.

Na região de Cananéia também já foram documentadas em Yogui *et al.* (2003) baixas concentrações de HCHs e HCBs (<0,003-0,044 e n.d.-0,024 ng/g em lipídeos, respectivamente) em boto-tucuxi *Sotalia fluviatilis*, bem como altas concentrações de DDT (0,541-125 ng/g em lipídeos).

Em três pontos na região de Santos, no estudo de Magalhães (2006), foi documentada uma variação de 18,92 e 690,29 ng/g (lipídeos) de DDT em tecidos (músculo, fígado, brânquias e gônadas) de peixes *Paralichthys brasiliensis*, *Trichiurus lepturus* e *Cathorops spixii*. Este composto ocorreu em 66% das amostras coletadas. Em *C. spixii* foi observada a variação de 98,7 a 414,11 ng/g de DDTs em lipídeos, sendo o valor 100,45 ng/g referente à concentração máxima encontrada em fígado. O HCH, por sua vez foi detectado em 34% das amostras com concentração variando de 8,92 a 103,04 ng/g (lipídio). Em *C. spixii* foi observada a variação 12,31 a 103,04 ng/g HCH em lipídeos, sendo o valor 103,04 ng/g referente à bioacumulação no fígado.

As menores concentrações de HCH em relação aos DDTs provavelmente se devem a menor lipofilicidade e sua meia-vida curta nos tecidos dos organismos (comparando-se aos outros POCs), além de ser um composto volátil, sendo perdido em altas taxas para a atmosfera (Pandit *et al.*, 2001; Voorspoels *et al.*, 2004; Cipro, 2007), transportados preferencialmente pelo ar (Li *et al.*, 2008). Estes mesmos fatos foram

atribuídos aos menores níveis de acumulação de HCHs em relação aos PCBs e DDTs em diversas espécies de peixes provenientes de cidades industrializadas e densamente urbanizadas ao redor da Ilha de Java, na Indonésia, do estudo de Sudaryanto *et al.* (2007). A volatilidade também foi atribuída às baixas acumulações de HCHs nos diversos organismos bentônicos coletados na parte interna do Canal de São Sebastião-SP no estudo de Gorni & Weber (2004).

A diferença de acumulação dos congêneres de HCH em cada área é dada principalmente pela fonte de contaminação local, nisto a razão γ -HCH/ α -HCH é aplicada. No presente estudo, os baixos resultados da razão para a maior parte das regiões ocorreram devido à maior acumulação da forma γ , a qual tem atividade inseticida, indicando a contaminação de todas as regiões estudadas pelo Lindano, composto este utilizado na agricultura. Apenas em *C. parallelus* de Cananéia (inverno) e Santos (verão) indicaram contaminação por mistura técnica. Segundo Magalhães (2006) a mistura técnica tem propriedades similares aos outros inseticidas, porém é mais polar e solúvel em água, além de ser volátil e, portanto, menos residual no meio ambiente, porém, são encontradas dispersas por todo o globo.

Em relação aos metabólitos de DDTs, é devido a maior persistência que o metabólito DDE costuma ocorrer em maior quantidade nos tecidos dos organismos (Cipro, 2007; Silva *et al.*, 2007b; Storelli *et al.*, 2007). Provavelmente é por esta razão que neste estudo houve maior acumulação de p,p' DDE sobre o DDD na maioria dos casos, apresentando contribuição, sobre os valores de DDTs totais, de 53,6 a 100%, para a espécie *C. spixii* em todo o estudo, e de 69,6 a 100%, para *C. parallelus*. De acordo com Yogui *et al.* (2002) estima-se que 80% do total de DDTs esteja na forma de DDE nos organismos marinhos.

Diversos outros estudos também documentam a maior quantidade de DDE em suas amostras biológicas. Em Voorspoels *et al.* (2004), na Bélgica, por exemplo, as maiores concentrações de o,p'DDD e o,p'DDT foram respectivamente 8,0 e 2,1 ng/g peso úmido. Em Sudaryanto *et al.* (2007), na Indonésia, os p,p'DDEs ao longo das amostras apresentaram altas proporções em relação aos DDTs totais (64 a 91%). Em Silva *et al.* (2007b), no Brasil, a contribuição do p,p'DDE para os DDTs totais foi de 52,2% para o tubarão azul e 59% para o peixe-espada. Storelli *et al.* (2007), no Mar Mediterrâneo, as contribuições dos metabólitos encontrados foram: de 97,7 a 98,2% para p,p'DDE, 1,2 a 1,6% para p,p'DDD e 0,6 a 0,7% para o,p'DDD. Em Li *et al.* (2008) a maior concentração encontrada de p,p'DDE foi de $72,4 \pm 47$ ng/g peso úmido.

Yogui *et al.* (2003) observou que o *p,p'*-DDE ocorreu de maneira mais freqüente nas amostras de gordura de botos-tucuxi de Cananéia.

A relação estabelecida dos metabólidos *p,p'*DDE e *p,p'*DDT para com os DDTs totais indicam a cronologia dos *inputs* de DDTs no ecossistema. O uso passado é indicado por razões *p,p'*DDE / DDTs totais altas, de modo que, Yogui (2002) sugere que valores acima de 0,60 já são capazes de indicar, enquanto outros autores estabelecem que o resultado deve estar próximo (Sudaryanto *et al.*, 2007) ou maior do que 1,0 (Maes *et al.*, 2008). Além disso, ainda como indicação de uso passado, as razões *p,p'*DDT / DDT totais devem ser baixas, ou seja, menores do que 1 e mais próximas a zero. Para o uso recente, portanto, a interpretação destas duas razões são invertidas.

Avaliando os resultados obtidos na aplicação da razão *p,p'*DDE / DDTs neste estudo a partir do proposto por Maes *et al.* (2008), temos que, a partir dos resultados maiores do que 1,0, todos os casos indicaram que não há novos *inputs* de DDTs na região, exceto para *C. spixii* de Paranaguá no inverno e Santos no verão e *C. parallelus* de Cananéia no inverno que estiveram abaixo de 1,0 (valores 0,54, 0,72 e 0,70, respectivamente), indicando o uso recente de DDT.

Avaliando os resultados a partir do proposto por Yogui (2002) e Sudaryanto *et al.* (2007), temos que apenas o caso *C. spixii* de Paranaguá no inverno estiveram abaixo dos limites indicando, portanto, o uso recente de DDTs neste local. Este fato corrobora os resultados avaliados a partir de Maes *et al.* (2008), entretanto, vai de encontro com obtido para os casos *C. spixii* de Santos no verão e *C. parallelus* de Cananéia no inverno.

Em Storelli *et al.* (2007), altas concentrações de *p,p'*DDEs em relação aos *p,p'*DDTs também indicam usos passados e, de mesma forma, para *p,p'*DDE predominante aos outros metabólitos nos DDTs totais (Sudaryanto *et al.*, 2007; Storelli *et al.*, 2007). Visto que no presente estudo para *C. spixii* de Santos no verão e *C. parallelus* de Cananéia no inverno os resultados seguem estas as condições, a acumulação nos organismos nestes locais está condicionada ao uso passado dos DDTs, corroborando o índice proposto por Yogui (2002) e Sudaryanto *et al.* (2007). Entretanto, para o caso *C. spixii* de Paranaguá no inverno, a proporção 53,6% de *p,p'*DDE nos DDTs totais indica o uso passado, divergindo do obtido a partir dos valores propostos nas outras bibliografias. Os demais casos indicaram que não há novos *inputs* de DDTs na região corroborando o proposto pelos outros autores.

Apesar da utilização do valor de LDM de p,p'DDT, os resultados da razão p,p'DDT / DDT totais para os casos *C. spixii* de Paranaguá no inverno e Santos no verão e *C. parallelus* de Cananéia no inverno, indicaram o uso passado corroborando as condições propostas no parágrafo anterior.

Com isto podemos inferir que Cananéia, Paranaguá e Santos além de ainda sofrerem as influências de usos passados de DDTs, parecem contar com algum *input* recente concordando com a discussão anterior, que esteve relacionada a comparação entre os níveis de acumulação deste estudo e os níveis encontrados em bibliografias.

Yogui *et al.* (2003) observou uma razão p,p'DDE / DDTs de aproximadamente 0,8 a partir da bioacumulação em botos de Cananéia, indicando usos passados.

Quanto as clordanas, apesar de não haver diferenças significativas, os maiores níveis foram observados nas regiões mais industrializadas, sendo Paranaguá o local que obteve os maiores concentrações (14,2 e 10,9 ng/g peso úmido em *C. spixii* e *C. parallelus*, respectivamente), seguido de Santos (8,64 ng/g peso úmido em *C. parallelus*). Os resultados sugerem que estas duas regiões também são impactadas por agrotóxicos, mesmo a agricultura não sendo a atividade principal destes locais. Provavelmente, este tipo de contaminação em áreas urbanas é resultante principalmente do aporte pelos rios da região, fato este já observado no estudo de Sudaryanto *et al.* (2007). Além disso, pode ocorrer através das chuvas que carregam substâncias do continente para o estuário, além da ação dos ventos que contribuem para a dispersão destes compostos para outras regiões (Sanches *et al.*, 2003).

O padrão de contaminação por POCs em Sudaryanto *et al.* (2007) (DDT>CHL>HCH>HCB) se mostrou o mesmo que em *C. parallelus* do presente estudo (padrão DDT>CHL>HCH), enquanto que o estudo de Yang *et al.* (2006) encontrou um padrão diferente (DDT>HCH>HCB>CHL) de *C. spixii* (padrão CHL>DDT>HCH) e *C. parallelus* deste estudo

Para a região de Cananéia já foram documentados em Yogui *et al.* (2003) valores entre 0,001-0,047 ng/g (em lipídeos) em botos-tucuxi.

Em todas as áreas e para as duas espécies deste estudo, os valores de clordanas encontrados estiveram acima do obtido para peixes em Yang *et al.* (2006) (0,47 ng/g peso úmido) e entre os limites do estudo de Voorspoels *et al.* (2004) (0,24-25 ng/g peso úmido).

No presente estudo, os compostos organoclorados drins, HCB, endossulfan e mirex estiveram abaixo do LDM em todos os casos.

Magalhães (2006) detectou a bioacumulação de alguns destes compostos em 3 espécies de peixes na região de Santos, dentre elas o *Cathorops spixii*, de modo que: mirex apresentou-se em 28% das amostras e alcançou valores entre 5,90-222,17 ng/g (lipídio), sendo que a espécie *C. spixii* obteve apenas resultados abaixo do LDM (da mesma forma que o presente estudo) e o HCB foi o inseticida encontrado em menor frequência (16% das amostras) e ocorreu apenas em tecidos da espécie *C. spixii*, apresentando variação de 7,75-94,47 ng/g lipídio, sendo que os valores em fígado estiveram abaixo do LDM (da mesma forma que o presente estudo).

Segundo Zagatto & Bertolletti (2006), para compostos orgânicos hidrofóbicos que tendem a ser armazenados em lipídeos, quanto maior o conteúdo total destes nos órgãos/tecidos, maior sua capacidade de bioacumular tais compostos. Entretanto no estudo de Magalhães (2006), citado anteriormente, a única espécie em que houve mudança neste comportamento foi *C. spixii*. Nele foi observada uma bioacumulação menor de compostos organoclorados no fígado (PCBs e pesticidas, exceto para HCH que manteve a maior acumulação), bioacumulando mais em brânquias e, em menor escala, em musculatura. Segundo o autor, as brânquias estão em contato constante com a água e participam do processo de bioacumulação direta, o que as torna um órgão-alvo para a bioacumulação de contaminantes.

Deste modo, a bioacumulação de PCBs e pesticidas encontrados em menor quantidade em *C. spixii* do presente estudo pode também estar relacionada a matriz utilizada para análise nesta espécie, ou seja, mais um fator que pode estar influenciando os resultados. Entretanto, os teores de lipídeos nos órgãos dos organismos coletados, para as duas espécies, não foram verificados neste estudo, tornando difícil uma melhor comparação interespecífica dos resultados.

Não houve diferenças significativas sazonais para nenhuma das áreas estudadas em nenhuma das espécies. Nenhum dos pesticidas organoclorados analisados ultrapassou os limites para consumo humano, estabelecidos nas legislações nacionais e internacionais.

Os compostos POCs são contaminantes onipresentes no ambiente e devido a lipofilicidade e persistência, acumulam-se na cadeia alimentar sofrendo biomagnificação (Sanches *et al.*, 2003; Tadivo & Rezende, 2005; Zagatto & Bertolletti, 2006). O grande emprego de pesticidas orgânicos na agricultura desde 1940 promoveu, além de colheitas com qualidade, um aumento na produtividade possibilitando o atendimento da demanda alimentícia na maioria dos países (Rissato *et al.*, 2004). Os

OCs como o DDT, HCH, aldrin, endrin, heptacloro e mirex foram os inseticidas mais comuns no controle de pragas na agricultura, além de serem empregados em campanhas de saúde pública, como no Brasil, a fim de combater vetores de doenças tropicais em áreas urbanas.

Mesmo alguns compostos já proibidos para alguns fins, como os DDTs (desde 1985) e outros, tendo seu uso controlado, pode-se notar a partir dos dados do presente estudo que estes ainda ocorrem de maneira mensurável no ambiente.

A toxicidade desta classe de compostos vem do fato de serem estruturalmente diferentes das substâncias normalmente encontradas na natureza, e, portanto alguns organismos contaminados não têm a capacidade de metabolizá-las, resultando em acumulação (Baird, 2002 *apud* Tadivo & Rezende, 2005). Segundo Sanches *et al.* (2003), estes compostos causam danos ao meio ambiente e às pessoas devido à grande estabilidade física e química.

Atualmente, muitos pesticidas, principalmente da classe dos organoclorados e organofosforados que são as mais tóxicas existentes, tiveram seu uso proibido devido à possibilidade de suas fórmulas favorecerem a formação de tumores cancerígenos (Galli, 2006), assim como vários outros efeitos tóxicos.

Segundo D'Amato *et al.* (2002), o DDT atinge principalmente o sistema nervoso atuando no equilíbrio do sódio/potássio na membrana dos axônios, provocando impulsos nervosos constantes, que levam à contrações musculares, convulsões, paralisias e morte e ainda. Segundo este mesmo autor, é considerado teratogênico, induzindo a proliferação celular. De acordo com Ennaceur *et al.* (2008), pode causar imunodeficiência, assim como outros pesticidas. A intoxicação aguda em humanos caracteriza-se por cloracnes, tonturas, convulsões, insuficiência respiratória e até morte, dependendo da dose e do tempo de exposição (D'Amato *et al.*, 2002).

Assim como para outros POCs, os DDTs ativam a metabolização através da indução das enzimas hepáticas do citocromo P450, que promovem a ativação de outras substâncias cancerígenas potencializando o efeito (D'Amato *et al.*, 2002). Neste mecanismo, são capazes de induzir a formação de radicais livres que interagem de maneira danosa com o DNA.

No estudo de Steckert (2007), por exemplo, foram observados os efeitos genotóxicos ocasionados pelo uso de agrotóxicos em cultura de arroz irrigado, em Araranguá (SC), através do ensaio cometa em células sanguíneas de peixes *Geophagus brasiliensis* (acará), coletados na vala principal da cultura de arroz (que deságua

posteriormente no Rio Araranguá), em três períodos diferentes: plantio (1), aplicação de agrotóxicos (2) e colheita. Frequências significativamente maiores de danos em DNA foram obtidas nos organismos da coleta 2 em relação aos outros grupos (1, 3 e controle com a água do Rio Araranguá), indicando assim uma relação ao período de aplicação dos agrotóxicos. Além disto, os resultados obtidos através de testes de toxicidade com água coletada neste mesmo local, aplicando *Daphnia magna*, apontaram alta toxicidade também nas coletas 1 e 3 em relação ao grupo controle, o que indica que devido a sua persistência no ambiente, estes são capazes de causar efeitos tóxicos ao longo do tempo.

Siu *et al.* (2008) observou fortes correlações entre os valores de MN e a bioacumulação de 4 pesticidas organoclorados (α -HCH, DDTs e seus metabólitos, aldrin e dieldrin) em tecidos de mexilhões *Perna viridis* transplantados para locais poluídos em Hong Kong (Tsim As Tsui) e Sai Wan Ho).

Ennaucer *et al.* (2008) observou altas frequências de MN em culturas de linfócitos humanos após exposição a altas concentrações de DDE (80 mM) demonstrando que este composto é capaz de causar danos genéticos. As frequências de danos aumentaram ao longo das concentrações (10-80 mM).

Assim, a presença de pesticidas organoclorados nos três estuários estudados, pode estar influenciando os resultados dos biomarcadores de genotoxicidade MN e AN deste estudo, conforme será discutido no item 6.4 deste estudo.

6.3.3. Metais

Segundo Zagatto & Bertoletti (2006) metais pesados, assim como compostos organoclorados, podem ser perigosos nos níveis registrados no ambiente, pois trata-se de poluentes conservativos (não são degradados, ou, quando degradados, demandam longos períodos de tempo), o que acarreta sua permanente adição ao meio aquático e significativo potencial para bioacumulação na biota aquática podendo, inclusive, biomagnificar-se ao longo das cadeias alimentares.

Para incorporação à cadeia alimentar no sistema aquático, os metais podem ser classificados de acordo com sua disponibilidade. São *disponíveis* quando dissolvidos em águas superficiais e intersticiais ou adsorvidos à fase sólida mineral ou orgânica; *potencialmente disponíveis* quando estão complexados com a matéria orgânica na forma de sulfetos, co-precipitados com óxidos de ferro e manganês na forma de carbonatos ou

hidróxidos; e *não disponíveis* quando estão na forma de silicatos ou então constituindo a estrutura cristalina de minerais primários e secundários (Malm, 1986 *apud* Costa, 2007).

Também podem ser classificados de acordo com sua essencialidade para os organismos. Segundo Costa (*op. cit.*), os *essenciais* são aqueles que possuem função biológica conhecida e são constituintes obrigatórios do metabolismo dos organismos, participando de processos envolvendo compostos enzimáticos fazendo parte do sistema aceptor/doador de elétrons. São subdivididos em macro (Ni, K, Ca, P, S e Mg) e microelementos (Ba, Cl, Co, Cu, Fe, Zn, Mn, Mo) (Semmler, 2007). Estes últimos são geralmente encontrados na natureza em pequenas concentrações, da ordem de partes por bilhão (ppb) a partes por milhão (ppm) e são conhecidos também como elementos traço (Costa, *op. cit.*), entretanto, sua carência resulta em distúrbios no organismo que podem levar a morte (Virga *et al.*, 2007), enquanto o excesso causa toxicidade. Os elementos *não essenciais* (Al, As, Hg, Pb, Cd, Ag, Cr, Ni e Sn) não possuem função biológica (Canli & Atli, 2003; Semmler, 2007;) e, portanto são extremamente tóxicos aos organismos, podendo provocar uma série de distúrbios, tais como baixa fertilidade, diminuição nas defesas imunológicas, redução da taxa de crescimento e patologias que podem levar à morte dos indivíduos (Bainy *et al.*, 1998 *apud* Costa, 2007).

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, assim como descrito para os outros compostos químicos apresentados anteriormente, pode ser observada a interespecificidade na bioacumulação de metais. Na grande maioria dos casos a espécie *C. spixii* bioacumulou diferentes elementos em maiores quantidades que a espécie *C. parallelus*, diferindo significativamente para as bioacumulações totais de As, Co e Zn.

Conforme amplamente discutido nos itens anteriores e observado por Nendza *et al.* (1997), Kehrig *et al.* (1998), Canli & Atli (2003), Cain *et al.* (2004) e Seixas *et al.* (2007), vários são os fatores que influenciam no padrão de acumulação dos compostos nos tecidos dos organismos.

Segundo Chen & Chen (1999), a absorção dos contaminantes associados ao sedimento pelos peixes pode ocorrer de três maneiras: 1) partículas finas re-suspensas na coluna d'água, as quais são apreendidas por filtradores via brânquias ou trato intestinal; 2) disponibilização de contaminantes do sedimento para a água, os quais são acumulados pelos peixes através da respiração; 3) contato direto e consumo de sedimento por depositívoros através da pele e intestino. Nisto, pode-se observar que a bioacumulação é espécie-dependente e os hábitos alimentares e habitat são fatores diretamente relacionados, frente a exposição ao sedimento. Assim, na observação das

diferenças de bioacumulação encontradas entre *C. spixii* e *C. parallelus* deste estudo, desde que estas duas espécies se alimentam de organismos bentônicos, o habitat demersal dos bagres-amarelos parece estar influenciando de forma significativa nos resultados, fato este já observado por Azevedo (2009a) em estudo de bioacumulação em *C. spixii* provenientes de Cananéia e Santos.

Farias *et al.* (2005) já observou uma maior bioacumulação de Se em fígados de bagres-amarelos, *C. spixii*, ($13,5 \pm 4,3$ $\mu\text{g/g}$ peso seco) em relação aos robalos *Centropomus* sp. ($5,8 \pm 1,1$ $\mu\text{g/g}$ peso seco) provenientes da Baía de Santos. Nascimento *et al.* (2009), em estudo na região de Cananéia, verificou que a espécie de corvina *Micropogonias furnieri* foi a que apresentou maiores concentrações de mercúrio (114-442 $\mu\text{g/kg}$ peso úmido) em relação a pescada *Macrodon ancylodon* (12-100 $\mu\text{g/kg}$ peso úmido), robalo *Centropomus undecimalis* (15-178 $\mu\text{g/kg}$ peso úmido) e tainha *Mugil platanus* (1,5-24,5 $\mu\text{g/kg}$ peso úmido) devido ao seu hábito demersal e alimentação composta por pequenos peixes e crustáceos (hábito carnívoro). No Estuário do Rio do Sal (Sergipe), Passos *et al.* (2006) observou maior bioacumulação de Cd e Zn em rins de *C. spixii* em relação ao obtido em fígado, ao contrário do que foi observado para os compostos Cu e Ni.

Uma maior bioacumulação de metais em organismos aquáticos que estão em constante contato com o sedimento também foi observada no estudo de De Souza Lima *et al.* (2002), na Baía de Guanabara – RJ, onde os bagres marinhos e as corvinas apresentaram uma maior acumulação de Zn, e bagres marinhos uma maior concentração de Cd em relação a organismos de coluna d'água e, portanto, menos expostos ao sedimento.

Isso ocorre porque o sedimento representa um “depósito” de contaminantes, esperando-se assim que as maiores concentrações estejam presentes neste compartimento, fato este amplamente discutido ao longo deste estudo. Assim, organismos que vivem em constante associação com o fundo estão sujeitos a uma maior exposição, tornando-se passíveis de maior bioacumulação nos tecidos, o que possivelmente determinou maiores acumulações em *C. spixii* em relação aos *C. parallelus*.

Entretanto, este resultado diverge do obtido para os outros compostos analisados neste estudo (PAHs e organoclorados), onde a maior acumulação foi determinada aos robalos-peva. Provavelmente isto ocorreu devido a acumulação diferencial dos compostos xenobióticos nos diferentes órgãos e tecidos dos organismos

(cinética), visto que para as análises de metais foi utilizado o tecido muscular, enquanto que para as outras análises foi utilizado o fígado dos exemplares como matriz.

Os níveis de acumulação diferencial dos metais nos diferentes tecidos se devem, primeiramente, as diferenças na atividade metabólica. Tecidos como fígado, baço, rim e brânquias são partes ativas no metabolismo dos peixes e assim acumulam metais em maior quantidade que outros tecidos, como o muscular (Kalay & Canli, 2000). Entretanto, este padrão de acumulação também pode variar de espécie para espécie, além do que, segundo Virga *et al.* (2007), cada elemento metal tem uma afinidade maior por um ou outro órgão específico, neste caso, caracterizando o padrão de acumulação como metal-dependente (Chen & Chen, 1999).

Em Seixas *et al.* (2007), por exemplo, peixes das espécies *Micropogonias furnieri* (corvina), *Bagre* spp (bagres) e *Mugil Liza* (tainha) coletados na Baía de Guanabara apresentaram maior acumulação de selênio em fígados do que em tecido muscular, fato este atribuído pelos autores a uma tendência do Se em se acumular em órgãos com atividade metabólica muito intensa.

Em Canli & Atli (2003) foram avaliadas as acumulações de diversos metais em diferentes órgãos/ tecidos (músculo, fígado e brânquias) de peixes de diferentes habitats e hábitos alimentares: dourada (*Sparus aurata*), peixe-rei (*Atherina hepsetus*), tainha (*Mugil cephalus*), cabra-vermelha (*Trigla cuculus*), sardinha (*Sardina pilchardus*) e agulhão (*Scomberesox saurus*), coletado na porção nordeste no Mar Mediterrâneo. Pode ser observado que: o elemento Cu teve sua maior acumulação no fígado em todas as espécies; o mesmo ocorreu para o Pb, exceto para a dourada onde a maior acumulação se deu nas brânquias; Zn e Fe ocorreram em maior nível no fígado em douradas, tainhas e cabra-vermelha, enquanto em peixe-rei, sardinha e agulhão ocorreram nas brânquias; a maior acumulação de Cr ocorreu no fígado, exceto em sardinhas; e o Cd ocorreu em maior quantidade em brânquias, exceto em cabra-vermelha e sardinha.

De mesma forma em De Souza Lima *et al.* (2002), diversos metais foram avaliados em diferentes órgãos (músculo, gônadas e fígado) de 4 espécies de peixes coletados em dois pontos do Rio de Janeiro: tainha (*Mugil lisa*), pescada (*Cynoscion leiarchus*), corvina (*Micropogonias furnieri*) e bagres marinhos (*Genidens genidens*). Pode-se observar a partir dos gráficos documentados no estudo que: o elemento Ni parece acumular mais em músculos e gônadas de tainhas, em fígado de pescada, gônada de corvina, e músculo e fígado de bagres marinhos; os elementos Cu, Fe e Cd parecem ocorrer em maiores níveis em fígados de todas as espécies; o Cr já parece não ser bom

indicador em fígados ocorrendo em maior quantidade em gônadas de tainhas e bagres, e em músculos de pescadas e corvinas; Zn ocorreu em maior nível em fígado e gônadas de tainha e pescada, e apenas em fígado de corvina e bagres; a maior bioacumulação de Pb ocorreu de maneira semelhante nas três matrizes em corvinas, e em maiores quantidades em fígados de tainhas, gônadas de pescada e músculo de bagres.

Ainda no Rio de Janeiro no estudo de Medeiros *et al.* (2008), na avaliação da bioacumulação de Hg em diferentes órgãos/tecidos (fígado, rins, baço, estômago, brânquias, intestinos, olhos, cecos, conteúdo estomacal e tecido muscular) de atum-albacora (*Tunnus albacores*) e pescada bicuda (*Cynoscion microlepidotus*), pode ser observado que nas duas espécies a maior acumulação foi dada na musculatura dos exemplares.

Chen & Chen (1999), em um experimento de bioacumulação em tecidos (músculo, brânquias, trato intestinal e fígado) de tainhas *Liza macrolepis*, após exposição ao sedimento contaminado do Porto de Kaohsiung (China), observaram maiores concentrações de Cd e Cu em fígado, enquanto Zn, Mn e Fe apresentaram maiores níveis nas brânquias. O tecido muscular para esta espécie foi o tecido que apresentou menor acumulação em todos os casos.

Por sua vez, no estudo de Carmo *et al.* (2008) de bioacumulação dos metais Cr, Ni, Zn e Cu em fígados e brânquias de paratis (*Mugil curema*) coletados nos rios Mariana e Branco do Complexo Estuarino de Santos e São Vicente foram observadas maiores concentrações de Cr e Ni nas brânquias, enquanto Cu e Zn tiveram sua maior acumulação em fígados.

Conforme já mencionado anteriormente, em Magalhães (2005) foi documentado que a matriz fígado em *C. spixii* não é boa indicadora de bioacumulação de organoclorados, compostos estes que ocorreram em maior quantidade nas brânquias seguido do tecido muscular dos exemplares. Por outro lado, Azevedo (2008) e Azevedo *et al.* (2009 a e b) afirmaram que *C. spixii* é um bom indicador de poluição por metais traços, em seus estudos com tecido muscular e fígado, sendo a matriz fígado a que registrou as maiores bioacumulações em comparação com o tecido muscular. Farias *et al.* (2005) também observou uma maior acumulação de Hg em fígado de *C. spixii* coletados na Baía de Santos em relação ao obtido em tecido muscular.

Desta forma, mais estudos devem ser realizados analisando-se a concentração dos xenobióticos em diferentes matrizes (órgãos e tecidos), buscando um melhor entendimento da diferença interespecífica na bioacumulação em *C. spixii* e *C.*

parallelus, bem como dos padrões de acumulação dos diversos contaminantes nos diferentes tecidos destas duas espécies.

A poluição aquática por metais pesados tem sido considerada uma das formas mais nocivas da poluição ambiental, pois estes compostos não são facilmente degradáveis e tendem a se acumular nos tecidos dos organismos (Medeiros *et al.*, 2008). Os metais são o resultado da queima de combustíveis fósseis e de processos industriais, agrícolas e naturais e estão amplamente distribuídos pelo ambiente. Estão associados às indústrias de refino/petroquímicas, siderúrgicas, papel e celulose, fertilizantes e fungicidas, químicos em geral, além de serem trazidos para o sistema aquático pelos esgotos.

Uma maior bioacumulação em tecidos pode estar vinculada a maior contaminação da região ou ponto estudado. De acordo com Sultana & Rao (1998), peixes expostos a altas concentrações de metais traço no ambiente aquático podem adquirir quantidades substanciais destes compostos. Tal fato já foi documentado, por exemplo, por Canli & Atli (2003) em estudo de bioacumulação de diversos metais em peixes comparando-se a Baía de Guanabara e oceano aberto (local sem contaminação); por Fernandes *et al.* (2008) em estudo com Hg também na Baía de Guanabara onde os autores afirmaram que os resultados de bioacumulação em 3 espécies de peixes (bagre, cocoroca e corvina) parecem ter sido influenciados pelo grau de contaminação do sedimento de cada estação de coleta; e por Azevedo *et al.* (2009b) em estudo com *C. spixii* do Complexo Estuarino de Santos e São Vicente onde a maior bioacumulação de Hg em tecidos se deu no ponto sob maior influência do pólo industrial de Cubatão.

Entretanto, uma área muito contaminada nem sempre registra altos níveis de bioacumulação, fato este já constatado, por exemplo, por Pereira *et al.* (2002) em estudo de bioacumulação de metais (Cd, Hg, Pb e Zn) com 3 espécies de bivalves na região de Santos (região fortemente impactada) e por Kehrig *et al.* (1998) em estudo com Hg em peixes coletados na Baía de Guanabara (mais contaminada), Baía de Sepetiba, Ilha Grande (referência) e Lagoa da Conceição. Neste último estudo foi observado que a região mais impactada refletiu em maiores níveis de bioacumulação nos tecidos dos organismos, entretanto, a região considerada não poluída (Ilha Grande) também apresentou altos índices de Hg, colocando-se como a segunda mais impactada. Os autores atribuíram o fato a condição oligotrófica da região, que ao apresentar menor quantidade de material orgânico particulado, há uma menor adsorção dos metais presentes na coluna d'água por este material, deixando-os mais disponíveis aos peixes e

outros organismos aquáticos, resultando em maior bioacumulação; ao passo que locais mais eutróficos, como regiões estuarinas, possuem maior quantidade de material orgânico particulado favorecendo a adsorção dos metais por parte deste material, resultando em menor disponibilidade e tempo de residência dos xenobióticos no ambiente e podendo assim levar a uma menor bioacumulação.

Neste estudo, analisando-se cada um dos elementos separadamente na comparação entre os valores de bioacumulações em tecidos musculares das três áreas, em cada estação do ano e espécie, foram detectadas diferenças significativas entre os níveis obtidos. Entretanto, nota-se que cada um dos elementos ocorreu de maneira variável nas três áreas de estudo, algumas vezes não sendo observado um padrão de maior ou menor acumulação ao longo das coletas em cada área.

O elemento cromo não ocorreu de maneira mensurável nos tecidos musculares dos exemplares coletados. Cr é reconhecido como um elemento traço essencial, ocorrendo naturalmente em sistemas biológicos, mas não é encontrado livre na natureza (Costa, 2007). Pode ser introduzido no ambiente através dos despejos de efluentes das indústrias de curtume e siderurgia (Semmler, 2007). Participa ativamente do metabolismo de carboidratos, principalmente co-atuando com a insulina, melhorando a tolerância à glicose (Nascimento *et al.*, 2009).

O cobalto foi detectado somente em *C. spixii* de modo que, durante o inverno, a região de Santos apresentou os maiores índices, ao contrário do que ocorreu no verão. Cananéia obteve os valores mais baixos que as outras áreas (inverno) e abaixo do LD (verão). Este metal ocorre na natureza geralmente associado a minérios como níquel, prata, chumbo, cobre e ferro, dos quais é obtido como subproduto (Semmler, 2007). É um microelemento essencial necessário ao organismo em baixas concentrações e, dentre suas principais funções, é necessário à síntese da vitamina B12 que, por sua vez, influencia no metabolismo energético do organismo facilitando a formação de glicose. É utilizado na produção de superligas usadas em turbinas de aviões, ligas resistentes a corrosão e ferramentas de diamante, e também aplicado no processo de refino de petróleo e estabilizante de espuma de cervejas e chope (Semmler, 2007).

Quanto ao elemento cádmio, apenas em *C. spixii* no inverno foram detectados níveis acima do LD para as três áreas de estudo, sendo que Cananéia obteve os menores valores, porém não diferindo significativamente das outras áreas. Em *C. spixii*, no verão, e *C. parallelus*, no inverno, apenas Paranaguá obteve valores acima do LD, enquanto em *C. parallelus* no verão nenhuma das áreas apresentou valores acima de

LD. Deste modo o cádmio, assim como o cobalto, é um dos elementos que menos acumulou nos tecidos dos exemplares coletados neste estudo. O Cd é um elemento não-essencial encontrado em baixas concentrações na crosta terrestre (Lamparelli *et al.* 2001). As principais fontes antrópicas deste elemento são as atividades industriais que envolvem a produção de baterias, ferro, ligas metálicas, componentes eletrônicos, emissões de combustíveis fósseis, entre outros (Lamparelli *et al.*, 2001; Semmler, 2007). Resíduos de esgotos e lixo municipal contribuem em menor escala. Fertilizantes e agrotóxicos utilizados indiscriminadamente na agricultura podem veicular Cd para os seres vivos e ao homem (Semmler, 2007).

Em *C. parallelus* o chumbo ocorreu de maneira detectável (acima do LD da técnica) apenas em Cananéia no inverno, enquanto em *C. spixii* ocorreu nas três áreas de estudo no inverno (Cananéia com os maiores níveis e Santos os menores) e apenas em Cananéia no verão. Os níveis encontrados nos exemplares de Cananéia se mostraram maiores que os das outras áreas de estudo. O chumbo tem sua ocorrência natural em rochas magmáticas e outras (Lamparelli *et al.*, 2001) e é um elemento considerado não-essencial para os seres vivos. É utilizado como catalisadores na fabricação de espumas de poliuretano e anti-corrosivos de aço, ocorrem nos efluentes de refinarias de petróleo, indústrias petroquímicas e siderúrgicas (Lamparelli *et al.*, 2001; Semmler, 2007). São resíduos comuns da queima da gasolina (Evangelista, 1984 *apud* De Souza Lima *et al.*, 2002). Também são aplicados na produção de pinturas de barcos com fins anti-incrustantes e como biocidas na proteção da madeira contra o ataque das brocas e fungos marinhos, o que talvez justifique uma maior acumulação deste elemento nos exemplares da região de Cananéia em relação às outras duas áreas de estudo, uma vez que a pesca é uma das atividades mais representativas da região, havendo grande número de embarcações de madeira neste local.

Além disso, Cunha (2003 *apud* Amorin *et al.*, 2007) afirma que embora as atividades de mineração e metalurgia tenham cessado em 1996, a população desta região ainda convive com fontes de contaminação ambiental, em especial, o chumbo e o arsênio, tipicamente originados da atividade de extração, beneficiamento e refino mineral. Apesar de ocorrerem principalmente na porção de Ribeira do Iguape do Complexo, o transporte atmosférico pode levar a contaminação para as regiões mais distantes da fonte, o que provavelmente está determinando a maior concentração de Pb nos tecidos dos exemplares deste estudo, além das maiores concentrações de As conforme será discutido a seguir.

Em relação ao arsênio, os menores valores foram conferidos aos exemplares coletados na região de Santos (exceto *C. parallelus* no inverno), enquanto que Cananéia apresentou os maiores níveis (exceto *C. spixii* no inverno). Esse semi-metal ocorre naturalmente no ambiente, e está presente na maioria das rochas em concentrações que variam de 2 a 5 µg/g, podendo atingir 13 µg/g em sedimentos argilosos (Lamparelli *et al.*, 2001), entretanto, não exercem nenhuma função nos organismos (elemento não-essencial), concentrando-se nos tecidos (Semmler, 2007). Além da atividade industrial, especialmente fundições de chumbo, ouro, prata, cobre, zinco e cobalto (Semmler, 2007), pode ser trazido ao meio aquático por produtos agrícolas como inseticidas, formicidas, herbicidas e preservativos de madeira (Barra *et al.*, 2000; Semmler, 2007), fontes estas que podem estar ocasionando as maiores concentrações de As nos exemplares da região de Cananéia.

Em todos os casos em *C. spixii* (nas três áreas de estudo e nas duas estações do ano), a acumulação deste elemento ocorreu em ordem de grandeza acima dos níveis obtidos para os outros elementos analisados, exceto em relação ao Zn. Estes resultados condizem com o proposto nos estudos de Semmler (2007) e Barra *et al.* (2000), onde eles afirmam que organismos marinhos acumulam quantidades substanciais de arsênio através dos compostos arsêniobetaína e arsenocolina, compostos estes de menor toxicidade, derivados da biotransformação de outras formas de arsênio previamente absorvidas pelo organismo do ambiente natural. Dentre essas formas, estão espécies inorgânicas e orgânicas (arsenito ou As(III), arseniato ou As(V), íon monometilarsônico e íon dimetilarsínico), resultantes da participação em complexos biológicos, processos químicos e algumas aplicações industriais. Aliado a este fato, o contato constante com o sedimento faz com este organismo esteja predisposto a maior bioacumulação.

Lamparelli *et al.* (2001) afirma que as únicas fontes potenciais deste elemento no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente são o Lixão dos Pilões, à margem do Rio Cubatão, e a área contaminada pela empresa Profundir à margem do manguezal do Rio Piaçabuçu, no município de Praia Grande. Talvez a acumulação de As nos tecidos dos organismos provenientes da região de Santos no presente estudo tenham sido influenciadas por estas fontes de contaminação, em especial a empresa Profundir, uma vez que a coleta dos exemplares se deu na desembocadura do Rio Piaçabuçu.

Em relação ao zinco, as menores concentrações em tecidos foram detectadas na região de Cananéia (exceto para *C. parallelus* no inverno), enquanto Paranaguá e Santos alternaram as maiores concentrações. O zinco é um metal amplamente distribuído na

natureza ocorrendo em diversos tipos de solos (Lamparelli *et al.*, 2001). Segundo Semmler (2007) e Eisler (1993), atividades antrópicas também podem acarretar a presença deste elemento no ambiente aquático, principalmente através de atividades industriais como a produção de ligas metálicas (latão), telhas e calhas residenciais, de pilhas secas, tintas, vidros, além de ser utilizado na preservação do ferro e indústrias têxteis, de borracha, cerâmicas e pesticidas, o que pode ter determinado as maiores bioacumulações de Zn nas áreas mais industrializadas deste estudo. Além disso, segundo González *et al.* (1991) e Lamparelli *et al.* (2001), o Zn está presente nas habitações (telhas e utensílios) e em produtos diversos, ocorrendo, portanto, no lixo e no esgoto domésticos o que justificaria as concentrações obtidas na região de Cananéia.

Em ambas as espécies estudadas, os níveis de Zn foram observados a uma ordem de grandeza acima dos valores dos outros compostos analisados, semelhante ao discutido a pouco para o elemento As em *C. spixii*. Isso pode ter ocorrido, pois este elemento é considerado um microelemento essencial aos seres vivos, e está presente em todas as partes do organismo assumindo diferentes funções (Semmler, 2007). Este elemento é essencial no crescimento e diferenciação celular, pois é necessário na síntese e metabolismo de proteínas e de RNA/DNA, na atividade da insulina e no funcionamento do fígado (Semmler, 2007; Nascimento *et al.*, 2009). Além disso, é um componente estrutural de muitas enzimas (mais de 90), hormônios e outros compostos metabólicos, relacionado ao metabolismo de carboidratos, lipídeos e energia, e assegurando a estabilidade biológica de moléculas (como o DNA) e estruturas biológicas (como membranas e ribossomos) (Eisler, 1993; Trindade, 2005; Costa, 2007). Segundo Passos *et al.* (2006), o Zn é constituinte natural para a reprodução de gametas e transporte de oxigênio.

Altas concentrações de Zn em *C. spixii* em relação a outros metais também foi documentada por Passos *et al.* (*op. cit.*), também atribuídas ao fato deste elemento fazer parte de diversas enzimas no organismo, sendo considerado um micronutriente essencial.

O mercúrio ocorreu em todos os casos neste estudo sendo a região de Cananéia a que apresentou os menores índices, na sua maioria. Paranaguá apresentou os maiores níveis apenas em *C. spixii*, enquanto que em *C. parallelus* os maiores níveis foram detectados na região de Santos. Segundo Lamparelli *et al.* (2001) o Hg é um metal encontrado em concentrações muito reduzidas em rochas magmáticas, podendo concentrar-se em rochas sedimentares e sedimentos argilosos. Na natureza, são

provenientes de atividade vulcânica, gases da crosta e queima de combustíveis fósseis (Semmler, 2007). No passado, foi muito utilizado em medicamentos (diuréticos, laxantes e anti-septicos) e atualmente é aplicado nas indústrias de cerâmica, farmacêutica e de cosméticos, refinarias, fabricação de pilhas e baterias, equipamentos elétricos, pinturas a base de mercuriais, entre outros (Lamparelli *et al.*, 2001; Semmler, *op. cit.*). Provavelmente por isso que as maiores bioacumulações foram atribuídas às regiões de maior industrialização.

Entretanto, segundo Eisler (1987), também podem ser transportados para outras regiões através do ar, devido sua alta volatilidade. Aliado a este fato, sua utilização em alguns fertilizantes, inseticidas e fungicidas (Lamparelli *et al.*, 2001) e na mineração, e a alta persistência no sedimento (levando até 100 anos pra ser totalmente trocado com a coluna d'água adjacente), segundo documentado em Abessa (2002), são fatores que podem ter contribuído com sua ocorrência na região de Cananéia.

Além dos efluentes industriais, segundo Siqueira *et al.* (2004), o Hg está presente em despejos de esgotos urbano e lixívia de depósitos de rejeitos sólidos (lixões e aterros). Não possuem função biológica, assim a bioacumulação nos organismos já reflete a contaminação do local por fontes antrópicas ou até mesmo por fontes naturais (Eisler, 1987).

Segundo Malm *et al.* (1995) peixes provenientes de regiões não poluídas (sem o efeito direto da contaminação por Hg), apresentam em seus tecidos níveis (em $\mu\text{g/g}$ peso úmido) menores que 0,2, para peixes de água doce, e 0,15 para peixes marinhos, ao passo que em áreas contaminadas os níveis atingem 2 ou mais e, em peixes carnívoros, 10-20, valores estes que são considerados letais aos peixes. Baseando-se nesses índices, temos que nenhum dos locais de coleta dos organismos do presente estudo é considerado contaminado por Hg.

Em relação ao selênio não foi observada nenhuma tendência de acumulação entre as áreas. O selênio é um semi-metal amplamente distribuído na crosta terrestre, encontrado na maioria das rochas e solos (Lamparelli *et al.*, 2001). São liberados também como resultado de atividades antrópicas, dentre elas a queima de combustíveis fósseis e fundição de metais (Eisler, 1985). São aplicados na indústria eletroeletrônica, semicondutores, retificadores, células fotoelétricas, baterias solares, câmeras de TV e indústrias de vidros, cerâmicas e esmaltagem, xerografia, além de produção de petróleo e agentes médicos com fins terapêuticos (Eisler, *op. cit.*; Semmler, 2007).

De acordo com Eisler (*op. cit*), é um elemento essencial aos organismos uma vez que é componente estrutural de várias enzimas. Está presente no organismo como selenometionina, estocado em músculos, eritrócitos e em órgãos como pâncreas, fígado, cérebro, rins, mucosa gastrointestinal e pele, como parte integral da enzima glutathione peroxidase (GSHPx-1), estocado no fígado e participando do processo de combate enzimático aos radicais livres (Semmler, 2007); desempenha importante papel em outros compostos biologicamente ativos, especialmente vitamina E; além de fazer parte de proteínas como citocromo C, hemoglobina e mioglobina, miosina e várias ribonucleoproteínas (Eisler, 1985).

Provavelmente por estes motivos foram encontrados em todos os exemplares coletados não sendo possível a observação de padrões de maior ou menor bioacumulação entre as áreas de estudo.

Atualmente, segundo Costa (2007), muitos trabalhos relacionados à poluição por metais pesados na região costeira têm sido desenvolvidos, mas a distribuição desses elementos em tecido muscular de peixes ainda é relativamente pouco estudada, e assim poucos dados estão atualmente disponíveis para comparação e discussão, principalmente nas regiões de Paranaguá e Cananéia analisadas neste estudo, particularmente tratando-se de *C. spixii* e *C. parallelus*.

As concentrações de Se encontradas no fígado e músculo de 3 espécies de peixes (corvina, bagre e tainha) coletadas na Baía da Guanabara no estudo de Seixas *et al.* (2007), foram caracterizadas pelo autor como semelhantes aos níveis encontrados em tecidos de peixes provenientes de regiões consideradas não impactadas por selênio. Visto que as maiores concentrações do estudo de Seixas *et al.* (*op.cit*) foram 13,67 e 0,3 µg/g peso úmido (em fígado e músculo, respectivamente), pode-se sugerir que, na maioria dos casos, as três áreas no presente trabalho não devam sofrer tanto com os lançamentos antrópicos de selênio, uma vez que os valores observados no presente estudo foram semelhantes ao apresentado para o tecido muscular dos peixes de Seixas *et al.* (*op.cit*) e não ultrapassaram o valor obtido em fígado. Talvez a concentração obtida para *C. spixii* de Paranaguá nas duas estações do ano (0,45 µg/g peso úmido) indiquem algum aporte de Se neste estuário, quando comparado ao valor em músculos do estudo de Seixas *et al.* (*op.cit*) .

Em Azevedo *et al.* (2009a) os seguintes intervalos de concentrações (µg/g peso úmido) de metais foram detectados em fígados de *C. spixii* de Cananéia: Co = 0,5-0,88, Se = 10,99-14,96, Zn = 0,95-1,21 e Hg = 0,25-0,26 (<LDM em tecido muscular). Já os

valores encontrados para a região de Santos foram: Co = 0,45-1,33, Se = 11,87-19,2, Zn = 107-566 e Hg = 0,10-0,92 (0,01-0,08 em tecido muscular). As concentrações de Co, Se e Hg para esta mesma espécie (nas regiões correspondentes) do presente estudo estão abaixo das obtidas na matriz fígado de Azevedo *et al.* (*op.cit*). Os valores de Hg, por sua vez, se encontram entre os limites de concentração obtidos no tecido muscular dos bagres da região de Santos de Azevedo *et al.*, porém mantém-se abaixo dos níveis documentados para a região de Cananéia. As concentrações de Zn de Cananéia estão acima das obtidas no fígado de *C. spixii* de Azevedo *et al.*, entretanto abaixo dos níveis documentados para a região de Santos. Visto que se trata de duas matrizes distintas (fígado x músculo), duas áreas de níveis de impacto antrópico diferentes (Cananéia x Santos), porém a mesma espécie e métodos de análise, reforça-se neste ponto a necessidade de estudos adicionais em relação à bioacumulação dos diversos elementos metais nos diferentes órgãos e tecidos das espécies estudadas, além da bioacumulação em diferentes situações de estresse ambiental, visto que os elementos Zn e Hg alternaram maiores e menores níveis entre as regiões de Cananéia e Santos a medida que se compara este e o outro estudo.

Ainda em Azevedo *et al.* (2009a), pode-se notar que os valores de Co, Fe, Se e Zn obtidos em fígado diferiram significativamente entre as duas áreas, de modo que os elementos Co, Se e Zn obtiveram os maiores valores na região de Santos, assim como ocorreu no presente estudo para esta mesma espécie nas duas estações do ano. Os valores de Hg em fígado e músculo obtidos em Azevedo *et al.* (*op. cit*) não diferiram significativamente entre as áreas e, assim como os valores de Fe, os valores em tecido muscular obtidos na região de Santos foram mais baixos do que os detectados para a mesma matriz na região de Cananéia, conforme também observado no presente estudo, na campanha do inverno.

Em Azevedo *et al.* (2009b) em estudo de bioacumulação de Hg em tecidos musculares desta mesma espécie (*C. spixii*) nestas mesmas regiões de estudo, os organismos foram coletados em três pontos diferentes em cada um dos estuários, Cananéia e Santos, no inverno e verão. Respectivamente para as duas estações do ano, os níveis médios de bioacumulação (em ng/g peso úmido) em dois dos pontos de coleta no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente – Canal de Santos (389 e 199) e Baía de Santos (164 e 158) – se mostraram mais acentuados do que aqueles obtidos nos três pontos de Cananéia – Mar de Cananéia (77 e 48), Mar de Cubatão (136 e 73) e Baía de Trapandé (155 e não observado). Entretanto os níveis encontrados para o ponto no

Canal de São Vicente (28 e 35) se mostraram menores em relação aos índices de Cananéia, assim como o ocorrido na campanha do inverno do presente estudo. Os autores atribuíram estes resultados a uma menor biodisponibilidade deste elemento, visto que a baixa hidrodinâmica associada às características do sedimento nesta porção do Complexo são fatores que favorecem a retenção dos xenobióticos no sedimento tornando-os menos disponíveis à biota. Este fato também pode ter influenciado o resultado no presente estudo, uma vez que os organismos também foram coletados na porção São Vicente do Complexo.

O valor médio de Hg obtido no presente estudo para a região de Santos no inverno (18 ± 2 ng/g peso úmido) se encontra abaixo do intervalo de concentração documentado por Azevedo *et al.* (2009b) nesta mesma época do ano para o ponto de São Vicente (21-104 ng/g, conferindo a média de 28 ng/g), enquanto que para o verão a média (16 ± 1 ng/g peso úmido) esteve dentro do limite documentado por Azevedo *et al.* (*op. cit.*) (intervalo 9-80 ng/g peso úmido, conferindo a média de 35 ng/g). Para Cananéia, o valor médio obtido no presente estudo no inverno (22 ± 3 ng/g peso úmido) se coloca abaixo dos intervalos de concentração obtidos nesta mesma época do ano para os três pontos de coleta de Azevedo *et al.*, enquanto que o obtido no verão ($11,9 \pm 0,1$ ng/g peso úmido) esteve abaixo do intervalo documentado para o Mar de Cubatão (35-147 ng/g conferindo a média de 73 ng/g), dentro do limite ou próximo ao menor valor obtido para o Mar de Cananéia (<30-160 ng/g conferindo a média de 48 ng/g) e acima do resultado obtido para a Baía de Trapandé (não observado).

Farias *et al.* (2005) documentou o intervalo de concentrações de Hg 0,01-0,23 $\mu\text{g/g}$ peso úmido (média $0,06 \pm 0,04$ $\mu\text{g/g}$) em tecido muscular de *C. spixii* coletados na Baía de Santos. Foi possível notar que todas as médias obtidas para esta mesma espécie no presente estudo (tanto para a região de Santos quanto para Paranaguá e Cananéia) se colocam dentro dos limites obtidos em Farias *et al.* (*op. cit.*). Para *C. parallelus*, o mesmo ocorre apenas para os níveis obtidos na região de Santos nas duas estações do ano, enquanto Cananéia e Paranaguá estiveram abaixo do obtido em Farias *et al.* (*op. cit.*).

Ainda em Farias *et al.* (*op. cit.*) os respectivos intervalos de concentrações de Hg (em $\mu\text{g/g}$ peso úmido) para os peixes demersais cangoá (*Steliffier rastrifer*) e maria-luísa (*Paralonchurus brasiliensis*) foram 0,05-0,12 (média $0,08 \pm 0,03$) e 0,02-0,03 (média $0,02 \pm 0,01$), respectivamente. O valor para cangoá se mostra acima do obtido para o peixe demersal *C. spixii* do presente estudo para a região de Santos, enquanto o valor

para maria-luisa se mostra semelhante. Além disso, os intervalos de concentrações de selênio (em $\mu\text{g/g}$ peso seco) em fígados de *C. spixii* e *Centropomus* sp foram, respectivamente, 4,4-19,2 (média $13,5 \pm 4,3$) e 4,6-6,6 (média $5,8 \pm 1,1$).

Em Lamparelli *et al.* (2001), em estudo no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente, as maiores concentrações de metais ($\mu\text{g/g}$ peso úmido) encontradas em tecidos de bivalves, crustáceos e peixes, respectivamente, foram: Cd, 0,24, 0,07 e 0,03 (robalo máximo 0,03); Pb, 1,3, 0,8 e 1,0 (robalo máximo 1,0); Cr, 3,0, 0,7 e 1,4 (robalo máximo 0,5); Hg, 0,04, 0,69 e 0,34 (robalo máximo 0,18); Zn, 560, 75,9 e 63,5 (robalo máximo de 54,8). Comparando-se os dados obtidos nos tecidos dos peixes do estudo de Lamparelli *et al.* (*op cit*) temos que todos os valores se apresentaram acima dos máximos por nós obtidos, para as três regiões a partir de análises na musculatura dos *C. spixii* e *C. parallelus*.

Nascimento *et al.* (2009) documentou os seguintes intervalos de concentrações respectivamente em músculos de corvinas (*Micropogonias furnieri*), pescada (*Macrodon ancylodon*), robalo (*Centropomus undecimalis*) e tainha (*Mugil platanus*) coletados na região de Cananéia: As, 362-6674, 536-2537, 28-764 e 280-1144 ng/g peso úmido; Cr, 0,02-0,15, 0,02-0,24, 0,03-0,36 e 0,03-0,23 $\mu\text{g/g}$ peso úmido; Zn, 2,5-3,3, 2,4-3,6, 1,8-5,1 e 2,6-3,8 $\mu\text{g/g}$ peso úmido; Hg, 114-442, 12-100, 15-178 e 1,5-24,5 ng/g peso úmido. Os autores atribuíram as concentrações elevadas de As ao recebimento de efluentes do continente que podem conter pesticidas, herbicidas, fertilizantes ou desfolhantes (produtos que contêm As em sua composição) e as concentrações de cromo foram relacionadas ao saneamento básico deficiente na região e ao lixo (também uma fonte potencial de Cr).

Comparando os dados obtidos em robalos de Cananéia do presente estudo aos robalos de Nascimento *et al.* (2009), nota-se que os valores estiveram dentro dos limites documentados para o elemento As, semelhante (verão) e acima (inverno) do apresentado para o Zn e abaixo do documentado para Hg e Cr. O robalo *Centropomus undecimalis*, em Nascimento *et al.* (2009), foi a espécie que apresentou níveis mais elevados de cromo e zinco (divergindo do obtido para os robalos-peva em relação aos bagres-amarelos no presente estudo), enquanto as corvinas apresentaram as concentrações mais elevadas de arsênio e mercúrio (assim como o obtido para *C. spixii* do presente estudo), provavelmente devido ao fato de ambas espécies possuírem hábito demersal e se alimentarem de organismos bentônicos e pequenos peixes.

Alguns outros trabalhos realizados na Baixada Santista e Cananéia observaram a presença de metais em tecidos em outras formas de vida.

Em ostras-de-mangue (*Crassostrea brasiliiana*) provenientes da região de Cananéia no estudo de Machado *et al.* (2002), as concentrações médias de Hg, Pb, Cd, Cu e Zn foram 0,02, 0,08, 0,11, 2,6, 393,0 µg/g peso úmido, respectivamente. Em Semmler (2007) e Pereira (2008) os intervalos de concentrações de diferentes metais encontradas (µg/g peso úmido) em mexilhões *Perna perna* transplantados da região de referência (Praia da Cocanha) para o Complexo Estuarino de Santos e São Vicente foram: As = 1,28-2,79; Cd = 0,053-0,117; Co = 0,11-0,20; Cr = 0,20-0,70; Hg = 0,012-0,025; Pb = 0,025-0,070; Se = 0,38-0,56; Zn = 17,2-21,9. Ainda, Virga *et al.* (2007) documentaram os respectivos intervalos de concentrações de Cd, Cr, Pb, Cu e Zn (µg/g peso seco) em siris *Callinectes* sp coletados no Rio Cubatão: 0,121-2,47, 0,411-7,0, <0,3-12,7, 11,1-216 e 12-166.

Estudos pretéritos em outros compartimentos ambientais apontam a presença de diversos metais nas regiões estudadas, algumas vezes em concentrações prejudiciais à biota.

Lamparelli *et al.* (2001), por exemplo, encontraram concentrações de As, Cd, Pb, Cu, Cr, Hg, Ni e Zn acima de TEL em amostras de sedimento coletados no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente, e concentrações de Cd, Pb, Ni e Zn acima de PEL em amostras coletadas no Canal de Santos. Hg esteve acima de PEL nas porções Santos e São Vicente do complexo e esta contaminação foi relacionada às atividades industriais, as operações no terminal portuário e aporte dos rios. Ainda neste estudo, a grande maioria dos níveis de metais obtidos em amostras de água esteve abaixo do limite de detecção, e os únicos valores mensurados estiveram abaixo dos valores máximos recomendados pelo CONAMA e Agência Canadense (Environment Canada), sugerindo que o sedimento é o principal compartimento de disponibilização de contaminantes para a biota.

Abessa (2002) caracterizou a parte mais interna do Complexo Estuarino de Santos e São Vicente como crítica quanto a contaminação por metais, abrigando níveis de Zn, Pb, Ni e Hg acima de TEL e PEL, Cr e Cd acima de TEL e concentrações elevadas de Al, Fe e Co. Na porção São Vicente, foram observados teores de Hg e Cr acima de TEL.

Cesar *et al.* (2007) documentou alta toxicidade aos anfípodos (*Tiburonella viscana*) em amostras de sedimento coletados nos pontos mais ao fundo do Complexo

Estuarino de Santos e São Vicente (dentre eles um ponto no Canal de São Vicente), amostras estas que apresentaram concentrações de Cu acima de TEL e PEL (Environment Canadá).

Siqueira *et al.* (2004 e 2005) também observaram altos níveis de Hg principalmente nos pontos de coleta de sedimento mais internos do Complexo Estuarino de Santos e São Vicente. Altas concentrações também foram registradas em pontos no Canal de Santos, Canal de São Vicente (ponto este em frente ao local de coleta dos organismos do presente estudo) e saída do emissário na Baía de Santos. Em Siqueira *et al.* (2004) ainda foram observadas maiores acumulações de As em pontos no Canal de São Vicente, fato este atribuído pelo autor ao aporte dos rios que trazem os contaminantes para estas áreas.

Em seu estudo no Complexo Estuarino de Paranaguá, Choueri *et al.* (2009) observaram altas concentrações de Pb e Cu nos pontos mais internos do estuário (um destes pontos esteve próximo à região portuária de Paranaguá), concentrações de As, Ni acima do limiar de efeito a biota (TEL; Environment Canadá), além de Cr próximo e acima do valor de TEL. O ponto mais afastado das fontes de impacto antrópico, na Baía de Laranjeiras, apresentou concentrações de Ni acima de TEL e níveis de Cr bem próximos a este mesmo valor. Os autores discutem que a principal fonte de poluição da região interna do estuário é o Terminal Portuário da Ponta do Felix, entretanto todo o complexo sofre com os impactos da cidade de Paranaguá, especialmente pelo despejo de esgotos descontrolado, e do Porto de Paranaguá. Os metais que causam a toxicidade neste complexo estão relacionados à poluição causada pelo despejo de esgotos urbano tanto da própria área quanto oriunda de regiões adjacentes.

Para o Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia foi observado no estudo de Amorin *et al.* (2007) maiores concentrações de metais traço (As, Br, Co, Cr, Fe, Hf, Rb, Sb, Sc, Th, U e Zn) obtidas em amostra de sedimento coletada no ponto mais interno da Baía de Trapandé, seguido de pontos no Mar de Cananéia. Estes autores também discutiram que a região do Vale do Ribeira, como um todo, foi palco de intensa atividade de mineração e refino de metais, abrigando diversas minas de chumbo, zinco e prata (que estiveram em atividade de 1945) até o ano de 1996, quando a empresa Plumbum e as últimas minas de chumbo foram fechadas, deixando um importante passivo ambiental nesta época. Estudos comprovaram que a Bacia do Ribeira foi extremamente afetada, acarretando em contaminação de sedimentos por Pb, Zn, Cu e As e, mais esporadicamente, registrando níveis elevados de metais na água.

Cunha (2003 apud Amorin *et al.*, 2007) afirma que embora as atividades de mineração e metalurgia tenham cessado em 1996, as populações dessa região ainda convivem com fontes de contaminação ambiental, em especial, o chumbo e o arsênio, tipicamente originados da atividade de extração, beneficiamento e refino mineral, que ocorrem principalmente na porção de Ribeira do Iguape. As emissões de metais para a atmosfera durante décadas de funcionamento da refinaria e a subsequente deposição de particulados foram responsáveis pela contaminação de solos e sedimentos nessa região. Porém, a porção Sul do Complexo, que envolve a Ilha de Cananéia (local de coleta dos organismos do presente estudo), corresponde à região sob menor influência antrópica, corroborando os dados obtidos por Amorin *et al.*, 2007, podendo esta região continuar sendo considerada uma área de baixo impacto antrópico.

Assim sendo, a presença de altas concentrações de metais encontradas nos sedimentos das três regiões de estudo, conforme documentado em Lampareli *et al.* (2001), Abessa (2002), Cesar *et al.* (2007), Siqueira *et al.* (2004 e 2005) e Amorin *et al.* (2007), pode ter contribuído com a bioacumulação de metais observada nos tecidos dos organismos coletados nas áreas de estudo em questão, principalmente para *C. spixii*. A bioacumulação observada em *C. parallelus*, por sua vez, parece mais estar relacionada à exposição ao sedimento durante sua alimentação e eventual disponibilização dos contaminantes em eventos de bioturbação, visto que em Lampareli *et al.* (2001) os níveis em coluna d'água não foram significativos.

Não houve diferenças sazonais significativas entre a bioacumulação de metais nas três áreas de estudo. Entretanto, pode-se observar que em boa parte dos casos, para as duas espécies, houve uma diminuição dos valores de acumulação dos diversos metais do inverno para o verão, sendo que os elementos Hg e Pb foram os únicos elementos que apresentaram diminuição em todos os casos neste estudo.

Semmler (2007) e Pereira (2008) documentaram a sazonalidade das concentrações de Hg em mexilhões *Perna perna* em diferentes localidades (dentre elas a região de Santos), apresentando o maior nível durante o inverno.

Azevedo *et al.* (2009b) documentou maiores índices de bioacumulação de Hg em tecido muscular de *C. spixii* coletados no Canal de Santos e na Baía de Santos no inverno/2005 em relação ao obtido no verão/2006. Por outro lado, documentou um aumento dos níveis do inverno para o verão nos exemplares coletados no Canal de São Vicente, divergindo do resultado obtido no presente estudo. Estas diferenças sazonais foram atribuídas pelos autores primeiramente à influência dos parâmetros abióticos

como pH, salinidade e temperatura, e posteriormente ao fato do verão ser uma estação chuvosa nesta região, o que por um lado favorece o aumento da contaminação pelo carreamento de xenobióticos oriundos da porção continental, mas por outro favorece a dispersão dos contaminantes para outras regiões do complexo.

Kehrig *et al.* (1998) atribuíram os maiores níveis de bioacumulação de Hg em tecido muscular de corvinas (*M. furnieri*), coletadas na Baía da Guanabara, Baía de Sepetiba, Ilha Grande e Lagoa da Conceição nas estações mais frias em relação as mais quentes, à perda de peso dos peixes devido à redução de oferta de alimento (o que atenuaria o processo de bioacumulação indireta) e a diminuição da temperatura da água (o que diminui a capacidade de metabolismo em ectotérmicos). Além disso, os menores níveis de bioacumulação de Hg nas estações mais quentes podem estar vinculados ao aumento da incidência de raios solares e aquecimento da superfície da água, que ao estimular a produção primária e a bioprodução com um todo, resulta em rápida redução da biodisponibilidade de Hg no ambiente.

Vale lembrar que regiões costeiras e estuarinas onde é freqüente a presença da população de veraneio, apresentam um grande aumento no despejo de esgotos nesta época, o que contribui não só com o aumento do material orgânico particulado, mas também com o aumento da contaminação local. Deste modo, pode-se inferir que as diferenças sazonais na bioacumulação ocorrem como um resultado de processos abióticos aliado à influência de fatores bióticos em cada tipo de ambiente, tornando difícil uma melhor conclusão.

O consumo de pescado contaminado é uma das principais vias de exposição de metais aos seres humanos, causando problemas de intoxicação alimentar (Rodrigues *et al.*, 2005; De Souza Lima *et al.*, 2002; Machado *et al.*, 2002; Semmler, 2007; Fernandes *et al.*, 2008; Medeiros *et al.*, 2008).

Quanto aos metais que se mostraram acima dos limites das legislações nacionais e internacionais propostas no item 4.2.6.4, temos o arsênio (*C. spixii* nas três áreas de estudo nas duas estações) e o selênio (*C. spixii* de Cananéia no inverno, Paranaguá no verão e Santos nas duas estações; *C. parallelus* de Cananéia no inverno, Santos no verão e Paranaguá nas duas estações). Para o selênio, todos os outros valores se encontraram próximo ao limite de 0,3 µg/g estabelecido pela legislação brasileira.

Outros autores documentaram níveis de metais, nas regiões analisadas no presente estudo, acima dos níveis previstos em legislações nacionais e internacionais, como por exemplo, em Lamparelli *et al.* (2001) onde observaram na Baixada Santista a

bioacumulação (em $\mu\text{g/g}$) de cobre em tecidos de siris (35,50 e 39,60) e mercúrio em caranguejos (0,69) acima dos limites estabelecidos no Brasil para consumo humano e altas concentrações de zinco em tecidos de robalos, tainhas e siris ($\text{Zn} = 54,8, 63,5$ e $54,8-61,5$, respectivamente), também acima dos limites previstos na legislação.

Azevedo *et al.* (2009a) observou concentrações de Se em fígados de *C. spixii* duas vezes maiores que o máximo recomendado pela EPA (1999; $6,76 \mu\text{g/g}$) e níveis de Zn e MeHg (metilmercúrio) abaixo do valor máximo recomendado pela EPA (*op. cit.*; 405,55 e $0,14 \mu\text{g/g}$, respectivamente).

Comparando-se os dados do presente estudo aos valores máximos recomendados pela EPA para Zn e Se tomados por Azevedo *et al.* (*op. cit.*), pode-se observar para o Se que todos os níveis de bioacumulação para as duas espécies estiveram abaixo do máximo recomendado, resultado oposto ao obtido a partir do nível $0,3 \mu\text{g/g}$ previsto na legislação brasileira. Para o Zn, todos os valores obtidos para os bagres-amarelos (exceto Cananéia no verão) estiveram acima do máximo recomendado pela EPA, enquanto em robalos-peva apenas Paranaguá no verão esteve acima, divergindo do obtido a partir dos níveis nacionais e internacionais aplicados no presente estudo.

Nascimento *et al.* (2009) observou a bioacumulação de Hg e metais traços (As, Cr e Zn) em músculo de exemplares de 4 espécies de peixes provenientes da região de Cananéia: corvina (*Micropogonias furnieri*), pescada (*Macrodon ancylodon*), robalo (*Centropomus undecimalis*) e tainha (*Mugil platanus*). Corvina apresentou níveis de As acima do limite máximo previsto na legislação brasileira na maioria dos indivíduos analisados, semelhante ao obtido em *C. spixii* do presente estudo, enquanto os robalos apresentaram níveis de Cr acima dos limites (para alguns indivíduos), ao contrário do ocorrido para *C. spixii* e *C. parallelus* do presente estudo, onde nenhum valor de bioacumulação esteve acima de LD. Os níveis de Zn para todas as espécies estudadas em Nascimento *et al.* (2009) estiveram abaixo do limite recomendado, assim como no presente estudo. Os teores de Hg total entre todas as espécies ficaram abaixo dos limites estabelecidos, para espécies não predadoras, e acima para as predadoras, o que não ocorreu no presente estudo.

Machado *et al.* (2002) observou níveis de Zn acima do permitido para pescado em legislação brasileira em ostras-de-mangue provenientes da região de Cananéia. Em Virga *et al.* (2007), os siri-azuis coletados no Rio Cubatão apresentaram níveis de Cr acima do previsto nas agências de saúde, enquanto o Pb esteve acima do previsto pela

EPA para crustáceos e moluscos, porém abaixo do limite estabelecido na legislação brasileira. Em Semmler (2007) e Pereira (2008) os mexilhões transplantados para a região de Santos tiveram registros de As, Se e Cr acima da legislação brasileira em todas as estações do ano.

Como já observado ao longo deste item, os metais ocorrem naturalmente no ambiente e muitos fazem parte dos sistemas biológicos (macro ou micronutrientes essenciais), porém quando em altas concentrações podem se tornar tóxicos aos seres vivos. Segundo Yadav & Trivedi (2009) prejudicam o equilíbrio físico-químico dos corpos d'água, desequilibram a cadeia alimentar alterando as características morfológicas, fisiológicas e citogenéticas dos organismos, além de causar reações mutagênicas e carcinogênicas nos seres vivos.

Dentre os mais tóxicos à biota estão o cádmio (Cd), cromo (Cr), chumbo (Pb) e mercúrio (Hg).

O cádmio é reconhecidamente genotóxico assumindo um potencial mutagênico, clastogênico, teratogênico e carcinogênico, além de interagir com o DNA causando danos (Degrove, 1981; Ochi & Ohsawa, 1983; Ochi *et al.*, 1984, Matsumoto *et al.*, 2006).

O cromo ocorre primeiramente em duas formas: a hexavalente Cr (VI) e a trivalente Cr (III) sendo a primeira diretamente responsável pelos efeitos tóxicos e problemas alimentares dos organismos (Mearns *et al.*, 1976). Segundo estes autores, o Cr (VI) parece ser mais tóxico aos invertebrados do que aos peixes, assim, por serem mais tolerantes, os teleósteos participam do processo de transferência deste composto através da cadeia trófica (Abessa, 2002).

O chumbo, por sua vez, causa efeitos adversos na biota (Çavas, 2008). São conhecidos por serem genotóxicos afetando principalmente a integridade dos cromossomos (Bonacker *et al.*, 2005) e induzindo danos em DNA em organismos aquáticos (Ferraro *et al.*, 2004). Sua forma ionizada age de forma aneugênica, clastogênica e, em alguns casos, mutagênica, conforme observado em alguns estudos como o de Bonacker *et al.* (*op. cit.*).

O mercúrio é o mais tóxico de todos os metais (Çavas, 2008; Yadav & Trivedi, 2009) e talvez o mais estudado. No ambiente, ocorre na forma orgânica e inorgânica, sendo a orgânica (metilmercúrio) produzida pela metilação microbiana (Al-Sabti, 1994, Abessa, 2002; Semmler, 2007), enquanto que a inorgânica está associada à produção de cloro-soda, pilhas, lâmpadas fluorescentes e aparelhos de medição (Peso - Aguiar *et al.*,

2000; Lamparelli *et al.*, 2001; Abessa, 2002). Todas as suas formas são tóxicas (as orgânicas em maior grau) e bioacumuláveis, assumindo comprovadamente um alto potencial mutagênico, carcinogênico e teratogênico, causando danos ao DNA dos indivíduos (Eisler, 1987; Al-Sabti, 1994). De acordo com Yadav & Trivedi (2009) a exposição de humanos a altas concentrações de Hg causam danos ao sistema nervoso e imunológico, além de prejudicarem o funcionamento dos rins e fígado.

Alguns estudos já observaram a indução de danos em DNA de peixes após a exposição a estes e outros elementos metais. Alguns destes estudos aplicando-se o teste do MN e ANs são: Ayllon & Garcia Vazquez (2000) em estudo com Cd e Hg (injeção intraperitoneal de cloreto de cádmio e nitrato de mercúrio) em eritrócitos de ciprinídeos da espécie *Phoxinus phoxinus* e molinésia (*Poecilia latipinna*); Sanches-Galan *et al.* (2001) em estudo com Cd e Hg (de injeção intraperitoneal de cloreto de cádmio e nitrato de mercúrio) em células de rim cefálico de enguias (*Anguilla anguilla*); Arkhipchuk & Garanko (2005) em estudo com Cu e Cd (exposição a diferentes concentrações) em brânquias, eritrócitos e células de nadadeira de carpas (*Cyprinus carpio* e *Carassius auratus gibelio*) e tilapia (*Tilapia(Sautherondon) mossambica*); Çavas & Ergene-Gözükara (2005a) em estudo com efluentes de indústrias de cromo (exposição a diferentes concentrações e diferentes períodos) em células branquiais e eritrócitos de tilápias (*Oreochromis niloticus*); Çavas *et al.* (2005) em estudo com Cu e Cr (exposição a diferentes concentrações) em células de brânquia, fígado e eritrócitos de carpas (*Cyprinus carpio* e *Carassius auratus gibelio*) e coridoras (*Corydora paleatus*); Çavas (2008) em estudo com Hg e Pb (exposição ao cloreto de mercúrio e acetato de chumbo) em brânquias, eritrócitos e células de nadadeira de kinguios (*Carassius auratus auratus*); e Yadav & Trivedi (2009) em estudo com Hg(II), AS(III) e Cu(II) (exposição a concentrações subletais de HgCl₂, AsO₃ e CuSO₄·5H₂O) em eritrócitos de carpas (*Cyprinus carpio* e *Carassius auratus gibelio*) e coridoras (*Corydora paleatus*).

Ainda, Barbosa *et al.* (2010) em estudo genotóxico em eritrócitos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) no Rio Grande do Norte, em região impactada por metais (Lago Extremoz), observou maior frequência de MN e níveis de danos a partir do teste do cometa significativamente mais altos que o obtido no grupo controle.

Deste modo, as concentrações de metais encontradas nos tecido muscular dos exemplares coletados nas três áreas de estudo pode ter influenciado o resultados dos biomarcadores, conforme será discutido no item 6.4 deste estudo.

6.3.4. Comparações entre os dados de bioacumulação

Pode-se notar que para as duas espécies a acumulação de compostos PAHs se mostrou maior em relação aos outros compostos (organoclorado), sendo detectadas diferenças significativas entre os conjuntos de dados de bioacumulação em *C. parallelus* de Paranaguá no verão (PAH>PCB).

Van der Oost *et al.* (1991) e Deb *et al.* (2000) afirmaram que compostos hidrofóbicos que são mais facilmente biotransformados, como os PAHs, resultam em menor bioacumulação em peixes do que os mais persistentes PCBs e DDTs. Visto que neste estudo ocorreu o contrário, a quantidade de organoclorados disponíveis no estuário provavelmente é menor que a de PAHs, sendo assim o fator que pode estar determinando a maior acumulação de hidrocarbonetos nos peixes coletados neste estudo.

Na região de Santos, Bicego *et al.* (2006) documentou maiores níveis (ng/g peso seco) de PAHs totais (22,6-68130) em relação aos PCBs (0,05-254) e pesticidas DDT (0,05-16) e HCB (n.d.-15) em sedimentos. Em Nishigima *et al.* (2001) todas as estações de coleta apresentaram concentrações de PAHs detectáveis e passíveis de causar efeitos mutagênicos e carcinogênicos em organismos marinhos, enquanto que todos os resultados no estuário de Cananéia estão abaixo do detectável.

Na comparação estatística entre o grupo de dados referente à acumulação de metais em relação aos outros compostos analisados, pode-se observar que na maioria dos casos os metais apresentaram bioacumulação significativamente maior nos tecidos dos exemplares das duas espécies em relação aos PAHs e organoclorados, sugerindo que o maior problema de contaminação destas áreas está relacionado à presença dos metais, seguido então pelos PAHs e organoclorados, conforme já discutido anteriormente. Entretanto vale lembrar que as matrizes utilizadas nas análises são diferentes, assim mais estudos devem ser realizados no âmbito da acumulação diferencial de cada classe de contaminante, e respectivos compostos, em cada uma das espécies.

Cesar *et al.* (2007) observou que três dos pontos de coleta de sedimento no Complexo Estuarino de Santos e São Vicente apresentaram altas concentrações de PAHs, segundo os autores devido a influência de esgotos clandestinos e dos emissários submarinos da região além da influência do Porto de Santos e do complexo industrial de Cubatão, fontes estas que também contribuem com a contaminação por metais na área.

Dois destes pontos estão localizados na região de coleta dos peixes do presente estudo, na porção do Canal de São Vicente.

Estes resultados demonstram que o Complexo Estuarino de Santos e São Vicente é impactado por fontes antrópicas como a urbanização (despejo de esgotos, emissários) e atividades industriais e portuárias, o que se reflete em maior acumulação de metais e PAHs nos compartimentos ambientais e organismos estudados no presente trabalho.

Para a região de Paranaguá, a concentração de PAHs não se mostrou tão evidente nos sedimentos coletados no estudo de Choueri *et al.* (2009), sobressaindo-se a contaminação de metais provenientes dos terminais portuários e dos despejos de esgoto sem tratamento da cidade de Paranaguá, o que justifica a maior bioacumulação destes compostos nos organismos estudados. Pode-se notar que as fontes de contaminação neste estuário são as mesmas que do complexo estuarino de Santos e São Vicente, podendo haver PAHs em quantidade suficiente para bioacumular nos tecidos dos organismos, porém não se mostrando depositados no fundo como observado na região de Santos. Provavelmente a maior parte da contaminação por PAHs deste estuário se refere aos compostos de menor peso molecular, deste modo, como já discutido, não se associam tão facilmente ao sedimento, sendo bioacumulados nos tecidos dos organismos.

Para a região de Cananéia, o estudo em sedimento de Amorin *et al.* (2007) encontrou concentrações mensuráveis de metais (já discutido no item anterior), ao passo que no estudo de Nishigima *et al.* (2001) a acumulação de PAHs esteve abaixo do detectável, justificando a maior bioacumulação de elementos metais sobre os compostos PAHs nos organismos provenientes desta região, no presente estudo.

Conforme documentado em Corsolini (2006), a aplicação da razão $\Sigma\text{DDT}/\Sigma\text{PCB}$ permite a observação da influência dos aportes de origem industrial em relação aos de origem agrícola em cada região de estudo, de modo que valores abaixo de 1,0 indicam a maior influência industrial. Apesar da utilização dos valores de LDM, foi possível notar que em todas as áreas de estudo os aportes de origem agrícola exercem maior impacto em relação aos aportes industriais representados pelo composto PCB. Apenas para *C. parallelus* o resultado da razão para a região de Santos indicou maior impacto de origem industrial.

6.4. Bioacumulação e citogenotoxicidade

De acordo com Pereira *et al.* (2008) a integração entre dados ambientais, como químicos, biológicos e ecotoxicológicos, pode ser realizada através de análises multivariadas, resultando em uma melhor e mais robusta interpretação dos dados obtidos. A Análise por Componentes Principais (ACP) é um dos métodos mais comuns para a intergração de dados de diferentes naturezas e tem sido utilizadas com sucesso em estudos de qualidade ambiental, como em Cesar *et al.* (2007), Choueri *et al.* (2009) e Azevedo *et al.* (2009b).

Através da análise fatorial, os dados de bioacumulação e as respostas dos biomarcadores citogenotóxicos obtidos nas duas campanhas (verão e inverno) para a espécie *C. spixii* e *C. parallelus* foram agrupados em 3 novas variáveis (fatores principais), os quais representam 86,7 e 84,5% da variância total do conjunto inicial de dados.

Para *C. spixii*, ao terceiro fator foram associadas as respostas dos biomarcadores MN e AN com as concentrações de PAHs, Cd, Co, Hg e Zn, sugerindo a exposição destes organismos principalmente aos efluentes domésticos gerando uma relação causa-efeito com os danos em DNA. Este fator foi representativo nas três áreas de estudo na campanha do inverno, corroborando os maiores níveis de MN e AN nos exemplares de *C. spixii* nesta estação do ano em relação ao verão nestes locais. Estes resultados também corroboram a hipótese de melhora no sistema fisiológico e de reparo do DNA no verão em *C. spixii*, já discutido ao longo deste estudo, refletindo-se em ausência de associações a partir da análise fatorial.

O primeiro fator correlacionou as concentrações de PCBs, HCHs, DDTs, Co, Se e Zn, enquanto o segundo fator correlacionou as concentrações PAHs, PCBs, DDTs e clordanas. Estes resultados sugerem que, além da exposição aos efluentes domésticos, os organismos também sofrem com os aportes industriais e agrícolas, trazendo contaminantes através do transporte atmosférico, aporte dos rios e contaminação direta, que se associam principalmente ao sedimento. Estes fatores foram representativos para as duas regiões mais impactadas deste estudo: Santos e Paranaguá, entretanto, a estes fatores não foram associadas as respostas dos biomarcadores de citogenotoxicidade destes locais.

Para *C. parallelus*, ao primeiro fator foram associadas as respostas dos biomarcadores com as concentrações de PCBs e Hg, o que foi representativa apenas

para a região de Santos nas duas estações do ano. Conforme amplamente documentado e discutido ao longo deste estudo, o Complexo Estuarino de Santos e São Vicente abriga diversas atividades industriais e portuárias, lançando diariamente em suas águas muitos contaminantes derivados destas práticas, dentre eles PCBs e o mercúrio. Estes contaminantes já foram detectados em altas concentrações em compartimentos ambientais, como o sedimento e biota, a partir de estudos pretéritos nesta região já apresentados anteriormente, em níveis capazes de causar efeitos adversos à biota.

Entretanto, desde que se trata de uma região que abriga diversas fontes de poluentes, os efeitos provocados por interações (sinérgicas e antagônicas) entre os diferentes contaminantes também podem ocorrer, havendo alteração da toxicidade, apesar de ainda não haver explicações claras sobre os efeitos causados à biota por tais interações, devido a complexidade destas questões.

Assim, provavelmente não só os PCBs e o Hg estão associados a toxicidade no DNA dos *C. parallelus* da região de Santos, uma vez que também foram observadas altas concentrações de compostos como os PAHs nos tecidos destes organismos, compostos estes provenientes do aporte de efluentes domésticos, tão representativo nas proximidades do ponto de coleta dos organismos deste estudo (porção São Vicente do estuário; desembocadura do Rio Piaçabuçu), devido a influência dos emissários, deficiência na rede coletora dos municípios e aporte oriundo de regiões adjacentes trazidos ao complexo através dos rios, fatos estes já evidenciados por trabalhos pretéritos como o de Lamparelli *et al.* (2001), Abessa (2002) e Cesar *et al.* (2007).

Ao segundo fator foram relacionadas as concentrações de PAHs, clordanas e Zn, indicando a exposição dos organismos aos efluentes domésticos, porém sem a associação com os biomarcadores. Este fator foi representativo às regiões de Parangará e Santos (na época do verão), corroborando o proposto no parágrafo anterior.

Para o fator 3 não houve associações significativas.

7. Considerações Finais

Os biomarcadores de citogenotoxicidade micronúcleos (MN) e anomalias nucleares (AN) têm sido amplamente utilizados na avaliação da exposição à poluição ambiental, fornecendo respostas mensuráveis no nível molecular de organização biológica e detecção de efeitos sub-letais, o que permite por em prática ações preventivas e remediadoras. Daí a importância e o interesse atual da incorporação da análise de biomarcadores como indicadores em diagnósticos e programas de avaliação em monitoramento e contaminação ambiental.

A partir dos dados obtidos neste estudo pode-se inferir que a espécie *C. parallelus* se mostrou mais sensível responde de maneira mais efetiva que a espécie *C. spixii* aos biomarcadores MN e NA. Tal conclusão se deve ao fato de que os resultados obtidos com o robalo-peva foram mais condizentes com as diferentes condições ambientais (contaminação da água, sedimento e organismos) das áreas estudadas, já evidenciadas em trabalhos pretéritos, nas duas estações do ano (exceto onde o número amostral não foi satisfatório). Desta maneira, a região de Santos foi a que apresentou maiores níveis de danos citogenotóxicos. Deste modo, a utilização de peixes da espécie *C. parallelus* se mostraram mais adequados à avaliação da citogenotoxicidade ambiental.

A sazonalidade dos dados citogenotóxicos ocorreu de forma variável entre as espécies e áreas de estudo. As diminuição das frequências dos biomarcadores do inverno para o verão em todos os casos em *C. spixii*, sugerem uma melhora fisiológica, como no sistema de reparo do DNA, independente da condição ambiental local. Em *C. parallelus*, apesar de não ter se mostrado significativo, este mesmo fato foi observado apenas na região de Santos sugerindo que, para esta espécie, a melhora nos sistemas só ocorre em condições de maior estresse.

De maneira geral, as características dos exemplares como a biometria, sexo e maturação, não influenciaram estatisticamente os resultados de citogenotoxicidade obtidos (salvo algumas exceções). Ao contrário, a bioacumulação foi principalmente condicionada aos fatores intrínsecos aos organismos, principalmente o habitat, relacionando-se ao grau de exposição ao sedimento.

A discrepância entre os resultados de bioacumulação de PAHs e organoclorados em relação aos metais no âmbito interespecífico, esteve relacionada principalmente à acumulação diferencial de cada um dos compostos nos diferentes

órgãos e tecidos dos organismos, evidenciando a necessidade da avaliação de diferentes matrizes em nesses tipos de estudos. A escassez de estudos no âmbito da cinética da bioacumulação, principalmente em *C. parallelus*, dificultou uma melhor conclusão.

A acumulação de cada metal analisado no tecido muscular dos organismos ocorreu de maneira variável entre as áreas de estudo. A bioacumulação dos elementos Cd, Co, Hg, Pb, As e Zn nos tecidos dos organismos foi condizente com as fontes de contaminação de cada uma das localidades. Apenas os valores de Se não indicaram um padrão claro de regiões de maior ou menor contaminação. As diferenças sazonais, embora não significativas, parecem ser influenciadas por fatores como o índice pluviométrico, dispersão de contaminantes, mobilidade do sedimento e variações no material orgânico particulado.

A bioacumulação por metais teve destaque em relação aos outros compostos analisados neste estudo (PAHs e organoclorados), sugerindo um maior impacto dos estuários estudados por parte destes contaminantes. Entretanto, devido a ausência de estudos que indiquem valores naturais de bioacumulação em organismos aquáticos, principalmente dos metais que possuem função biológica, não foi possível concluir o quão contaminadas estão cada uma das áreas.

Os resultados obtidos a partir da bioacumulação de hidrocarbonetos nos fígados sugeriram que em relação à região de Cananéia, as regiões de Paranaguá e Santos sofrem com a maior contaminação por PAHs (principalmente de origem petrogênica) decorrente de derrames de óleo, tráfego de embarcações, efluentes domésticos e industriais. Esta contaminação acentua-se significativamente na época do verão, devido provavelmente a presença da população de veraneio.

Os PCBs e organoclorados apresentaram menor bioacumulação no fígado dos organismos, não se mostrando como poluentes prioritários nos complexos estuarinos estudados. A acumulação de DDTs (e metabólitos) e PCBs refletem não só a exposição histórica, mas também a contaminação atual.

A avaliação integrada realizada no presente estudo confirma a hipótese de que a qualidade ambiental distinta de Cananéia em relação à Paranaguá e Santos podem gerar diferentes respostas biológicas avaliadas pelo uso de biomarcadores e pelos compostos acumulados nos peixes ao longo do estudo, indicando não só a biodisponibilidade de contaminantes, mas também os efeitos gerados por essa exposição. Além disso, as diferenças de sensibilidade e os mecanismos de adaptação,

principalmente observado em *C. spixii* também influenciaram os níveis citogenotóxicos encontrados.

As espécies estudadas representam um importante elo de transferência energética entre os ecossistemas costeiros, portanto os danos causados podem não só afetar a fisiologia e a ecologia dos bagres-amarelos e robalos-peva, mas como também outros níveis tróficos ligados a eles. Além disso, cabe a ressalva de que o *C. spixii* e *C. parallelus* são fontes de subsistência da população e importantes na economia pesqueira destas regiões. Assim, os contaminantes encontrados nos tecidos destes organismos, algumas vezes em níveis mais altos do que o recomendado em legislações nacionais e internacionais, podem ser levados ao homem através do processo de biomagnificação, causando problemas de intoxicação alimentar e toxicidade.

8. Referências bibliográficas

ABESSA, D.M.S. 2002. Avaliação da qualidade do sedimento do Sistema Estuarino de Santos, SP, Brasil. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 290p.

ABESSA, D.M.S.; CARR, R.S.; SOUSA, E.C.P.M.; RACHID, B.R.F.; ZARONI, L.P.; PINTO, Y.A.; GASPARRO, M.R.; BÍCEGO, M.C.; HORTELLANI, M.A.; SARKIS, J.E.S. 2008. Integrative ecotoxicological assessment of a complex tropical estuarine system. In: Hoffer TN (ed) Marine Pollution: New Research. Nova Science Publishers Inc. p.1-36.

ABOIGOR, J.; BEIRAS, R.; NIETO, Ó. 2005. Spatial distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mussels samples (*Mytilus galloprovincialis*) in the Ria of Pontevedra. In: 6º Congresso Ibérico e 3º Iberoamericano de Contaminação e Toxicologia Ambiental “The environment: A challenge for scientific research”. Cadiz. p.17.

ADAMS, S.M., SHUGART, L.R., SOUTHWORTH, G.R. E HINTON, D.E. 1990. Application of bioindicators in assessing the health of fish populations experiencing contaminant stress. In: Biomarkers of environmental contamination. McCarthy, J.F. e Shugart, L.R. (eds.) Lewis Publishers. p.333-353.

ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L.; TSUZUKI, M.Y. 2008. A review of methods for *Centropomus* spp. (snooks) aquaculture and recommendations for the establishment of their culture in Latin America. Aquac. Res., v.39, p.684-700.

AL-SABTI, K. 1986. Comparative micronucleated erythrocyte cell induction in three cyprinids by five carcinogenic-mutagenic chemicals. Cytobios, v.47, p.147-154.

AL-SABTI, K. 1994. Micronuclei induced by selenium, mercury, methylmercury and their mixtures in binucleated blocked fish erythrocyte cells. Mutat. Res., , v.320, p.157-163.

AL-SABTI, K.; HARDIG, J. 1990. Micronucleus test in fish for monitoring the genotoxic effects of industrial waste products in the Baltic Sea, Sweden. *Comp. Biochem. Physiol.*, v.97C, n.1, p.179-182.

AL-SABTI, K.; METCALFE, C.D. 1995. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutat. Res.*, v.343, p.121-135.

AMADO, L.L.; ROSA, C.E.; LEITE, A.M.; MORAES, L.; PIRES, W.V.; PINHO, G.L.L.; MARTINS, C.M.G.; ROBALDO, R.B.; NERY, L.E.M.; MONSERRAT, J.M.; BIANCHINI, A.; MARTINEZ, P.E.; GERACITANO, L.A. 2006. Biomarkers in croakers *Micropogonias furnieri* (Teleostei: Sciaenidae) from polluted and non-polluted areas from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil): Evidences of genotoxic and immunological effects. *Mar. Pollut. Bull.*, v.52, p.199-206.

AMORIM, E.P.; BERBEL, G.B.B., FÁVARO, D.I.T.; BRAGA, E.S. 2007. Variação temporal de componentes geoquímicos nos sedimentos superficiais de Cananéia com destaque às distribuições de elementos metálicos. Disponível em: <http://pintassilgo2.ipen.br/biblioteca/2007/eventos/14363.pdf>

ANDERSON, S.L.; WILD, G. 1994. Linking genotoxic responses and reproductive success in ecotoxicology. *Environ. Health Perspect.*, v.102, p.9-12.

ANJOS, V.E. 2006. Especiação de cobre e arsênio no complexo estuarino da Baía de Paranaguá. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. 175p.

ANDRADE, V.M.; FREITAS, T.R.O.; SILVA, J. 2004. Comet assay using mullet (*Mugil* sp.) and sea catfish (*Netuma* sp.) erythrocytes for the detection of genotoxicity pollutants in aquatic environment. *Mutat. Res.*, v.560, p.57-67.

ARKHIPCHUK, V.V.; GARANLO, N.N. 2005. Using the nucleolar biomarker and the micronucleus test on in vivo fish fin cells. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.62, p.42-52.

AYLON, F.; GARCIA-VAZQUEZ, E. 2000. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in European minnow *Phoxinus phoxinus* and mollie *Poecilia latipinna*: an assessment of the fish micronucleus test. *Mutat. Res.*, v.467, p.177-186.

AZEVEDO, J.S. 2008. Biomarcadores de contaminação ambiental em *Cathorops spixii* nos estuários de Santos/São Vicente e Cananéia, São Paulo, Brasil. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 218p.

AZEVEDO, J.S.; FERNANDEZ, W.S.; FARIAS, L.A.; FÁVARO, D.I.; BRAGA, E.S. 2009a. Use of *Cathorops spixii* as a bioindicator of pollution of trace metals in the Santos Bay, Brazil. *Ecotoxicology*, v.18, p.577-586.

AZEVEDO, J.S.; SERAFIM, A.; COMPANY, R.; BRAGA, E.S.; FÁVARO, D.I.; BEBIANNO, M.J. 2009b. Biomarkers of exposure to metal contamination and lipid peroxidation in the benthic fish *Cathorops spixii* from two estuaries in South America, Brazil. *Ecotoxicology*, v.18, p.1001-1010.

BARBOSA, J.S.; CABRAL, T.M.; FERREIRA, D.N.; AGNEZ-LIMA, L.F.; MEDEIROS, S.R.B. 2010. Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted by the presence of heavy metals. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.73, n.3, p.320-325.

BARRA, C.M.; SANTELLI, R.E.; ABRÃO, J.J.; GUARDIA, M. 2000. Especificação de arsênio - uma revisão. *Quím. Nova*, v.23, n.1, p.58-70.

BAUMARD, P.; BUDZINSKI, H.; GARRIGUES, P.; SORBE, J.C.; BURGEOT, T.; BELLOCQ, J. 1998a. Concentrations of PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) in various marine organisms in relation to those in sediments and to trophic level. *Mar. Pollut. Bull.*, v.36, n.12, p.951-960.

BAUMARD, P.; BUDZINSKI, H.; GARRIGUES, P. 1998b. Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments and mussels (*Mytilus edulis*) from the Western Mediterranean Sea. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17, 765-776.

BAUMARD, P.; BUDZINSKI, H.; GARRIGUES, P.; DIZER, H.; HANSEN, P.D. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments and mussels (*Mytilus edulis*) from the Western Baltic Sea: occurrence, bioavailability and seasonal variations. *Mar. Environ. Res.*, v.47, p.17-47.

BERGMANN FILHO, T.U. 2009. The use of fish biomarkers from a polluted estuary, SP, Brazil. Dissertação de Mestrado. Universidade de Aveiro – Portugal. 50p.

BÍCEGO, M.C.; TANIGUCHI, S.; YOGUI, G.T.; MONTONE, R.C.; SILVA, D.A.M.; LOURENÇO, R.A.; MARTINS, C.C.; SASAKI, S.T.; PELLIZARI, V.H.; WEBER, R.R. 2006. Assessment of contamination by polychlorinated biphenyls and aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of the Santos e São Vicente Estuary System, São Paulo, Brazil. Mar. Pollut. Bull., v.52, p.1784-1832.

BELPAEME, K.; DELBEKE, K.; ZHU, L.; KIRSCH-VOLDERS, M. 1996. Cytogenetic studies of PCB77 on brown trout (*Salmo trutta fario*) using the micronucleus test and the alkaline comet assay. Mutagenesis, v.11, n.5, p.485-492.

BLANCO, C.G.; PREGO, R.; AZPÍROZ, M.D.G.; FERNÁNDEZ-DOMÍNGUEZ, I. 2006. Characterization of hydrocarbons in sediments from Laxe Ria and their relationship with the Prestige oil spill (NW Iberian Peninsula). Ciencias Marinas, v.32, n.2B, p.429-437.

BONACKER, D.; STOIBER, T.; BÖHM, K.J.; PROTS, I.; WANG, M.; UNGER, E.; THEIR, R.; BOLT, H. M.; DEGEN, G.H. 2005. Genotoxicity of inorganic lead salts and disturbance of microtubule function. Environ. Mol. Mutagen., v.45, n.4, p.346-353.

BONETTI, C.V.D.H.C. 2000. Foraminíferos como bioindicadores do gradiente de estresse ecológico em ambientes costeiros poluídos. Estudo aplicado ao Sistema Estuarino de Santos-São Vicente (SP, Brasil). Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 229p.

CAIN, D.J.; LUOMA, S.N.; WALLACE, W.G. 2004. Linking metal bioaccumulation of aquatic insects to their distribution patterns in a mining-impacted river. Environ. Toxicol. Chem., v.23, n.6, p.1463-1473.

CANLI, M.; ATLI, G. 2003. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. Environ. Pollut., v.121, p.129-136.

CARMO, C.A.; ABESSA, D.M.S.; MACHADO NETO, J.G. 2008. Contaminação de água e sedimento e bioacumulação de metais em tecidos de parati (*Mugil curema*) de dois rios do Estuário de São Vicente (SP, Brasil). In: Workshop de Ecotoxicologia, 2008, Rio Claro/SP. Holos Environment. Rio Claro: Holos Environ., v. 8. p.1-1.

CARRASCO, K.R.; TILBURY, K.L.; MYERS, M.S. 1990. Assessment of the piscine micronucleus test as an *in situ* biological indicator of chemical contaminant effects. Can. J. Fish. Aquat. Sci., v.47, p.2123-2136.

CARVALHO, V.M. 2001. Adutos de DNA gerados por produtos da lipoperoxidação: Caracterização, detecção, incorporação em oligonucleotídeos e implicações biológicas. Tese de Doutorado. Instituto de Química da USP. 339p.

CATHARINO, G.M.; PEREIRA, C.D.S.; VASCONCELLOS, M.B.A.; SOUSA, E.C.P.M.; MOREIRA, E.G.; TANIGUSHI, S.; BÍCEGO, M.C.; MENEZES, M.O. 2008. Metals and polycyclic aromatic hidrocarbons determination in transplanted mussels in the seashore of São Paulo State, Brazil. In: 2nd International Nuclear Chemistry Congress - INCC, Mexico. p.80.

ÇAVAS, T. 2008. In vivo genotoxicity of mercury chloride and lead acetate: Micronucleus test on acridine orange stained fish cells. Food Chem. Toxicol., v.46, p.352-358.

ÇAVAS, T.; ERGENE-GÖZÜKARA, S. 2003. Evaluation of the genotoxic potential of lambda-cyhalothrin using nuclear and nucleolar biomarkers on fish cells. 2003. Mutat. Res., v.534, p.93-99.

ÇAVAS, T.; ERGENE-GÖZÜKARA, S. 2005a. Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in *Oreochromis niloticus* following exposure to petroleum refinery and chromium processing plant effluents. Aquat. Toxicol., v.74, p.264-271.

ÇAVAS, T.; ERGENE-GÖZÜKARA, S. 2005b. Micronucleus test in fish cells: a bioassay for *in situ* monitoring of genotoxic pollution in the marine environment. Environ. Mol. Mutag., v.46, p.64-70.

- ÇAVAS, T.; GARANKO, N.N.; ARKHIPCHUK, V.V. 2005. Induction of micronuclei and binuclei in blood, gill and liver cells of fishes subchronically exposed to cadmium chloride and copper sulphate. *Food Chem. Toxicol.*, v.43, p.569-574.
- CESAR, A.; PEREIRA, C.D.S.; SANTOS, A.R.; ABESSA, D.M.S.; FERNANDEZ, N.; CHOUERI, R.B.; DELVALLS, T.A. 2006. Ecotoxicological assessment of sediments from the Santos and São Vicente Estuarine System – Brazil. *Braz. J. Ocean.*, v.54, n.1, p.55-63.
- CERQUEIRA, V.R.; TSUZUKI, E.M.Y. 2009. A review of spawning induction, larviculture, and juvenile rearing of the fat snook, *Centropomus parallelus*. *Fish Physiol. Biochem.*, v.35, p.17-28.
- CHAPMAN, P.M.; WANG, F. 2001. Assessing sediment contamination in estuaries. *Environ. Toxicol. Chem.*, v.20, n.1, p.3-22.
- CHATTERJEE, A.; BHATTACHARYA, B.; DAS, R. 2001. Temporal and organ-specific variability of selenium in marine organisms from the eastern coast of India. *Adv. Environ. Res.*, v.5, p.167-174.
- CHEN, M-H.; CHEN, C-Y. 1999. Heavy metals in grey mullet, *Liza microlepis*. *Mar. Pollut. Bull.*, v.39, n.1-12, p.239-244.
- CHOUERI, R.B.; CÉSAR, A.; TORRES, R.J.; ABESSA, D.M.S.; PEREIRA, C.D.S.; NASCIMENTO, M.R.L.; MOZETO, A.A.; DELVALLS, T.A. 2009. Integrated sediment quality assessment in Paranaguá Estuarine System, Southern Brazil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.72, p.1824-1831.
- CIPRO, C.V.Z. 2007. Ocorrência de compostos organoclorados em *Euphausia superba* e em ovos gorados de pingüins do gênero *Pygoscelis*. Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo.
- CORRÊA, M.F.M. 1987. Ictiofauna da Baía de Paranaguá e adjacências (litoral do Estado do Paraná – Brasil) Levantamento e Produtividade. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. 406p.

CORSOLINI, S.; COVACI, A.; ADEMOLLO, N.; FOCARDI, S.; SCHEPENS, P. 2006. Occurrence of organochlorine pesticides (OCPs) and their enantiomeric signatures, and concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the Adélie penguin food web, Antarctica. *Environ. Pollut.*, v.140, n.2., p.371-382.

COSTA, J.R. 2007. Distribuição de metais em peixes marinhos ao longo do litoral sudeste do Brasil. Trabalho de Conclusão de Curso - Bacharelado. Universidade Estadual do Norte Fluminense. 32p.

COSTA, P.M.; LOBO, J.; CAEIRO, S.; MARTINS, M.; FERREIRA, A.M.; CAETANO, M.; VALE, C.; DELVALLS, T.A.; COSTA, M.H. 2008. Genotoxic damage in *Solea senegalensis* exposed to sediments from the Sado Estuary (Portugal): Effects of metallic and organic contaminants. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, v.654, n.1, p.29-37.

COTRIM, M.E.B. 2006. Avaliação da qualidade da água na bacia hidrográfica do Ribeira de Iguape com vistas ao abastecimento público. Tese de doutorado. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo. 236p.

COVACI, A.; HURA, C.; SCHAPENS, P. 2001. Selected persistent organochlorine pollutants in Romania. *Sci. Total Environ.*, v.280, p.143-152.

D'AMATO, C.; TORRES, J.P.M.; MALM, O. 2002. DDT (dicloro difenil tricloroetano): Toxicidade e contaminação ambiental – uma revisão. *Quim. Nova.*, v.25, n.6, p.995-1002.

DE BOER, J.; ZANDE, T.E.van der; PIETERS, H.; ARIESE, F.; SHIPPER, C.A.; BRUMMELENE, T. van; VETHAAKD, A.D. 2001. Organic contaminants and trace metals in flounder liver and sediment from the Amsterdam and Rotterdam harbours and off the Dutch coast. *J. Environ. Monit.*, v.3, p.386-393.

DE SOUZA LIMA, R.G.; ARAÚJO, F.G.; MAIA, M.F.; PINTO, A.S.S.B. 2002. Evaluation of Heavy Metals in Fish of the Sepetiba and Ilha Grande Bays, Rio de Janeiro, Brazil. *Environ. Res. Section A*, v.89, p.171-179.

DEB, S.C.; ARAKI, T.; FUKUSHIMA, T. 2000. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Fish Organs. Mar. Pollut. Bull., v.40, n.10, p.882-885.

DEGRAVE, N. 1981. Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium. Mutat. Res., v.86, p.115-135.

DELBON, M.C. 2006. Ação da Benzocaína e do óleo de cravo sobre os parâmetros fisiológicos de tilápia, *Oreochromis niloticus*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP). 90p.

DICKMANN, M.; WALDMANN, P.; SCHNURSTEIN, A.; GRUMMT, T.; BRUNDBECK, T.; NAGEL, R. 2004. On the relevance of genotoxicity for fish populations II: genotoxic effects in zebrafish (*Danio rerio*) exposed to 4-nitroquinoline-1-oxide in a complete life-cycle test. Aquat. Toxicol., v.68, p.27-37.

DORES, E.F.G.C.; DE-LAMONICA-FREIRE, E.M. 2001. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas, estudo de caso: águas usadas para consumo humano em Primavera do Leste, Mato Grosso – Análise preliminar. Quim. Nova., v.24, n.1., p.27-36.

DOUABUL, A.A.Z; HEBA, H.M.A.; FAREED, K.H. 1997. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in fish from the Red Sea Coast of Yemen. Hydrobiologia, v.352, p.251-262.

EISLER, R. 1985. Selenium hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service. Biological Report, v.85, n.1.5, 41p.

EISLER, R. 1987. Mercury hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service. Biological Report, v.85, n.1.10, 63p.

EISLER, R. 1993. Zinc Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review. U. .S. Fish and Wildlife Service. Biological Report, v.10.126p.

ENNACEUR, S.; RIDHA, D.; MARCOS, R. 2008. Genotoxicity of the organochlorine pesticides 1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethylene (DDE) and hexachlorobenzene (HCB) in culture human lymphocytes. *Chemosphere*, v.71, p.1335-1339.

FAO FISHERIES DEPARTMENT, Western Central Atlantic (fishing area 31). 1978. *FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes Marine Resources and Environmental Division*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2v.

FARIAS, L.A.; AZEVEDO, J.S.; FÁVARO, D.I.T.; BRAGA, E.S. 2005. Evaluation of Mercury, selenium and methylmercury in fish consumed by Santos Bay communities, São Paulo, Brazil. In: *International Nuclear Atlantic Conference - INAC*. Santos/SP. p.01-09.

FÁVARO, L.F.; FREHSE, F.A.; OLIVEIRA, R.N.; JÚNIOR, R.S. 2005. Reprodução do bagre-amarelo, *Cathorops spixii* (Agassiz) (Sluriformes, Ariidae), da Baía de Pinheiros, região estuarina do litoral do Paraná, Brasil. *Rev. Bras. Zool.*, v.22, n.4, p.1022-1029.

FERNANDES, P.S.; CASTILHOS, Z.C.; RODRIGUES, A.P.C. 2008. Avaliação preliminar da bioacumulação do mercúrio em três espécies de peixes na Baía de Guanabara, RJ. In: *XVI Jornada de Iniciação Científica - CETEM*. Rio de Janeiro/RJ. p.263-269.

FERRANTE, M.C.; CLAUSI, M.T.; MELI, R.; FUSCO, G.; NACCARI, C.; LUCISANO, A. 2010. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in European eel (*Anguilla anguilla*) from the Garigliano River (Campania region, Italy). *Chemosphere*, v.78, p.709-716.

FERRARO, M.V.M.; FENOCCHIO, A.S.; MANTOVANI, M.S.; RIBEIRO, C.O.; CESTARI, M.M. 2004. Mutagenic effects of tributyltin and inorganic lead (Pb II) on the fish *H. malabaricus* as evaluated using comet assay and piscine micronucleus and chromosome aberrations tests. *Genet. Mol. Biol.*, v.27, n.1, p.103-107.

FIGUEIREDO, J.L.; MENEZES, A.N. 1978. *Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil - Teleostei (1)*. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 2v.

FIGUEIREDO, J.L.; MENEZES, A.N. 1980. Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil - Teleostei (2). Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. São Paulo, 3v.

FISHBASE. World Wide Web Eletronic Publication. 2007. Disponível em: <http://www.fishbase.org>. Acesso em: jan/2010.

FISHBASE. *Cathorops spixii*. 2010. Disponível em: <http://www.fishbase.com>. Acesso em: jan/2010.

FOCARDI, S.; LARI, L.; MARSILI, L. 1992. PCB congeners, DDTs and hexachlorobenzene in Antarctic fish from Terra Nova Bay (Ross Sea). *Antarct. Sci.*, v.4, n.2, p.151-154.

FREIRE, M.M.; SANTOS, V.G.; GINUINO, I.S.F.; ARIAS, A.R.L. 2008. Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. *Oecol. Bras.*, v.2, n.3, p.347-354.

FROEHNER, S.; MACENO, M.; MACHADO, K.S.M. 2010. Predicting bioaccumulation of PAHs in the trophic chain in the estuary region of Paranaguá, Brazil. *Environ. Monit. Assess.* DOI 10.1007/s10661-010-1444-1. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/J412N8G575R12376>

FROEHNER, S.; MACENO, M. 2010. Assessment of bioaccumulation of biphenyls in the trophic chain of a coastal area of Parana, Brazil. *Environ. Monit. Assess.*, v.164, p.189-198.

GALLI, A.; SAOZA, D.; GARBELLINI, G.S.; COUTINHO, C.S.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A.; MACHADO, S.A.S. 2006. Utilização de técnicas analíticas na determinação de pesticidas em alimentos. *Quim. Nova.*, v.29, n.1, p.105-112.

GSCHWEND, P.M.; HITES, R.A. 1981. Fluxes of polycyclic aromatic hydrocarbons to marine and lacustrine sediments in the northeastern United States. *Geoch. et Cosmoch. Acta.*, v.45, n.12, p. 2359-2367.

GASPARRO, M.R.; SOUSA, E.C.P.M.; GIORDANO, F.; ARGENTINO-SANTOS, R.C. 2008. Occupation history of the Santos Estuary. In: NEVES, R.; BARETTA, J.; MATEUS M. Perspectives on Integrated Coastal Management in South America. IST Press. p.139-145.

GAULDEN M. E. 1987. Hypothesis: some mutagens directly alter specific chromosomal proteins (DNA topoisomerase II and peripheral proteins) to produce chromosome stickiness, which causes chromosome aberrations. *Mutagenesis*, v.2, p.351-365.

GOMES, I.D.; ARAÚJO, F.G. 2004. Reproductive biology of two marine catfishes (Siluriformes, Ariidae) in the Sepetiba Bay, Brazil. *Rev. Biol. Tropic.*, v.52, n.1, p.143-156.

GONZÁLEZ, H.; RAMÍREZ, M.; ABLANEDO, N. 1991. *Mar. Pollut. Bull.*, v.22, n.9, p.469-471.

GORNI, R.; WEBER, R.R. 2004. Organochlorine pesticides residues and pcbs in benthic organisms of the inner shelf of the São Sebastião Channel, São Paulo, Brazil. *Braz. J. Oceanogr.*, v.52, n.2, p.141-152.

GRAVATO, C.; SANTOS, M.A. 2002. Juvenile sea bass liver biotransformation induction and erythrocytic genotoxic responses to resin acids. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.52, p.238-247.

GRISOLIA, C.K.; RIVERO, C.L.G.; STARLING, F.R.L.M.; SILVA, I.C.R.; BARBOSA, A.C.; DOREA, J.G. 2009. Profile of micronucleus frequencies and DNA damage in different species of fish in a eutrophic tropical lake. *Genet. Mol. Biol.*, v.32, n.1, p.138-143.

HAMOUTENE, D.; PAYNE, J.F.; RAHIMTULA, A.; LEE, K. 2002. Use of the Comet assay to assess DNA damage in haemocytes and digestive gland cells of mussels and clams exposed to water contaminated with petroleum hydrocarbons. *Mar. Environ. Res.*, v.54, p.471-474.

HARARI, J.; FRANÇA, C.A.S.; CAMARGO, R. 2008. Climatology and hydrography of Santos Estuary. In: NEVES, R.; BARETTA, J.; MATEUS M. Perspectives on Integrated Coastal Management in South America. IST Press. p.147-160.

HASHIMOTO, K; NAKAJIMA, Y.; MATSUMURA, S.; CHATANI, F. 2010. An *in vitro* micronucleus assay with size-classified micronucleus counting to discriminate aneugens from clastogens. *Toxicol. in vitro*, v.24, n.1, p.208-216.

HARDING, G.C.; ADDISON, R.F. 1986. Accumulation and Effects of PCBs in marine Invertebrates and Vertebrates. PCBs and the Environment - Volume II. CRC Press, p.9-30.

HEDDLE, J.A.; HITE, M.; KIRKHART, B.; MAVOURNIN, K.; MACGREGOR, J.T.; NEWELL, G.W.; SALAMONE, M.F. 1983. The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. *Mutat. Res.*, v.123, p.61-118.

HILL, K. Smithsonian Marine Station at Fort Pierce. 2005. Disponível em: http://www.sms.si.edu/IRLSpec/Centro_undeci.htm. Acesso em: julho/2010

HOSE, J.E.; CROSS, J.N.; SMITH, S.G.; DIEHL, D. 1987. Elevated circulating erythrocyte micronuclei in fishes from contaminated sites off southern California. *Mar. Environ. Res.*, v.22, p.167-176.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio): Ministério do Meio Ambiente. 2010. Área de Proteção Ambiental de Cananéia-Iguape-Peruíbe (APA CIP). Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/apacip>. Acesso em: jan/2010.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). 1995. Persistent Organic Pollutants: An Assessment Report on DDT, Aldrin, Dieldrin, Endrin, Chlordane, Heptachlor, Hexachlorobenzene, Mirex, Toxaphene, Polychlorinated Biphenyls, Dioxins, and Furans. L. Ritter, *et al.* 42p.

JESUS, T.B.; CARVALHO, C.E.V. 2008. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para a avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). *Oecol. Bras.*, v.12, n.4, p.680-693.

JONES, K.C.; VOOGT, P. 1999. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environmen. Pollut.*, v.100, p.209-221.

KALAY, M.; CANLI, M. 2000. Elimination of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) metals from tissues of a freshwater fish *Tilapia zilli*. *Turk. J. Zool.*, v.24, p.429-436.

KANNAN, N.; TANABE, S.; ONO, M.; TATSUKAWA, R.. 1989. Critical Evaluation of Polychlorinated Biphenyl Toxicity in Terrestrial and Marine Mammals: Increasing Impact of *Non-ortho* and *Mono-ortho* Coplanar Polychlorinated Biphenyls from Land to Ocean Arch. Environ. Contam. Toxicol., v.18, p.850-857.

KANNAN, K.; CORSOLINI, S.; IMAGAEWA, T.; SILVANO, F.; GIESY, J.P. 2002. Polychlorinated-Naphthalenes, -Biphenyls, -Dibenzo-p-dioxins, -Dibenzofurans and p,p'-DDE in Bluefin Tuna, Swordfish, Cormorants and Barn Swallows from Italy. *Ambio.*, v.31, n.3, p.207-211.

KATSUMUTI, A.; DOMINGOS, F.X.V.; AZEVEDO, M.; SILVA, M.D.; DAMIAN, R.C.; ALMEIDA, I.M.; ASSIS, H.C.S.; CESTARI, M.M.; RANDI, M.A.F.; RIBEIRO, C.A.O.; FREIRE, C.A. 2008. An assessment of acute biomarker responses in the demersal catfish *Cathorops spixii* after the Vicuña Oil Spill in a harbour estuarine area in Southern Brazil. *Environ. Monit. Assess.*, v.152, n.1-4, p.209-222.

KEHRIG, H.A.; MALM, O.; MOREIRA, I. 1998. Mercury in a widely consumed fish *Micropogonias furnieri* (Demarest, 1823) from four main Brazilian estuaries. *Sci. Total Environ.*, v.213, p.263-271.

KIRSCHBAUM, A.A.; ASSUNÇÃO, A. 2006. Utilização de parâmetros hematológicos e biomarcadores de citogenotoxicidade em robalo-peva, *Centropomus parallelus*, provenientes do Sistema Estuarino de São Vicente. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Santa Cecília. 58p.

KIRSCHBAUM, A.A.; ASSUNÇÃO, A.; SERIANI R.; ABESSA, D.M.S. & PEREIRA, C.D.S. 2007. Cyto-Genotoxicity biomarkers in robalo *Centropomus parallelus* from the São Vicente Estuary - SP, Brazil. In: 14th International Symposium Pollutant Responses in Marine Organisms - PRIMO 14. Santa Catarina/SP. p.103.

KIRSCHBAUM, A. A.; SERIANI, R.; PEREIRA, C.D.S.; ASSUNÇÃO, A.; ABESSA, D.M.S.; ROTUNDO, M.M.; RANZANI-PAIVA, M.T. 2009. Cytogenotoxicity biomarkers in fat snook *Centropomus parallelus* from Cananéia and São Vicente estuaries, SP, Brazil. Genet. Mol. Biol., v.32, n.1, p.151-154.

KOCAN, R.M.; SABO, K.M.; LANDOUT, M.L. 1985. Cytotoxicity/genotoxicity: the application of cell culture techniques to the measurement of marine sediment pollution. Aquat. Toxicol., v.6, p.165-177.

LA ROCCA, C.; CONTI, L.; CREBELLI, R.; CROCHI, B.; IACOVANELLA, N.; RODRIGUEZ, F.; TURRIO-BALDASSARI, L.; DI DOMENICO, A. 1996. PAH Content and Mutagenicity of Marine Sediments from the Venice Lagoon. Ecotoxicol. Environ. Saf., v.33, p.236-245.

LAM, P.K.S.; GRAY, J.S. 2003. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. Mar. Pollut. Bull., v.46, n.2, p.182-186.

LAMPARELLI, M.C.; COSTA, M.P.; PRÓSPERI, V.A.; BEVILACQUA, J.E.; ARAÚJO, R.P.A.; EYSINK, G.G.J.; POMPEIA, S. 2001. Sistema Estuarino de Santos e São Vicente (Relatório Técnico CETESB). Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em: jan/2010.

LAMPARELLI, M.C.; MOURA, D.O.; CAMOLEZ, A.C.; NAKAMURA, E.T. 2004. Relatório de Qualidade das Águas Litorâneas no Estado de São Paulo - Balneabilidade das praias 2003 (Relatório Técnico CETESB). Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em: jan/2010.

LAMPARELLI, M.C.; MOURA, D.O.; PINTO, K.C.; CAMOLEZ, A.C.; FORTIS, R.M.; CARDOSO, G.F.; SILVA, R.F.C.; PEREIRA, C.B.P. 2006. Relatório de

Qualidade das Águas Litorâneas no Estado de São Paulo 2005 (Relatório Técnico CETESB). Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em: jan/2010.

LAMPARELLI, M.C.; MOURA, D.O.; PINTO, K.C.; CAMOLEZ, A.C.; FORTIS, R.M.; CARDOSO, G.F.; SILVA, R.F.C.; PEREIRA, C.B.P. 2007. Relatório de Qualidade das Águas Litorâneas no Estado de São Paulo – 2006 (Relatório Técnico CETESB). Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em: jan/2010.

LEONARDS, P.E.G.; ZIERIKZEE, Y.; BRINKMAN, U.A.T.; COFINO, W.P; VAN STRAALLEN, N.M.; VAN HATTUM, W. 1997. The selective dietary accumulation of planar polychlorinated biphenyls in the otter (*Lutra lutra*). Environ. Toxicol. Chem., v.16, n.9, p.1807-1815.

LI, X.; GAN, Y.; YANG, X.; ZHOU, J.; DAI, J.; XU, M. 2008. Human health risk of organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in edible fish from Huairou Reservoir and Gaobeidian Lake in Beijing, China. Food Chem., v.109, p.348-354.

MACHADO, I.C.; MAIO, F.D.; KIRA, C.S.; CARVALHO, M.F.H. 2002. Estudo da ocorrência de metais pesados Pb, Cd, Hg, Cu e Zn na ostra de mangué *Crassostrea brasiliana* do estuário de Cananéia – SP, Brasil. Rev. Inst. Adolfo Lutz, v.61, n.1, p.13-18.

MACLEOD, W.D.; BROWN, D.W.; FRIEDMAN, A.J.; BURROWS, D.G.; MAYNES, O.; PEARCE, R.W.; 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, 121p.

MAES, J.; BELPAIRE, C.; GOEMANS, G. 2008. Spatial variations and temporal trends between 1994 and 2005 in polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides and heavy metals in European eel (*Anguilla anguilla* L.) in Flanders, Belgium. Environ. Pollut., v.153, p.223-237.

MAGALHÃES, C.A. 2006. PCBs e pesticidas organoclorados em tecidos de peixes da Baixada Santista, São Paulo. Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico da USP. 68p.

MALLICK, P.; KHUDA-BUKHSH, A.R. 2003. Nuclear abnormalities and blood proteins variations in fish of the Hoogly-Matlah River System, India, as an indicator of genotoxicity in water. Bull. Environ. Contam. and Toxicol., v.70, p.1071-1082.

MALM, O.; BRANCHES, F.J.P.; AKAGI, H.; CASTRO, M.B.; PFEIFFER, W.C.; HARADA, M.; BASTOS, W.R.; KATO, HIROO. 1995. Mercury and methylmercury in fish and human hair from the Tapajós river basin, Brazil. Sci. Total Environ., v, 175, p.141-150.

MANTOVANELLI, A. 1999. Caracterização da dinâmica hídrica e do material particulado em suspensão na Baía de Paranaguá e em sua bacia de drenagem. Boletim Paranaense de Geociências (Editora UFPR), n.51, p. 91-114.

MANTOVANELLI, A.; MARONE, E.; SILVA, E.T.; LAUTERT, L.F.; KLINGENFUSS, M.S.; PRATA, Jr.V.P.; NOERNBERG, M.A.; KNOPPERS, B.A.; ÂNGULO, R.J. 2004. Combined tidal velocity and duration asymmetries as a determinant of water transport and residual flow in Paranaguá Bay estuary. Estuar. Coast. Shelf Sci., v.59, p.523-537.

MARIA, V.L.; CORREIA, A.C.; SANTOS, M.A. 2003. Genotoxic and Biochemical responses in caged eel (*Anguilla Anguilla* L.) after short-term exposure to harbor waters. Environ. Internat., v.29, p.923-929.

MATSUMOTO, S.T.; MANTOVANI, M.S.; MALAGUTTI, M.I.A.; DIAS, A.L.; FINSECA, I.C.; MARIN-MORALES, M.A. 2006. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. Genet. Mol. Biol., v.29, n.1, p.148-158. , v.48, n.8,

- MEADOR, J.P.; STEIN, J.E.; REICHERT, W.L.; VARANASI, U. 1995. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, v.143, p.79-165.
- MEARNS, A.J.; OSHIDA, P.S.; SHERWOOD, M.J.; YOUNG, D.R.; REISH, D.J. 1976. Chromium Effects on Coastal Organisms. *J. Water Pollut. Control. Fed.*, v.48, n.8, p.1929-1939.
- MEDEIROS, R.J.; MÁRSICO, E.T.; SÃO CLEMENTE, S.C.; FERREIRA, M.S. 2008. Distribuição do metal mercúrio em atum (*Thunnus albacares*) e pescada bicuda (*Cynoscion microlepidotus*) capturados no litoral do Rio de Janeiro, Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.3, p.656-662.
- MENDONÇA, J.T. 2007. Gestão dos recursos pesqueiros do Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia – Iguape – Ilha Comprida, litoral sul de São Paulo, Brasil. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos. 384p.
- MERSCH, J.; BEAUVAIS, M-N.; NAGEL, P. 1996. Induction of micronuclei in haemocytes and gill cells of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, exposed to clastogens. *Mutat. Res.*, v.371, p.47-55.
- MONTONE, R.C. 1995. Determinação de bifenilos policlorados (PCBs) no ambiente antártico marinho. Tese de Doutorado. Instituto de Química da Universidade de São Paulo. 99p.
- MONTONE, R.C.; TANIGUSHI, S.; BOIAN, C.; WEBER, R.R. 2005. PCBs and chlorinated pesticides (DDTs, HCHs and HCB) in the atmosphere of the southwest Atlantic and Antarctic oceans. *Baseline Mar. Pollut. Bull.*, v.50, p.778–786.
- MÜLLER, S.O.; ECKERT, I.; LUTZ, W.K.; STOPPER, H. 1996. Genotoxicity of the laxative drug components emodin, aloë-amodin and danthron in mammalian cells: Topoisomerase II mediated. *Mutat. Res.*, v.371, p.165-173.
- NAKATA, H.; SAKAI, Y.; MIYAWAKI, T.; TAKEURA, A. 2003. Bioaccumulation and toxic potencies of polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons

in tidal flat and coastal ecosystems of the Ariake Sea, Japan. *Environ. Sci. Technol.*, v.37, n.16, p.3513-3521.

NAKAYAMA, P. 2004. Variação temporal e espacial da composição da ictiofauna demersal do infralitoral raso da Baía de Paranaguá, PR, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR. 57p.

NASCIMENTO, I.A.; SOUSA, E.C.P.M.; NIPPER, M. 2002. Métodos em ecotoxicologia marinha, aplicações no Brasil. Artes Gráficas e Indústria Ltda. 262p.

NASCIMENTO, S.M.; FARIAS L.A.; CURCHO, M.R.M.; BRAGA, E.S.; FÁVARO, D.I.T. 2009. Estudo comparativo de constituintes nutricionais e do teor de mercúrio total em peixes comercializados na cidade de Cananéia, litoral de São Paulo. In: International Nuclear Atlantic Conference - INAC 2009 Rio de Janeiro - Junior Section: Proceedings, v. 01. p.01-12.

NELSON, J.S. 1994. *Fishes of the World*. 3rd edition. Department of Zoology. University of Alberta. 601p.

NENDZA, M.; HERBST, T.; KUSSATZ, C.; GIES, A. 1997. Potential for secondary poisoning and biomagnification in marine organisms. *Chemosphere*, v. 35, n.9, p.1875-1885.

NEVES, R.; BARETTA, J.; MATEUS M. 2008. Perspectives on Integrated Coastal Management in South America. IST Press. 604p.

NISHIGIMA, F.N.; WEBER, R.R.; BÍCEGO, M.C. 2001. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of Santos and Cananéia, SP, Brazil. *Mar. Poll. Bull.*, v.42, n.11, p.1064-1072.

OCHI, T.; OHSAWA, M. 1983. Induction of 6-thioguanine-resistant mutants and single strand scission of DNA by cadmium chloride in cultured Chinese hamster cells. *Mutat. Res.*, v.111, p.69–78.

OCHI, T.; MOGI, M.; WATANABE, M.; OHSAWA, M. 1984. Induction of chromosomal aberrations in cultured Chinese hamster cells by short-term treatment with cadmium chloride. *Mutat. Res.*, v.137, p.103–109.

PACHECO, M.; SANTOS, M.A. 2002. Biotransformation, genotoxic, and histopathological effects environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v.53, p.331-347.

PANDIT, G.G.; RAO, A.M.M.; JAH, S.K.; KRISHNAMOORTHY, T.M.; KALE, S.P.; RAGHU, K.; MURTHY, N.B.K. 2001. Monitoring of organochlorine pesticide residues in the Indian marine environment *Chemosphere*, v.44, n.2, July, p.301-305.

PANTALEÃO, S.M.; ALCÂNTARA, A.V.; ALVES, J.P.; SPANO, M.A. 2006. The piscine micronucleus test to assess the impact of pollution on the Japaratuba river in Brazil. *Environ. Mol. Mutagen.*, v.47, p.219-224.

PASSOS, E.A.; ARAGÃO, K.A.S.; SANTOS, D.B.; BARBIERI, E.; GARCIA, C.A.B.; ALVES, J.P.H. 2006. Distribuição de metais traço em *Cathorops spixii* capturados no Estuário o Rio do Sal/SE. In: 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia/SP. p.120.

PAZDRO, K.; KOPÁŃSKA, E.; PUĆKO, M.; KOPECKA, J.; PEMPKOWIAK, J. 2005. The distribution and sources of persistent organic contaminants in benthic organisms from the Gulf of Gdańsk (Southern Baltic Sea). In: 6º Congresso Ibérico e 3º Iberoamericano de Contaminação e Toxicologia Ambiental “The environment: A challenge for scientific research”. Cadiz. p.29.

PENTEADO, J.C.P.; VAZ, J.M. 2001. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). *Quim. Nova.*, v.24, n.3, p.390-398.

PEREIRA, C.D.S. 2003. Utilização de biomarcadores como indicadores de efeito e exposição à contaminantes em mexilhões da espécie *Perna perna* (Linnaeus, 1758) provenientes do Canal de São Sebastião, SP. Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 72p.

PEREIRA, C.D.S. 2008. Biomarcadores de exposição, efeito e bioacumulação de xenobióticos em mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758) transplantados ao longo do litoral de São Paulo. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 181p.

PEREIRA, O.M.; HENRIQUES, M.B.; ZENEBON, O.; SAKUMA, A.; KIRA, C.S. 2002. Determinação dos teores de Hg, Pb, Cd, Cu e Zn em moluscos (*Crassostrea brasiliana*, *Perna perna* e *Mytella falcata*). Rev. Inst. Adolfo Lutz, v.61, n.1, p.19-25.

PEREIRA, C.D.S.; CESAR, A.; BORGES, R.P.; GIANESELLA, S.M.F.; SOUSA, E.C.P.M.; SALDANHA-CORRÊA, F.M.; GASPARRO, M.R.; BERZIN, G.; RIBEIRO, R.B.; FIORI, E.F. 2008. Potential use of ecological tools to direct public policies: an integrative approach in the Santos Estuarine System. In: NEVES, R.; BARETTA, J.; MATEUS M. Perspectives on Integrated Coastal Management in South America. IST Press. p.445-456.

PERUGINI, M.; VISCIANO, P.; GIAMMARINO, A.; MANERA, M.; DI NARDO, W.; AMORENA, M. 2007. Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from the Adriatic Sea, Italy. Chemosphere, v.66, p.1904-1910.

PESO-AGUIAR, M.C.; SMITH, D.H.; ASSIS, R.C.F.; SANTA-ISABEL, L.M.; PEIXINHO, S.; GOUVEIA, E.P.; ALMEIDA, T.C.A.; ANDRADE, W.S.; CERQUEIRA, C.R.G.; KELMO, F.; CARROZZO, G.; RODRIGUES, C.V.; CERVALHO, G.C.; JESUS, A.C.S. 2000. Effects of petroleum and its derivatives in benthic communities at Baía de Todos os Santos/ Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. Aquat. Ecosyst. Health Manage, v.3, p.459-470.

PIETRAPIANA, D.; MODENA, M.; GUIDETTI, P.; FALUGI, C.; VACCHI, M. 2002. Evaluating the genotoxic damage and hepatic tissue alterations in demersal fish species: a case study in the Ligurian Sea (NW-Mediterranean). Mar. Pollut. Bull., v.44, p.238-243.

PRÁ, D.; GUECHEVA, T.; FRANKE, S.I.R.; KNAKIEVICZ, T.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P. 2006. Toxicidade e genotoxicidade do sulfato de cobre em planárias de água doce e camundongos. J. Braz. Soc. Ecotoxicol., v.1, n.2, p.171-175.

PRETTI, E.; CAVALCANTE, D.; SIMONATO, J.D.; MARTINEZ, C.B.R. 2007. Indução de anormalidades eritrocíticas nucleares para detecção de genotoxicidade e mutagenicidade no peixe neotropical *prochilodus lineatus* expostos à fração solúvel da gasolina. In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu - MG. p.1-2.

QUEIRÓZ, G.M.N.; SPACH, H.L.; SOBOLEWSKI-MORELOS, M.; SANTOS, L.O.; JUNIOR, R.S. 2006. Caracterização da ictiofauna demersal de duas áreas do Complexo Estuarino de Paranaguá, Paraná, Brasil. Biociências, v. 14, n. 2, p.112-124.

QUINETE, N.S. 2005. Extração de poluentes organoclorados persistentes em fragmentos remanescentes da mata atlântica, RJ: comparação de métodos. Dissertação de Mestrado. Universidade federal Fluminense. 155p.

RIBEIRO, L.R.; SALVADORI, D.M.F.; MARQUES, E.K. 2003. Mutagênese Ambiental. Ulbra. 355p.

RISSATO, S.R.; LIBÊNIO, M.; GIAFFERIS, G.P.; GERENUTTI, M. 2004. Determinação de pesticidas organoclorados em água de manancial, água potável e solo na região de Bauru (SP). Quim. Nova., v.27, n.5, p.739-743.

RODRIGUES, P.P. 2005. Aspectos reprodutivos do robalo peba, *Centropomus parallelus*, na foz do rio doce, Linhares/ES. Monografia de Graduação. 51p.

RODRIGUES, M.L.K.; SANTANA, L.F.; BAVARESCO, J.; BECKER, F.G. 2005. Congresso de Ecologia do Brasil: Avanços nos estudos de ecossistemas terrestres, marinhos e de águas continentais. Caxambu/MG.

RUSSO, C.; ROCCO, L.; MORESCALCHI, M.A.; STINGO, V. 2004. Assessment of environmental stress by the micronucleus test and the comet assay on the genome of teleost populations from two natural environments. Ecotoxicol. Environ. Saf., v.57, p.168-174.

RYBAKOVAS, A.; BARSINIÉ, J.; LANG, T. 2009. Environmental genotoxicity and cytotoxicity in the offshore zones of the Baltic and the North Seas. *Mar. Environ. Res.*, v.68, p.246-256.

SÁ, F. 2003. Distribuição e fracionamento de contaminantes nos sedimentos superficiais e atividades de dragagem no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (PR). *Boletim Paranaense de Geociências*, n.53, p.83-92.

SAFE, S. 1989. Polychlorinated biphenyls (PCBs): mutagenicity and carcinogenicity. *Mutat. Res.*, v.220, p.31-47.

SAITO, R.T.; FIGUEIRA, R.C.L.; TESSLER, M.G.; CUNHA, I.I.L. 2006. A model of recent sedimentation in the Cananéia - Iguape estuary, Brazil. *Radioact. Environ.*, v.8, p.419-430.

SAMPAIO, A.F.P.; FERREIRA, J.M.S. 2008. Socio-economic issue in the Santos Estuary. In: NEVES, R.; BARETTA, J.; MATEUS M. *Perspectives on Integrated Coastal Management in South America*. IST Press. p.205-218.

SANCHES, S.M.; SILVA, C.H.T.P.; CAMPOS, S.X; VIEIRA, E.M. 2003. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. *R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente*, v.13, p.53-58.

SANTAMARTA, J. 2001. Por um futuro sem contaminantes orgânicos persistentes. *Agroecol. e Desenv. Rur. Sustent.*, v.2, n.1, p.46-56.

SANTOS, A.A.; EGAMI, M.I.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; JULIANO, Y. 2009a. Hematological parameters and phagocytic activity in fat snook (*Centropomus parallelus*): Seasonal variation, sex and gonadal maturation. *Aquac.*, v.296, p.359-366.

SANTOS, D.M.; ARAÚJO, I.P.; MACHADO, E.C.; CARVALHO-FILHO, M.A.S.; FERNANDEZ, M.A.; MARCHI, M.R.R, GODOY, A.F.L. 2009b. Organotin compounds in the Paranaguá Complex, Paranaguá, Brazil: Evaluation of biological effects, surface sediment, and suspended particulate matter. *Mar. Poll. Bull.*, v.58, p.1992-1952.

SAVAGE, J.R.K. 1988. A comment on the quatitative relationship between micronuclei and chromosomal aberrations. *Mutat. Res.*, v.207, p.33-36.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; MESQUITA, H.S.L.; CINTRÓN-MOLERO, G. 1990. The Canan ia Lagoon Estuarine System, São Paulo, Brazil. *Estuaries*, v.13, n.2, p.193-203.

SCHEPENS, P.J.C.; COVACI, A.; JORENS, P.G.; HENS, L.; SCHARPÉ, S; LAREBEKE, N.V. 2001. Surprising Findings Following a Belgian Food Contamination with Polychlorobiphenyls and Dioxins. *Environ Health Perspect.*, v.109, n.2., p.101-103.

SEIXAS, T.G.; MOREIRA, I; KEHRIG, H.A.; MALM, O. 2007. Distribuição de selênio em organismos marinhos da Baía de Guanabara/ RJ. *Quim. Nova*, v.30, n.3, p.554-559.

SEMMLER, M.G.M.C. 2007. Biomonitoração de Hg, Cd, Pb e outros elementos em áreas costeiras do Estado de São Paulo por meio do mexilhão transplantado *Perna perna* (Linnaeus, 1758). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN). 140p.

SERICANO, J.L.; BROOKS, J.M.; CHAMP, M.A.; KENNICUTT, M.C.; MAKEYEV, V.V. 2001. Trace contaminant concentration in the Kara Sea amd its adjacent rivers, Russia. *Mar. Pollut. Bull.*, v.42, n.11, p.1017-1030.

SHIMIZU, N.; ITOH, N.; UTIYAMA, H.; WAHL, G.M. 1998. Selective Entrapment of Extrachromosomally Amplified DNA by Nuclear Budding and Micronucleation during S-Phase. *J. Cell. Biol.*, v.140, n.6, p.1307-1320.

SILVA, T.F.; AZEVEDO, D.A.; NETO, F.R.A. 2007a. Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Sediments and Waters from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.*, v.18, n.3, p.628-637.

SILVA, C.E.A.; AZEREDO, A.; LAILSON-BRITO, J.; TORRES, J.P.M.; MALM, O. 2007b. Polychlorinated biphenyls and DDT in swordfish (*Xiphias gladius*) and blue shark (*Prionace glauca*) from Brazilian coast. *Chemosphere*, v.67, p.S48-S53.

SILVA, C.E.A.; TORRES, J.P.M.; MALM. 2007c. Toxicologia das bifenilas policloradas (PCBs). Oecol. Bras., v.11, n.2, p.179-187.

SILVA, C.A.; RIBEIRO, C.A.O.; KATSUMITI, A.; ARAÚJO, M.L.P.; ZANDONÁ, E.M.; SILVA, G.P.C.; MARCHIO, J.; ROCHE, H.; ASSIS, H.C.S. 2009. Evaluation of waterborne exposure to oil spill 5 years after an accident in Southern Brazil. Ecotox. Environ. Saf., v.72, p.400-409.

SILVA FILHO, N.M. 1992. Urbanização e degradação ambiental na Baixada Santista. In: Seminário Questões Ambientais Litorâneas. Universidade de São Paulo. p.48-51.

SIQUEIRA, G.W.; LIMA, W.N.; MENDES, A.S.; APRILE, F.M.; BRAGA, E.S.; MAHIQUES, M.M. 2004. Evolução do impacto ambiental causado por matéria orgânica, mercúrio e arsênio nos sedimentos de fundo do Sistema Estuarino de Santos. Geochim. Brasil., v.18, n.1, p.54-63.

SIQUEIRA, G.W.; BRAGA, E.S.; SANTIS, E.; PEREIRA, S.F.P.; SILVA, E. 2005. Distribuição do mercúrio em sedimentos de fundo no Estuário de Santos SP/Brasil. Rem: Rev. Esc. Minas, v.58, n.4, p.309-316.

SOUSA, E.C.P.M.; CESAR, A.; GASPARRO, M.R.; ARGENTINO-SANTOS, R.C.; ZARONI, L.P.; PEREIRA, C.D.S.; BERGMANN FILHO, T.U.; OLIVEIRA, L.F.J. 2008. Sediment quality of the Santos Estuarine System. In: NEVES, R.; BARETTA, J.; MATEUS M. Perspectives on Integrated Coastal Management in South America. IST Press. p.195-204.

SIU, S.Y.M.; LAM, P.K.S.; MARTIN, M.; CALDWELL, W.; RICHARDSON, B.J. 2008. The use of selected genotoxicity assays in green-lipped mussels (*Perna viridis*): A validation study in Hong Kong coastal waters. Mar. Pollut. Bull., v.57, p.479-492.

STECKERT, A.V. 2007. Análise ecotoxicológica da água e verificação de dano ao DNA em peixes expostos a agrotóxicos em cultura de arroz irrigado, Araranguá (SC). Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC. 41p.

SPACH, H.L.; SANTOS, C.; GODEFROID, R.S. 2003. Padrões temporais na assembléia de peixes a gamboa do Sucuriú, Baía de Paranaguá, Brasil. Ver. Bras. Zool., v.20, n.4, p.591-600.

STOPPER, H.; MÜLLER, S.O. 1997. Micronuclei as a biological endpoint for genotoxicity: a minireview. Toxicol. in Vitro., v.11, p.661-667.

STOPPER, H.; KÖRBER, C.; SCHIFFMANN, D.; CASPARY, W.J. 1993. Cell- cycle dependent micronucleus formation and mitotic disturbances induced by 5-azacytidine in mammalian cells. Mutat. Res., v.300, p.165-177.

STORELLI, M.M.; PERRONE, V.G.; MARCOTRIGIANO, G.O. 2007. Organochlorine contamination (PCBs and DDTs) in deep-sea fish from the Mediterranean sea. Mar. Pollut. Bull., v.54, p.1962-1989.

SUDARYANTO, A.; MONIRITH, I.; KAJIWARA, N.; TAKAHASHI, S.; HARTONO, P.; MUAWANAH; OMORI, K.; TAKEOKA, H.; TANABE, S. 2007. Levels and distribution of organochlorines in fish from Indonesia. Environ Internat, v.33, p.750-738.

SULTANA, R.; RAO, D.P. 1998. Bioaccumulation Patterns of Zinc, Copper, Lead, and Cadmium in Grey Mullet, *Mugil cephalus* (L.), from Harbour Waters of Visakhapatnam, India. Bull. Environ. Contam. Toxicol., v.60, n.6., p.949-955.

TADIVO, M.; REZENDE, M.O.O. 2005. Determinação de compostos organoclorados em peixes da Bacia do Betari, Vale do Ribeira (SP), Rev. Analytica, n.16, p.50-60.

TANABE, S.; WATANABE, M.; MINH, T.B.; KUNISUE, T.; NAKANISHI, S.; ONO, H.; TANAKA, H. 2004. PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in albatross from the North Pacific and Southern Oceans: levels, patterns, and toxicological implications. Environ. Sci. Technol., v.38, n.2, p.403-413.

TANIGUSHI, S. 2001. Avaliação da contaminação por hidrocarbonetos e organoclorados em diferentes compartimentos do ambiente marinho do Estado do Rio

de Janeiro. Tese de Doutorado. Instituto de Química da Universidade de São Paulo. 160p.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. 2004. Hematologia de Peixes Teleósteos. M. Tavares-Dias. 144p.

THOMAS, R.E.; BRODERSEN, C.; CARLS, M.G.; BADCOCK, M.; RICE, S.D. 1999. Lack of physiological responses to hydrocarbon accumulation by *Mytilus trossulus* after 3–4 years chronic exposure to spilled Exxon Valdez crude oil in Prince William Sound. Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol., v.122, p.201-204.

TOMMASI, L.R. 1979. Considerações ecológicas sobre o Sistema Estuarino de Santos (SP). Tese de Livre Docência. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 248p.

TORTELI, V.; COLARES, E.P.; ROBALDO, R.B.; NERY, L.E.M.; PINHO, G.L.L.; BIANCHINI, A.; MONSERRAT, J.M. 2006. Importance of cholinesterase kinetic parameters in environmental monitoring using estuarine fish. Chemosphere, v.65, p.560-566.

TRINDADE, C.E.P. 2005. Minerals in the nutrition of extremely low birth weight infants. J. Pediatr., v.81, n.1(Suppl), p.43-51.

TUCKER, J.D.; PRESTON, R.J. 1996. Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchange, and cancer risk assessment. Mutat. Res., v.365, p.147-159.

TUVIKENE, A. 1995. Responses of fish to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Ann. Zool. Fennici., v.32, p.295-309.

UENO, D.; TAKAHASHI, S.; TANAKA, H.; SUBRAMANIAN, A.N.; FILLMAN, G.; NAKATA, H.; LAM, P.K.S.; ZHENG, J.; MUCHTAR, M.; PRUDENTE, M.; CHUNG, K.H.; TANABE, S. 2003. Global pollution monitoring of PCBs and organochlorine pesticides using skipjack tuna as a bioindicator. Arch. Environ. Contam. Toxicol., v.45, p.378-389.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA. 1996. Public health implications of PCB exposures. Department of health and human services. Disponível em: <http://www.epa.gov>. Acesso em: jan/2009.

VAN BRESSEM, M.F.; SANTOS, M.C.O.; OSHIMA, J.E.F. 2009. Skin diseases in Guiana dolphins (*Sotalia guinensis*) from the Paranaguá estuary, Brazil: A possible indicator of a compromised marine environment. Mar. Environ. Res., v.67, p.63-68.

VAN DER OOST, R.; HEIDA, H.; OPPERHUIZEN, A.; VERMEULEN, N.P.E. 1991. Interrelationships between bioaccumulation of organic trace pollutants (PCBs, organochlorine pesticides and PAHs), and Mfo-induction in fish. Comp. Biochem. Physiol., v.100C, n.1/2, p.43-47.

VAZZOLER, A.E.A.M. 1996. Biologia de reprodução de peixes teleósteos. Teoria e prática. Universidade Estadual de Maringá. 169p.

VARANASI, U.; GMUR, D.J. 1981. Hydrocarbons and metabolites in english sole (*Parophrys vetulus*) exposed simultaneously to [³H]benzo[a]pyrene and [¹⁴C]naphthalene in oil-contaminated sediment. Aquat. Toxicol., v.1, p.49-67.

VIRGA, R.H.P.; GERALDO, L.P.; SANTOS, F.H. 2007. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. Ciênc. Tecnol. Aliment., v.27, n.4, p.779-785.

VIVES, I.; GRIMALT, J.O.; FERNÁNDEZ, P.; ROSSELAND, B. 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons in fish from remote and high mountain lakes in Europe and Greenland. Sci. Total Environ., v.324, p.67-77.

VOORSPOELS, S.; COVACI, A.; MAERVOET, J.; MEESTER, I.D.; SCHEPENS, P. 2004. Levels and profiles of PCBs and OCPs in marine benthic species from the Belgian North Sea and the Western Scheldt Estuary. Mar. Pollut. Bull., v.49, p.393-404.

WOO, S.; KIM, S.; YUM, S.; YIM, U.H.; LEE, T.K. 2006. Comet assay for detection of genotoxicity in blood cells of flounder (*Paralichthys olivaceus*) exposed to sediments and polycyclic aromatic hydrocarbons. Mar. Pollut. Bull., v.52, p.1768-1775.

WÜRGLER, F.E.; KRAMERS, P.N.G. 1992. Environmental effects of genotoxins (ecogenotoxicology). *Mutagenesis*, v.7, p.321-327.

YADAV, K.K.; TIVEDI, S.P. 2009. Sublethal exposure of heavy metals induces micronuclei in fish, *Chana punctata*. *Chemosp.*, v.77, p.1495-1500.

YANG, N.; MATSUDA, M.; KAWANO, M.; WAKIMOTO, T. 2006. PCBs and organochlorine pesticides (OCPs) in edible fish and shellfish from China. *Chemosphere*, v.63, p.1342-1352.

YOGUI, G.T. 2002. Ocorrência de compostos organoclorados (pesticidas e PCBs) em mamíferos marinhos da costa de São Paulo (Brasil) e da Ilha Rei George (Antártica). Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 139p.

YOGUI, G.T.; SANTOS, M.C.O.; MONTONE, R.C. 2003. Chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls in marine tucuxi dolphins (*Sotalia fluviatilis*) from the Cananéia estuary, southeastern Brazil. *Sci. Tot. Environ.*, v.312, p.67-78.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. 2006. *Ecotoxicologia Aquática, Princípios e Aplicações*. Rima. 464p.

ZAR, J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall Press. 663p.

ZAVALA-CAMIN, L.A. 2004. *O Planeta Água e seus Peixes*. L.A. Zavala-Camin (ed). 326p.

9. Anexos

Tabela 65. Resultados obtidos ($\mu\text{g/g}$) para o material de referência certificado Dogfish muscle DORM-2 – NRCC, peso seco.

DORM-2	As	Co	Se	Zn
Valor Certificado	18,0 $\pm$ 1,1	0,182 $\pm$ 0,031	1,40 $\pm$ 0,09	25,6 $\pm$ 2,3
Valor Médio Obtido	17,4 $\pm$ 0,6	0,19 $\pm$ 0,04	1,5 $\pm$ 0,3	24 $\pm$ 5
Erro Relativo (%)	3,3	4,4	7,1	6,2

Tabela 66. Resultados obtidos (ng/g) para o material de referência certificado Mussel Tissue 2976 – NIST, peso seco.

NIST 2976	Cd	Hg	Pb
Valor Certificado	820 $\pm$ 160	61,0 $\pm$ 3,6	1190 $\pm$ 180
Valor Médio Obtido	841,7 $\pm$ 0,3	67,7 $\pm$ 0,3	1061 $\pm$ 30
Erro Relativo (%)	2,6	11	11

10. Apêndice

Formation by Budding **Postmitotic Formation**

Model for the formation of micronuclei. Models for DM elimination by budding and micronucleation in S-phase and postmitotic micronucleation are shown. In the S-phase budding mechanism, DMs are preferentially located at the periphery of the interphase nucleus and then selectively encapsulated into nuclear buds that then pinch off to form micronuclei during DNA replication (a–d). This process is an alternative to the classical postmitotic mechanism of generating micronuclei depicted in f–h. One possible fate of these micronuclei is that they refuse to the main nucleus (i to j and d to e). At present, this is a speculation as there is no direct experimental evidence to support it. On the other hand, we do have direct evidence that micronuclei can be released into the culture supernatant as extracellular micronuclei, suggesting that they may be extruded through the cell membrane (j; Shimizu, N., and G.M. Wahl, unpublished data). Decrease in DM content can be achieved by either expulsion of micronuclei containing DMs from the cell, or by degradation of DM–DNA within intracellular micronuclei. In either case, loss of DM sequences from the nucleus results in reversion of the tumor phenotype, differentiation, or apoptosis (k; Von Hoff et al., 1992; Eckhardt et al., 1994; Shimizu et al., 1994).

Figura 112. Modelo de formação de micronúcleos a partir do mecanismo de exclusão de fragmentos, extraído de Shimizu *et al.* (1998).