Maria Luiza Chisté Flaquer da Rocha

# Indicadores ecológicos e biomarcadores de contaminação ambiental na ictiofauna da baía de Santos e do canal de Bertioga, São Paulo, Brasil

Tese apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências, área de Oceanografia Biológica.

Orientadora: Profa. Dra. June Ferraz Dias

São Paulo

2009

Universidade de São Paulo
Instituto Oceanográfico

# Indicadores ecológicos e biomarcadores de contaminação ambiental na ictiofauna da baía de Santos e do canal de Bertioga, São Paulo, Brasil

Maria Luiza Chisté Flaquer da Rocha

Tese apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências, área de Oceanografia Biológica.

Julgada em ____/____/____

_____ _____
Conceito

_____ _____
Conceito

_____ _____
Conceito

_____ _____
Conceito

_____ _____
Conceito

*Dedico este trabalho ao Rafael,*
*que me inspira todos os dias...*

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS ..... v
LISTA DE FIGURAS ..... vii
ABSTRACT ..... xiv
INTRODUÇÃO GERAL ..... 1
OBJETIVO E HIPÓTESES DE TRABALHO ..... 5
ÁREA DE ESTUDO ..... 7
Características gerais da área de estudo ..... 7
Área de estudo sob o ponto de vista da contaminação por elementos metais e outros no sedimento ..... 9
Breve histórico ..... 9
Aspectos sedimentológicos e hidrográficos da região da baía de Santos e do canal de Bertioga ..... 12
Concentração de metais no sedimento da baía de Santos ..... 15
REFERÊNCIAS ..... 24
MATERIAL E MÉTODOS ..... 30
Métodos de coleta ..... 30
Tomada de dados dos peixes ..... 32
Tomada de dados de *Achirus lineatus*, retirada e preservação de estruturas e órgãos ..... 32
Referências ..... 33
O MODELO BIOLÓGICO *Achirus lineatus*: características gerais da espécie e dinâmica populacional ..... 35
Introdução ..... 35
Objetivos específicos ..... 38
Método de coleta e tomada de dados ..... 38
Metodologia de análise ..... 38
Tratamento estatístico dos dados ..... 42
Resultados ..... 43
Discussão ..... 62
Referências ..... 73
1º MÉTODO DE AVALIAÇÃO: BIOMARCADORES HISTOPATOLÓGICOS ..... 78
Análise histopatológica dos fígados e das gônadas ..... 78
Introdução ..... 78
Objetivos específicos ..... 83
Método de coleta e tomada de dados ..... 83
Metodologia de análise ..... 83
Tratamento estatístico dos dados ..... 88
Resultados ..... 88
Fígado ..... 88

Discussão ..... 101
Referências..... 115
2º MÉTODO DE AVALIAÇÃO: BIOCUMULAÇÃO DE METAIS..... 123
Análise de metais no tecido muscular ..... 123
Introdução..... 123
Trabalhos realizados na baía de Santos e no canal de Bertioga..... 126
Objetivos específicos..... 128
Métodos de coleta e tomada de dados..... 128
Metodologia de análise..... 128
Tratamento estatístico dos dados..... 130
Critérios de avaliação da qualidade de sedimentos e de resíduo no tecido 131
Resultados..... 133
Discussão ..... 144
O uso da bioacumulação como biomarcador..... 168
Referências..... 170
3º MÉTODO DE AVALIAÇÃO: INDICADORES ECOLÓGICOS ..... 181
A estrutura da ictiofauna e a ocupação humana na baía de Santos e canal de Bertioga..... 181
Introdução..... 181
Objetivos específicos..... 185
Método de coleta e tomada de dados..... 185
Metodologia de análise..... 185
Resultados..... 187
Discussão ..... 197
Referências..... 202
CONSIDERAÇÕES FINAIS ..... 206

AGRADECIMENTOS

À Profa. June Ferras Dias pela orientação neste trabalho. Mas sua influência foi mais além das críticas e sugestões: compartilhou generosamente seu conhecimento e pude observar, durante todos esses anos, a dedicação que tem ao seu trabalho, o apreço por seus alunos e sua inabalável ética humana e profissional. Foi um privilégio ser sua aluna.

Ao Instituto Oceanográfico pelo uso de suas instalações e à tripulação das embarcações utilizadas.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

Aos meus professores da pós-graduação em especial à Maria Ines Borella e Moysés Tessler.

Ao Prof. Johnny Ferraz Dias pelas análises PIXE.

À CPG na pessoa do Prof. Michael Mahiques.

Ao Prof. Mario Katsuragawa pela supervisão no programa PAE e à Maria de Lourdes Zani Teixeira.

Aos meus queridos colegas de sala Carla Fiadi, Carolina Bertozzi, Jana Favero, Thassya Schmidt, Michel Gianeti, Riguel Contente e Wellington Fernandez por tudo que compartilhamos nesses anos e pela valiosa ajuda nos detalhes finais desse trabalho.

À Helcy Silbiger pela ajuda na preparação das lâminas histológicas e interpretação das patologias.

Aos estagiários que ajudaram nos embarques e na triagem dos peixes, em especial ao Diego Morais, Natália Montagner, Cecília Rondinelli, Carine Costa, Victor Rodrigues e Dante Napolitano.

Ao Wellington Fernandez pelos inestimáveis ensinamentos em estatística e em tantos outros assuntos.

À Thassya Schmidt por ter assumido, em meu lugar, a função de “coordenadora” de triagem dos peixes para que eu pudesse me dedicar à tese e pela revisão bibliográfica.

À Sandra Bromberg e ao Márcio Ohkawara pela ajuda no trabalho de campo.

Ao Eduardo Masami Kitahara pela arte final das fotomicrografias.

Ao Valter Miyagi pela assessoria em informática.

Aos funcionários da biblioteca Prof. Gelso Vazzoler.

A todos os meus colegas de curso por todo o apoio durante esses anos; em especial ao Mauro de Melo Jr., por compartilhar as angústias dos “prazos finais” e à Cássia Goçalo pela valiosa amizade.

Algumas pessoas não contribuíram diretamente para este trabalho, mas certamente ofereceram o apoio e o incentivo necessários ao longo desses anos, assim, agradeço em especial:

À Andréa Bonadio.

À Débora Orgler de Moura, Renata Rangel Perroud, Maria do Carmo Carvalho e Roberto Piedrahita.

À minha família, principalmente ao meu pai, Antonio Carlos Flaquer da Rocha.

Ao Rafa.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Os valores teóricos do *Clark* regional, da crosta terrestre e do granito, bem como as concentrações de metais por local do sistema estuarino (modificado de Tessler, 2007). ..... 21

Tabela 2. Concentrações médias em µg⁄g do sedimento coletados no canal de Bertioga. A estação # 8 refere-se à área mediana entre a boca do canal e o largo do Candinho; a estação # 9 refere-se à área da boca do canal de Bertioga (fonte: Zaroni, 2006). ..... 21

Tabela 3. Concentrações médias em µg/g dos metais por estação oceanográfica na baía de Santos nas amostras de sedimento coletadas em 2005 (fonte: Ferreira, 2008)..... 23

Tabela 4. Dados de temperatura (º C), de salinidade e de profundidade (m) nas estações de coleta da baía de Santos (# 1, 2, 3, 4, 5 e 6) e do canal de Bertioga (# 8 e 9) ao longo do ano de 2005. Esses dados referem-se às medições na profundidade máxima..... 1

Tabela 5. Abundância absoluta em número e em peso, de *A. lineatus*, em todos os meses do ano de 2005, na baía de Santos, e a partir de setembro de 2005, no canal de Bertioga. ..... 45

Tabela 6. Valores do fator de importância (modificado de Bernet *et al.*, 1999) para as alterações observadas no fígado dos exemplares de *A. lineatus* coletados na baía de Santos e canal de Bertioga. ..... 85

Tabela 7. Valores dos padrões de reação (modificado de Bernet *et al.*, 1999) aplicados para avaliação do fígado de *A. lineatus*, coletados na baía de Santos e canal de Bertioga. ..... 86

Tabela 8. Prevalência (%) das alterações observadas no fígado dos indivíduos de *A.lineatus*, por estação oceanográfica. n= número de indivíduos. ..... 97

Tabela 9. Prevalência (%) dos achados observados nas gônadas de *A.lineatus*, por estação oceanográfica. N= número de indivíduos. ..... 101

Tabela 10. Concentração média e desvio-padrão (em µg/g na base seca) dos metais detectados nas amostras de músculo, na baía de Santos. Os valores dos Limites Máximos de Tolerância (LMT) são da ANVISA e o valor de *Tissue Residue Guideline* (*TRG*) é da *U.S.EPA*. Notas: # - estação oceanográfica; ( ) – número de amostras analisadas; em negrito os valores excedidos. ..... 151

Tabela 11. Concentração média de metais no tecido muscular de algumas

espécies de diversas regiões retirada da literatura. Valores expressos em µg/g na base seca, exceto quando indicado na tabela..... 154
Tabela 12. Abundância relativa (%) do número total de espécimes e de biomassa em peso (%) da ictiofauna amostrada, por mês, na baía de Santos e no canal de Bertioga. ..... 188
Tabela 13. Lista das espécies de peixes capturadas na baía de Santos, o número de exemplares (N) e respectivas porcentagens de abundância (%). As famílias estão em ordem filogenética de acordo com Menezes *et al.* 2003). . 189
Tabela 14. Lista das espécies de peixes capturadas no canal de Bertioga, o número de exemplares (N) e respectivas porcentagens de abundância (%). As famílias estão em ordem filogenética de acordo com Menezes et al. (2003). 190
Tabela 15. Ocorrência mensal das espécies capturadas e identificadas ao longo do período de estudo, na baía de Santos..... 191
Tabela 16. Ocorrência mensal das espécies capturadas e identificadas ao longo do período de estudo, no canal de Bertioga..... 193
Tabela 17. Índices ecológicos para o total da captura por mês na baía de Santos e no canal de Bertioga. Sendo S = número de espécies; Ni = número de indivíduos; Índices: R = Riqueza de Margalef; J = Equitabilidade de Pielou; H ´= Diversidade de Shanon; λ = Dominância. ..... 194
Tabela 18. Valores de alguns atributos obtidos para a baía de Santos, a partir dos resultados deste trabalho e de Ribeiro Neto (1989) *..... 199

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização do sistema estuarino de Santos - São Vicente (modificado do Relatório ECOSAN, 2005). ..... 7
Figura 2. Dados pretéritos das concentrações médias (µg/g) de chumbo, cobre, mercúrio, zinco, manganês, níquel e arsênio no sedimento da baía de Santos, compilados de diversos trabalhos. # 5= área ao redor da boca do emissário submarino; # 6= área próxima à boca ..... 17
Figura 3. Área de estudo com indicação das estações oceanográficas: 1, 2, 3, 4, 5 e 6 localizadas na baía de Santos e 8 e 9 localizadas no canal de Bertioga. ..... 30
Figura 4. *A. lineatus* (original de Martins, I.A. *in* Froese & Pauly, 2006). ..... 35
Figura 5. Distribuição da freqüência relativa de *A. lineatus*, por mês, na baía de Santos e canal de Bertioga no ano de 2005. ..... 46
Figura 6. Distribuição da freqüência relativa de *A. lineatus*, por estação oceanográfica, na baía de Santos e canal de Bertioga no ano de 2005. ..... 46
Figura 7. Distribuição de freqüência de classes de comprimento total para *A. lineatus* na baía de Santos e canal de Bertioga, para todo o período de coleta. ..... 47
Figura 8. Distribuição de freqüência de classes de comprimento (Ct=mm) ao longo do ano para *A. lineatus* na baía de Santos. ..... 49
Figura 9. Distribuição de freqüência de classes de comprimento ao longo do ano para *A. lineatus* no canal de Bertioga. ..... 50
Figura 10. Ajuste de curva do modelo potencial aos dados de peso total e comprimento total de todos os indivíduos coletados de *A. lineatus* para o período total na baía de Santos e canal de Bertioga. ..... 51
Figura 11. Distribuição de freqüência de jovens (estádio A) e adultos (estádios B + C =D + E) de *A. lineatus* ao longo de um ano (A), por classe de comprimento (B) e por estação oceanográfica (C) na baía de Santos e no canal de Bertioga. ..... 52
Figura 12. Distribuição de freqüência de machos e de fêmeas de *A. lineatus*, ao longo do ano (A), por classe de comprimento (B) e por estação oceanográfica (C) na baía de Santos e no canal de Bertioga. O símbolo (*) indica diferenças significativas para $p < 0,05$. ..... 54
Figura 13. Ajuste de uma curva logística aos valores da porcentagem para

ambos os sexos de *A. lineatus* da baía de Santos e canal de Bertioga. ..... 55
Figura 14. Variação mensal dos valores médios e respectivos desvios da relação gonadossomática (RGS1 e RGS2) em fêmeas de *A. lineatus* na baía de Santos (A) e canal de Bertioga (B). ..... 56
Figura 15. Variação mensal dos valores médios do fator de condição de Foulton e do alométrico em fêmeas de *A. lineatus* na baía de Santos (A) e canal de Bertioga (B). ..... 58
Figura 16. Fotomicrografias dos estágios de desenvolvimento dos ovócitos. A-F: ovários de *A. lineatus.* Coloração HE. A- ovócitos avitelogênicos (OAV), aumento 100x. B- ovócitos com início de vitelogênese (OIV), com nucléolos na periferia do núcleo, aumento 100x. C- ovócitos com vitelogênese (OVit) lipídica e protéica, núcleo (N) central e grânulos de vitelo (GVit) no citoplasma, aumento 100x. D- ovócitos maduros (OVit) com núcleo na periferia, aumento 100x. E- ovócitos hidratados (OH), aumento 100x. F: folículo pós-ovulatório (PO), aumento 400x. ..... 59
Figura 17. Distribuição de freqüência dos estádios de maturação gonadal das fêmeas de *A. lineatus*, avaliados macro e microscopicamente em todo o período de estudo. Número em cima das barras=N amostral. ..... 60
Figura 18. Distribuição de freqüência dos estádios de maturação gonadal das fêmeas de *A. lineatus*, por mês, avaliados microscopicamente em todo o período de estudo na baía de Santos e no canal de Bertioga. ..... 61
Figura 19. Distribuição de freqüência dos estádios de maturação gonadal das fêmeas de *A. lineatus*, por local de coleta, avaliados microscopicamente em todo o período de estudo. ..... 62
Figura 20. Esquema da hipótese do triângulo de migração, adaptado de Harden Jones (Gibson, 1997). ..... 1
Figura 21. Média e desvio padrão dos valores estimados do Índice Hepatossomático para jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica, coletados na baía de Santos e canal de Bertioga. ..... 89
Figura 22. Fotomicrografias do fígado de *A. lineatus*: A - arquitetura normal dos hepatócitos aumento 100x; B – zona de atrofia (ATR) e normal dos hepatócitos, aumento 100x; C – estado de esteatose com os hepatócitos vacuolados (HV), aumento 100x; D – edema com fluido intercelular (FI), aumento 100x; E - infiltrado leucocitário com células leucocitárias (CL) e centro de melano-

macrófago (CMM), aumento 100x; F - necrose focal com desorganização celular (DC), centro de melano-macrófago (CMM), pâncreas intra-hepático (HP), ducto biliar (DB) e células leucocitárias (CL), aumento 100x; G - hiperplasia dos ductos biliares (DB), aumento 100x; H - hipertrofia dos ductos biliares (DB ), aumento 400x. Coloração HE. Escala indicada na figura. ..... 90
Figura 23. Variações médias e desvios-padrão do Índice do fígado em exemplares de *A. lineatus* por estação oceanográfica. ..... 92
Figura 24. Variações médias e desvios-padrão do Índice do fígado em exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica. ..... 93
Figura 25. Fotomicrografias do fígado de *A. lineatus*. A e B: centros de melano-macrófagos (CMM) aumento 100x e 400x; C e D: parasito microsporídio (PM), aumento 100x e 400x coloração HE; E e F: Hemossiderina (H), aumento 100x e 400x, coloração de *Perls*. Escala indicada na figura. ..... 94
Figura 26. Distribuição do *score* de ocorrência do parasito microsporídeo e de centros de melano-macrófago nos fígados de *A. lineatus* por estação oceanográfica. ..... 95
Figura 27. Distribuição do *score* de ocorrência de hemossiderina nos fígados de *A. lineatus* por estação oceanográfica. ..... 96
Figura 28. Fotomicrografias da gônada de *A. lineatus*. Mostrando. A e B: atresia (ATRES), (aumento 100x); C e D: centros de melano-macrófagos (CMM), aumento 400x, coloração HE. Escala indicada na figura. ..... 98
Figura 29. Distribuição percentual de ocorrência de atresia e de centros de melano-macrófagos nas gônadas de *A. lineatus* para todo o período na baía de Santos e no canal de Bertioga. ..... 99
Figura 30. Distribuição do *score* de ocorrência de atresia e de centros de melano-macrófagos nas gônadas de *A. lineatus* por estação oceanográfica. 100
Figura 31. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão para o alumínio (Al) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica. Acima da barra de erro consta o número das amostras (exemplares) analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica. .... 133
Figura 32. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão para o arsênio (As) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de

erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. A linha tracejada indica o limite permitido para o consumo de pescado. O símbolo # representa estação oceanográfica. ..... 134
Figura 33. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do chumbo (Pb) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. A linha pontilhada refere-se aos valores das concentrações do chumbo no sedimento. O símbolo # representa estação oceanográfica. ..... 135
Figura 34. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do cobre (Cu) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. A linha pontilhada refere-se aos valores das concentrações do cobre no sedimento. O símbolo # representa estação oceanográfica. ..... 136
Figura 35. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do cromo (Cr) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. A linha pontilhada refere-se aos valores das concentrações do chumbo no sedimento. O símbolo # representa estação oceanográfica. ..... 137
Figura 36. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão de Ferro (Fe) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica. Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica. ..... 138
Figura 37. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do estrôncio (Sr) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica. Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença estatística significativa entre jovens e

adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica. .... 139
Figura 38. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do manganês (Mn) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o *Tissue Residue Guideline* (*TRG*). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica. ..... 140
Figura 39. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do mercúrio (Hg) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica. ..... 141
Figura 40. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão de Níquel (Ni) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (ppm). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica. ..... 142
Figura 41. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do selênio (Se) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica. ..... 143
Figura 42. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão de Zinco (Zn) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. A linha pontilhada refere-se aos valores das concentrações do zinco no sedimento. O símbolo # representa estação oceanográfica. ..... 144
Figura 43. Curvas de dominância cumulativa por espécies ordenada (*ABC*) por local, segundo dados de abundância e biomassa da ictiofauna da baía de

Santos. # = número da estação e W = Índice *ABC*. ..... 195
Figura 44. Curvas de dominância cumulativa por espécies ordenadas (*ABC*) por mês, segundo dados de abundância e biomassa da ictiofauna da baía de Santos. # = número da estação e W = Índice *ABC*. ..... 197

# RESUMO

Este trabalho teve como objetivo analisar três métodos de avaliação de contaminação ambiental, sendo dois aplicados em um modelo biológico, a espécie *Achirus lineatus* (Achiridae, Pleuronectiformes) e o terceiro na ictiofauna da baía de Santos e do canal de Bertioga. As amostras foram coletadas mensalmente no ano de 2005 utilizando-se uma rede de arrasto de fundo com um esforço de pesca de 10 minutos. Foram capturados cerca de 40.000 espécimes, dentre eles 260 do modelo biológico. O estudo da dinâmica populacional e reprodutiva indicou que *A. lin*eatus passa todo seu ciclo de vida na região de estudo, com evidências de movimentação entre baía Santos e canal de Bertioga para áreas mais internas do estuário. O índice de lesão do fígado indicou que a estação oceanográfica localizada no canal de Bertioga refletiu o maior grau de contaminação; não houve indícios de intersexo nas gônadas como evidência da presença de disruptores endócrinos no ambiente. A análise elemental PIXE para detecção de metais em tecido muscular revelou um alto grau de contaminação por diversos metais tanto na baía de Santos como no canal de Bertioga, alguns dos quais não detectados por análises químicas. Os indicadores ecológicos analisados, índices de diversidade e o índice ABC, não forneceram um diagnóstico quanto à higidez dos peixes, entretanto, refletiram o esperado para a região de estudo.

Palavras-chave: ictiofauna, biomarcadores histopatológicos, análise PIXE, metais, indicadores ecológicos, sistema estuarino de Santos-São Vicente.

ABSTRACT

The goal of this work was to analyze three evaluation methods of environmental contamination, two of them being applied in a biological model, the species *Achirus lineatus* (Achiridae, Pleuronectiformes), and the third in the Santos bay and Bertioga channel ichthyofauna. Samples were collected monthly during the year of 2005, using an otter trawl within a 10-minute catch effort. The study of population and reproductive dynamics showed that *A. lineatus* spends all of its life cycle in the region studied, with evident displacement between Santos bay and the Bertioga channel to inner areas of the estuary. The rate of liver injury showed the station in the Bertioga channel with the greatest degree of contamination; there were no trace of intersex in the gonads as evidence of endocrine disrupter chemical presence in the environment. The PIXE elemental analysis for metal detection in muscular tissue showed high degree of contamination caused by several metals in Santos bay and in Bertioga channel, some of these elements were not detected by chemical analysis. The ecological indicators analyzed, diversity index and *ABC* index had not supplied one good diagnosis about the fish's health, but they had reflected what was expected to the studied region.

Key words: ichthyofauna, histopathological biomarkers, PIXE analysis, metals, ecological indicators, Santos – São Vicente estuarine complex.

# INTRODUÇÃO GERAL

É necessário entender e quantificar os impactos causados por atividades antrópicas que afetam as regiões marinhas, para uma avaliação da compatibilidade entre a exploração dos oceanos e a proteção de ecossistemas. Uma das atividades específicas com impacto significativo em ecossistemas marinhos são as fontes pontuais de poluição que afetam mais os ecossistemas costeiros e zonas entre-marés do que as zonas oceânicas. Estas fontes podem variar em sua intensidade de impacto sob as condições ecológicas das comunidades e em sua distribuição espacial (Halpern *et al*., 2008).

O conceito de um ecossistema saudável implica num sistema que tem a habilidade de manter sua estrutura e função ao longo do tempo, mesmo em face de um estresse externo. Sua resiliência se traduz em alguns aspectos, como o tempo em que o ecossistema leva para se recuperar e os limites específicos para absorver esses estressores (Constanza & Mageau, 1999).

Os oceanos têm grande capacidade de diluição, porém, os estuários e baías, além de receberem um aporte maior de compostos de origem antropogênica, são ambientes mais suscetíveis em função de uma baixa hidrodinâmica a qual pode determinar uma dispersão de contaminantes menos eficiente. Os resíduos industriais, domésticos e da agricultura, provindos de atividades baseadas em terra, entram nessas áreas e alteram, de alguma forma, os *habitats* naturais. A contaminação ocorre quando esses aportes aumentam a concentração de substâncias na água do mar, no sedimento ou nos organismos, acima dos níveis naturais para aquela área (Sinderman, 1996).

Indicadores de saúde ambiental têm se tornado um *mainstay* de monitoramento de poluição nos anos recentes. Embora muitos países permaneçam comprometidos às técnicas de monitoramento químico, as técnicas ecológicas e biológicas podem conferir grandes vantagens na avaliação dos efeitos dos contaminantes sobre os organismos marinhos e ecossistema. De fato, medidas químicas e físicas devem ser relacionadas com efeitos biológicos significativos, conferindo uma maior capacitação na avaliação dos riscos ambientais (Wu, 2008).

Algumas características do ambiente estuarino podem mitigar o impacto

desses contaminantes, que atuam como filtros ambientais que protegem os organismos marinhos bem como a área marinha adjacente, pelos processos físico-químicos e biológicos, como adsorção, sedimentação de partículas, modificação química de alguns compostos por microorganismos, tomada e metabolismo de contaminantes por organismos bentônicos e planctônicos *etc.* (Sinderman, 1996). Se ultrapassada a capacidade de assimilação pelo ecossistema e, dependendo de sua forma química, certos resíduos podem persistir por longos períodos de tempo, podendo ainda participar de processos de bioacumulação orgânica.

É evidente a importância dos estuários, desde que estão entre os mais produtivos ecossistemas do mundo, sendo críticos para diversas espécies como área de crescimento, alimentação, berçário e rota migratória. Dessa forma, a compreensão e avaliação do impacto que sofrem esses ambientes são cruciais para a preservação dessas regiões (Chapman & Wang, 2001).

Entende-se por bioacumulação o aumento na concentração de uma substância nos tecidos ou fluidos corpóreos quando comparados ao meio (Landis & Yu, 1999). Dados de bioacumulação são úteis para o conhecimento das rotas dos contaminantes e seu armazenamento em diversos compartimentos marinhos; porém, quando esses dados são analisados isoladamente, têm pouco valor para a previsão de um impacto causado por um estressor específico em qualquer nível de organização biológica (Vernberg, 1981). Outros dois processos que podem ocorrer em relação aos organismos são a biotransformação, em que os compostos são transformados pelos vários sistemas metabólicos que reduzem ou alteram a toxicidade da substância e a biodegradação que é o processo de quebra de um composto numa forma mais simples (Livingstone, 1998; Landis & Yu, 1999).

Para se avaliar o impacto ecológico desses processos, emprega-se o biomonitoramento, que avalia as repetidas observações ou medidas que verificam se o que está sendo estudado está em conformidade com um padrão pré-estabelecido (Moriarty, 1988) ou, em outras palavras, que avalia a qualidade ambiental pela medida de uma série de parâmetros selecionados, os quais são tomados de forma regular. O biomonitoramento é uma forma de monitoramento ambiental e, especificamente, se refere ao uso de organismos vivos que podem refletir as mudanças na condição do ambiente, através da

determinação dos níveis de contaminação, bem como da avaliação de vários parâmetros dos sistemas biológicos/ecológicos (Lam & Wu, 2003).

Algumas abordagens podem ser empregadas nessa avaliação: 1) indicadores ecológicos, que avaliam mudanças na comunidade ou no ecossistema através do estudo da sua estrutura e função; 2) bioindicadores, que são os organismos que fornecem informações sobre as condições ambientais, através da sua presença/ausência ou pelo seu comportamento; e 3) biomarcadores, que são respostas biológicas medidas num nível abaixo do indivíduo (molecular, celular e tecidual), que podem ser medidas em células, fluidos corpóreos, tecidos ou órgãos e são indicativos de exposição e/ou dos efeitos dos contaminantes (Walker, 2001; Lam & Wu, 2003; van der Oost *et al*., 2003).

Os biomarcadores, em particular, podem ter alta ou baixa especificidade e ter alta ou baixa relevância ecológica. Testes bioquímicos e respostas fisiológicas dos organismos têm alta especificidade (detecta exposição e, às vezes, o contaminante responsável), mas baixa relevância ecológica porque é difícil relacionar mudanças bioquímicas às mudanças em níveis de organização superiores como população e comunidade. Em contraste, quando danos são constatados em níveis superiores de organização biológica, as respostas são consideradas muito gerais para serem usadas como biomarcadores, apesar da alta relevância ecológica (Au, 2004), como é o caso dos indicadores ecológicos. As alterações do organismo nos níveis celulares e subcelulares não são perceptíveis, mas são mensuráveis. Entretanto, mesmo quando é possível medir uma reação, e essa medida é estatisticamente significativa, não significa, necessariamente, que o peixe, ou um organismo qualquer, esteja sem higidez. As técnicas analíticas facilitaram a detecção de concentrações muito baixas de químicos na biota, porém, o grande desafio é estabelecer seu significado biológico (Lima, 2001).

Os peixes são bons bioindicadores de qualidade ambiental por várias razões: eles estão presentes na maioria dos corpos d´água; sua taxonomia, requerimentos ecológicos e ciclo de vida são razoavelmente conhecidos (principalmente no caso dos peixes marinhos); eles ocupam uma variedade de níveis tróficos e *habitats* e têm alto valor econômico, o que ajuda a manter a consciência da preservação dos estoques (Vernberg, 1981). Porém, não existe

uma espécie bioindicadora universal, pois cada espécie pode reagir (ou não) de maneiras diferentes à presença de um ou mais estressores. Um ponto interessante apontado por Kennish (1997) é o fato de que os peixes, por serem altamente móveis, tendem a integrar contaminantes de áreas geográficas relativamente amplas, sendo que os níveis de contaminantes nos peixes são mais representativos do grau total de contaminação na área do que concentrações achadas num número limitado de amostras de sedimentos ou mesmo em organismos sedentários. Por outro lado, se isso ocorrer de fato, a relação entre a especificidade do contaminante e a resposta biológica pode ser mais difícil de ser estabelecida.

Apesar da complexidade dos protocolos na aplicação dos indicadores ecológicos e dos biomarcadores, eles fazem parte da moderna avaliação ambiental por causa da sua capacidade preditiva e por sua utilidade no manejo, proteção e conservação de ecossistemas naturais (Law & Wu, 2003). Esforços conjuntos são necessários para se avaliar o impacto ecológico das atividades humanas e seus efeitos em todos os estágios do ciclo de vida dos peixes, sob exposição aguda ou crônica, a um contaminante ou uma combinação deles, em campo e em situações experimentais (Sinderman, 1996).

A questão que se coloca seria: quando alterações ocorrem nos organismos, elas são os resultados das variabilidades naturais ou dos efeitos de um ou uma combinação de contaminantes? Diferenciar uma resposta de um organismo ou de uma comunidade, às mudanças ambientais naturais das mudanças impostas pelas atividades humanas é uma tarefa difícil e muito complexa. Entretanto, o peso de evidências, quando combinado com resultados de estudos de campo/experimentais e o exame minucioso de informações disponíveis, favorece a conclusão que a relação de causa-efeito de fato existe (Sindermam, 1996).

Um outro aspecto a ser levado em consideração no estudo da ictiofauna é que os peixes podem, dependendo da espécie evidentemente, representar um elo de conexão entre locais mais ou menos poluídos, ao se mover entre áreas nas diferentes fases do seu ciclo de vida. Dessa maneira podem, eventualmente, transferir a carga biocumulada em seus tecidos de um local poluído para outro que pode não conter aquele tipo de contaminante.

Ao contrário de uma perspectiva puramente ecológica, a avaliação das

condições de saúde dos peixes se faz necessária por razões socioeconômicas e de saúde pública. Apesar dos estudos que foram e que estão sendo realizados na região, bem pouco se sabe sobre as condições atuais da comunidade de peixes da baía de Santos.

Idealmente, o objetivo de uma avaliação desse âmbito é predizer o que pode acontecer quando contaminantes alcançam os ecossistemas marinhos e o que pode acontecer ao longo do tempo. Assim, a função dos estudos de avaliação ambiental é prover um alerta para os impactos que as atividades humanas causam.

Biomarcadores que tenham um real significado biológico podem se tornar ferramentas efetivas no reconhecimento precoce de impactos ambientais. A relação causa-efeito, como mencionado anteriormente, é muito complexa e difícil de ser estabelecida, o que leva à necessidade de se pesquisar vários parâmetros simultaneamente, para que se tenha uma real dimensão da influência dos contaminantes potencialmente danosos para os organismos no meio aquático. O estudo dos efeitos potenciais de dano, em nível individual ou do organismo, complementa o diagnóstico das condições da comunidade ictíica, acreditando-se que essas respostas precedem aquelas que ocorrem em níveis mais altos da organização biológica.

As regiões de estudo, a baía de Santos e o canal de Bertioga, localizam-se no sistema estuarino de Santos - São Vicente que são ecossistemas dos mais importantes no litoral brasileiro, não só por serem local de reprodução, crescimento e residência de diversas espécies de peixes, mas também por ser uma região que integra a atividade pesqueira da região sudeste.

## OBJETIVO E HIPÓTESES DE TRABALHO

O objetivo geral desse trabalho é analisar três métodos de avaliação de contaminação ambiental, sendo dois aplicados em um modelo biológico, a espécie *Achirus lineatus*, e o terceiro na ictiofauna da baía de Santos e do canal de Bertioga.

As hipóteses a serem testadas são:

1) O modelo biológico escolhido é apropriado para o uso em biomonitoramento ao refletir as condições do ambiente em nível tecidual.
2) A bioacumulação de metais em tecidos biológicos representa não só exposição à contaminação como implica num processo de transferência de contaminantes entre diferentes *habitats*.
3) Os índices univariados podem ser aplicados em regiões estuarinas e avaliam a condição de higidez da comunidade em estudo.

Os níveis de contaminação ambiental foram obtidos a partir da literatura e, em particular, de órgãos que monitoram a região, como é o caso da CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo), que gera informações sobre os contaminantes presentes no meio aquático, com a publicação de relatórios periódicos. Esses dados foram usados como referência para comparação com os resultados provenientes das análises dos níveis de contaminação, obtidos para a espécie alvo.

# ÁREA DE ESTUDO

## Características gerais da área de estudo

O presente estudo foi realizado na baía de Santos e no canal de Bertioga que fazem parte do sistema estuarino de Santos - São Vicente (Fig.1), no litoral central do estado de São Paulo, entre as latitudes 23°90´ S e 24°00´ S e as longitudes de 46°30´ W e 46°50´ W.

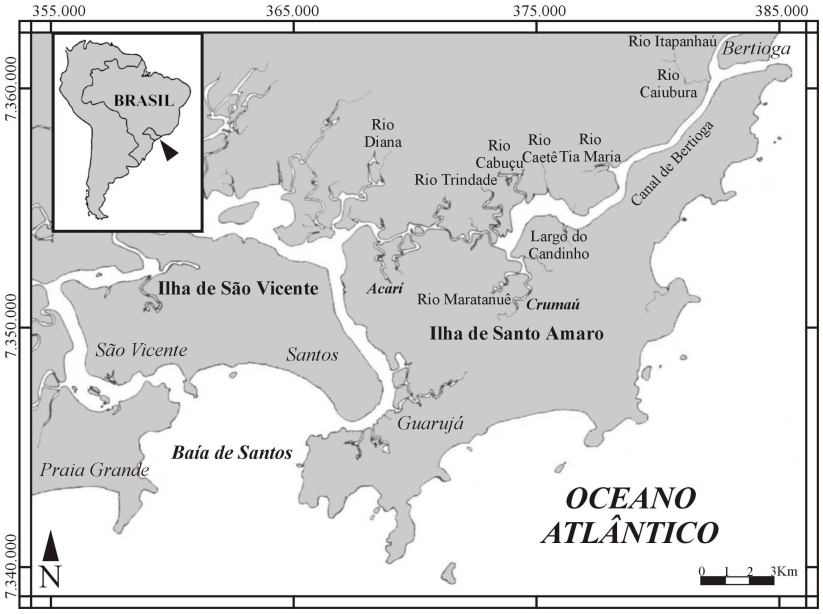



Figura 1. Localização do sistema estuarino de Santos - São Vicente (modificado do Relatório ECOSAN, 2005).

A costa sudeste do Brasil apresenta as escarpas da Serra do Mar afastadas do litoral, formando regiões de planície entre a serra e o oceano. A região da planície costeira de Santos é denominada de baixada santista, formada por nove municípios entre Bertioga e Peruíbe e por ilhas de formação sedimentar.

Com uma área total de 2.372 km² e 40 km de extensão, é uma região intensamente urbanizada, onde se localizam diversas indústrias de base, além de abrigar o Porto de Santos, o maior da América Latina, com movimento anual em torno dos 70 milhões de toneladas de produtos variados (CETESB, 2008). Outro importante aspecto é a pesca extrativa que é uma importante atividade

comercial no litoral da baixada.

O sistema estuarino de Santos - São Vicente está inserido na baixada santista e é formado por rios, entre os quais Cubatão, Perequê, Mogi-Piaçaguera e Itapanhaú, associados a canais que drenam as planícies no alto estuário, por extensas áreas de manguezais, por canais estuarinos (de Santos, de São Vicente e de Bertioga), pela baía de Santos e pela zona marinha adjacente.

O sistema recebe, em caráter intermitente, as águas do sistema Alto Tietê, que entram no estuário pelo canal de fuga da Usina Hidrelétrica Henry Borden. Outras importantes contribuições são os efluentes das indústrias localizadas ao longo do estuário, como COSIPA, Ultrafértil e Dow Química, dos terminais portuários, do chorume do lixão da Alemoa e de Sambaiatuba e dos esgotos domésticos *in natura* (CETESB, 2001). O esgoto tratado é lançado ao mar por quatro emissários submarinos, sendo o mais antigo o de Santos, em operação desde 1979 e que faz parte do sistema de disposição marinha de esgotos de Santos e São Vicente. A saída do efluente está localizada no interior da baía de Santos a 4 km da costa, com uma vazão de cerca de 7.000 L/s (CETESB, 2007).

As águas da plataforma continental adjacente à baixada santista entram no estuário por difusão da maré, que se propaga simultaneamente pela baía de Santos (via canais) e pelo canal de Bertioga. Essas forçantes têm predominância semidiurna e altura relativamente pequena classificada como micromaré, entre 0,70 m e 1,50 m nas condições de maré de quadratura e de sizígia (Castro, 2008).

A zona marinha adjacente tem profundidades superiores a 15 metros e sofre a influência de algumas massas d´águas, principalmente da Água Tropical (AT), da Água Costeira (AC) e da Água Central do Atlântico Sul (ACAS) (Castro, 2008).

A baía de Santos tem cerca de 7 km de largura na parte central e 11 km na sua entrada, entre as Pontas de Itaipú a oeste e da Monduba a leste. Ao norte, é delimitada pelas praias e pelos canais de Santos e São Vicente e ao sul pelo oceano. É uma baía semi-abrigada, com profundidade média entre 5-10 m. Devido a sua localização, a baía representa uma área de conexão entre o alto estuário e a plataforma continental.

O canal de Bertioga localiza-se no extremo leste da baixada santista e é considerado como uma conexão secundária do oceano ao sistema estuarino de Santos - São Vicente. Possui 25 km de extensão, com profundidade média entre 3-6 m, sendo que suas extremidades conectam-se, a leste com o oceano, próximo à cidade de Bertioga, e a oeste com canal de Piaçaguera, no município de Santos. A região da barra é a que apresenta maior influência de águas da plataforma continental e as maiores profundidades (Miranda *et al*. 1998).

O aporte fluvial é realizado por pequenos rios, mas principalmente pelo rio Itapanhaú, localizado próximo à barra do canal. Essa descarga fluvial é uma das principais forçantes da circulação estacionária no canal de Bertioga. O canal possui regime de micromarés e apresenta marés mistas que são predominantemente semidiurnas, de amplitude moderada, podendo variar entre 0,73 m e 1,5 m. Os processos de mistura e padrões de circulação são resultados dos processos de difusão da maré e, num grau menor, dos processos advectivos da descarga fluvial do sistema (Miranda *et al*. 1998; Bernardes & Miranda, 2001).

## Área de estudo sob o ponto de vista da contaminação por elementos metais e outros no sedimento

Este capítulo foi organizado com o objetivo de subsidiar o entendimento da contaminação e da evolução das concentrações de elementos, inclusive metais, na baixada santista, em particular na baía de Santos e canal de Bertioga. Não é uma revisão completa sobre o assunto, mas comporta aquilo considerado como mais relevante.

### Breve histórico

A região da baixada santista vem sendo ocupada há quase cinco séculos. Mas, somente a partir de meados do século XX, com a expansão do Porto de Santos e com a instalação do pólo industrial de Cubatão é que o processo de ocupação se intensificou. As atividades humanas se fizeram sentir

na forma de aportes de substâncias no sistema estuarino e com a alteração física desses ambientes, como a degradação dos manguezais, a dragagem do canal de Santos e a deposição desse sedimento em outras localidades (CETESB, 2001; Martins, 2005).

Desde 1950, os resíduos provenientes de atividades humanas foram despejados nos canais e nos manguezais. Porém, estudos e levantamentos realizados na baixada santista a partir da década de 1970 vêm revelando o potencial destrutivo dos efluentes e os danos causados na região, tais como: CETESB (1978; 1981; 2001), Tommasi (1979), Fúlfaro *et al*. (1983), Silva *et al*. (1983), Boldrini & Navas-Pereira (1987), Bonetti (2000), Abessa (2002; 2005), Fukumoto (2003; 2007), Hurtado (2003), Siqueira (2003; 2004), Hortellani *et al*. (2005; 2008), César *et al*. (2006), Zaroni (2006), Azevedo (2008) e Ferreira (2008).

Em meados da década de 80 foi estabelecido um programa que implementou sistemas de tratamento de efluentes industriais. Essas e outras ações de controle acarretaram uma redução da carga de contaminantes, as quais propiciaram uma recuperação gradual da fauna e um aumento da atividade pesqueira local (CETESB, 1978). Entretanto, levantamentos realizados anos mais tarde, revelaram que a região ainda estava impactada por concentrações elevadas de metais pesados e compostos organoclorados na água, no sedimento e nos organismos aquáticos. Os resultados mostraram que inclusive alguns organismos apresentaram bioacumulação dessas substâncias, principalmente PCBs (Bifenilas Policloradas), com valores inadequados para o consumo humano e PAHs (Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos) com concentrações muito elevadas mesmo para padrões mundiais de poluição (CETESB, 1981).

Além do aporte crônico de contaminantes no estuário, acidentes operacionais liberaram grandes volumes de contaminantes no sistema estuarino ao longo das décadas. Dentre os maiores acidentes estão a liberação de 140.000 L de óleo combustível, devido a um acidente envolvendo embarcações em 1986 e 100.000 L devido à operações de abastecimento em 1992; liberação de 156.000 L de diciclopentadieno e 300.000 L de gasóleo em 1998 por terminais químicos (Milanelli, 2003).

A presença de um oleoduto subterrâneo da PETROBRAS, que interliga

o Terminal Marítimo Almirante Barroso (TEBAR), localizado em São Sebastião à Refinaria Presidente Bernardes em Cubatão, também representa uma fonte potencial de contaminação. Em 1984 houve um acidente que causou o rompimento do oleoduto, deixando vazar cerca de 2.500 $m^3$ de petróleo bruto, dos quais apenas 211 $m^3$ foram recolhidos. As áreas afetadas foram o canal de Bertioga, rio Itapanhaú, rio Iriri, bosques de manguezais, praias e costões, numa área total de 100 $km^2$ (CETESB, 1984; Zaroni, 2006).

Especificamente na baía de Santos, os canais de drenagem urbana e o emissário submarino são as principais fontes pontuais de poluição. Para avaliar esse sistema e identificar possíveis impactos para a biota aquática, tem sido realizado um monitoramento, no entorno da boca do emissário desde 2002, sendo constatado que o efluente do emissário não atende aos padrões de emissão da legislação vigente, classificando-o como uma fonte poluente para o meio marinho (CETESB, 2007). Também há de se considerar a desembocadura do canal de Santos como uma possível via de entrada de contaminantes do alto estuário para o interior da baía.

Uma fonte pretérita identificada de poluição é a deposição de sedimentos dragados do canal de Santos e do canal da COSIPA, que eram lançados dentro da baía, junto à ponta de Itaipú, onde as correntes de maré carreavam os sedimentos finos em suspensão para o interior da baía (Fulfaro & Ponçano, 1976).

Ao longo do canal de Bertioga, há a presença de marinas, de pequenas indústrias e estaleiros, que liberam efluentes de esgoto, e a disposição de resíduos de petróleo, entre outros (Zaroni, 2006) que são prováveis fontes atuais de contaminação para a região.

Segundo a CETESB (2001), os elevados teores de metais contidos atualmente nos sedimentos no canal de Bertioga, estão diretamente vinculados ao período de expansão industrial da baixada santista. Fukumoto (2007) analisou o histórico da contaminação do sistema estuarino de Santos - São Vicente, a partir dos registros da coluna sedimentar, e avaliou que as anomalias geoquímicas estavam relacionadas aos principais eventos que influenciaram o aporte de metais pesados na região. Seus resultados indicam que houve um maior aporte durante a expansão do parque industrial de Cubatão e um menor aporte quando foram implantadas ações de controle de

poluição que resultou numa melhora da qualidade da água e do sedimento.

Resultados recentes da análise do sedimento indicaram a presença de cádmio, chumbo, cobre, cromo, estanho, mercúrio, níquel e zinco, além de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, biocidas clorados e bifenilas policloradas (CETESB, 2008). Atualmente, as indústrias da região despejam cerca de 100.000 kg/mês de diversos contaminantes, sendo que a COSIPA, Ultrafértil e a Refinaria Presidentes Bernardes são responsáveis por 90% desse total (CETESB, 2008).

Aspectos sedimentológicos e hidrográficos da região da baía de Santos e do canal de Bertioga

No sistema estuarino de Santos - São Vicente grande parte da carga de sedimentos transportada pela drenagem fluvial é retida na região do alto estuário ou pela vegetação de mangue ou pela perda de competência das drenagens, liberando apenas o material mais fino em suspensão, de natureza silto-argilosa, para os canais estuarinos (Fúlfaro & Ponçano, 1976; Tessler, 2007).

Para a baía de Santos, o modelo de sedimentação proposto por Fúlfaro e Ponçano na década de 70 e usado até hoje como referência, relata que a movimentação de sedimentos é determinada, basicamente, pela ação das correntes no interior da baía. Como resultado, esta apresenta duas áreas de sedimentação distintas, uma a leste, que é influenciada por um fluxo unidirecional formado por águas continentais e estuarinas provenientes do alto estuário, via canal de Santos; a outra a oeste, resultante de uma corrente de sentido SW-NE, paralela à costa, que é defletida na altura da baía de Santos. Essa corrente direciona-se de oeste para leste em frente à baía, com um ramo secundário seguindo em direção às praias de Santos e São Vicente. Dependendo da maré, o sentido de movimentação dos sedimentos pode inverter-se temporariamente, em especial no setor leste da baía (Fúlfaro & Ponçano, 1976).

O lado oeste da baía e as praias de São Vicente e Santos apresentam predomínio de areia muito fina e bem selecionada, o que indica ação das correntes de maré que ocasionam a remoção da fração mais fina dos

sedimentos. Nas porções centrais e leste da baía, de padrão mais heterogêneo, ocorre o predomínio de sedimentos argilosos e siltosos, transportados pelos fluxos em suspensão provenientes do estuário, sendo que o fluxo que os transporta associa-se às correntes provenientes da porção mais a oeste, ocasionando a deposição de parte da carga de sedimentos finos (Fúlfaro & Ponçano, 1976; Tessler, 2007).

Atualmente, considera-se também a entrada de sedimentos pelo emissário submarino como contribuinte da dinâmica da sedimentação da baía de Santos (Tessler, 2007). Algumas alterações ocorreram ao longo do tempo na zona de sedimentação no entorno da boca do emissário, como o grande acúmulo de matéria orgânica e elevadas razões de carbono orgânico total e nitrogênio total, que indicam que o sedimento nesse local não é de origem marinha, mas proveniente de lançamentos do emissário (CETESB, 2008).

Outro estudo sobre a dinâmica de sedimentação aponta outras alterações no padrão de sedimentação, como a detecção de centros de deposição de sedimentos finos e de matéria orgânica sedimentar na desembocadura do canal de Santos, no oeste da ponta da Manduba e no centro-oeste da baía (Hurtado, 2003).

Em 2005, foram realizadas medidas de propriedades hidrográficas e de correntes da baía e do canal de Bertioga para obtenção dos padrões de circulação e classificação das massas d´águas, entre outros parâmetros. Na baía, as propriedades termohalinas, obtidas de acordo com as análises comparativas de diagramas T-S, foram observadas, no verão, com as seguintes variações da salinidade e temperatura: $32,0<S<35,5$ e $22,0℃<T<28,2℃$. Os menores valores de temperatura no fundo da baía, associados aos valores mais altos de salinidade indicaram a influência da Massa de Água Central do Atlântico Sul (ACAS) para a formação das massas de água do interior da baía no verão. No inverno, devido à baixa descarga fluvial nesta época do ano, a salinidade na baía de Santos teve os menores intervalos de variação $31,7<S<34,9$, associados a temperaturas relativamente baixas, variando no intervalo de $21,0^{o}C$ a $23,0^{o}C$ (Castro, 2008).

Os resultados revelaram, também, uma estrutura de salinidade com estratificação vertical do tipo bem misturada, com condições parcialmente misturadas no verão e bem misturadas no inverno para a baia da Santos

(Castro, 2008).

A circulação no interior da baía apresentou uma movimentação de sentido horário, sendo mais intensa no lado oeste, onde o sentido é para SE com intensidade máxima de 0,5 m s-1. Na longitude 46,36ºW o movimento muda gradualmente para as direções NE e N, atingindo velocidade de até 0,4 m s-1. A leste de 46,36ºW, as correntes fluem predominantemente para E, com intensidade variáveis ente 0,1 a 0,5 m s-1 (Castro, 2008). O emissário submarino também atua como um anteparo físico às correntes formando pequenos vórtices em seu entorno (Tessler, 2007).

Quanto ao padrão de sedimentação no canal de Bertioga, com exceção de suas desembocaduras, onde ocorre areia fina, os sedimentos são finos, variando de argila a silte médio. A carga sedimentar proveniente dos aportes fluviais se deposita pela ação das correntes de maré que é o principal agente de remobilização sedimentar do sistema (Fúlfaro & Ponçano, 1976).

Enquanto que a vegetação do mangue retém os sedimentos de fração mais grosseira, os sedimentos finos em suspensão são transportados pelas correntes de maré que, ao se propagarem em sentidos opostos pelas duas extremidades do canal, tendem a se depositar na altura do largo do Candinho (tombo das águas). Neste local são encontrados predominantemente sedimentos argilosos, com alta porcentagem de matéria orgânica (Fúlfaro & Ponçano, 1976).

A descarga fluvial do rio Itapanhaú foi responsável pelos menores valores observados de salinidade no verão, sendo que os extremos de variação das propriedades termohalinas foram: 14,0<S<32,2 e 24,2℃<T<28,3℃ no verão e 24,0<S<33,2 e 21,0℃<T<23,0℃ no inverno (C astro, 2008).

As características geomorfológicas e a variabilidade das propriedades físicas do canal de Bertioga não o classificam como um estuário clássico, mas como um estuário do tipo parcialmente misturado (Miranda *et al*. 1998). Durante a maré baixa, o canal é parcialmente misturado com forte estratificação perto da boca do rio Itapanhaú e uma tendência para condição bem misturada no largo do Candinho; durante o período de maré alta, o canal torna-se moderadamente estratificado com condições bem misturadas mais internamente (Bernardes & Miranda, 2001).

Concentração de metais no sedimento da baía de Santos

Resultados sobre a concentração média de metais no sedimento foram compilados da literatura, a partir de coletas na baía de Santos entre 1975 e 2005, para se obter uma referência sobre a natureza e extensão da contaminação ao longo do tempo. Os resultados foram expressos como valores médios em μg/g.

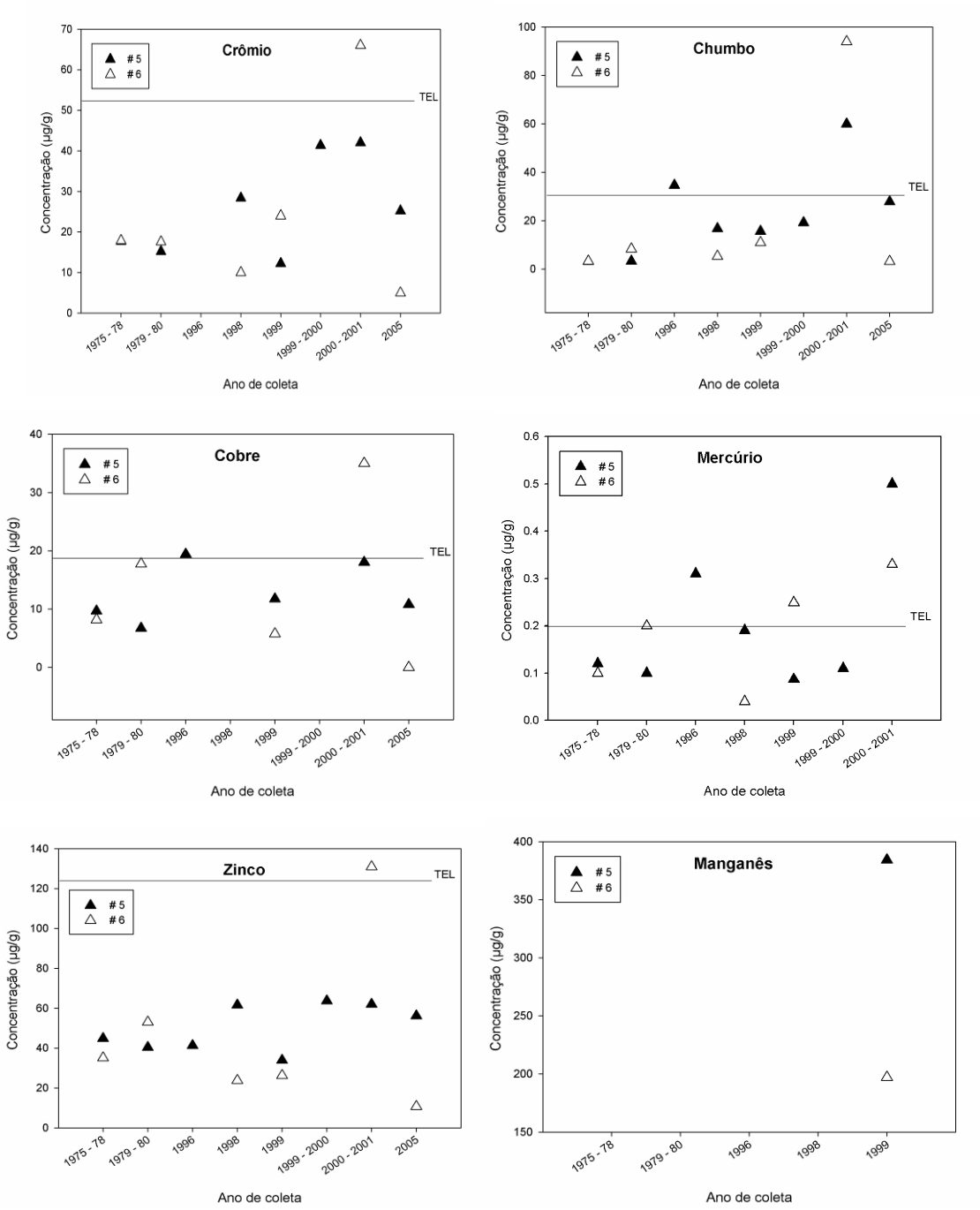
Para que esta revisão pudesse ser considerada relevante ao presente estudo, devem ser destacadas algumas informações. A série temporal de cerca de 30 anos de registros de ocorrência de alguns metais para a região de estudo foi elaborada a partir dos trabalhos: para 1975-1978 de CETESB (1978); para 1979-1980 de CETESB (1981); para 1996 de Bonetti (2000); para 1998 de Abessa (2002); para 1999 de CETESB (2001); para 1999-2000 de Abessa *et al*. (2005); para 2000-2001 de Siqueira (2003) e para 2005 de Ferreira (2008).

Os resultados da literatura que se mostraram mais contextualizados em relação às concentrações totais de metais no sedimento da baía da Santos são aqueles de Ferreira (2008), uma vez que também são derivados do projeto ECOSAN e, portanto, maior proximidade temporal e espacial com relação às estações oceanográficas de coleta. No caso dos resultados do canal de Bertioga, o trabalho de Zaroni (2006) foi a principal base para o levantamento. Tais referências representam estudos realizados em pontos amostrais muito próximos ou coincidentes àqueles de interesse imediato deste trabalho.

Assim, todas as análises de sedimentos em pontos da baía de Santos situados nas proximidades da boca do canal de Santos, provenientes dos trabalhos mencionados, foram consideradas como equivalentes às da estação oceanográfica 6 e a área ao redor da boca do emissário submarino equivalente à estação oceanográfica 5 do presente trabalho. O mesmo critério foi utilizado em relação às estações 8 e 9 do canal de Bertioga em relação ao trabalho de Zaroni (2006). Tal critério de proximidade entre locais de coleta deste estudo com dos anteriores, bem como os de Ferreira (2008) e Zaroni (2006) foi aplicado ao longo dos resultados (figuras) e discussão quando comparados aos da literatura.

Informações sobre a ocorrência de metais pesados no sedimento

permitem uma avaliação sobre a natureza dos elementos e a extensão da contaminação. Nos gráficos a seguir (Fig. 2), são apresentados os registros pretéritos e recentes das análises das concentrações de metais no sedimento da baía de Santos, em valores médios, por ano de coleta dos dados. Como algumas referências não apresentaram os respectivos desvios-padrão das amostras, foi padronizada a omissão dessa função (para informações, consultar as referências).



Cont.

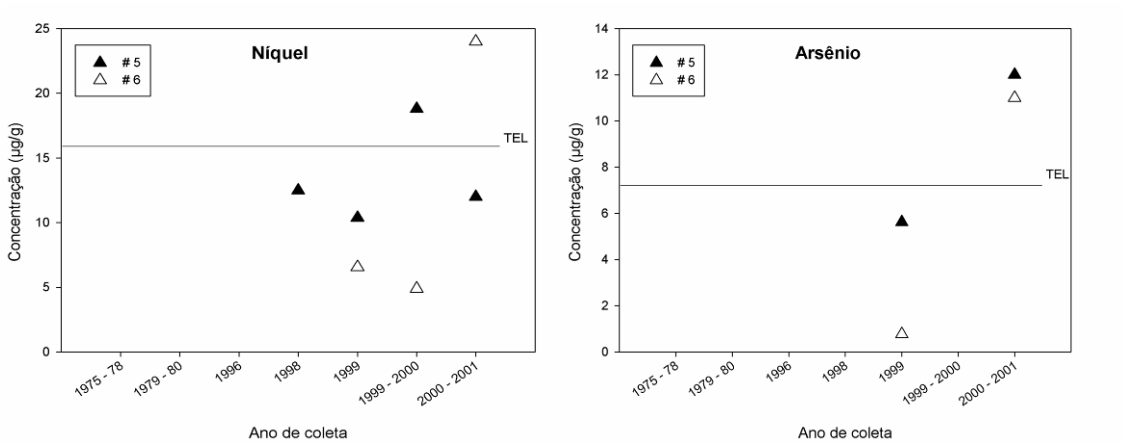



Figura 2. Dados pretéritos das concentrações médias (µg/g) de chumbo, cobre, mercúrio, zinco, manganês, níquel e arsênio no sedimento da baía de Santos, compilados de diversos trabalhos. # 5= área ao redor da boca do emissário submarino; # 6= área próxima à boca

Nota-se que alguns metais como manganês, níquel, arsênio, só recentemente começaram a ser avaliados, desde que não há registros anteriores sobre suas ocorrências.

Do ponto de vista antropogênico, os metais apresentam usos diversos e, portanto, fontes também diversificadas. Os exemplos de uso, principais fontes antrópicas e formas de cada elemento dados a seguir, foram obtidos em *U.S.EPA* (2000a), CETESB (2001), *CCME* (2002) e Quináglia (2006).

O alumínio é usado em siderurgia, nas linhas de transmissão, na construção de navios, utensílios de cozinha, embalagens etc. Não há referências das fontes potenciais de contaminação para a região de estudo.

O arsênio é um elemento natural da crosta terrestre e está normalmente combinado com outros elementos como oxigênio e enxofre sob a forma inorgânica, mais tóxica. A presença do arsênio no meio tende a diminuir o efeito do selênio e vice-versa. Os principais usos são em pesticidas arsênicos, tintas, esmalte, mas principalmente como conservante de madeira e couro. Não há registros de análises de tecido para esse elemento na região de estudo bem como de fontes potenciais.

Já o chumbo, na forma insolúvel é fortemente adsorvido pelo sedimento. É um metal tóxico que tende a se acumular nos tecidos, principalmente no esquelético. A toxicidade desse elemento diminui com o aumento da dureza da

água e do oxigênio dissolvido. O chumbo é utilizado na fabricação de baterias, tintas, produção de ligas metálicas, fotografias, óleo de motor, entre muitos outros usos. Suas fontes principais são efluentes industriais, emissões atmosféricas, lixiviação do solo etc.

O cobre não é altamente tóxico, mas tem efeitos crônicos sob exposição prolongada em altas concentrações. A toxicidade depende da temperatura e da dureza da água. São vários os usos desse elemento, como em veneno agrícola, algicida, condutores elétricos, tintas anti-incrustantes etc. As indústrias que liberam cobre nos seus efluentes são Cia. Santista de Papel, COSIPA, Dow Química e PETROBRAS. O lixão de Pilões e o aterro sanitário de Cubatão também liberam esse metal nos seus efluentes.

O cromo é um metal usado em ligas de aço inox, curtumes, pigmentos fertilizantes, papel etc. As indústrias envolvidas na liberação de cromo no ambiente são a Carbocloro, Cia. Santista de Papel, CBE, PETROBRAS e COSIPA, onde esse elemento se constitui em matéria prima do processo produtivo. Também o lixão de Pilões despeja o cromo em seus efluentes.

No ambiente marinho, o ferro ocorre na forma particulada ou dissolvida. A forma particulada se associa à argila e areia, sem uma função biológica. O ferro dissolvido é a forma que os organismos assimilam, formando complexos orgânicos. Não é considerado tóxico, no entanto, em doses muito altas, pode causar dano. Os usos desse metal são vários, na fabricação de máquinas, mineração, nas indústrias de aço, soldas, fertilizantes etc. Não há informações sobre as fontes específicas do ferro na baixada santista, porém é de conhecimento que grandes quantidades podem ser introduzidas por precipitações atmosféricas de materiais particulados de origem antropogênica, como a queima de combustíveis fósseis. Outras possíveis fontes são os efluentes, tratados e não tratados, atividades de construção, mineração etc. (Ducatti, 2003).

O estrôncio pode ser usado na produção de ligas metálicas, lâmpadas fluorescentes e medicamentos na forma de cloreto e peróxido. Não há informações sobre fontes potenciais desse elemento na baixada santista.

Os principais usos do manganês, cujos resíduos podem chegar ao ambiente aquático, incluem a fabricação de ligas de aço, cerâmica, vidros e pilhas, em fertilizantes etc. As indústrias que possuem manganês em seus

efluentes são Cia. Santista de Papel, COSIPA, Dow Química, PETROCOQUE. A Liquid Química e a Union Carbide utilizam o manganês como matéria prima no processo produtivo. Além destes, outros contribuintes desse metal são o lixão de Pilões e o aterro sanitário de Cubatão.

O mercúrio é liberado como mercúrio elemental ($Hg^0$) ou mercúrio divalente ($Hg^{2+}$). Processos microbiológicos que ocorrem no sedimento podem converter mercúrio inorgânico em orgânico, como o metil-mercúrio (Mil), que é a forma mais comumente encontrada em tecidos de peixes. A forma em que ocorre num dado local depende do potencial redox, do pH e da presença de outros grupos (Tommasi, 1984), que também podem influenciar sua toxicidade, como por exemplo, ser aumentada pelo potássio ou produzir um efeito antagônico na presença do selênio, cobre e possivelmente do zinco.

Zaroni (2006) e Ferreira (2008) não reportaram a detecção de mercúrio nas amostras de sedimento da baía de Santos e do canal de Bertioga. Entretanto, Zaroni (comunicação pessoal) informou que dados não publicados sobre o teor de mercúrio, obtidos durante seus estudos no canal de Bertioga, revelaram não só que esse metal está presente no ambiente como se encontra em níveis elevados. Sua origem no canal de Bertioga é desconhecida. Quanto à baía de Santos, nas seguintes indústrias foi verificada a presença de mercúrio nos efluentes: Carbocloro, Cia. Santista de Papel, Dow Química, Liquid Química, PETROBRAS, CBE, COPEBRAS e COSIPA, sendo que nessas três últimas os efluentes apresentaram valores de mercúrio menores que o valor do limite de detecção. O efluente do lixão de Pilões também libera mercúrio no ambiente. Este metal é usado em tintas, equipamentos eletrônicos, baterias, amálgama dentária, termômetros etc

O níquel é usado principalmente na fabricação de aço inoxidável, galvanoplastia, margarinas e manteigas, niquelagem etc. Várias indústrias despejam esse elemento nos seus efluentes, como a Carbocloro, CBE, Cia. Santista de Papel, COSIPA, Dow Química, PETROBRAS, PETROCOQUE e Ultrafértil. Outra fonte é o lixão de Pilões.

O zinco pode ocorrer na forma iônica, que é rapidamente adsorvida pelo sedimento. O zinco tem toxicidade tanto aguda como crônica para os organismos aquáticos, especialmente peixes, e dependente de vários fatores, entre eles, temperatura, dureza da água e oxigênio dissolvido. Seus usos mais

comuns são tintas, borrachas, fungicidas, plásticos, sabões, pilhas etc. Várias indústrias despejam esse elemento nos seus efluentes, como a Carbocloro, CBE, Cia. Santista de Papel, COSIPA, Dow Química, PETROBRAS, PETROCOQUE, Ultrafértil e Union Carbide. Outras fontes são o aterro sanitário de Cubatão e o lixão de Pilões.

O selênio é um elemento ametal e ocorre principalmente nos arredores de sua fonte poluidora. Em sua forma elementar, é insolúvel na água e, em função disso, é rapidamente adsorvido pelo sedimento. É um elemento essencial, mas é tóxico em altos níveis de exposição. Tem um papel crítico na enzima glutationa peroxidase, que faz parte do sistema antioxidante das células. Sob exposições crônicas é tóxico para os organismos, sendo potencialmente carcinogênico. Os usos para o selênio são pigmentos, fotografia, formulações anticaspa, óleos lubrificantes, tratamento de esgoto etc. Os próprios oceanos são fontes de selênio em função de trocas gasosas com a atmosfera. Outras fontes são a queima de combustíveis fósseis e efluentes industriais.

Deve ser considerado que, na década de 1980, implantou-se um intensivo programa de controle de emissão de poluentes para o sistema aquático da baixada santista (CETESB, 2001). Para metais, a redução ao longo de 10 anos foi de 97%. Em termos de tonelada/ano, o volume em 1984 era de 1.467 e em 1994 foi de 44 t/ano. Mas essa dramática redução não está refletida nos dados das análises das concentrações de metais no sedimento na baía de Santos. De uma maneira geral, observa-se uma tendência de aumento para todos os metais. Entretanto, os metais detectados recentemente na baía, em 2005, apresentam-se abaixo dos valores de referência *TEL* e *PEL*, indicando uma possível diminuição da contaminação do sedimento.

Embora os dados pretéritos dos valores de concentração de metais da baía de Santos sejam úteis para um acompanhamento temporal, não podem ser usados como valores de *background* regional. Este fato é explicado porque na época do primeiro levantamento das condições ambientais, o sistema estuarino já sofria intensa influência antropogênica, como conseqüência da expansão do pólo industrial de Cubatão, da implantação do lixão do Alemoa, da expansão ocupacional da baixada santista, entre outros eventos, cujo auge foi na década de setenta (CETESB, 2001). Assim, os valores do *Clark* regional da

crosta terrestre e do granito, rocha dominante na Serra do Mar, bem como as concentrações de alguns metais por local do sistema estuarino (Tessler, 2007) foram utilizados como referência para averiguação de contribuição antropogênica na região de estudo (Tab 1).

Tabela 1. Os valores teóricos do *Clark* regional, da crosta terrestre e do granito, bem como as concentrações de metais por local do sistema estuarino (modificado de Tessler, 2007).

| **Teores** | ***Clark*** | | **alto estuário** | **canal de Bertioga** | **baía de Santos** | **plataforma** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **crosta** | **granito** | | | | |
| Zn | 70 | 45 | 624 | 80 | 260 | 50 |
| Fe | 50000 | 13700 | 100000 | | 40000 | 21829 |
| Mn | 950 | 230 | 1100 | 597 | 1085 | 1240 |
| Pb | 13 | 49 | 242 | 19 | 40 | 11 |
| Cu | 55 | 13 | 67 | 12 | 42 | 10 |

Ao se comparar os resultados obtidos com os valores de *background* regional, o sistema estuarino revela um forte aporte de metais no sedimento, com provável origem antropogênica. Observa-se também que há uma tendência de maior retenção dos metais no alto estuário e uma ligeira diminuição em direção à plataforma continental, mas que a baía apresenta-se com uma carga maior de metais do que o canal de Bertioga.

Embora os resultados de Zaroni (2006) não permitam a elaboração de uma série temporal, observa-se que nenhum valor de concentração média ultrapassou os valores de referências *TEL* e *PEL*. Comparando-se os valores encontrados por Zaroni (2006) (Tab. 2) com os valores médios do canal de Bertioga (Tab. 1) têm-se que foram inferiores, embora realizados numa mesma época.

Tabela 2. Concentrações médias em µg/g do sedimento coletados no canal de Bertioga. A estação # 8 refere-se à área mediana entre a boca do canal e o largo do Candinho; a estação # 9 refere-se à área da boca do canal de Bertioga (fonte: Zaroni, 2006).

| | Elemento (µg/g) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Estação | Cr | Cu | Zn | Hg | Pb |
| # 8 | <1,0 | 1.25 | 12 | X | 4.65 |
| # 9 | 3.4 | 10.4 | 28 | X | 9.6 |
| ***TEL*** | **52.3** | **18.7** | **124** | **0.13** | **30.2** |
| ***PEL*** | **160** | **108** | **271** | **0.7** | **122** |

Um dos primeiros levantamentos sobre metais pesados realizados no sistema estuarino de que se tem notícia, data de 1974, realizado pela CETESB em convênio com o IOUSP (CETESB, 1978). A campanha durou três anos e teve um total de 31 pontos de coleta, entre estuário e baía de Santos, onde foram coletados plâncton, nécton, bentos e sedimento. Os resultados revelaram que, de uma maneira geral, a parte mais interna do estuário apresentou valores mais elevados de metais do que a baía de Santos. Ainda hoje, segundo os registros das análises de sedimentos, os estuários de Santos e São Vicente e seus respectivos canais, aparecem com os maiores níveis de contaminação do que a baía de Santos, excetuando-se a área da boca do emissário submarino (CETESB, 2001; Abessa, 2002).

Há algumas razões para essa tendência. Primeiramente, porque as áreas de maiores concentrações de contaminantes localizam-se próximas às fontes de poluição que, por sua vez, estão distribuídas ao longo do estuário. Em função da baixa hidrodinâmica, os estuários tendem a reter essas substâncias (Siqueira, 2003). Outra razão refere-se à distribuição sedimentológica, na qual frações mais finas dos sedimentos ocorrem nas áreas internas dos estuários. Além disso, em função de sua composição química e mineralógica, a fração fina contém os principais carregadores geoquímicos, tanto de origem natural, quanto antrópica e, conseqüentemente, é a que mostra as maiores concentrações de metais pesados (Forstner, 1990 *apud* Siqueira, 2003).

Devido ao padrão de circulação da baía, que é de sentido horário, esta apresenta dois setores distintos quanto à distribuição dos sedimentos: um a leste, com sedimentos mais finos, e outro a oeste, com sedimentos mais arenosos, ocorrendo transporte de material mais fino, em suspensão, da região oeste para leste da baía (Abessa & Souza, 2005). Foi verificado também, que os sedimentos ao redor da boca do emissário apresentavam uma diminuição da granulometria e que havia a possibilidade desse material depositado ser transportado para leste, na altura da ilha das Palmas. Em estudo anterior, Abessa (2002) encontrou correlação entre a toxicidade dos sedimentos e áreas onde existe contaminação, como a região próxima ao emissário.

Dessa forma o padrão de circulação e de distribuição do sedimento, pode explicar o destino dos elementos metálicos que entram na baía de

Santos. Os resultados descritos por Ferreira (2008), para a ocorrência de metais no sedimento de todas as estações oceanográficas da baía, indicaram que as maiores concentrações ocorreram nas estações 5, na área da boca do emissário, e nas estações 2 e 3, localizadas no meio e no leste da entrada da baía de Santos, sendo que nesta última há um predomínio de areia (Abessa, 2002) (Tab. 3).

Tabela 3. Concentrações médias em µg/g dos metais por estação oceanográfica na baía de Santos nas amostras de sedimento coletadas em 2005 (fonte: Ferreira, 2008).

| | Elemento (µg/g) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Estação | Cr | Cu | Zn | Hg | Pb |
| # 1 | 12.3 | 1.8 | 22.2 | ND | 6.3 |
| # 2 | 28.4 | 11.5 | 51.3 | ND | 21.2 |
| # 3 | 25.9 | 10.8 | 50.9 | ND | 19.1 |
| # 4 | 10.1 | ND | 18.4 | ND | 5.1 |
| # 5 | 25.2 | 10.8 | 56.2 | ND | 27.8 |
| # 6 | 5 | ND | 10.8 | ND | 3.2 |
| ***TEL*** | **52.3** | **18.7** | **124** | **0.13** | **30.2** |
| ***PEL*** | **160** | **108** | **271** | **0.7** | **122** |

Apesar das concentrações de alguns metais da tabela acima não ultrapassarem os valores de referência *TEL* e *PEL*, estão acima dos valores de outras regiões, como por exemplo, o valor da concentração média de cobre de 1,44 µg/g e do zinco de 10,2 µg/g, obtidos no sistema costeiro Cananéia-Iguape por Eysink *et. al*. (1988).

Os resultados referentes às concentrações de chumbo apontam um valor alto na estação 5 de 27,8 µg/g, quase o valor do *TEL* que é 30,2 µg/g, porém, encontra-se em concentrações menores que o valor médio do chumbo para o sistema costeiro Cananéia-Iguape, que foi 30,93 µg/g.

O mercúrio também é um elemento que merece atenção, apesar de não ter sido detectado nas análises de sedimento realizadas por Ferreira (2008). Segundo a CETESB (1999), as primeiras medições, indicavam que o mercúrio estava distribuído nos sedimentos por toda a área de estudo, constatando a redução no estuário de Santos em relação a registros mais anteriores. Foi verificado, também, que os níveis de concentração eram capazes de causar efeitos tóxicos aos organismos. Abessa *et al*. (2005) encontraram níveis de

mercúrio no sedimento próximos ao *TEL* (0,13 μg/g) na área da boca do emissário de Santos.

Entretanto, as análises mais recentes registraram uma diminuição da concentração de mercúrio no sedimento, que não foi detectado por Ferreira (2008). Azevedo (2008) encontrou o valor médio de 0,06 μg/g para a baía de Santos. Uma diminuição da concentração de mercúrio no sedimento também foi detectada no sistema costeiro Cananéia-Iguape, uma vez que o valor obtido por Eysink *et al*. (1988) foi de 1,5 μg/g, enquanto que Azevedo (2008) encontrou o valor de 0,037 μg/g.

Esses registros ao longo do tempo permitem uma avaliação temporal e espacial da contaminação, na medida em que importantes mudanças ocorreram na baixada santista desde as primeiras avaliações, como as regulamentações sobre os efluentes industriais, o fechamento de algumas fontes poluidoras, o surgimento de outras, a dragagem do canal do porto de Santos e a construção do emissário submarino na baía.

A baía de Santos apresenta algumas características que contribuem para o fluxo de metais, como a constante renovação das massas de água (alta hidrodinâmica), elevado teores de areia e águas mais salinas (Siqueira, 2003).

Medidas dos níveis de metais em sedimentos de superfície somente refletem uma situação momentânea e fornecem poucas indicações dos níveis e efeitos nos organismos aquáticos (Bervoets & Blust, 2003), uma vez que os resultados expressos em concentração total não revelam a toxicidade e nem a fração biodisponível dos elementos.

## REFERÊNCIAS

ABESSA, D. M. S. **Avaliação da qualidade de sedimentos do Sistema estuarino de Santos.** 2002. 290f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

ABESSA, D. M. S.; CARR, R. S.; RACHID, B. R. F.; SOUSA, E. C. P. M.; HORTELANI, M. A.; SARKIS, J. E. Influence of a Brazilian sewage outfall on the toxicity and contamination of adjacent sediments. **Mar. Pollut. Bull.**,

v. 50, p. 875–885, 2005.

AU, D. W. T. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 48, p. 817-834, 2004.

AZEVEDO, J. S. **Biomarcadores de contaminação ambiental em *Cathorops spixii* nos estuários de Santos/São Vicente e Cananéia, São Paulo, Brasil.** 2008. 219f. Tese (Doutorado em Oceanografia Química e Geológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

BERNARDES, M. E. C.; MIRANDA, L. B. Circulação estacionária e estratificação de sal em canais estuarinos: simulação com modelos analíticos. **Rev. bras. Oceanogr.**, v. 49, n. ½, p.115-132, 2001.

BERVOETS, L.; BLUST, R. Metal concentrations in water, sediment and gudgeon (Gobio gobio) from a pollution gradient: relationship with fish condition factor. **Environ. Pollut.**, v. 126, p. 9–19, 2003.

BOLDRINI, C. V.; NAVAS-PEREIRA, D. N. Metais pesados na baía de Santos e estuário de Santos e São Vicente. **Ambiente**, v.1, n. 3, p. 118-127, 1987.

BONETTI, C. H. C. **Foraminíferos como bioindicadores do gradiente de estresse ecológico em ambientes costeiros poluídos. Estudo aplicado ao sistema estuarino de Santos - São Vicente (SP, Brasil).** 2000. 229f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2000.

CASTRO, B. M. **Oceanografia Física.** In: PIRES VANIN, A. M. S. Projeto ECOSAN: A influência do complexo estuarino da Baixada Santista sobre o ecossistema da plataforma adjacente. São Paulo: IO –USP. 2008. p. 1 – 44. (Relatório IV - FAPESP, processo N 03/09932-1).

CÉSAR, A.; PEREIRA, C. D. S.; SANTOS, A. R.; ABESSA, D. M. S.; FERNÁNDEZ, N.; CHOUERI, R. B.; DELVALLS, T. A. Ecotoxicological assessment of sediments from the Santos and São Vicente estuarine system – Brazil. **Brazil. J. oceanogr.**, v. 54, n.1, p. 55-63, 2006.

CETESB (Companhia Ambiental do estado de São Paulo). **Poluição das águas no estuário e baía de Santos.** São Paulo: Relatório técnico, 1978. volume I e II. 71p+anexos.

CETESB (Companhia Ambiental do estado de São Paulo). **Metais pesados na baía de Santos e estuários de Santos e São Vicente.** São Paulo:

Relatório técnico, 1981. 143p.

CETESB (Companhia Ambiental do estado de São Paulo). **Sistema estuarino de Santos e São Vicente.** São Paulo: Relatório técnico, 2001. 183p.

CETESB (Companhia Ambiental do estado de São Paulo). **Relatório de monitoramento de emissários submarinos.** São Paulo: Relatório técnico, 2007. 106p.

CETESB (Companhia Ambiental do estado de São Paulo). **Relatório de Qualidade das Águas Litorâneas no Estado de São Paulo.** São Paulo: Relatório técnico, 2008. 294p.

CHAPMAN, P. M.; WANG, F. Assessing sediment contamination in estuaries. **Environ. toxicol. chem.**, v. 20, n. 1, p. 3-23, 2001.

COSTANZA, R.; MAGEAU, M. What is a healthy ecosystem? **Aquat. Ecol.** v. 33, p. 105–115, 1999.

EYSINK, G. G. J.; PÁDUA, H. B.; PIVA-BERTOLETTI, S. A. E.; MARTINS, M. C.; PEREIRA, D. N. Metais pesados no vale do Ribeira e em Iguape-Cananéia. **Ambiente**, v. 2, n. 1, p. 6-13, 1988.

FERREIRA, J. A. **Estudo das associações de anelídeos Polychaeta da baía de Santos e plataforma continental adjacente (SP, Brasil) e suas interrelações com parâmetros físicos e geoquímicos estruturadores.** 2008. 186f. Tese (Doutorado em Oceanografia Química e Geológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

FUKUMOTO, M. M. **Caracterização da sedimentação atual e reconstituição da história deposicional recente na baía de Santos, a partir das características composicionais e isotópicas de matéria orgânica.** 2003. 109f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Química e Geológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

FUKUMOTO, M. M. **Determinação da história deposicional recente do Alto Estuário Santista, com base nos teores de metais e na suscetibilidade magnética dos sedimentos.** 2007. 134f. Tese (Doutorado em Oceanografia Química e Geológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

FÚLFARO, V. J.; PONÇANO, W. L. Sedimentação atual do estuário e baía de Santos: um modelo geológico aplicado a projetos de expansão da zona portuária. Rio de Janeiro: Anais do I Congresso Brasileiro de Geologia de

Engenharia. vol. II. p. 67-87, 1976.

HALPERN, B. S.; WALBRIDGE, S.; SELKOE, K. A.; KAPPEL, C. V.; MICHELI, F.; D'AGROSA, C.; BRUNO, J. F.; CASEY, K. S.; EBERT, C.; FOX, H. E.; FUJITA, R.; HEINEMANN, D.; LENIHAN, H. S.; MADIM, E. M. P.; PERRY, M. T.; SELIG, E. R.; SPALDING, M.; STENECK, R.; WATSON, R. A Global Map of Human Impact on Marine Ecosystems**. Science,** v. 319, p. 948-952, 2008.

HORTELLANI, M. A.; SARKIS, J. E. S.; ABESSA, D. M. S.; SOUSA, E. C. P. M. Avaliação da contaminação por elementos metálicos dos sedimentos do estuário Santos – São Vicente. **Quim. Nova**, v. 31, n. 1, p. 10-19, 2008.

HORTELLANI, M. O.; SARKIS, J. E. S.; BONETTI, J.; BONETTI, C. Evaluation of mercury contamination in sediments from Santos - São Vicente estuarine system, São Paulo state, Brazil. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 16, n. 6A, p. 1140-1149. 2005.

HURTADO, S. N. **Dinâmica de sedimentação atual associada à contaminação por metais nos sedimentos do Estuário Santista e do Canal de Bertioga, SP.** 2003. 74f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo. São Paulo. 2003.

KENNISH, M. J. **Practical handbook of estuarine and marine pollution.** Boca Raton: CRC Press, 1997. 524p.

LAM, P. K. S.; WU, R. S. S. **Use of biomarkers in environmental monitoring.** Review Submitted to the Scientific and Technical Advisory Panel (STAP) and Global Environment Facility (GEF), 2003. 79p.

LANDIS, W. G.; MING-HO YU, M-H. **Introduction to environmental toxicology: impacts of chemicals upon ecological systems.** 2nd ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 1999. 309p.

LIMA, J. S. **Processos biológicos e o biomonitoramento: aspectos bioquímicos e morfológicos.** *In*: MAIA, N. B.; MARTOS, H. L.; BARRELLA, W. (orgs.) Indicadores ambientais – conceitos e aplicações. São Paulo: EDUC, 2001. 285 p.

LIVINGSTONE, D. R. The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. **Comp. Biochem. Physiol. A**, v. 120, p. 43-49, 1998.

MARTINS, C. C. **Marcadores orgânicos geoquímicos em testemunhos de sedimentos do sistema estuarino de Santos e São Vicente, SP: um registro histórico da introdução de hidrocarbonetos no ambiente marinho.** 2005. 210f. Tese (Doutorado em Oceanografia Química e Geológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005.

MILANELLI, J. C. C. **Biomonitoramento de costões rochosos instrumento para avaliação de impactos gerados por vazamentos de óleo na região do Canal de São Sebastião - São Paulo.** 2003. 297f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2003.

MIRANDA, L. B.; CASTRO, B. M.; KJERFVE, B. Circulation and Mixing Due to Tidal Forcing in the Bertioga Channel, São Paulo, Brazil. **Estuaries**, v. 21, n. 2, p. 204-214, 1988.

MORIARTY, F. **Ecotoxicology:** the study of polluents in ecosystems. 2nd ed. London: Academic Press, 1988. 289 p.

SILVA, C. C. A.; TOMMASI, L. R.; VARGAS-BOLDRINI, C.; NAVAS-PEREIRA, D. Níveis de mercúrio na baixada santista. **Cienc. Cult.**, v. 35, n.6, p. 771-773. 1982.

SINDERMAN, C. J. **Ocean Pollution:** effects on living resources and humans. Boca Raton: CRC Press., 1996. 275 p.

SIQUEIRA, G. W. **Estudo dos teores de metais pesados e outros elementos em sedimentos superficiais do sistema estuarino da Santos (baixada santista - São Paulo) e da plataforma continental do Amazonas (margem continental norte).** 2003. 327 f. Tese (Doutorado em Oceanografia Química e Geológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2003.

SIQUEIRA, G. W.; LIMA, W. N.; MENDES, A. S.; APRILE, F. M.; BRAGA, E. S.; MAHIQUES, M. M. 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, 2004.

TESSLER, M. G. **Granulometria e metais**. In: PIRES VANIN, A. M. S. Projeto ECOSAN: A influência do complexo estuarino da Baixada Santista sobre o ecossistema da plataforma adjacente. São Paulo: IO –USP. 2007. p. 36 –

39. (Relatório III - FAPESP, processo N 03/09932-1).

TOMMASI, L. R. Considerações ecológicas sobre o sistema estuarino de Santos (SP). 1979. 489 f. Tese (Livre-Docência) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1979.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish Bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Envir. Toxicol. Pharmacol.**, v. 13, p. 57-149, 2003.

VERNBERG, F.J. **Biological monitoring of marine pollutants.** New York: Academic Press, 1981. 559 p.

WALKER, C. H.; HOPKIN, S. P.; SIBLY, R. M.; PEAKALL, D. B. O. **Principles of ecotoxicology.** 2nd ed. New York: Taylor & Francis, 2001. 309p.

WU, R. Editorial of 5th international conference on marine pollution and ecotoxicology. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 57, p. 219–220, 2008.

ZARONI, L. P. **Avaliação da qualidade dos sedimentos marinhos e estuarinos no município de Bertioga – SP.** 2006. 193f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006.

MATERIAL E MÉTODOS

Métodos de coleta

Os peixes amostrados para esse estudo foram provenientes de parte das coletas do Projeto ECOSAN, que compreendeu o período anual de 2005. Foram realizadas seis estações oceanográficas dentro da baía de Santos (estações 1, 2, 3, 4, 5 e 6) em todos os meses do ano e duas estações no canal de Bertioga (estações 8 e 9), de setembro a dezembro de 2005 (Fig.3). No projeto inicial estava programada uma estação na porção mediana do canal de Bertioga, a estação 7, mas foi cancelada por problemas operacionais na região.

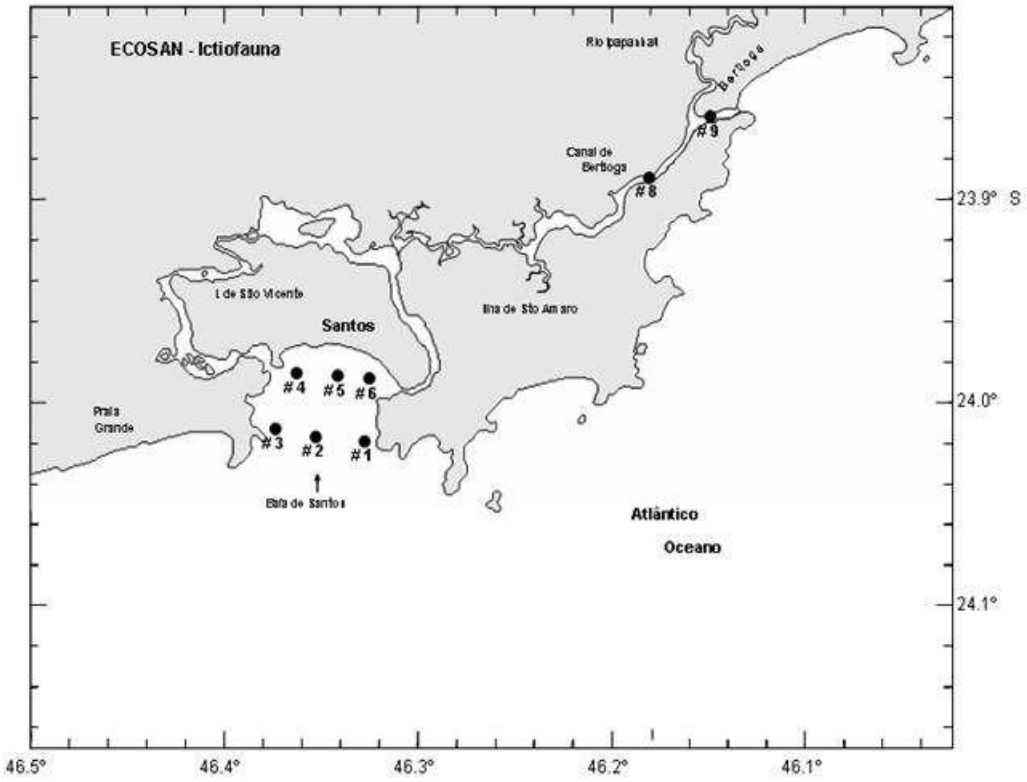



Figura 3. Área de estudo com indicação das estações oceanográficas: 1, 2, 3, 4, 5 e 6 localizadas na baía de Santos e 8 e 9 localizadas no canal de Bertioga.

O posicionamento das estações foi feito com a utilização dos *GPS*s (*Global Position System*) dos barcos, para a obtenção das coordenadas geográficas de cada estação de coleta, a seguir:

| Local | ST | Longitude W | Latitude S |
|---|---|---|---|
| baía de Santos | 1 | 46°32.8' | 24°01.9' |
| | 2 | 46°35.3' | 24°01.7' |
| | 3 | 46°37.4' | 24°01.3' |
| | 4 | 46°36.3' | 23°98.6' |
| | 5 | 46°34.1' | 23°98.7' |
| | 6 | 46°32.5' | 23°98.8' |
| canal de Bertioga | 8 | 46°18.1' | 23°88.9' |
| | 9 | 46°14.9' | 23°85.9' |

Para as coletas dos peixes, ao longo do ano, foram utilizadas duas embarcações do Intituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IOUSP), o B/Pq. Veliger II e o B/Pq. Albacora que operaram uma rede de arrasto de portas, com as seguintes características: malha nos braços de 40 mm, no ensacador de 30 mm, comprimento da tralha à bóia de 2,40 m, da tralha de chumbo de 16 m, comprimento da rede de 11 m e do sacador de 2,20 m.

Foi realizado um arrasto por estação oceanográfica, sendo seis arrastos na baía de Santos de janeiro a dezembro e dois arrastos no canal de Bertioga de setembro a dezembro de 2005. No total foram 80 arrastos, sendo 72 na baía e oito no canal. O esforço de pesca foi de 10 minutos a uma velocidade padronizada de dois nós. Após cada subida de rede, os peixes eram retirados da rede e separados da fauna acompanhante. Posteriormente, eram colocados em sacos plásticos etiquetados e armazenados em caixas de isopor com gelo para o transporte até os laboratórios do IOUSP.

Durante as coletas, os linguados da espécie *Achirus lineatus* eram identificados e os exemplares que chegavam vivos a bordo foram cuidadosamente separados dos demais peixes para serem colocados em sacos plásticos com água local e aeradores. Esses sacos eram depois acondicionados em caixas de isopor para o transporte até os laboratórios do IOUSP em São Paulo.

Medidas hidrográficas de temperatura e salinidade de cada estação foram obtidas por meio de *CTD* (*Conductivity/Temperature/Deph*) antes da descida da rede. Também foram coletadas, em outra etapa, amostras do sedimento e da água em cada estação para análise dos níveis de contaminação. Estas foram analisadas pela equipe do Laboratório de Química

Orgânica Marinha (LabQOM) do IOUSP para a avaliação dos compostos orgânicos. Uma parte do sedimento foi analisada no laboratório CorpLab Brasil (Ferreira, 2008), para quantificação dos metais.

Tomada de dados dos peixes

Nos laboratórios do Instituto Oceanográfico, os peixes que estavam armazenados em congeladores foram pouco a pouco descongelados e identificados em nível de espécie com a ajuda de literatura especializada (Figueiredo & Menezes, 1978, 1980 e 2000; Menezes & Figueiredo, 1980 e 1985; Menezes *et al*., 2003). Concomitantemente, foram tomados dados do comprimento total (mm), do comprimento padrão (mm) e do peso fresco (g) de cada um dos exemplares. De algumas espécies pré-estabelecidas, foram retiradas estruturas como gônadas, otólitos, e porções do músculo que foram devidamente armazenadas para estudos posteriores. A tomada de dados foi realizada pela equipe do Laboratório Ecologia da Reprodução e do Recrutamento de Organismos Marinhos.

Tomada de dados de *Achirus lineatus*, retirada e preservação de estruturas e órgãos

Em laboratório, os linguados foram mantidos vivos até sua morte por resfriamento com gelo para a realização dos seguintes procedimentos: confirmação da identificação da espécie, contagem do número total de exemplares por estação de coleta, tomada das medidas de comprimento total e comprimento padrão (mm) de cada exemplar, peso fresco individual (g) e foi anotada qualquer alteração externa na aparência dos exemplares, como erosão das nadadeiras, manchas no tegumento, pontos hemorrágicos e outros.

Uma subamostra de cada estação oceanográfica foi separada em função do tamanho e foi feita uma incisão nesses exemplares, para a retirada do fígado. Esse procedimento foi realizado imediatamente após a morte do exemplar para que o órgão não entrasse em processo de autólise; foi tomado o dado de peso fresco do fígado, anotada a aparência geral externa e, logo em seguida, o fígado foi fixado em solução de formalina a 10% tamponada.

Foram identificados o sexo a partir das descrições de Vazzoler (1991) e o estádio de maturidade gonadal das fêmeas utilizando-se a escala macroscópica de Dias *et al*. (1998). As gônadas, tanto de machos como de fêmeas, foram retiradas para a tomada do peso fresco (g) e fixação em solução de formalina a 10% tamponada.

Posteriormente, foi seccionada uma fração do tecido muscular dos exemplares e preservada em congelador; como parte dos procedimentos para análise da composição elemental, para a detecção dos níveis de metais na musculatura. Os músculos foram agrupados em compostos, formados por musculatura de 49 indivíduos.

As metodologias específicas de análise para cada avaliação realizada serão descritas nos capítulos correspondentes.

Referências

DIAS, J. F.; PERES-RIOS, E.; CHAVES, P. T. C.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. Análise macroscópica dos ovários de teleósteos: problemas de classificação e recomendações de procedimentos. **Rev. Brasil. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 58, n. 1, p. 55-69. 1998.

FERREIRA, J. A. **Estudo das associações de anelídeos Polychaeta da baía de Santos e plataforma continental adjacente (SP, Brasil) e suas interrelações com parâmetros físicos e geoquímicos estruturadores.** 2008. 186f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2008.

FIGUEIREDO, J. L.; MENEZES, N. A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil.** II Teleostei (1). São Paulo: Museu de Zoologia - Universidade de São Paulo, 1978.110 p.

FIGUEIREDO, J. L.; MENEZES, N. A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil.** III Teleostei (2). São Paulo: Museu de Zoologia - Universidade de São Paulo, 1980. 90 p.

FIGUEIREDO, J. L.; MENEZES, N. A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil.** VI Teleostei (5). São Paulo: Museu de Zoologia - Universidade de São Paulo, 2000. 116 p.

MENEZES, N. A.; FIGUEIREDO, J. L. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil.** IV Teleostei (3). São Paulo: Museu de Zoologia - Universidade de São Paulo, 1980. 96 p.

MENEZES, N. A.; FIGUEIREDO, J. L. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil.** V Teleostei (4). São Paulo: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, 1985. 105 p.

MENEZES, N. A.; BUCKUP, P. A.; FIGUEIREDO, J. L.; MOURA, R. L. **Catálogo das espécies de peixes marinhos do Brasil.** São Paulo: EDUSP - Universidade de São Paulo, 2003.160 p.

VAZZOLER, A.E.A. de M. Síntese de conhecimento sobre a biologia da corvina, *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823), da costa do Brasil. **Atlântica.** v. 13, p. 55-74. 1991

O MODELO BIOLÓGICO *Achirus lineatus*: características gerais da espécie e dinâmica populacional

Introdução

A espécie *Achirus lineatus* (Linnaeus, 1758), Achiridae, Pleuronectiformes (Fig.4) foi escolhida como modelo biológico para este estudo porque tem hábito bentônico e, portanto, vive em contato com o sedimento, onde se encontram as maiores concentrações de contaminantes, quando presentes no ambiente (Förstner & Wittmann, 1983). Outro aspecto considerado para a escolha dessa espécie foi sua ocorrência durante as campanhas de coletas: a presença da espécie foi constante ao longo dos meses e ocorreu tanto na baía de Santos como no canal de Bertioga.

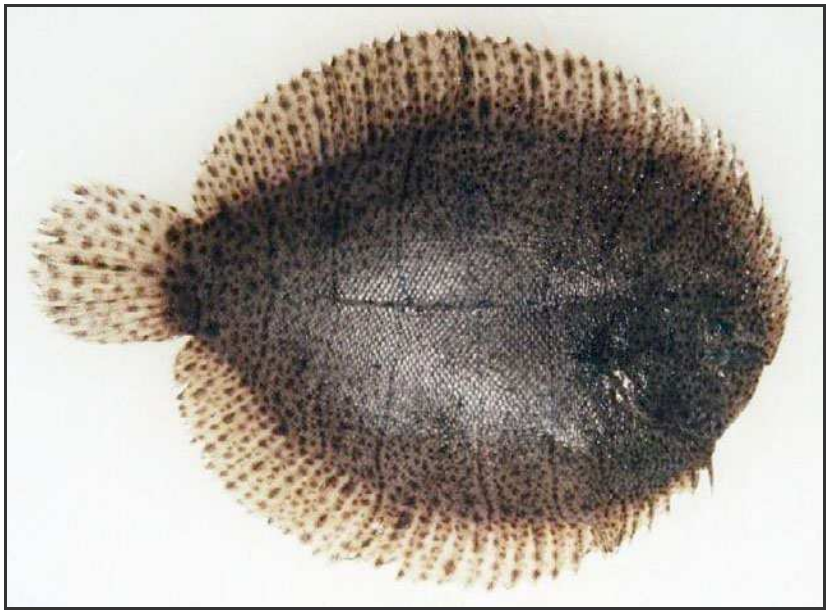


Figura 4. *A. lineatus* (original de Martins, I.A. *in* Froese & Pauly, 2006).

*A. lineatus* pertencia inicialmente à família Soleidae e à subfamília Achirinae. Posteriormente, foi verificado que a outra subfamília, Soleinae, era filogeneticamente mais próxima à família Cynoglossidae, o que acabou por elevar a subfamília Achirinae à atual família Achiridae (Hensley, 1997).

As espécies de Achiridae são conhecidas como solhas ou linguados

pintados no Brasil e, em países de língua inglesa, como *lined sole*. Possuem o corpo comprimido, arredondado e os olhos e as cores do corpo ficam no lado direito; distribuem-se desde a Flórida até o norte da Argentina e ocorrem em rios, em estuários (principalmente) e na zona litorânea até 20 m de profundidade (Figueiredo & Menezes, 2000). Vivem preferencialmente sob fundos de areia e lama, onde se enterram para camuflarem-se, deixando somente os olhos expostos, como uma tática para capturar sua presa e fugir dos predadores (Froese & Pauly, 2006).

Não têm valor comercial em função do pequeno tamanho. O maior exemplar, segundo Froese & Pauly (2006), apresentou 230 mm e o maior espécime coletado em águas brasileiras media 175 mm (Figueiredo & Menezes, 2000).

A espécie *A. lineatus* é descrita como estuarino-dependente (Allen & Baltz, 1997) e, embora informações sobre o ciclo de vida sejam escassas, sua ocorrência e alguns aspectos do seu ciclo de vida já foram estudados na costa paulista. Uma das primeiras ocorrências foi descrita por Paiva-Filho *et al*. (1987), em levantamento ictiofaunístico no sistema estuarino de Santos - São Vicente, verificando que *A. lineatus* ocorreu em todo o ano de coleta, sendo sua ocorrência frequente na baía de Santos e sazonal no canal de Santos. Também na baía de Santos, Ribeiro Neto (1989) agrupou espécies de actinopterígios por área e por estação do ano em que foram mais comuns, associando a presença de *A. lineatus* ao lado leste da baía e ao outono. Em outros levantamentos ictiofaunísticos, agora no sistema costeiro Cananéia-Iguape, Diniz Filho (1997) reportou a ocorrência de *A. lineatus* como uma das três espécies mais abundantes no canal Ararapira em Cananéia e Maciel (2001) verificou que a espécie é dominante no sistema, fazendo parte das espécies estruturadoras da comunidade de peixes.

Kitahara (2000), em seus estudos sobre larvas de peixes no sistema costeiro Cananéia-Iguape observou que tanto as larvas quanto os adultos de *A. lineatus* ocorreram no interior do estuário, e que a espécie desova no interior do estuário, e as larvas permanecendo a maior parte do tempo nesse ambiente. Peres-Rios (2001) estudou a biologia reprodutiva da espécie no mesmo sistema e classificou *A. lineatus* como uma espécie *r* – estrategista por possuir características como pequeno porte, ciclo de vida curto, comprimento

de primeira maturação reduzido, desova parcelada e época de desova prolongada. A autora incluiu *A. lineatus* no grupo das espécies que completam todo o seu ciclo de vida dentro do sistema costeiro Cananéia-Iguape, ao encontrar fêmeas em todos os estádios de maturação gonadal.

No estuário do rio Itanhaém, localizado entre Santos e Cananéia, Louro (2007) em seus estudos sobre ictiofauna, verificou que *A. lineatus* foi uma das principais espécies da região, e observou que os exemplares de menor porte foram encontrados na área mais interna do estuário, enquanto que os exemplares maiores ocorreram na desembocadura do rio Itanhaém, próxima ao mar. Também foi verificado que as fêmeas foram significativamente maiores e em maior número que os machos.

Os estudos sobre ictioplânton realizados pelo projeto ECOSAN, mesmo projeto em que os exemplares para este estudo foram capturados, revelaram a presença de larvas de *A. lineatus* dentro dos canais de Santos e Bertioga e na baía de Santos (Katsuragawa, 2008). A maior abundância ocorreu no canal de Bertioga no fim da primavera, época que coincide com o período de desova estimado por Peres-Rios (2001) no sistema costeiro Cananéia-Iguape. As larvas também ocorreram no interior da baía de Santos, porém em menor abundância. Também na baía, as estações do lado leste apresentaram maior abundância em relação ao lado oeste.

Os juvenis dessa espécie têm vida planctônica curta para, em seguida, moverem-se para a fase bentônica. A espécie é predadora da meiofauna, principalmente de poliquetas, sendo denominada “peixe comedor de fundo” quanto ao grupo trófico a que pertence (Gasalla, 1995; Chaves & Serrano, 1998; Ponz-Louro, 2007; Guedes & Araújo, 2008). Esse aspecto é relevante no presente estudo, porque as presas passam o ciclo de vida inteiro no sedimento e informações sobre contaminação, desde que disponíveis, auxiliam no entendimento do processo de bioacumulação de contaminantes no meio marinho.

Outro aspecto importante a ser levado em consideração é que, para estudos de biomarcadores, é usual a escolha de espécies que são resistentes, isto é, que permaneçam vivas sob condição de estresse possibilitando, assim, estudos de danos subletais. É o caso dos exemplares dessa espécie de linguado, que permaneceram vivos mesmo após o confinamento e transporte

para os laboratórios do IOUSP.

A hipótese de trabalho do presente estudo é que a espécie *A. lineatus* passa todas as fases do seu ciclo de vida nas áreas de coleta, mas que sua distribuição vai além dos limites da mesma, o que implica em movimentos entre *habitats* com diferentes níveis de contaminação.

Objetivos específicos

- Verificar a estrutura populacional da espécie *A. lineatus* dentro das áreas de estudo.

- Analisar aspectos da dinâmica reprodutiva de *A. lineatus* para estabelecer o uso da baía de Santos e do canal de Bertioga pela espécie durante seu ciclo de vida.

Método de coleta e tomada de dados

A coleta dos exemplares e a tomada de dados estão descritas no item “Material e Métodos”.

Metodologia de análise

A partir dos dados obtidos, foram apresentados o número e peso total dos indivíduos na baía de Santos e no canal de Bertioga ao longo do ano de 2005 e calculadas as distribuições de freqüência de ocorrência por mês, por estação oceanográfica e para todo o período. Também foram obtidas as distribuições de freqüência do comprimento por mês e por estação oceanográfica para a verificação da estrutura da população amostrada nas áreas de coleta.

Foi feita a dispersão dos dados de comprimento total e peso total, sendo ajustada uma curva pelo método dos mínimos quadrados e calculado o coeficiente de regressão *b*, que descreve a relação entre o peso e o comprimento para a população amostrada, segundo a função:

$$Pt = a\ Ct^{b}$$

em que Pt é a variável dependente (peso total), Ct é a variável independente (comprimento total), *b* é o coeficiente de regressão e a é *a* constante (intercepto).

Durante o processamento dos exemplares de *A.lineatus* em laboratório, foi identificado o sexo dos exemplares, quando possível, e as gônadas foram avaliadas macroscopicamente de acordo com a literatura especializada (Vazzoler, 1996; Dias *et al*., 1998), sendo os estádios de maturidade gonadal dos machos: A (imaturo), B (em maturação), C (maduro) e D (esvaziado) e das fêmeas: A (imaturo); B (em maturação); C (maduro); D (hidratado) e E (desovado).

Essa classificação permitiu verificar a proporção de jovens e de adultos, sendo que foram considerados jovens os exemplares com gônadas imaturas (estádio A) e aqueles cujo sexo não pode ser definido em função do tamanho diminuto das gônadas. Os indivíduos que apresentaram gônadas em maturação (estádios B, C, D e E), foram classificados como adultos. Para a verificação das proporções dos machos e das fêmeas foram considerados os indivíduos da baía de Santos e do canal de Bertioga que tiveram o sexo identificado. Os resultados foram lançados em gráficos.

Foi feita uma estimativa do comprimento médio do início de primeira maturação gonadal em que 50% da população inicia o período reprodutivo, segundo Vazzoler (1996). Os dados necessários são comprimento, sexo e estádio de maturidade, considerando-se todos os estádios. O comprimento médio ($L_{50}$ ou $L_m$) foi estimado através do ajuste de uma curva logística linear (King, 1995), segundo a equação:

$$P = 1 / (1+exp\ [-r\ (L-Lm)\ ]\ )$$

em que L é o comprimento, $L_{50}$ ou $L_m$ é o corresponde a 50% de adultos e *r* é a inclinação da curva.

A estimativa do $L_{50}$ é importante nos estudos da dinâmica reprodutiva, desde que pode ser comparado aos valores obtidos pela mesma espécie, mas em outras regiões, por exemplo.

O peso das gônadas das fêmeas foi utilizado para a estimativa da relação gonadossomática ou RGS que é calculada como:

$$RGS = Pg / Pt*100$$

em que Pg é o peso das gônadas, Pt é o peso total.

A RGS2 é calculada com o peso total do qual se retira o peso das gônadas:

$$RGS2 = Pg/Pc*100$$

em que e Pc é o peso do corpo (Pt-Pg).

No presente estudo foram calculadas a RGS1 e a RGS2 e os respectivos desvios para cada valor médio mensal na baía de Santos e no canal de Bertioga. O valor da RGS, aliado aos outros indicadores, pode fornecer indícios do período da desova porque durante o desenvolvimento gonadal, o peso dos ovários aumenta, e esse aumento é refletido na porcentagem que as gônadas representam do peso total do indivíduo. Assim, quanto maior é a RGS, maior é o estado funcional dos ovários (Vazzoler, 1996). As amostras das duas localidades foram tratadas separadamente para permitir a observação das possíveis diferenças quanto à época de desova.

Para o cálculo da RGS foi considerado só o peso das gônadas das fêmeas em função das gônadas dos machos serem pequenas, o que impossibilitou a tomada do peso. Além disso, as variações que ocorrem nos ovários marcam de maneira mais clara alterações relacionadas com o processo reprodutivo (West, 1990).

O fator de condição (K) indica o grau de higidez dos indivíduos, refletindo condições alimentares recentes (Vazzoler, 1996), e é dado pela relação entre seu peso e seu comprimento. Os fatores de condição alométrico e de Foulton foram calculados segundo as expressões:

$$K_{alométrico} = Pt / Ct^{b} \quad e \quad K_{Foulton} = Pt / Ct^{3}$$

em que Pt é o peso total, Ct é o comprimento total e b é o coeficiente angular estimado pela equação da relação peso total-comprimento total, após ajuste

pelo método dos mínimos quadrados.

Normalmente, o fator de condição alométrico reflete mais adequadamente a realidade dos locais de ocorrência dos indivíduos (Braga, 1986).

Neste estudo foram estimados os valores de ΔK, segundo o modelo de Foulton e o alométrico, que é a diferença entre K e K', onde K' é o fator de condição somático, em que o peso total é substituído pelo peso do corpo (peso total menos o peso das gônadas). Os resultados foram lançados em gráficos separadamente (baía de Santos e canal de Bertioga).

O ΔK pode ser também um indicativo do período reprodutivo. O declínio dos valores médios pode refletir um período de desova, assumindo-se que a diminuição do peso corpóreo está associada ao desgaste energético envolvido no processo (Chaves & Vendel, 1997).

Para a análise microscópica das gônadas, aplicaram-se as técnicas histológicas de fixação, desidratação, inclusão, microtomia, coloração e montagem das lâminas. Foi empregada a coloração por hematoxilina e contra-coloração por eosina (HE).

A avaliação das amostras foi feita a partir de leituras das preparações permanentes sob microscópio de luz. Os trabalhos de Hunter & Macewicz (1985), Silveira *et al*. (1995), Vazzoler (1996), Dias *et al*. (1998; 2005), Merson *et al*. (2000), Blazer (2002) e Honji *et al*. (2006) foram usados como referências.

Os ovários são compostos por folículos derivados do epitélio germinativo e contêm ovogônias que se desenvolverão em ovócitos que, por sua vez, são envolvidos num epitélio folicular (Blazer, 2002). Os estágios de maturidade baseiam-se nas mudanças dessas estruturas e são classificados de acordo com a frequência de ocorrência das diferentes fases de desenvolvimento (Vazzoler, 1996; Dias *et al*. 1998).

Neste estudo foi adotado um critério de simplificação dos estádios de maturidade. Este critério foi adotado como recomendado por Vazzoler (1996) e Dias *et al*. (1998) como uma medida para minimizar erros de leitura das diferentes fases ovocitárias, os quais são comuns quando não se é conhecido o desenvolvimento gonadal da espécie em estudo. Outro aspecto a ser considerado, é a possibilidade de não se encontrar todos os estádios

representados nas amostras, o que dificulta ainda mais a identificação das diferentes fases que o ovócito apresenta durante o período reprodutivo. A adoção de uma escala mais simplificada, foi uma tentativa de padronização da classificação, o que é desejável, uma vez que a interpretação na leitura das diferentes fases de desenvolvimento pode ser subjetiva, além de evitar o uso de diferentes termos para as mesmas estruturas (West, 1990).

Para a classificação dos estádios de maturidade dos ovários foi adotada a escala proposta por Dias *et al*. (1998), de acordo com a freqüência de ocorrência das diferentes fases ovocitárias e a presença de folículos pós-ovulatórios, que é um indicativo de desova recente. As ocorrências foram registradas por fotomicrografias, com a utilização de uma câmera digital.

No presente estudo foi considerado como período reprodutivo o momento em que os indivíduos entram em processo de maturação até a desova.

Foram observadas 94 gônadas de exemplares de *A. lineatus* com amplitude de comprimento de 81 a 139 mm, tanto de machos como de fêmeas. As amostras de gônadas provieram dos exemplares das estações oceanográficas 3, 5, 6, 8 e 9. As estações 2 e 4, embora tenham apresentado ocorrência de *A. lineatus,* não tiveram amostras de gônadas.

Foi calculada a freqüência de distribuição dos estádios de maturidade gonadal por avaliação microscópica para todo o período, mensal e por estação oceanográfica para verificar a porcentagem de ocorrência para todo o período e para verificar qual a época e o local onde ocorreram as fêmeas desovantes, respectivamente.

A presença de fêmeas classificadas em estádio de maturidade gonadal D (hidratadas) e E (desovadas) foi indicativo do período de desova da população amostrada para a região, considerando-se que a desova é iminente e recente nesses estádios, respectivamente (Dias *et al*., 1998).

<u>Tratamento estatístico dos dados</u>

Para os resultados das proporções entre machos e fêmeas, foi aplicado o teste estatístico do $\chi 2$ (Zar, 1984), admitindo-se que a proporção esperada seja de 1:1:

$$\chi^2 = \sum (O-E)^2 / E$$

em que O é o observado, E é o esperado, *g.l.* é o grau de liberdade (g.l. =1**)** e *p* é o nível de significância ($p < 0.05$).

Foi aplicado o teste paramétrico *t* de *Student* para a comparação do valor do *b* amostral, estimado para a relação peso total-comprimento total, com o valor teórico (b=3).

## Resultados

Na tabela 4 estão os dados abióticos obtidos em campo: temperatura, salinidade e profundidade por estação oceanográfica ao longo do ano de 2005. Observou-se que na baía de Santos houve uma variação de temperatura de fundo entre 20,16º C a 26,04º C, sendo que as menores temperaturas ocorreram em setembro e as mais elevadas em março-abril. A salinidade variou entre 30,24 a 35,77, sendo que os menores valores ocorreram em outubro e os maiores valores em maio.

No canal de Bertioga a temperatura de setembro a dezembro variou entre 20,75 º C a 23,89 º C, e a salinidade que variou entre 26,16 e 33,68. Esses valores de salinidade, mais baixos que os da baía de Santos, são devidos à influência do aporte fluvial do rio Itapanhaú.

Tabela 4. Dados de temperatura (º C), de salinidade e de profundidade (m) nas estações de coleta da baía de Santos (# 1, 2, 3, 4, 5 e 6) e do canal de Bertioga (# 8 e 9) ao longo do ano de 2005. Esses dados referem-se às medições na profundidade máxima.

| | # 1 | | | # 2 | | | # 3 | | | # 4 | | | # 5 | | | # 6 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Temp.º C | Salinid. | Prof. (m) | Temp.º C | Salinid. | Prof. (m) | Temp.º C | Salinid. | Prof. (m) | Temp.º C | Salinid. | Prof. (m) | Temp.º C | Salinid. | Prof. (m) | Temp.º C | Salinid. | Prof. (m) |
| Janeiro | 25,03 | 33,96 | 13,07 | 25,20 | 34,02 | 12,21 | 25,25 | 33,90 | 10,10 | 25,23 | 33,85 | 6,18 | 25,23 | 33,81 | 7,76 | 25,18 | 33,66 | 6,04 |
| Fevereiro | 24,58 | 34,74 | 11,73 | 24,74 | 34,19 | 12,19 | 24,89 | 34,63 | 10,36 | 25,98 | 33,88 | 7,26 | 25,16 | 34,22 | 8,38 | 25,45 | 33,91 | 6,48 |
| Março | 24,71 | 35,34 | 10,40 | 24,23 | 35,45 | 11,68 | 24,80 | 35,39 | 9,69 | 26,04 | 34,48 | 6,60 | 25,53 | 34,95 | 8,10 | 25,13 | 35,12 | 7,29 |
| Abril | 25,85 | 33,51 | 10,12 | 26,02 | 33,51 | 12,20 | 25,69 | 33,26 | 10,20 | 25,74 | 33,08 | 6,08 | 25,66 | 33,10 | 7,66 | 25,68 | 33,12 | 8,47 |
| Maio | 24,47 | 35,77 | 12,74 | 24,66 | 35,65 | 12,32 | 24,98 | 30,45 | 10,66 | 25,60 | 34,78 | 7,20 | 25,23 | 34,97 | 8,16 | 25,08 | 35,09 | 9,54 |
| Junho | 23,64 | 34,61 | 11,15 | 23,78 | 35,06 | 11,05 | 23,66 | 34,19 | 8,18 | 23,21 | 32,18 | 6,26 | 23,61 | 34,11 | 7,34 | 23,50 | 33,86 | 5,58 |
| Julho | 21,63 | 34,97 | 10,28 | 21,60 | 34,83 | 9,24 | 21,48 | 35,02 | 8,12 | 21,69 | 33,91 | 6,14 | 21,61 | 34,26 | 5,37 | 21,64 | 34,73 | 4,57 |
| Agosto | 21,08 | 34,28 | 11,53 | 20,97 | 34,25 | 10,41 | 21,00 | 34,11 | 9,29 | 21,29 | 33,96 | 6,59 | 21,64 | 33,71 | 7,28 | 21,63 | 33,64 | 6,12 |
| Setembro | 20,19 | 33,11 | 11,26 | 20,20 | 33,17 | 11,49 | 20,19 | 33,11 | 10,37 | 20,17 | 32,89 | 6,98 | 20,16 | 32,84 | 8,41 | 20,16 | 33,01 | 7,31 |
| Outubro | 21,53 | 31,96 | 10,47 | 21,41 | 31,93 | 11,62 | 21,47 | 31,85 | 10,25 | 22,06 | 30,73 | 6,19 | 22,24 | 30,32 | 6,45 | 22,22 | 30,24 | 5,72 |
| Novembro | 22,49 | 33,40 | 11,36 | 20,56 | 33,90 | 12,14 | 20,62 | 33,88 | 10,17 | 23,65 | 31,49 | 7,17 | 23,71 | 32,21 | 6,74 | 23,73 | 32,23 | 6,78 |
| Dezembro | 22,04 | 34,65 | 12,14 | 22,18 | 34,58 | 12,25 | 23,24 | 33,91 | 9,25 | 23,35 | 33,65 | 5,41 | 23,55 | 33,66 | 6,49 | 22,61 | 34,01 | 5,66 |

| | # 8 | | | # 9 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Temp.º C | Salinid. | Prof. (m) | Temp.º C | Salinid. | Prof. (m) |
| Setembro | 21,29 | 26,53 | 4,52 | 20,75 | 32,00 | 4,48 |
| Outubro | 22,45 | 26,46 | 5,17 | 21,95 | 30,59 | 3,13 |
| Novembro | 23,63 | 26,16 | 3,59 | 23,34 | 28,91 | 6,12 |
| Dezembro | 23,75 | 27,95 | 5,60 | 23,89 | 33,68 | 3,59 |

*A. lineatus* ocorreu em todos os meses de coleta e em todas as estações, embora de maneira não uniforme, num total de 260 indivíduos, sendo 178 na baía de Santos e 82 no canal de Bertioga, com peso total de aproximadamente 6 kg (Tab. 5).

Tabela 5. Abundância absoluta em número e em peso, de *A. lineatus*, em todos os meses do ano de 2005, na baía de Santos, e a partir de setembro de 2005, no canal de Bertioga.

| Mês | N | Peso (g) | N | Peso (g) |
|---|---|---|---|---|
| | baía de Santos | | canal de Bertioga | |
| Jan | 10 | 261,95 | | |
| Fev | 5 | 156,74 | | |
| Mar | 30 | 825,74 | | |
| Abr | 7 | 164,65 | | |
| Mai | 94 | 2401,63 | | |
| Jun | 1 | 8,96 | | |
| Jul | 9 | 207,46 | | |
| Ago | 1 | 1,78 | | |
| Set | 3 | 84,23 | 25 | 446,33 |
| Out | 5 | 109,07 | 28 | 304,90 |
| Nov | 12 | 251,80 | 18 | 471,77 |
| Dez | 1 | 21,30 | 11 | 216,16 |
| Total | 178 | 4495,31 | 82 | 1439,16 |

Pela distribuição da freqüência mensal de abundância, observou-se que a ocorrência de *A. lineatus* no mês de maio na baía de Santos foi proporcionalmente bem maior que dos outros meses. O canal de Bertioga foi amostrado somente de setembro a dezembro e apresentou distribuição mais uniforme. Nota-se a maior abundância no canal de Bertioga em relação à baía no mesmo período (Fig. 5).

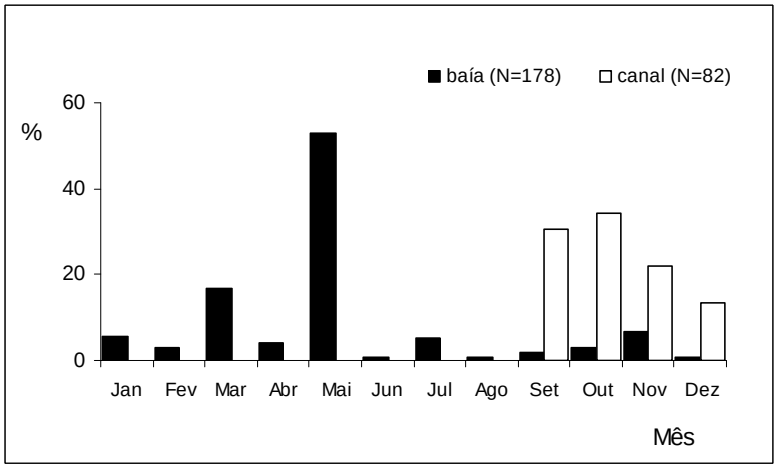



Figura 5. Distribuição da freqüência relativa de *A. lineatus*, por mês, na baía de Santos e canal de Bertioga no ano de 2005.

Quanto à distribuição da freqüência relativa por estação oceanográfica para todo o período, verificou-se uma tendência de distribuição para as estações oceanográficas 5, 6 na baía de Santos, e para ambas as estações no canal de Bertioga (Fig. 6). Essa distribuição pode estar relacionada com as menores profundidades desses locais.

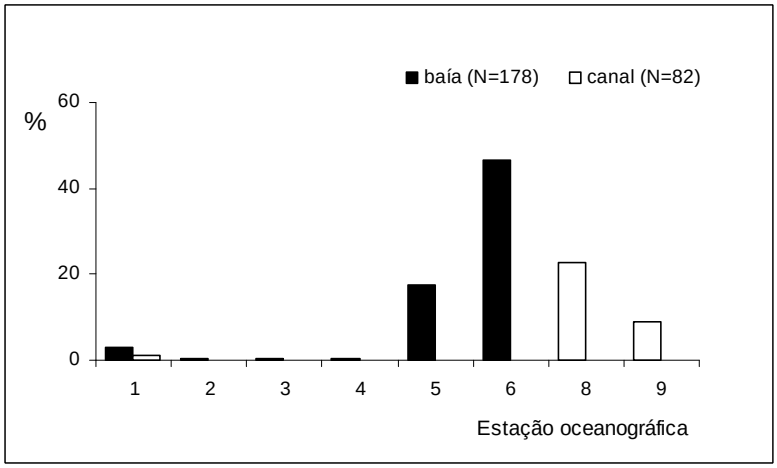



Figura 6. Distribuição da freqüência relativa de *A. lineatus*, por estação oceanográfica, na baía de Santos e canal de Bertioga no ano de 2005.

Na distribuição de freqüência relativa por classe de comprimento para todo o período, observou-se uma distribuição normal, sendo as classes de comprimento de 100 e 110 mm as de maior ocorrência na baía de Santos e de 80 a 110 mm no canal de Bertioga (Fig. 7).

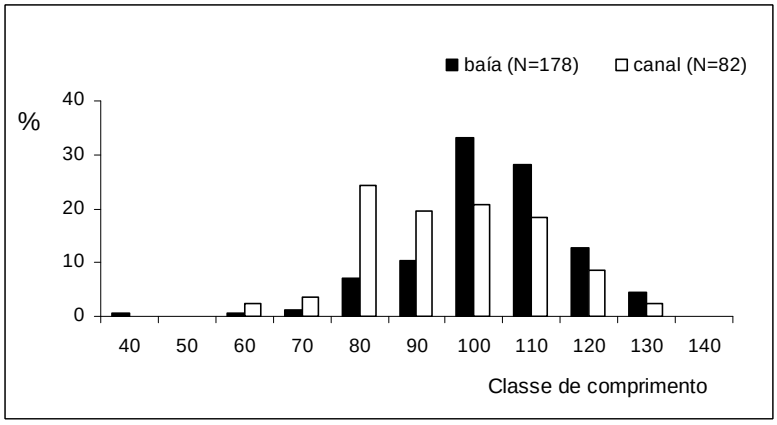
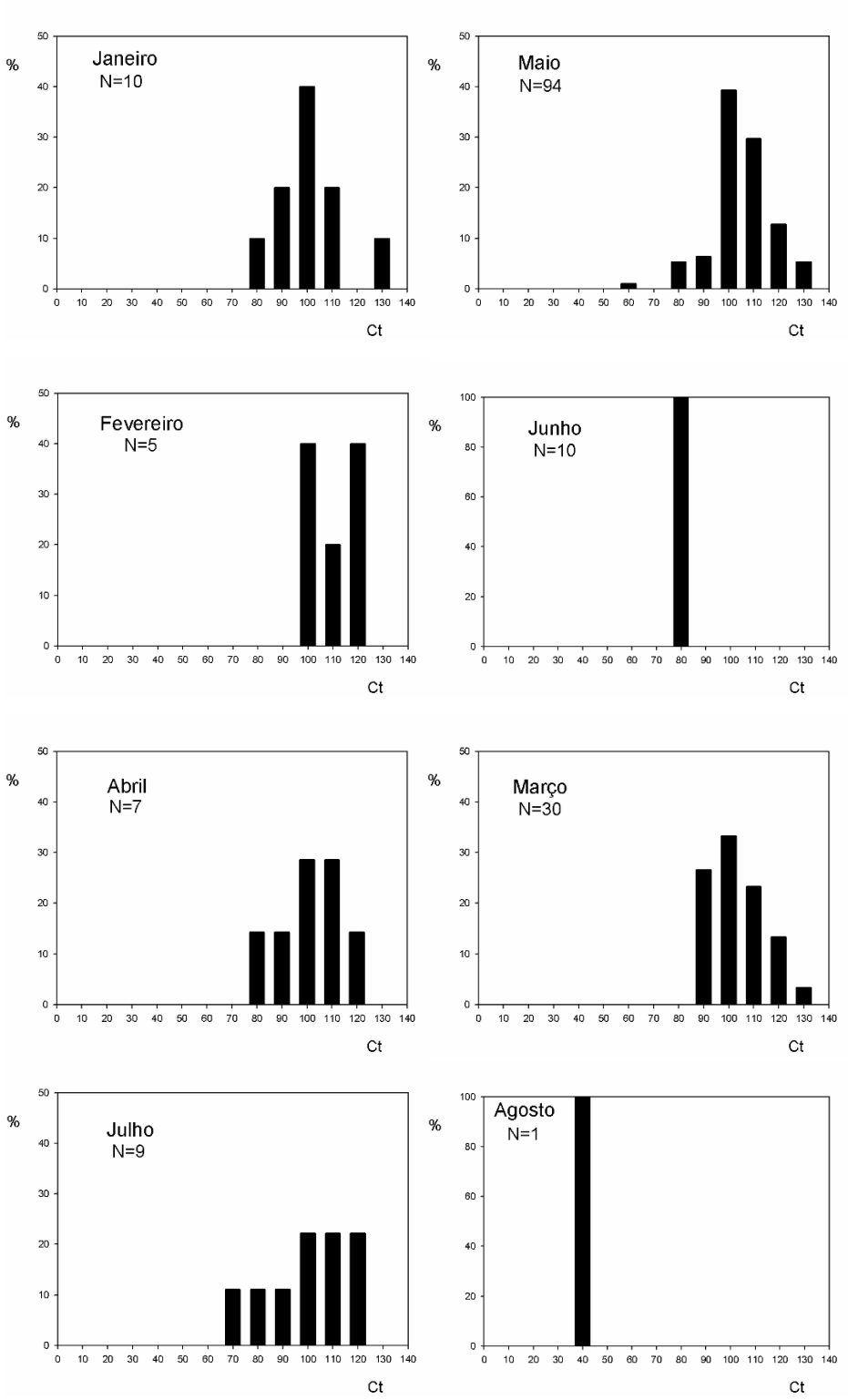



Figura 7. Distribuição de freqüência de classes de comprimento total para *A. lineatus* na baía de Santos e canal de Bertioga, para todo o período de coleta.

Para a verificação da época do recrutamento da população amostrada, foi analisada a distribuição de freqüência de classes de comprimento para cada mês de coleta na baía de Santos e no canal de Bertioga. Como a distribuição de ocorrência de *A. lineatus* não foi uniforme ao longo do ano, com alguns meses apresentando apenas um indivíduo, houve dificuldades na interpretação dos resultados. Como os indivíduos apresentaram uma distribuição de comprimento relativamente restrita, a ocorrência de um indivíduo de 41 mm, em agosto, pode ser uma indicação da época de recrutamento de rede para *A. lineatus*. Na baía de Santos, indivíduos menores que 80 mm ocorreram principalmente em maio, outubro e novembro e o menor exemplar, de 41 mm, que ocorreu em agosto (Fig.8).


Janeiro
N=10
Maio
N=94
Fevereiro
N=5
Junho
N=10
Abril
N=7
Março
N=30
Julho
N=9
Agosto
N=1
%
Ct

Cont,

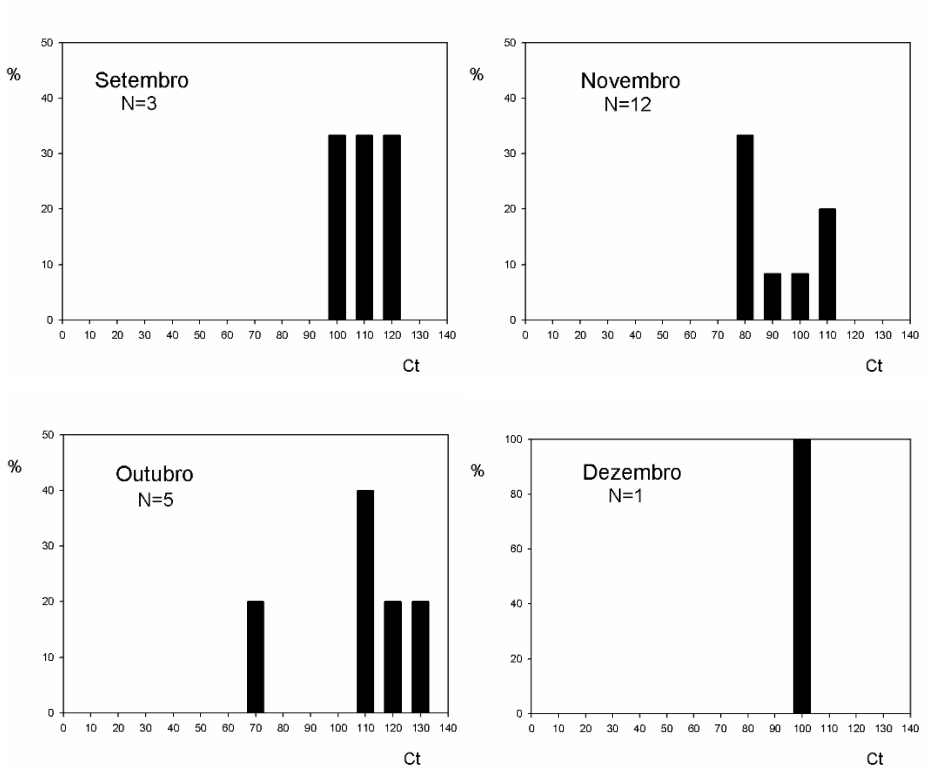



Figura 8. Distribuição de freqüência de classes de comprimento (Ct=mm) ao longo do ano para *A. lineatus* na baía de Santos.

Em relação ao canal de Bertioga, a distribuição da freqüência de classes de comprimento mostrou uma distribuição mais homogênea e uma configuração mais próxima do tipo normal, que apresentou a ocorrência dos menores indivíduos, na classe de 60 mm, nos meses de outubro e novembro (Fig. 9).

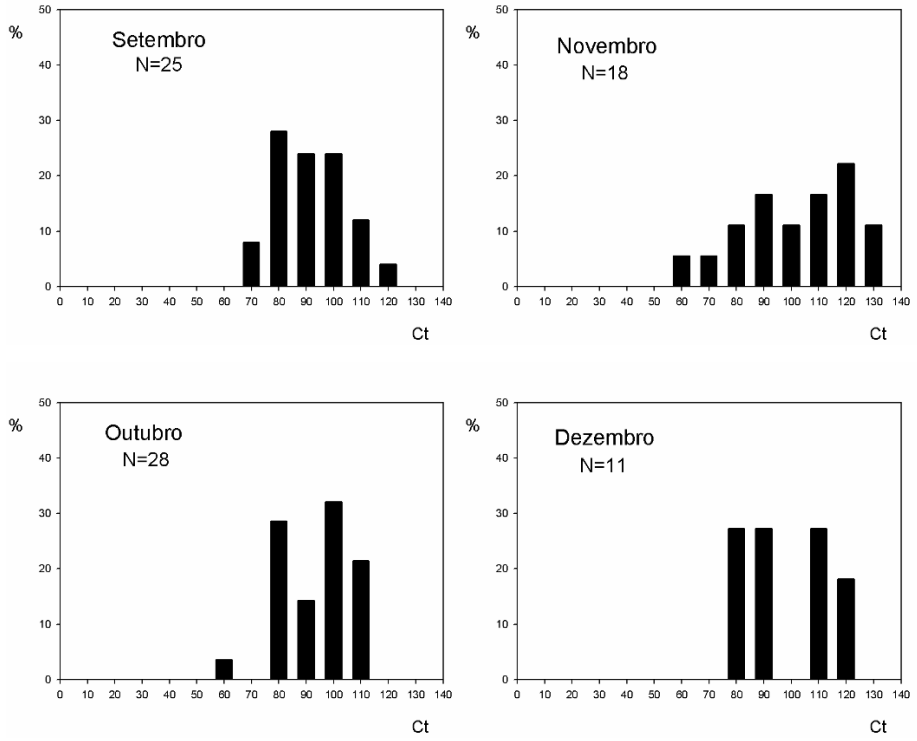



Figura 9. Distribuição de freqüência de classes de comprimento ao longo do ano para *A. lineatus* no canal de Bertioga.

Há algumas considerações a respeito desses dados: eles podem indicar que agosto foi o período de recrutamento de rede para a população amostrada, que os exemplares de menor comprimento não foram amostrados pela arte de pesca empregada ou que os indivíduos menores estavam em locais diferentes.

O valor obtido de *b* = 3,24 da relação peso total-comprimento total refletiu o padrão das espécies que têm um incremento maior em peso do que em comprimento, quando o valor de b é maior que 3, como é o caso de *A. lineatus* (Fig. 10). O teste *t* de *Student* mostrou que o *b* foi estatisticamente diferente de 3, indicando um crescimento alométrico positivo.

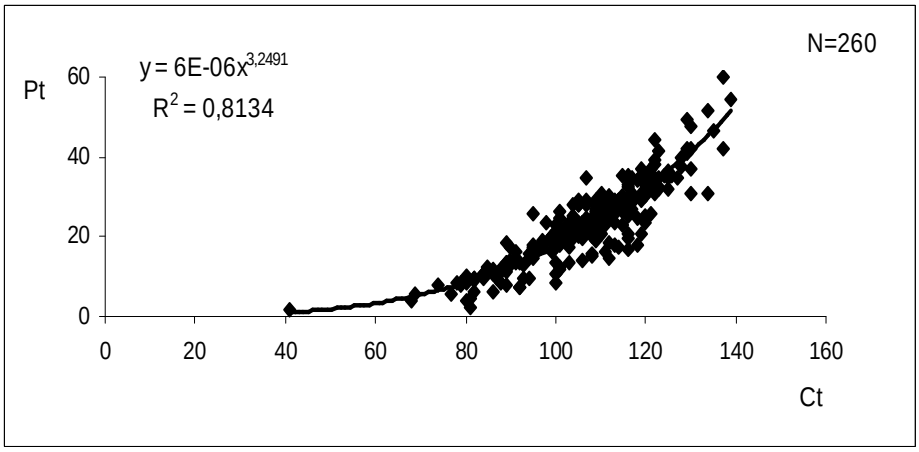



Figura 10. Ajuste de curva do modelo potencial aos dados de peso total e comprimento total de todos os indivíduos coletados de *A. lineatus* para o período total na baía de Santos e canal de Bertioga.

O gráfico de dispersão incluiu dados das fêmeas e dos machos, porém convém mencionar que os poucos machos, num total de cinco exemplares, ocorreram entre as classes de comprimento de maiores ocorrências (100 a 120 mm).

Observou-se o predomínio de indivíduos jovens, cerca de 2/3 (63%) em todo o período de estudo, como pode ser observado na figura 11-A. Os meses de julho e agosto apresentaram uma única ocorrência cada, entretanto, os meses referentes à primavera e o verão apresentaram uma proporção mais equilibrada entre jovens e adultos.

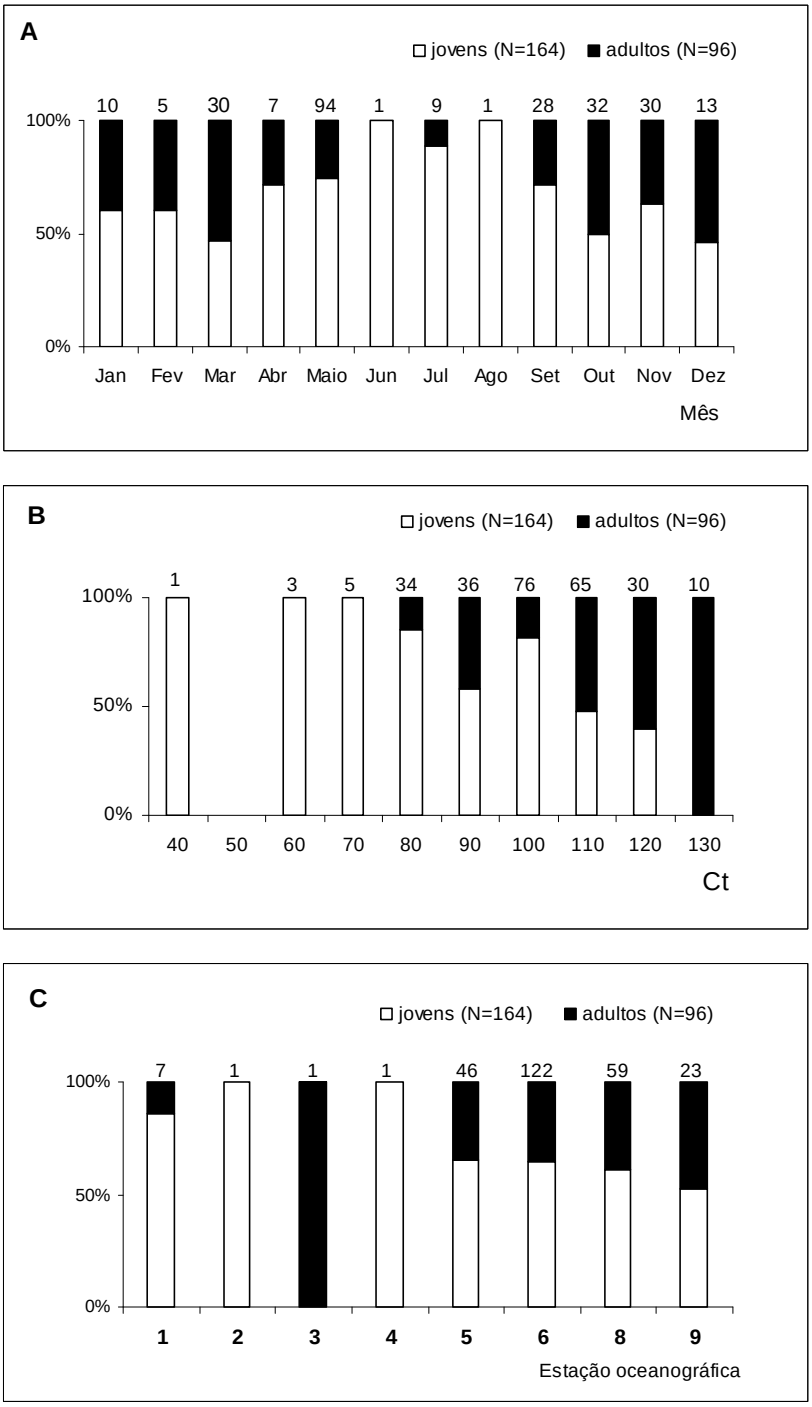



Figura 11. Distribuição de freqüência de jovens (estádio A) e adultos (estádios B + C =D + E) de *A. lineatus* ao longo de um ano (A), por classe de comprimento (B) e por estação oceanográfica (C) na baía de Santos e no canal de Bertioga.

A distribuição de freqüência de jovens e de adultos por classe de comprimento mostrou, segundo a classificação de maturação gonadal macroscópica, que indivíduos com comprimentos na classe de 80 mm, já iniciaram o processo de maturação gonadal e que na classe de 130 mm todos

os indivíduos já se tornaram adultos. A proporção mais equilibrada entre jovens e adultos ocorreu nas classes de comprimento 110 e 120 mm (Fig. 11-B).

A proporção de jovens e adultos por local de coleta mostrou o predomínio dos jovens em todas as estações oceanográficas, exceto na estação 3. As estações oceanográficas 5, 6, 8 e 9 apresentaram o maior número de indivíduos e talvez reflitam, de maneira mais consistente, o predomínio dos jovens na região de amostragem, ao passo que as estações oceanográficas 2, 3 e 4 não são representativas em função da ocorrência de apenas um indivíduo por local (Fig.11-C).

Na baía de Santos e no canal de Bertioga, as fêmeas foram predominantes sobre os machos e ocorreram em 91,2% das amostras para todo o período de estudo. Foi registrada somente a ocorrência de dez machos, todos na baía, entretanto, para essa estimativa não foram considerados os indivíduos de sexo não identificado, como é o caso dos indivíduos coletados nos meses de junho e agosto (Fig. 12-A). Dessa maneira, a proporção de machos e de fêmeas calculada para essa população, talvez não reflita, necessariamente, a realidade.

Todos os meses de coleta apresentaram diferenças significativas nas proporções sexuais, com predominância das fêmeas, exceto no mês de julho onde os machos foram predominantes, mas com a ressalva de que apenas quatro indivíduos tiveram o sexo identificado nesse mês.

Um fator que pode ter contribuído para essa grande diferença nas proporções sexuais, foi a dificuldade na identificação do sexo em exemplares muito pequenos, principalmente devido à posição das gônadas dos machos em relação à das fêmeas na cavidade abdominal: enquanto os ovários aumentam de tamanho e acompanham a linha ântero-posterior do corpo, os testículos permanecem na reduzida e arredondada cavidade abdominal. Assim, machos imaturos podem ter sido classificados como indivíduos com sexo “não identificado”, o que poderia mascarar sua verdadeira abundância.

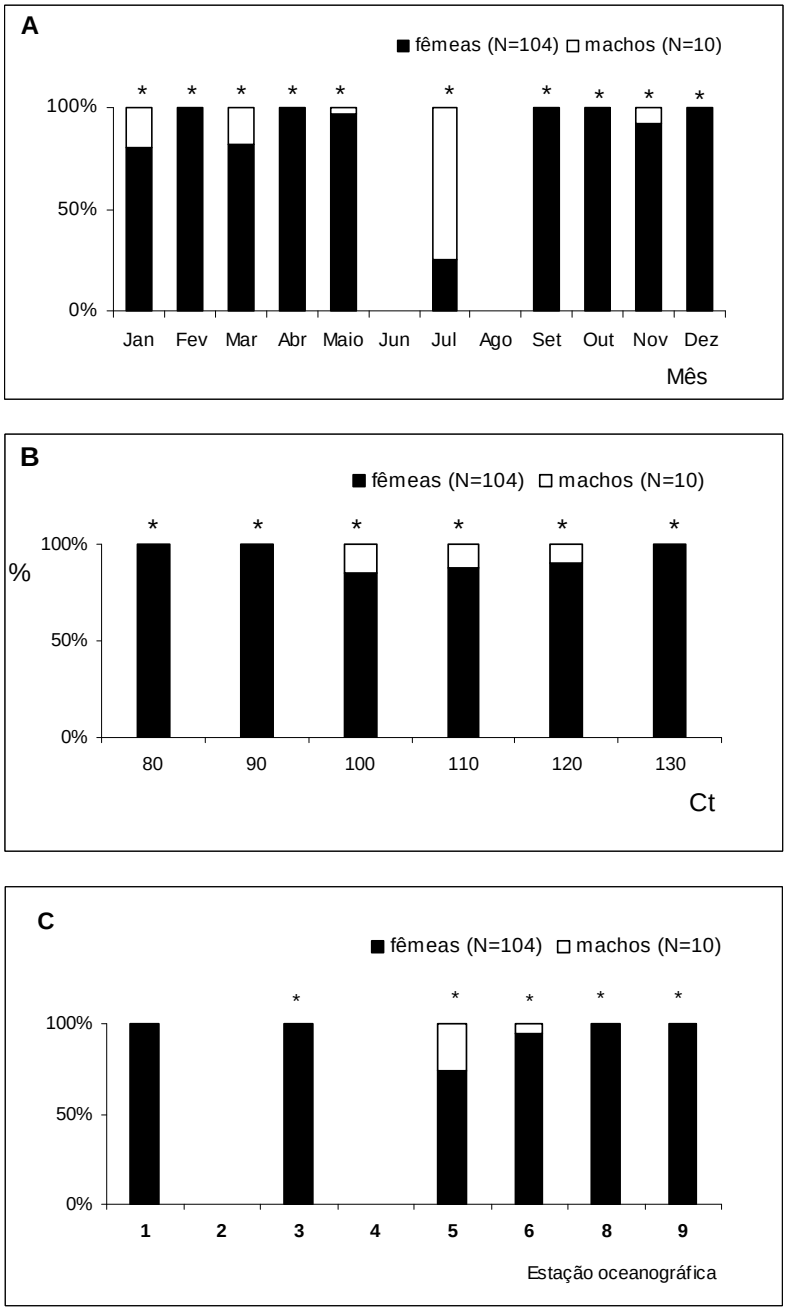



Figura 12. Distribuição de freqüência de machos e de fêmeas de *A. lineatus*, ao longo do ano (A), por classe de comprimento (B) e por estação oceanográfica (C) na baía de Santos e no canal de Bertioga. O símbolo (*) indica diferenças significativas para $p < 0,05$.

Os poucos machos ocorreram nas classes de comprimentos 100, 110 e 120 mm, as quais tiveram maior ocorrência para a população amostrada (Fig. 12-B). Do total, sete machos ocorreram na estação 5 e três na estação 6 (Fig. 12-C). Apesar da grande abundância de *A. lineatus* no canal de Bertioga, não foram capturados machos.

Foi estimado o comprimento médio de início de primeira maturação gonadal para ambos os sexos através dos valores da freqüência dos indivíduos adultos por classe de comprimento. O valor de $L_{50,}$ que corresponde à estimativa do comprimento em que 50% da população estão iniciando o período reprodutivo, foi 111,7 mm (Fig. 13).

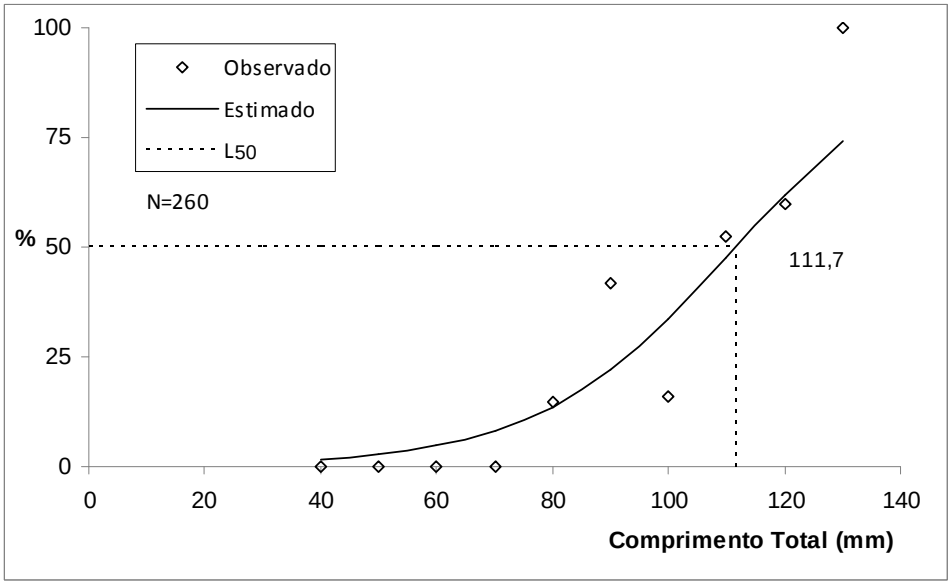



Figura 13. Ajuste de uma curva logística aos valores da porcentagem para ambos os sexos de *A. lineatus* da baía de Santos e canal de Bertioga.

As amostras foram, então, separadas em indivíduos jovens e adultos de acordo com o valor do $L_{50}$ das fêmeas dos exemplares coletados. Foram considerados jovens os indivíduos com comprimento abaixo de 111,7 mm, e acima desse valor, indivíduos adultos.

O comprimento médio de início de primeira maturação gonadal estimado só para as fêmeas, mostrou uma grande redução do valor do $L_{50}$ (78,5 mm). Uma maior inclinação da curva do $L_{50}$, no caso das fêmeas, pode refletir rápido processo de maturação, uma vez que em pequeno intervalo de comprimento há a passagem de fêmeas imaturas para maduras. Essa discrepância de valores dos $L_{50}$ foi devido ao grande número de indivíduos com sexo não identificado, os quais foram classificados com imaturos (estádio A) quando considerados os sexos grupados.

Os valores da RGS indicam a proporção do peso da gônada em relação

ao peso total (RGS1) e em relação ao peso do corpo (RGS2). Os valores estimados de RGS, aliados aos parâmetros de outras variáveis do período reprodutivo, podem se tornar um bom estimador quantitativo do período da desova. Os resultados aqui apresentados se referem à RGS1 e à RGS2 das fêmeas ao longo do ano na baía de Santos e no canal de Bertioga (Fig.14 A - B).

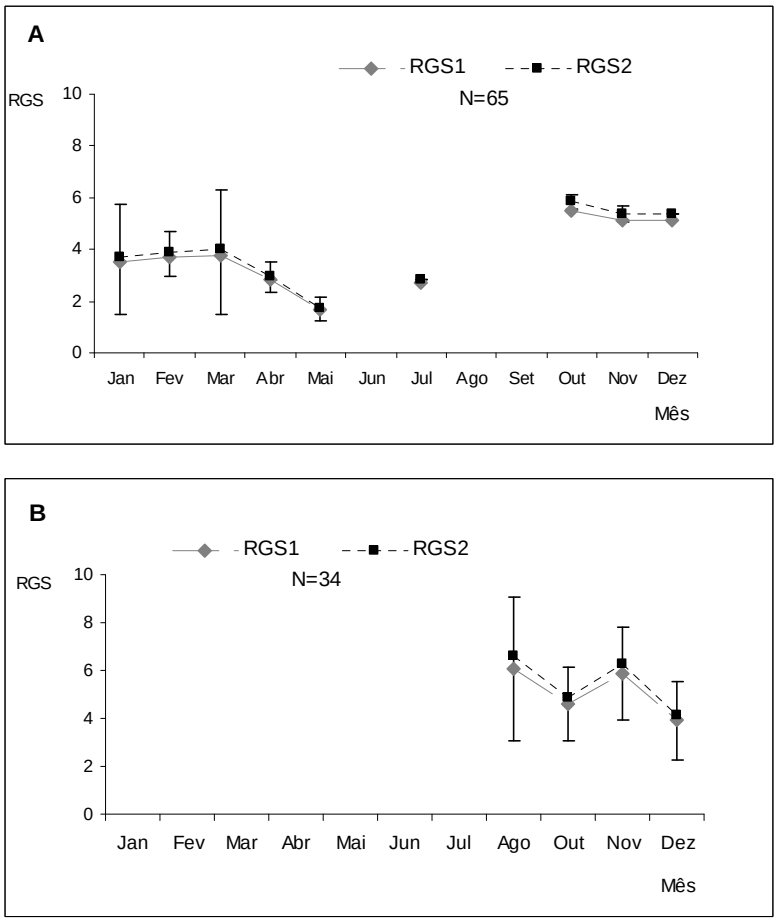



Figura 14. Variação mensal dos valores médios e respectivos desvios da relação gonadossomática (RGS1 e RGS2) em fêmeas de *A. lineatus* na baía de Santos (A) e canal de Bertioga (B).

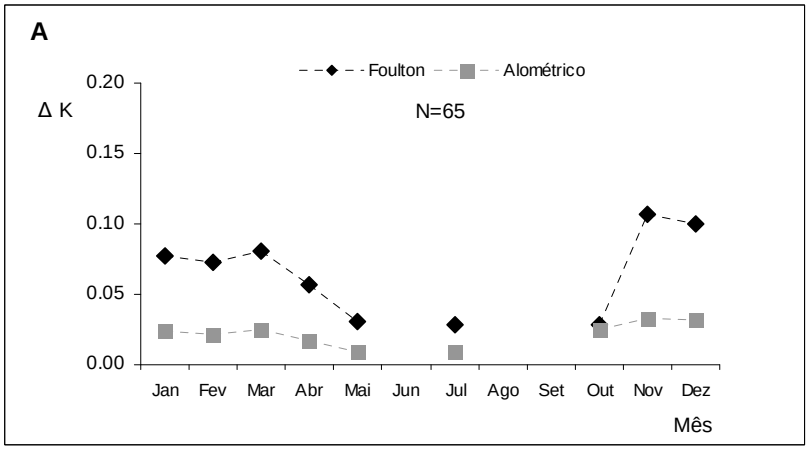
Um maior nível de desenvolvimento gonadal foi representado pelos valores mais altos da RGS da baía de Santos, em torno de 4 %, de janeiro a março (Fig 14-A), seguido de uma queda acentuada dos valores, que representa uma redução do peso das gônadas, e sugerem que houve um período de desova. No fim da primavera e começo de verão foram estimados

valores mais elevados (6 %). A ausência de fêmeas adultas nos meses de junho, agosto e setembro não permitiram uma interpretação adequada, mas os resultados de julho sugeriram aumento progressivo da RGS no período entre junho e outubro.

No canal de Bertioga, foram observados valores altos da RGS, alternados entre 6 e 4 %. Esse resultado pode ser um reflexo da alta ocorrência de fêmeas no estádio C de maturidade. A queda de valores entre novembro e dezembro é semelhante ao padrão da baía de Santos, porém muito pouco conspícua.

A grande amplitude dos desvios dos meses de janeiro, março (baía) e setembro (canal) indica que as amostras apresentaram tanto fêmeas imaturas como fêmeas em estádios mais avançados de maturação, como as fêmeas hidratadas, uma vez que valores individuais da RGS alcançaram 10 % do peso total.

Os valores do fator de condição, tanto de Fulton como o alométrico na baía de Santos, mostraram os mais altos valores nos meses de janeiro a março e em novembro e dezembro. Tais resultados sugerem uma melhor condição dos indivíduos ou maior disponibilidade alimentar no ambiente nessas épocas do ano, ou ainda um maior desenvolvimento das gônadas, uma vez que as tendências acompanharam as variações da RGS, exceto para outubro. Pôde ser observada uma queda dos valores a partir de março (Fig. 15 A).



Cont.

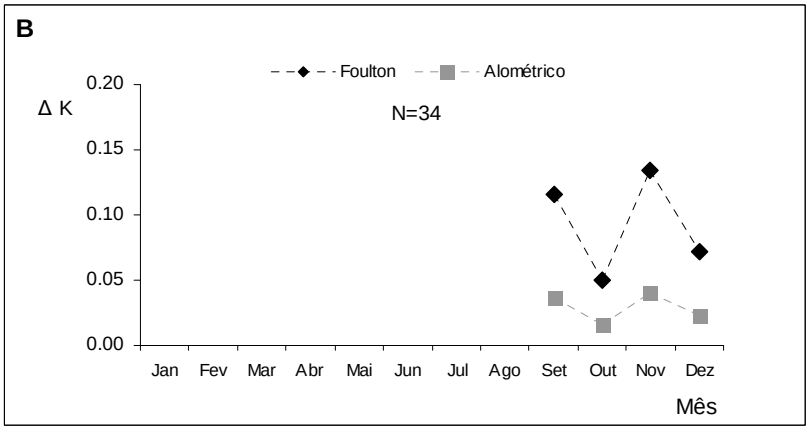



Figura 15. Variação mensal dos valores médios do fator de condição de Foulton e do alométrico em fêmeas de *A. lineatus* na baía de Santos (A) e canal de Bertioga (B).

No canal de Bertioga foram observados valores do ΔK de Fulton mais elevados do que na baía de Santos, e evidenciaram duas quedas nos valores de setembro a outubro e de novembro a dezembro. Os valores do fator de condição não apresentaram o mesmo padrão nas duas localidades, exceto no mês de novembro (Fig. 15-B).

A partir da leitura de 94 preparações permanentes foi observado que muitas gônadas apresentaram características de deterioração, o que pode ser explicado pelo fato de que as gônadas provenientes do primeiro semestre de amostragem terem sido congeladas antes da fixação, ao passo que as amostras coletadas no segundo semestre foram fixadas ainda frescas. Entretanto, foi possível verificar que todos os estádios de maturação gonadal estavam representados nas amostras.

Ao observar o desenvolvimento ovariano, foi verificado que *A. lineatus* apresentou o tipo assincrônico em função da observação de ovócitos em várias fases de desenvolvimento na mesma amostra de tecido. Cabe lembrar ainda que a amostra do tecido analisada representa apenas uma pequena porção e pode não apresentar a gônada com um todo.

Dessa maneira, a classificação dos estádios de maturação gonadal foi baseada nas leituras das amostras das preparações permanentes (Fig. 16):

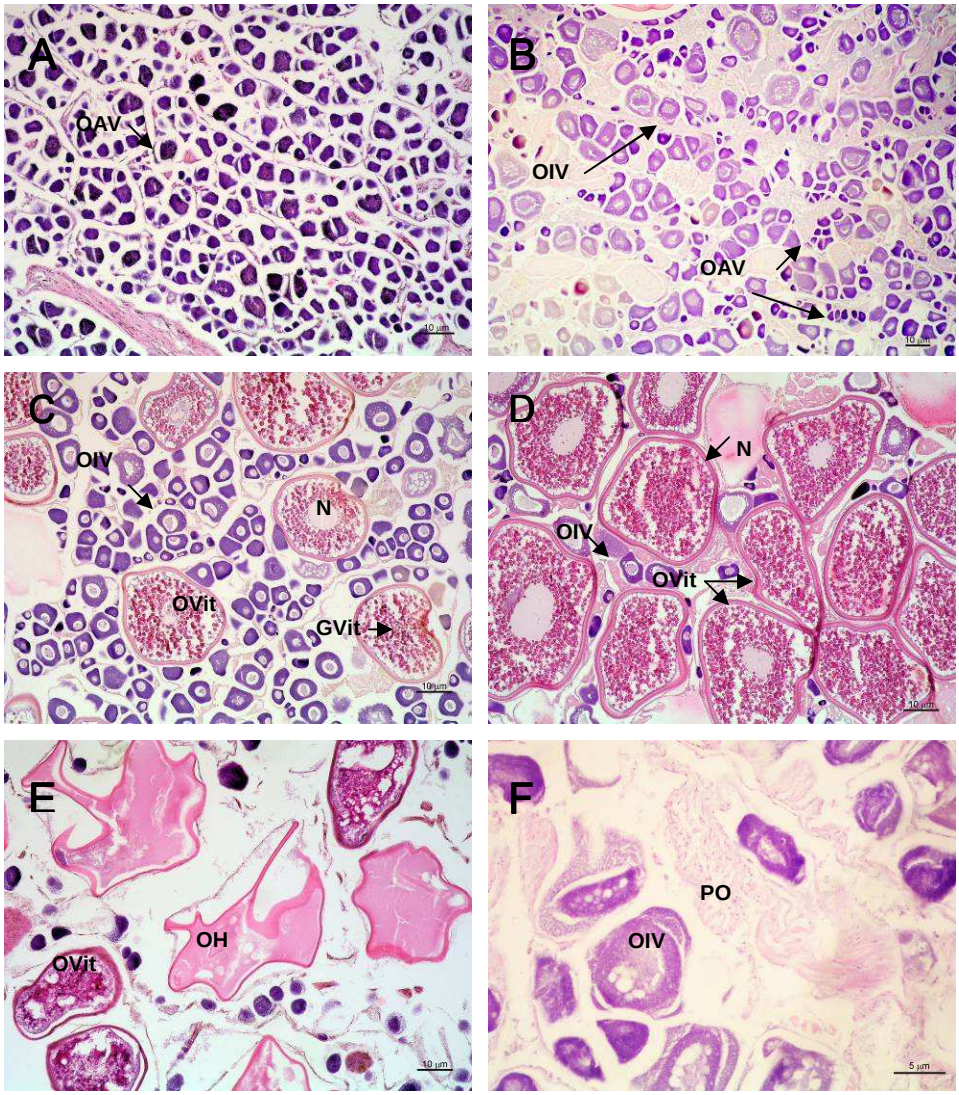



Figura 16. Fotomicrografias dos estágios de desenvolvimento dos ovócitos. A-F: ovários de *A. lineatus.* Coloração HE. A- ovócitos avitelogênicos (OAV), aumento 100x. B- ovócitos com início de vitelogênese (OIV), com nucléolos na periferia do núcleo, aumento 100x. C- ovócitos com vitelogênese (OVit) lipídica e protéica, núcleo (N) central e grânulos de vitelo (GVit) no citoplasma, aumento 100x. D- ovócitos maduros (OVit) com núcleo na periferia, aumento 100x. E- ovócitos hidratados (OH), aumento 100x. F: folículo pós-ovulatório (PO), aumento 400x.

Os estádios de maturidade gonadal para as fêmeas podem ser caracterizados como se segue:

Estádio A – presença de ovócitos na fase 1, avitelogênicos, com citoplasma basófilo e um a mais nucléolos evidentes.

Estádio B – além da fase anterior, apresenta ovócitos com início de vitelogênese, em que se podem observar nucléolos na periferia do núcleo e ovócitos com vitelogênese lipídica ou proteica ou ambas (fases 2 a 5).

Estádio C – presença de ovócitos com vitelogênese completa (fase 5), com tamanho aumentado e citoplasma com vacúolos lipídicos (todas as fases

anteriores com maior freqüência de ovócitos maduros).

Estádio D – presença de ovócitos hidratados (fase 6) caracterizados pelo grande aumento de volume devido à hidratação. Ocorre, também, fusão dos grânulos de vitelo que dão ao citoplasma uma aparência uniforme.

Estádio E – presença de folículos pós-ovulatórios, com hipertrofia das células foliculares que ocupam o espaço deixado pelo ovócito.

Todos os estádios foram identificados nas amostras dos ovários, que representaram todo o período reprodutivo da espécie *A. lineatus* dentro das áreas de estudo.

Após a classificação microscópica dos ovários, foi feita a distribuição de freqüência dos estádios de maturação gonadal macro e microscópica para todo o período de estudo, que permitiu observar uma alta freqüência do estádio C, em relação a todos os outros estágios (Fig. 17). Observou-se que a classificação macroscópica das gônadas, em geral, não diferiu da classificação microscópica, principalmente em relação aos estágios iniciais, entretanto, não evidenciou o estádio D (hidratado) e subestimou o estádio E (desovado).

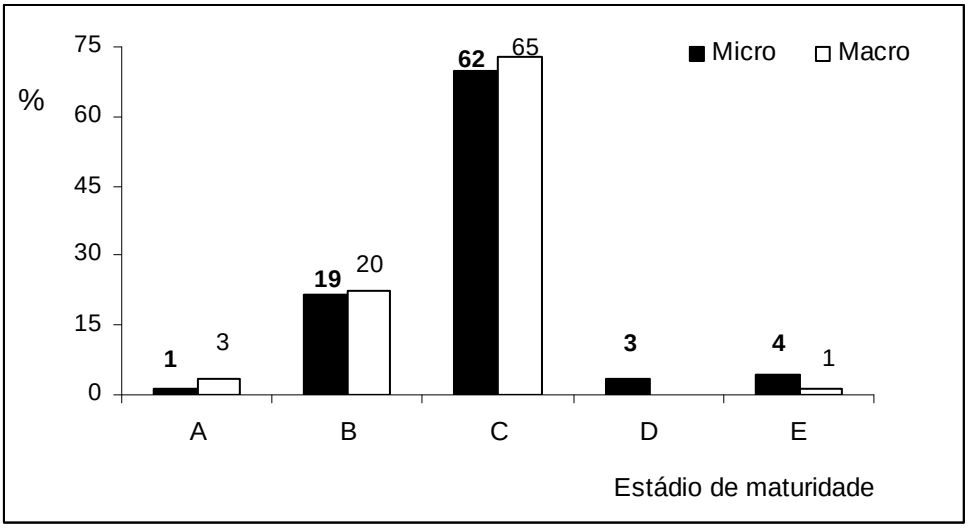



Figura 17. Distribuição de freqüência dos estádios de maturação gonadal das fêmeas de *A. lineatus*, avaliados macro e microscopicamente em todo o período de estudo. Número em cima das barras=N amostral.

A distribuição de freqüência dos estádios de maturação gonadal das fêmeas ao longo do ano mostrou que o estádio C de maturação ocorreu em

praticamente todos os meses, com exceção do inverno, onde ocorreram indivíduos imaturos e em maturação. Este fato indica que, ao longo do ano, houve a presença de fêmeas que já iniciaram a atividade reprodutiva que culminará na desova (Fig. 18). As fêmeas desovadas ocorreram apenas em março, mas o estádio E (desovado) que também indica desova recente foi observado nos meses de janeiro e maio.

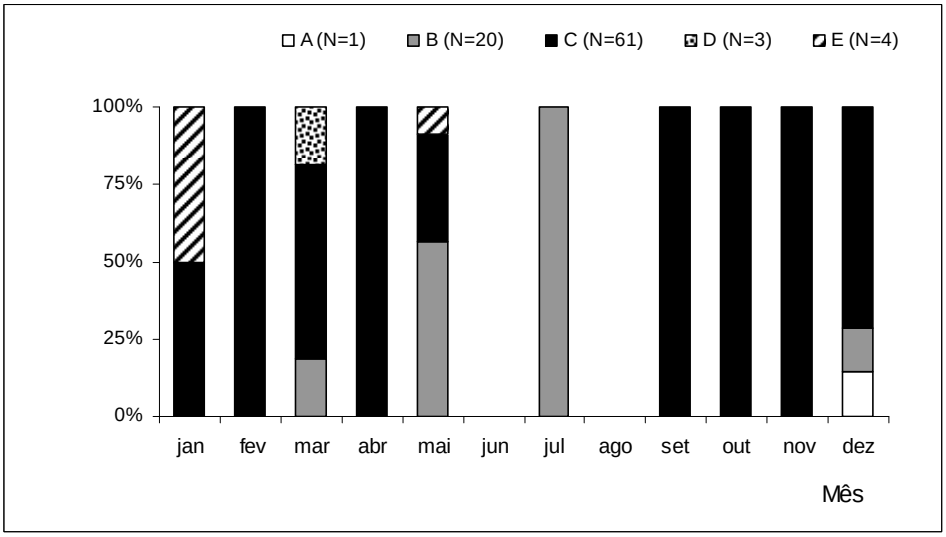



Figura 18. Distribuição de freqüência dos estádios de maturação gonadal das fêmeas de *A. lineatus*, por mês, avaliados microscopicamente em todo o período de estudo na baía de Santos e no canal de Bertioga.

A ocorrência de fêmeas no estádio D (hidratado) e do estádio E (desovado) é um indicativo de que a espécie desovou no verão e no outono.

A distribuição de freqüência dos estádios de maturação gonadal por local de coleta revelou que as fêmeas desovantes encontraram-se nas estações 5 e 6 da baía de Santos. Essas estações apresentaram um padrão de distribuição muito semelhante entre si (com exceção da ausência do estádio E na estação 5), além de apresentarem amostras com mais estádios distintos. Nas estações 8 e 9, em Bertioga, houve o predomínio do estádio C em praticamente em todos os ovários analisados. Mas não foram encontradas fêmeas desovantes nesse local (Fig.19).

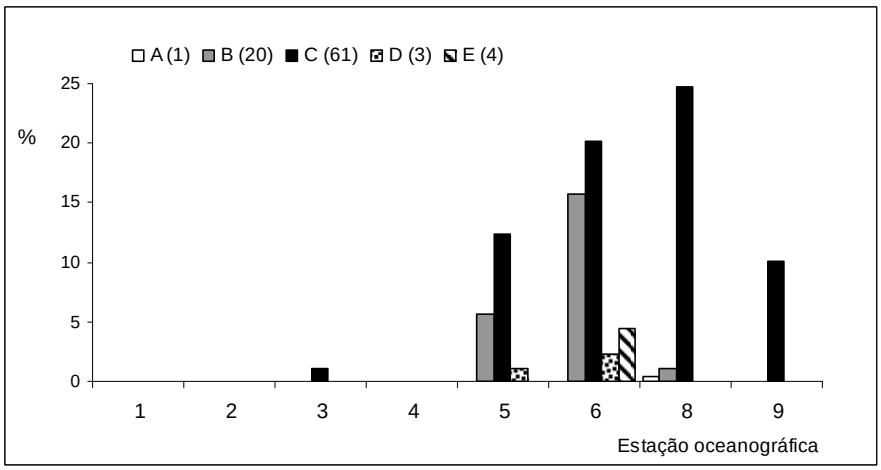



Figura 19. Distribuição de freqüência dos estádios de maturação gonadal das fêmeas de *A. lineatus*, por local de coleta, avaliados microscopicamente em todo o período de estudo.

## Discussão

Um dos requisitos para uma espécie colonizar e habitar uma determinada área é seu potencial para garantir o sucesso reprodutivo dessa espécie, seja na própria área, seja nas proximidades onde sua presença seja garantida por fluxos migratórios e/ou por distribuição passiva dos estágios inicias de seu ciclo de vida (Nissling *et al.*, 2002).

Pelos resultados obtidos no presente estudo, foi verificado que a espécie *A. lineatus* passa todo seu ciclo de vida no sistema estuarino de Santos - São Vicente. As evidências encontradas foram a observação de indivíduos jovens, de fêmeas em maturação e maduras, tanto na baía de Santos como no canal de Bertioga, de fêmeas desovantes na baía de Santos e do registro da ocorrência de larvas dessa espécie nos canais de Santos e Bertioga e na baía de Santos (Katsuragawa, 2008).

Houve evidências de que a espécie possui o tipo assincrônico de desenvolvimento ovocitário. Esse fato tornou a classificação dos estádios um pouco mais complexa, desde que teve que ser considerada a freqüência de ocorrência dos ovócitos nos diferentes estágios de desenvolvimento (Dias *et al.*, 1998; 2005). Supõe-se que a desova seja parcelada pela alta ocorrência de fêmeas no estádio C de maturidade gonadal, indicando a presença de lotes de ovócitos em fase de pré-desova ao longo de todo ano.

Foi estimado que a desova ocorreu entre o verão e o outono. Outro provável período de desova foi observado, a partir de quedas nos valores da RGS estimados para indivíduos do canal de Bertioga, no final da primavera, entre novembro e dezembro, porém, sem a constatação de fêmeas desovantes. A atividade de desova só foi observada na baía de Santos, nas estações oceanográficas 5 e 6, próximas à boca do canal de Santos.

*A. lineatus* ocorreu ao longo de todo ano de coleta e em todas as estações oceanográficas, mas sua presença foi mais intensa nas estações mais rasas: entre 4 e 9,5 m nas estações 5 e 6 na baía de Santos e entre 3 e 6,5 metros nas estações 8 e 9 no canal. A exceção foi a estação 4 em que, apesar de rasa, houve a ocorrência de apenas um indivíduo ao longo do ano. Esse parece ser o parâmetro abiótico de maior influência na sua distribuição, desde que não houve variações marcantes das propriedades hidrográficas entre as estações, como as temperaturas de fundo, que apresentaram intervalos médios de variação ao longo do ano, entre 22,96 ºC (± 2,02) e 23,67 ºC (± 2,05) na baía de Santos e entre 22,48 ºC (± 1,42) e 22,78 ºC (± 1,16) no canal de Bertioga. Quanto à salinidade, o intervalo médio de variação foi entre 33,24 (± 1,22) e 34,21 (± 1,03) na baía de Santos e entre 26,78 (± 0,80) e 31,30 (± 2,03) no canal de Bertioga.

Os meses de maior ocorrência de *A. lineatus* foram março e maio, quando os valores médios de temperatura estavam em torno de 25 ºC e a salinidade em torno de 34,5 na baía de Santos. No canal de Bertioga, os meses de maior ocorrência foram setembro e outubro com valores médios de temperatura de aproximadamente 22 ºC e 29 de salinidade.

Maciel (2001) em seus estudos sobre composição, abundância e distribuição da ictiofauna do complexo estuarino-lagunar de Iguape-Cananéia, verificou que *A. lineatus* foi associado às águas mais rasas, às salinidades mais elevadas e às temperaturas mais baixas. O mesmo foi verificado no presente estudo, entretanto, a maior ocorrência na baía de Santos esteve relacionada com os locais e os meses que apresentaram temperaturas de fundo mais elevadas, as quais ocorreram no verão e no outono.

A estrutura da ictiofauna demersal da laguna Joyuda em Porto Rico foi estudada durante um ano e *A. lineatus* foi a espécie mais abundante, com cerca de 30% do total de captura (Stoner,1986). *A. lineatus* foi uma das

espécies dominantes na comunidade de peixes do sistema de Iguape-Cananéia, embora pouco abundante, foi freqüente durante todo o período de amostragem (Maciel, 2001). Resultados semelhantes foram obtidos por Diniz Filho (1997) e por Peres-Rios (2001) no mesmo sistema estuarino ao verificarem que *A. lineatus* foi dominante nos arrastos de fundo. Na baía de Santos, Ribeiro Neto (1989) constatou a presença da espécie, em particular do lado leste da baía e no outono. No presente estudo, a espécie não foi abundante em número ou em peso, representou um pouco mais que 5% do total da captura, mas sua presença foi freqüente ao longo do ano (Dias, 2008).

A amplitude de comprimento total dos exemplares capturados foi 41 a 139 mm e indivíduos de classes de comprimento menores que 40 mm não foram amostrados. Peres-Rios (2001), em seus estudos sobre a biologia reprodutiva de *A. lineatus* no sistema costeiro Cananéia-Iguape, verificou que a espécie passa todo o seu ciclo de vida dentro do sistema e encontrou em suas amostras, praticamente a mesma amplitude de comprimento do presente estudo, entre 51 e 135 mm, embora com um tamanho médio um pouco inferior (102,23 mm). Cabe ressaltar que os trabalhos de Diniz Filho (1997), Maciel (2001) e Peres-Rios (2001) utilizaram o mesmo petrecho e a mesma malha de rede para as capturas.

Louro (2007) ao estudar a distribuição de comprimento dos exemplares de *A. lineatus*, observou que indivíduos de pequeno porte foram encontrados na zona intermediária da região de coleta, entre a desembocadura do rio Itanhaém e a área mais interna do rio, enquanto que os maiores foram encontrados na área da desembocadura do rio, próxima ao mar. O menor indivíduo capturado apresentou 43 mm e o maior 141 mm.

Stoner (1986), na laguna Joyuda em Porto Rico, constatou a ocorrência de *A. lineatus* menores que 26 mm, ao longo de todo o ano, com exceção do mês de outubro. Em função da ocorrência desses juvenis, o autor concluiu que a espécie se reproduziu durante todo o ano dentro dos limites da laguna. No presente estudo não foram coletados juvenis, sendo que um único indivíduo de 41 mm de comprimento foi coletado em agosto o que sugeriu ser esta a época de recrutamento de rede para a espécie.

Embora essas diferenças possam ter causas diversas, como as características da arte de pesca empregada, convém salientar que os arrastos

foram realizados somente durante o dia e que as variações de tamanho das amostras podem estar relacionadas aos padrões de distribuição entre os períodos de atividade e inatividade da espécie e estes, por sua vez, relacionadas ao padrão de atividade das presas (Helfman, 1993). Essas características, aliadas ao comportamento de fuga da rede, a qual é dependente do nível de luz (Engas, 1994), podem ter influenciado nos resultados obtidos. Outro estudo foi conduzido por Stoner (1991) na lagoa Joyuda, para uma avaliação sobre variação circadiana da ictiofauna, e foi verificado que *A. lineatus* apresentou diferenças significativas nas coletas realizadas durante o dia e durante à noite, quanto ao comprimento, na estação de seca de 1987: os indíviduos coletados à noite (67±20 mm) foram maiores do que os coletados de dia (57±17 mm). Já na estação chuvosa do mesmo ano, não houve diferenças significativas entre as capturas noturnas (76±12 mm) e diurnas (71±16 mm).

Peres-Rios (2001) calculou, entre outros parâmetros reprodutivos de *A. lineatus*, o valor do $L_{50}$ estimado em 78,0 mm para as fêmeas e 75,3 mm para os machos. No presente estudo, o valor do $L_{50}$ foi estimado em 111,7 mm para os sexos grupados e 78,5 mm para as fêmeas. Dias *et al*. (2005) estimou para as fêmeas de *Citharichthys spilopterus* coletadas no saco do Mamanguá (RJ) o valor de 117 mm. Essas diferenças de valores entre indivíduos da mesma espécie, bem como entre espécies diferentes, podem indicar processos de maturação mais lentos, como no caso da população de *A. lineatus* da baía de Santos e do canal de Bertioga em relação à população amostrada em Cananéia por Peres-Rios (2001). Entretanto, quando se consideram somente as fêmeas, *A. lineatus* apresenta o mesmo comprimento de primeira maturação nas duas localidades.

Segundo Vazzoler (1996), a temperatura e a disponibilidade de alimento podem também causar diferenças nos valores do $L_{50}$. Essa afirmação leva à conclusão que, da mesma forma que alguns fatores ambientais podem disparar o processo da maturação gonadal, podem também causar um efeito inverso. Assim, fica a questão: um ambiente impactado como o sistema estuarino de Santos - São Vicente pode determinar condições menos favoráveis ao desenvolvimento gonadal que é refletido num valor do $L_{50}$ maior na espécie *A. lineatus*? Outra questão, que não está sendo considerada, é a taxa de

crescimento dessas populações de locais diferentes.

Mesmo com ambas as populações amostradas (Santos e Cananéia) tendo praticamente a mesma amplitude de comprimento, os resultados foram antagônicos quanto ao predomínio de jovens e de adultos: os exemplares de Cananéia (Peres-Rios, 2001) foram predominantemente adultos, enquanto que no presente estudo, os jovens foram predominantes. Esse resultado se deve aos diferentes valores estimados do $L_{50}$ que permitiu uma separação das amostras em indivíduos jovens e adultos.

Houve, também, um predomínio das fêmeas sobre os machos, sendo que diferenças significativas foram observadas em todos os meses do ano. Peres-Rios (2001) também obteve predominância de fêmeas, mais que 60%, assim como Louro (2008) em seus estudos sobre a ictiofauna da região de Itanhaém (SP) que obteve um predomínio em número e em tamanho das fêmeas de *A. lineatus.* Já Dias *et al*. (2005) verificaram um predomínio de machos sobre as fêmeas de *Citharichthys spilopterus* no saco do Mamanguá (RJ), mas com a ressalva de que todos os espécimes maiores que 170 mm foram fêmeas. A verificação das proporções dos machos e das fêmeas parece indicar, como apontado por Vazzoler (1996), um crescimento diferencial entre indivíduos de sexos diferentes.

Mas não é conhecido o motivo da predominância de um sexo sobre o outro. Estudos sobre linguados de diversas espécies revelam estratégias reprodutivas muito semelhantes, ao descreverem áreas diferenciadas para a desova, como o trabalho de Arnold & Metcalfe (1995) com o linguado *Pleuronectes platessa* no canal da Mancha (Mar do Norte). Os autores concluíram que os machos completavam sua migração pré-desova mais cedo e sua migração pós-desova mais tarde que as fêmeas passando, portanto, mais tempo em áreas de desova. Essa informação é muito interessante porque se esse padrão de fato ocorre poderia explicar, em parte, o predomínio de fêmeas coletadas no presente trabalho, sugerindo que os machos estariam em outro lugar.

A escassez de indivíduos machos amostrados dificultou a identificação desse padrão reprodutivo para a espécie em estudo, embora os indivíduos classificados como de sexo não identificado não tenham entrado nessa estimativa. Mas a exclusão dos machos para as avaliações relacionadas ao

processo reprodutivo frequentemente é justificada quando as fêmeas são abundantes, desde que o desenvolvimento dos testículos ocorre de maneira diversa à das fêmeas e, portanto, apresentam maior dificuldade na identificação do estádio de maturidade gonadal. Os machos podem não apresentar diferenças marcantes de peso nos testículos, sendo, portanto, menos precisos quanto à definição da época de desova (West, 1990). Por exemplo, as gônadas dos machos foram avaliadas macroscopicamente e foram todas classificadas como estádio A (imaturo), em função do tamanho e da aparência. Mas a análise microscópica revelou que alguns testículos estavam esvaziados sugerindo, dessa maneira, que o desenvolvimento gonadal, para a espécie em estudo, não mostrou mudanças evidentes. A análise revelou que os testículos esvaziados, ocorreram em janeiro, março e em julho. Os meses são semelhantes aos meses de atividade de desova, com exceção do mês de julho. Quanto aos locais, os machos ocorreram exclusivamente nas estações 5 e 6, as mesmas das fêmeas desovantes.

Gibson (1997) ao estudar o comportamento e distribuição de linguados, verificou que muitas espécies mudam de *habitat* conforme as diferentes fases do seu ciclo de vida, como os movimentos realizados pelos juvenis da área de desova para área de crescimento e depois, quando estes maturam, para a área dos adultos. Esses movimentos, de uma forma simplificada, tomam a forma de um triângulo conforme mostrado na figura 20.

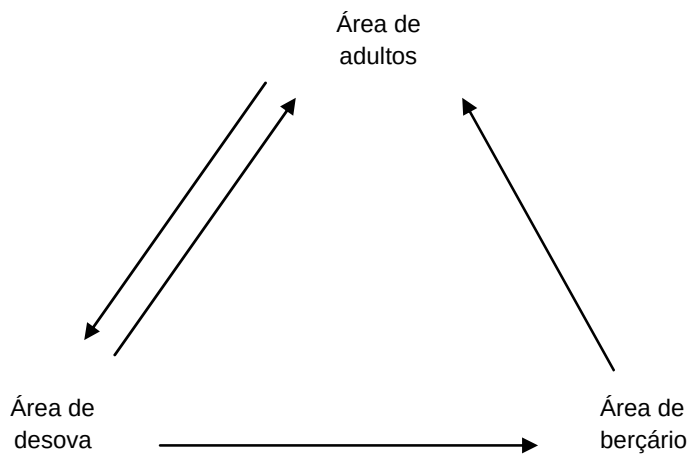



Figura 20. Esquema da hipótese do triângulo de migração, adaptado de Harden Jones (Gibson, 1997).

Segundo Gibson (1997), a segregação espacial entre a fase juvenil e adulta durante o ciclo de vida é um fenômeno comum em muitas espécies. O que varia é a extensão da separação, a qual depende tanto da espécie como das características hidrodinâmicas da região.

Os deslocamentos dos linguados entre áreas de desova, alimentação e crescimento já foram reportadas por diversos autores, que corroboram o fato que esse grupo de peixes realiza migrações ao longo do seu ciclo de vida (Bergman *et al*., 1988; Arnold & Metacalfe, 1995; Bailey, 1997). Embora seja necessária certa cautela ao generalizar comportamentos observados em espécies de zonas temperadas com as de zona tropical, um deslocamento para área de desova como o linguado *Citharichthys spilopterus* já foi documentado por Dias *et al*. (2005) na costa do Rio de Janeiro.

Um importante componente dos estudos de biologia reprodutiva é a avaliação das fases de desenvolvimento gonadal (West, 1990). A distribuição dos estádios de maturidade gonadal de fêmeas é uma ferramenta importante para estudos sobre recrutamento e estimativas da época de desova. Convém ressaltar que a indicação obtida através dessa distribuição é um aspecto quantitativo do estudo. O local da desova, em geral, é estimado em conjunto com dados sobre ocorrência de ovos ou larvas recém eclodidas da espécie desovante.

De acordo com as amostras analisadas, houve evidências quanto à época de desova, pela ocorrência de gônadas com ovócitos hidratados. Há de se considerar que o estádio de D de maturidade é relativamente raro de ocorrer na amostragem. O processo de hidratação é rápido (uma questão de horas) (Dias *et al*., 1998) e indica desova iminente; assim, a probabilidade de o estádio D ocorrer é bem pequena principalmente em coletas pontuais, não seriadas. Mas quando gônadas no estádio D ocorrem, podemos dizer que alguma desova está efetivamente ocorrendo naquele momento ou dali a poucas horas.

Mas não são somente as fêmeas em estádio D de maturação que dão indicação das áreas de desova. A presença do estádio E revela que a desova foi recente, assim, é indicada a observação de ambas para a determinação da época e local de desova (Peres-Rios, 2001).

O estádio E, caracterizado pela presença de folículos pós-ovulatórios, foi

observado no verão e no outono o que pode indicar uma época de desova prolongada. Peres-Rios (2001) encontrou características em *A. lineatus* de espécies r – estrategistas, entre elas época de desova prolongada e parcelada. Segundo a autora, em ambientes estuarinos, onde as condições são muito variáveis, os processos reprodutivos, como a desova prolongada, garantem o recrutamento ao longo do ano em condições mais favoráveis para a sobrevivência.

O mesmo tipo de desova parece ocorrer pela presença do estádio C ao longo de todo ano, revelando que sempre há fêmeas com lotes de ovócitos maduros aguardando o momento propício para a desova. Embora somente tenham sido observadas fêmeas desovantes no verão e no outono, informações da literatura dão conta que *A. lineatus* desova mais intensamente na primavera e com menor intensidade no verão (Peres-Rios, 2001). Allen & Baltz (1997) reportam em seus estudos resultados sobre a desova de *A. lineatus* na costa da Flórida, que ocorre entre abril a novembro, ou seja, final de primavera, verão e outono, quando o fotoperíodo é maior e as temperaturas da água estão em torno de 20º C. Louro (2007) detectou fêmeas maduras entre o verão e o outono. Embora com intensidade diferente, a primavera, o verão e o outono parecem concentrar a atividade de desova para *A. lineatus* de uma maneira geral.

De fato, os resultados das RGSs do presente estudo, mostraram valores mais elevados na primavera e no começo do verão, com valores entre 5,8 e 6,5 tanto para a baía de Santos como para o canal de Bertioga. O menor valor 1,7 foi verificado em maio, na baía de Santos, época em que foram encontradas as fêmeas desovantes. Peres-Rios (2001) encontrou um intervalo de variação maior, entre 1,2 a 7,4 no sistema estuarino de Cananéia. Os mais altos valores foram relacionados à alta incidência dos estádios C e D encontrados pela a autora. Dias *et al*. (2005) encontraram valores semelhantes da RGS de *Citharichthys spilopterus* no saco do Mamanguá (RJ) e relacionou a queda de valores entre março e novembro como o período de atividade de desova. Chaves & Vendel (1997) nos seus estudos com *Citharichthys spilopterus* e *Citharichthys arenaceus*, na baía de Guaratuba (PR), verificaram valores médios das RGSs maiores entre o final da primavera e meados do verão.

O ΔK, outro indicador do processo reprodutivo, expressa de modo

relativo, a parcela das reservas transferidas para as gônadas (Vazzoler, 1996). O padrão apresentado por *A. lineatus* sugere o máximo de maturidade e higidez nos meses de janeiro a março e em novembro e dezembro na baía de Santos, e em setembro e novembro no canal de Bertioga. Segundo Dias *et al*. (2005), esses resultados, aliados aos outros indicadores reprodutivos, mostram que nesses meses as gônadas têm o mais alto peso em relação ao corpo, refletindo uma maturidade gonadal como um resultado da transferência da vitelogenina do fígado, onde é sintetizada, para os ovócitos.

Como mencionado anteriormente, o local da desova é estimado, geralmente, em conjunto com dados sobre ocorrência de ovos ou larvas recém eclodidas da espécie desovante. Ocorrências de larvas de *A. lineatus* foram obtidas em campanhas realizadas pelo subprojeto “Dinâmica do ictioplâncton e do zooplâncton” do Projeto ECOSAN em final de 2004 e o ano de 2005 (Katsuragawa,2008).

A ocorrência de larvas pertencentes à família Achiridae (*A. lineatus* e *Achirus* spp.) e os valores médios de abundância de larvas (indivíduos.$m^{-2}$) de novembro de 2004 a dezembro de 2005 indicaram uma maior abundância no canal de Bertioga em relação à baía de Santos e às áreas internas do canal de Santos. Em relação à época, a baía e o canal de Santos apresentaram padrão semelhante, com as maiores abundâncias ocorrendo em novembro de 2004 e março de 2005 e as menores em maio. O canal de Bertioga também apresentou a maior abundância em novembro de 2004, sendo que as menores abundâncias ocorreram em agosto e dezembro.

Cabe ressaltar que as estações de coleta de ictioplâncton no canal de Bertioga localizaram-se entre o largo do Candinho e a boca do canal voltada para o oceano. A região mais interna do canal, próximo ao largo do Candinho, não foi amostrada pelo presente estudo.

Larvas de *A. lineatus*, segundo Katsuragawa (2008), ocorreram em todos os meses de coleta e, em sua maioria, estiveram no grupo dos táxons genéricos e específicos mais abundantes. Essas ocorrências indicam que a área de distribuição dessa espécie é mais ampla do que o representado nas áreas de amostragem do presente estudo.

Duas hipóteses podem ser levantadas a partir desse padrão de distribuição. A primeira é que a desova possa ocorrer, também, em áreas mais

internas do sistema estuarino de Santos - São Vicente. A segunda é que a desova não ocorre nesses locais e são as larvas que se deslocam passivamente para as áreas mais internas do estuário via canais nas correntes de maré. As duas hipóteses são possíveis desde que não houve arrastos de fundo no interior do estuário e, portanto, não houve informações sobre a ocorrência de fêmeas desovantes nessa área. De qualquer forma, fica clara a função de área de berçário que o estuário representa para muitas espécies estuarino-dependentes que está relacionada às melhores condições de crescimento e sobrevivência para indivíduos que encontram condições mais favoráveis dentro do estuário do que em regiões costeiras mais abertas (Allen & Baltz, 1997).

Segundo Dando (1984), os peixes que habitam os estuários podem ser divididos em grupos, conforme a estratégia reprodutiva apresentada. Destes, dois grupos em particular poderiam se aplicar à *A. lineatus*: o grupo dos peixes estuarinos, que passam a maior parte de suas vidas em condições eurohalinas, que eventualmente deixam o estuário por breves períodos de tempo geralmente para a desova; ou o grupo das espécies marinhas as quais usam o estuário como área de berçário, sendo esse grupo mais dominante nos estuários do Atlântico.

Mesmo admitindo-se que essa classificação subestime uma maior variabilidade em condições reais, há algumas evidências de que *A. lineatus* pertença ao grupo das espécies que usam o estuário como área de berçário e não de desova. Os resultados até aqui mostraram que as fêmeas desovantes encontraram-se em duas estações na baía de Santos próximos à boca do Canal de Santos. Esses locais apresentaram pouca profundidade e salinidade média em torno de 33,5 ao longo do ano. São locais sujeitos às correntes da baía de Santos, principalmente a estação 6 na boca do canal, que sofre influência direta das entradas e saídas das correntes dependentes de maré. Os meses de março e maio, épocas de maiores ocorrências de indivíduos e da presença de fêmeas desovantes foram também os de maior salinidade durante o ano: 35,03 (± 0,12) e 35,03 (± 0,08), respectivamente. Essas circunstâncias indicam que a atividade de desova ocorra nessas condições ambientais de alta salinidade devido, no caso, à influência da Água Central do Atlântico Sul (ACAS), detectada no verão na região (Castro, 2008). Vale lembrar que a

detecção de ovócitos hidratados indicam desova iminente.

Peres-Rios (2001) verificou que *A. lineatus* não apresentou atividade de desova em áreas de pouca salinidade no sistema costeiro de Cananéia-Iguape. Também Dias *et al*. (2005) constataram que o período de desova *Citharichthys spilopterus* ocorreu em épocas onde os valores de salinidade estavam mais altos.

A salinidade influencia tanto a mobilidade dos espermatozóides, como a flutuabilidade dos ovos, aumentando ou diminuindo o sucesso reprodutivo (Nissling *et al*., 2002), de modo que a fertilização pode ser afetada negativamente em salinidades mais baixas. Schriber (2001) e Florin *et al.* (2009) afirmam que a salinidade é um importante descritor de habitat para linguados, com grande variabilidade entre as espécies, enquanto Diaz de Astarloa & Fabre (2003) verificaram efeitos completamente diferentes da salinidade sobre a distribuição de dois paralictídeos (*Paralichthys patagonicus* e *P. isosceles*).

Wallace (1975b *apud* Dando, 1984) estudando os peixes da costa leste da África do Sul, notou que praticamente todos os peixes estuarinos desovavam em águas marinhas, dentro de baías e nas vizinhanças de bocas de estuário. Esse parece ser o padrão para a espécie *A. lineatus*, sendo os ovos, na sua maioria, provavelmente transportados para dentro do estuário pela difusão da maré até onde as condições forem mais propícias para seu desenvolvimento.

Independentemente de como as larvas chegam a essas áreas internas, o importante dessa constatação é o fato de que a baía de Santos, o canal de Bertioga e o interior do estuário são *habitats* distintos não só em relação às condições hidrográficas e de diferentes condições alimentares e de proteção, mas também em relação aos níveis ambientais de contaminação.

Ao se verificar que a distribuição de *A. lineatus* alcança áreas internas do estuário, supõem-se que os juvenis, ao deixarem a área de berçário em direção às águas mais salinas, podem já estar sob o impacto de contaminantes presentes no interior do sistema estuarino de Santos - São Vicente.

Referências

ALLEN, R. L.; BALTZ, D. M. Distribution and microhabitat use by flatfishes in a Louisiana estuary. **Environ. biol. fishes,** v.50, p. 85–103, 1997.

ARNOLD, G. P.; METACALFE, J. D. Seasonal migrations of plaice (*Pleuronectes platessa*) through the Dover strait. **Mar. biol.**, v. 127, p. 151-160, 1995.

BERGMAN, M. J. N.; VAN DER VEER, H. W.; ZIJLSTRA, J. J. Plaice nurseries: effects on recruitment. **J. Fish Biol.**, 33, supplement A, p. 201-218, 1988.

BLAZER, V. S. Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. **Fish physiol. biochem.**, v. 26, p. 85-101, 2002.

BRAGA, F. M. S. Estudo entre fator de condição e relação peso-comprimento para alguns peixes marinhos. **Rev. Brasil. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 46, n.2, p. 339-346, 1986.

CASTRO, B. M. **Oceanografia Física.** In: PIRES VANIN, A. M. S. Projeto ECOSAN: A influência do complexo estuarino da Baixada Santista sobre o ecossistema da plataforma adjacente. São Paulo: IO –USP. 2008. p. 1 – 44. (Relatório IV - FAPESP, processo 03/09932-1).

CHAVES, P. T. C.; SERENATO, A. Diversidade de dietas na assembléia de linguados (Teleostei, Pleuronectiformes) do manguezal da baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Revta. bras. Oceanogr.,** v. 46, n. 1, p. 61-68, 1998.

CHAVES, P. T. C.; VENDEL, A. L. Indicadores reprodutivos das espécies de *Citharichthys* Bleeker (Teleostei, Pleuronectiformes) na baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Revta bras. Zool.**, v. 14, n. 1, p. 73-79, 1997.

DANDO, P. R. Reproduction in estuarine fish**.** In: Potts, G. W.; Wotton, R. J. (Ed.). **Fish reproduction: strategies and tacties.** London: Academic Press Inc., 1984. p., 155-170.

DIAS, J. F. **Ictiofauna da baixada santista:** baía de Santos, canal de Bertioga e plataforma continental interna. In: PIRES VANIN, A. M. S. Projeto ECOSAN: A influência do complexo estuarino da Baixada Santista sobre o ecossistema da plataforma adjacente. São Paulo: IO – USP. 2008. p. 524 – 578. (Relatório IV - FAPESP, processo N 03/09932-1).

DIAS, J. F.; PERES-RIOS, E.; CHAVES, P. T. C.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI,

C. L. Análise macroscópica dos ovários de teleósteos: problemas de classificação e recomendações de procedimentos. **Rev. Brasil. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 58, n. 1, p. 55-69, 1998.

DIAS, J. F., FIADI, C. B.; SILBIGER, H. L. N.; SOARES, L. S. H. Reproductive and population dynamics of the Bay whiff *Citharichthys spilopterus* Gunther, 1862 (Pleuronectiformes: Paralichthyidae) in the Mamanguá Inlet, Rio de Janeiro, Brazil. **Neotrop. Ichthyol.**, v. 3, n. 3, p. 411-419, 2005.

DÍAZ DE ASTARLOA, J. M. AND N. N. FABRÉ Abundance of three flatfish species (Pleuronectiformes, Paralichthyidae) off northern Argentina and Uruguay in relation to environmental factors. **Arch. Fish. Mar. Res.,** v. 50, n. 2, p. 123-140, 2003.

DINIZ FILHO, A. M. **Composição e variação espaço-temporal da fauna íctica do canal de Ararapira (Cananéia - SP).** 1997. 88f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1997.

ENGAS, A. The effects of trawl performance and fish behavior on the catching efficiency of demersal sampling trawls. In: FERNO, A.; OLSEN, S. (Ed). **Marine fish behaviour.** Cambridge: Blackell Scientific Publications, 1994. p. 45-68.

FIGUEIREDO, J. L.; MENEZES, N. A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil.** VI Teleostei (5). São Paulo: Museu de Zoologia - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2000. 116 p.

FLORIN, A.B.,;SUNDBLAD, G.; BERGSTRO¨M, U. Characterization of juvenile flatfish habitats in the Baltic Sea. **Estuar. coast. Shelf Sci**. v. 82, p. 294-300. 2009.

FÖRSTNER, U.; WITTMANN, G. T. W. **Metal pollution in the aquatic environment.** 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag, 1983. 486p.

FROESE, R.; PAULY, D. (Ed.) **FishBase:** World Wide Web eletronic. 2006. Disponível em: www.fishbase.org.version (03/2009).

GASALLA, M. DE LOS A. Organização trófica da ictiofauna do Saco do Mamanguá, Parati, estado do Rio de Janeiro. 1995. 145 f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

GIBSON, R. N. Behaviour and distribution of flatfishes. **J. Sea Res.**, v. 37, p.

241-256, 1997.

GUEDES, A. P. P.; ARAÚJO, F. G. Trophic resource partitioning among five flatfish species (Actinopterygii, Pleuronectiformes) in a tropical bay in south-eastern Brazil. **J. Fish Biol.**, v. 72, p. 1035–1054, 2008.

HELFMAN, G. S. Fish behaviour by day, night and twilight. In: PITCHER, T. J. (Ed.). **Behaviour of teleost fishes.** 2nd ed. London: Chapman & Hall, 1993. 715p.

HENSLEY, D. A. An overview of the systematic and biogeography of the flatfishes. **J. Sea Res.**, v. 37, p. 187-194, 1997.

HUNTER, J. R.; MACEWICZ, B. J. Measurement of spawning frequency in multiple spawing fishes. In: LASKER, R. (Ed.). **An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish:** application to the northern anchovy, *Engraulis mordax*. NOAA Tech. Rep. NMFS, 36, 1985. p. 79 – 94.

HONJI, R. M.; VAZ-DOS-SANTOS, A. M.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. D. B. Identification of the stages of ovarian maturation of the Argentine hake *Merluccius hubbsi* Marini, 1933 (Teleostei: Merlucciidae): advantages and disadvantages of the use of the macroscopic and microscopic scales. **Neotrop. Ichthyol.**, v. 4, n. 3, p. 329-337, 2006.

KATSURAGAWA, M. **Dinâmica do Ictioplâncton e do zooplâncton**: ictioplânton. In: PIRES VANIN, A. M. S. Projeto ECOSAN: A influência do complexo estuarino da Baixada Santista sobre o ecossistema da plataforma adjacente. São Paulo: IO –USP. 2008. p. 311 – 364. (Relatório IV - FAPESP, processo N 03/09932-1).

KING, M. G. **Fisheries biology:** assessment and management. Oxford, Cambridge: Blackwell Science, 1995. 341p.

KITAHARA, E. M. **Distribuição horizontal, crescimento e mortalidade das larvas de *Gobionellus oceanicus, A. lineatus* e *Scartella cristata* do complexo estuarino-lagunar de Cananéia-SP, e aspectos relacionados aos seus recrutamentos**. 2000. 188f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2000.

LOURO, M. P. **A ictiofauna do estuário do rio Itanhaém: dinâmica espaço-temporal – e aspectos biológicos das espécies principais.** 2007. 248f.

Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

MACIEL, N. A. L. **Composição, abundância e distribuição espaço-temporal da ictiofauna do complexo estuarino-lagunar de Iguape-Cananéia - São Paulo-Brasil.** 2001. 252f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2001.

MERSON, R. R.; CASEY, C. S.; MARTINEZ, C.; SOFFIENTINO, B.; CHANDLEE, M.; SPECKER, J. L. Oocyte development in summer flounder: seasonal changes and steroid correlates. **J. Fish Biol.**, v. 57, p. 182-196, 2000.

NISSLING, A.; MÜLLER, A.; HINRICHSEN, H.H. Specific gravity and vertical distribution of sprat eggs in the Baltic Sea. **J. Fish Biol.**,, v. 63, p. 280-299. 2003.

PAIVA-FILHO, A. M.; GIANNINI, R.; RIBEIRO NETO, F. B. & SCHMIEGELOW, J. M. M. Ictiofauna do Complexo Baía-Estuário de Santos e São Vicente, SP, Brasil. **Relat. Int. Inst. Oceanogr.,** Univ. São Paulo, v.17, p. 1-10. 1987.

PERES-RIOS, E. Papel do estuário no ciclo de vida das espécies dominantes da ictiofauna do complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape. 2001. 128f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2001.

RIBEIRO NETO, F. B. **Estudo da comunidade de peixes da Baía de Santos, SP.** 1989. 196f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.

SILVEIRA, M. P. M.; COUSIN, J. C. B.; HAIMOVICI, M. Estrutura ovárica e testicular do linguado *Paralichthys orbignyanus* (VALENCIENNES, 1839). **Atlântica,** v. 17, p. 137-152, 1995.

STONER, A. W. Community structure of the demersal fish species of Laguna Joyuda, Puerto Rico. **Estuaries**, v. 9, n. 2, p. 142-152, 1986.

STONER, A. W. Diel variation in the catch of fishes and Penaeid shrimps in a tropical estuary. **Estuar. coast. Shelf Sci.**, v. 33, n. 1, p. 57-69, 1991.

VAZZOLER, A. E. A. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos:** teoria e prática. Maringá: EDUEM/SBI, 1996.169 p.

WEST, G. Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. **Aust. J. Mar. Freshw. Res.**, v. 41, p. 199-222, 1990.

# 1º MÉTODO DE AVALIAÇÃO: BIOMARCADORES HISTOPATOLÓGICOS

## Análise histopatológica dos fígados e das gônadas

### Introdução

A análise histopatológica representa uma ferramenta útil para avaliar alterações em tecidos biológicos induzidas por contaminantes presentes na água e no sedimento e é amplamente utilizada em avaliação de impacto ambiental (Myers, *et al.*, 1998; Bernet *et al.*, 1999; Stentiford *et al.*, 2003; van der Oost *et al.*, 2003; Leino *et al.*, 2005).

Os organismos aquáticos são frequentemente expostos a misturas complexas de contaminantes, incluindo hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, bifenilas policloradas, pesticidas organoclorados, compostos alcalinos e metais-traço. Esses contaminantes são largamente distribuídos nos sedimentos e tecidos biológicos e têm potencial de causar efeitos adversos no organismo, os quais normalmente são visíveis após estes terem se estabelecido em nível molecular ou bioquímico (Chang *et al.*, 1998; Arinç *et al.*, 2000).

Biomarcadores histopatológicos têm sido utilizados para avaliações de campo com peixes, constituindo-se um método de detecção de alterações em vários tecidos e órgãos, sendo que as alterações aparecem como resposta relativamente rápida aos estressores subletais (Printes, 2006).

O fígado é considerado o primeiro local para a identificação de biomarcadores histopatológicos, dado o seu papel central em várias funções metabólicas. Essas funções são conduzidas, na sua maioria, pelos hepatócitos, que são células epiteliais que constituem cerca de 80% das células do fígado. Os hepatócitos apresentam um núcleo central, com um ou dois nucléolos evidentes e têm grande diversidade morfológica, devido à presença de quantidades muito variáveis de lipídios, glicogênio e retículo endoplasmático granular. É um tipo celular com funções glandulares endócrinas e exócrinas simultâneas. Além de sintetizar e acumular vários compostos, neutraliza outros, o que explica sua diversidade morfológica. Suas principais funções são síntese

proteica, secreção da bile, acúmulo de metabólitos e toxificação e detoxificação de substâncias tóxicas (Junqueira & Carneiro, 1982).

Esta última função ocorre um duas fases. A FASE I é mediada pelo citocromo P-450 e catalisa a oxidação de produtos químicos orgânicos em metabólitos mais solúveis que pode ainda ser conjugado pelas enzimas da FASE II e secretado. A FASE II é chamada de detoxificação porque converte os metabólitos ativos em produtos atóxicos e mais hidrofílicos, ligando-os a glutationa, glucoronato ou sulfato (Arinç *et al.*, 2000).

Em virtude dessas funções, é justificável o estudo de alterações na estrutura do tecido hepático como forma de investigação de impacto ambiental, uma vez que estas refletem o estado de higidez do organismo.

Entre as principais alterações observadas em fígados estão: o edema intercelular, que é um distúrbio circulatório no qual os fluxos sanguíneos e teciduais estão em condição patológica; a esteatose, a atrofia e a necrose que são alterações regressivas, em que há hipofunção das células, sendo que na primeira há acúmulo de gordura; a hiperplasia e a hipertrofia dos ductos que são alterações progressivas, acompanhadas de um aumento da atividade celular ou do tecido; e o infiltrado leucocitário, que ocorre no processo de inflamação, quando há invasão no tecido por leucócitos da circulação sanguínea (Bernet *et al.*, 1999).

Outra alteração importante é a neoplasia, ou neoformação, que é a proliferação local de células atípicas, sem causa aparente, de crescimento excessivo, progressivo, irreversível e com tendência a perda de diferenciação celular. Apesar de os neoplasmas serem bons biomarcadores de poluição eles são raros em peixes selvagens jovens, condicionando, assim, sua ocorrência limitada a longos períodos de latência do desenvolvimento do tumor (Au, 2004).

Os centros de melano-macrófagos são agrupamentos focais de macrófagos pigmentados que estão presentes nos tecidos de vertebrados, principalmente baço e rim. Em teleósteos, também são achados no fígado, principalmente em associação às lesões inflamatórias crônicas, e nas gônadas, associadas ao processo de atresia. São considerados biomarcadores, porém sua ocorrência está relacionada não só a uma resposta imune aos contaminantes ou parasitos, mas como uma resposta à deficiência nutricional ou mesmo a um estado de hipóxia. Assim, a ocorrência de agregados de

melano-macrófagos pode ser observada como um mecanismo de defesa do organismo. Sua presença pode estar relacionada ao resultado de uma necrose ou degeneração dos tecidos ou a uma alta sucetibilidade às infecções bacterianas e parasitárias (Au, 2004).

Os centros de melano-macrófagos contêm três pigmentos: hemossiderina, composta por íon férrico e proteína, que é resultado da degradação dos eritrócitos ou do ferro excedente no organismo; lipofucsina que é o produto final da peroxidação lipídica; e a melanina, cujo papel nos macrófagos é menos conhecida, mas que aumenta sua quantidade em situações de estresse, desnutrição e doenças (Agius & Roberts, 2003). Dessa maneira, a presença desses pigmentos pode ser indicativa de processos patológicos e de danos no tecido (Wolke, 1985; Blazer, *et al.*, 1987; Bucke *et al.*, 1992; Agius & Roberts, 2003).

A forma dos centros de melano-macrófagos pode variar nas diferentes espécies, órgãos e em diferentes condições patológicas dentro da mesma espécie, como idade, deficiência alimentar, metabolismo da hemoglobina e do ferro, condições inflamatórias e patológicas e processos imunológicos (Blazer *et al.*, 1987; Agius & Roberts, 2003). Em condições de estresse ambiental, os centros de melano-macrófagos podem aumentar em tamanho e em frequência, justificando o registro de sua ocorrência como um indicativo da higidez do organismo em estudo (Wolke *et al.*, 1985; Agius & Roberts, 2003).

A infestação parasitária também pode ser um indicativo de exposição crônica subletal a muitas substâncias tóxicas e pode baixar a resistência dos peixes às doenças infecciosas (Blazer *et al.*, 1987). Alguns dos parasitos encontrados em tecidos como o fígado são microsporídios, microrganismos unicelulares pertencentes ao Filo Microspora, que desenvolvem o seu ciclo de vida intracelularmente. As formas de mais fácil identificação microscópica são os esporos. Estes são células de forma ovóide, com dimensões variadas da ordem de 4 x 2 µm, e que são envolvidas por uma parede celular espessa, que as tornam resistentes ao meio. Os esporos aparecem mais frequentemente agrupados formando xenomas ou granulomas e, em alguns casos, podem aparecer sob formas isoladas entre as células do hospedeiro (Matos, 2003).

O estudo histopatológico do fígado em peixes marinhos da costa brasileira, embora ainda não seja muito expressivo, já foi reportado em alguns

trabalhos. Especificamente no sistema estuarino de Santos - São Vicente, dois trabalhos se destacam. No primeiro, foi utilizado como modelo o cangoá *Stellifer rastrifer,* um cienídeo de pequeno porte (Dias, 2008), relatando a prevalência de algumas lesões e infestação parasitária, que permitiu concluir que, possivelmente, as alterações encontradas estavam relacionadas à ação de contaminantes presentes no ambiente. O segundo foi realizado por Azevedo (2008) com o fígado do bagre *Cathorops spixii* coletado no sistema estuarino de Santos - São Vicente, que considerou alterações histopatológicas observadas como biomarcadores morfológicos satisfatórios.

Nos últimos anos muita atenção tem sido dada a uma nova categoria de contaminantes, os chamados disruptores endócrinos ou *EDC*s (*Endocrine Disruptors Chemicals*). Químicos de origem antropogênica como pesticidas organoclorados, PCBs, HPAs, surfactantes e outros, de ação disruptora são, geralmente, persistentes no ambiente, acumulando-se no solo e sedimentos e podem mimetizar a ação do hormônio na célula, ao interagir com o receptor específico para desencadear as alterações que seriam provocadas pelo hormônio naquele sítio de ação, como os químicos de ação estrogênica; podem bloquear a ação do hormônio ao ocupar seu lugar nos receptores das células, impedindo a sua função, como os químicos que interferem na ação do hormônio masculino como o DDE (metabólito do DDT) ou podem causar um distúrbio no eixo hipotálamo-hipófise-gônada, ao desregular os mecanismos de *feedback*, causando aumento ou diminuição dos níveis de hormônios naturais (Mills & Chichester, 2005).

A exposição aos hormônios naturais e sintéticos pode afetar a diferenciação sexual e induzir a reversão sexual e/ou o intersexo (DeMetrio *et al*. 2003). O intersexo é a presença de características tanto de machos como de fêmeas no mesmo tecido gonadal. A condição do intersexo, segundo Stentiford & Feist (2005), é bem descrita em gônadas de vários teleósteos gonocoristas que habitam rios e estuários, sendo que em vários casos, essa condição é relacionada à presença de *EDC*s no ambiente. Entretanto, pouco é conhecido sobre a ocorrência em espécies marinhas.

Além do intersexo, têm-se observado que essas substâncias químicas são responsáveis por uma alteração nos processo de maturação gonadal, degeneração das gônadas, e a presença de concentrações elevadas de

vitelogenina no plasma sanguíneo em machos, em função desta ser formada exclusivamente sob a influência do estrogênio (Stentiford & Feist, 2005). Assim como o fígado, as gônadas podem apresentar lesões relacionadas aos contaminantes, que no caso são associadas com a absorção dos ovócitos, isto é, atresia, centros de melano-macrófagos e infiltrado leucocitário (Lyndal *et al*., 1998).

Embora estudos dos efeitos da poluição sobre a reprodução de peixes sejam complexos e difíceis de documentar, eles são críticos para entender a interação total entre contaminantes e a sobrevivência de populações. Heath (1995) afirma que é importante estudar a reprodução dos organismos, porque a avaliação não se refere só à sobrevivência do indivíduo, mas da população. Uma falha no sucesso reprodutivo dos peixes poderia ser avaliada, por exemplo, através de disfunções reprodutivas como a diminuição da fecundidade (Kovacs *et al*., 1997). E há um aumento de evidências que indicam que a poluição em níveis subletais está levando ao declínio importantes recursos naturais (Kime, 1995).

O sistema estuário de Santos - São Vicente - Bertioga apresenta histórico de contaminação por compostos diversos, como HPAs, PCBs, metais traço e enriquecimento de formas de nitrogênio e de fosfato, como conseqüência das múltiplas atividades industriais, portuárias e descarte de despejo urbano, associados aos processos químicos naturais do sistema (Braga *et al*., 2000; CETESB, 2001; Bícego *et al*., 2006; Azevedo *et al*., 2008). Considerando-se que estudos histopatológicos do fígado e das gônadas podem ser componentes importantes para o entendimento dos possíveis efeitos de tais atividades, a espécie *A. lineatus* foi escolhida como biomonitora, por apresentar duas particularidades: a espécie não somente é demersal vivendo e se alimentando na superfície de fundo, mas se enterra, aumentando seu grau de exposição ao sedimento; a espécie tem ocorrência sazonal na baía.

Embora a observação do desenvolvimento ovocitário pela análise histológica seja apenas uma parte da investigação da ação dos *EDC*s é também um *endpoint* normalmente requerido em estudos reprodutivos e programas de monitoramento (Blazer, 2002). Dessa maneira, a análise histológica das gônadas da espécie *A. lineatus* será avaliada quanto à detecção de intersexo como evidência de químicos disruptores endócrinos na

área de estudo. Também será verificada a ocorrência de lesões nas gônadas relacionadas à contaminação.

A hipótese de trabalho do presente estudo é que biomarcadores histopatológicos são ferramentas eficientes que refletem as condições ambientais em nível tecidual no modelo biológico *A. lineatus*.

Objetivos específicos

- Analisar a ocorrência e extensão das alterações do tecido hepático de *A. lineatus* nos diferentes locais de coleta;
- Verificar diferenças na incidência de lesões entre exemplares jovens e adultos de *A. lineatus*;
- Investigar a ocorrência de intersexo no tecido gonadal de *A. lineatus* nos diferentes locais de coleta;
- Verificar se os resultados obtidos nas amostras de tecido (fígado e gônada) refletem as condições de contaminação presente no ambiente.

Método de coleta e tomada de dados

A coleta dos exemplares e a tomada de dados estão descritas no item “Material e Métodos”.

Metodologia de análise

Para a observação das alterações no tecido hepático e gônadas aplicaram-se as técnicas histológicas de fixação, desidratação, inclusão, microtomia, coloração e montagem das lâminas.

Para a desidratação do tecido e inclusão, adotou-se o protocolo descrito em Azevedo (2008): desidratação em séries alcoólica crescente de etanol a 70%, 80%, 90%, 95% e 100%, durante 60 minutos cada; diafanização, com

dois banhos de xilol de 60 minutos cada; emblocamento em parafina e microtomia (corte do tecido 4 a 5 µm para os fígados e 6-7 µm para as gônadas).

Para a observação das alterações estruturais no fígado, bem como a identificação de compostos químicos dentro das células, foram empregadas duas colorações, uma citológica e outra citoquímica. As colorações citológicas podem definir melhor e mais especificamente as características celulares, e seu mecanismo está baseado na ionização dos grupos ácidos ou básicos nas proteínas, polissacarídeos e ácidos nucléicos (Robertis *et al.* 1980). Dessa maneira foi empregada a coloração HE (hematoxilina e eosina), que é adequada para evidenciar as estruturas teciduais, bem como a presença do pigmento melanina no interior dos macrófagos. As colorações histoquímicas são mediadas por reações químicas e mostram substâncias intracelulares com cores específicas, perceptíveis à microscopia de luz. Foi empregada a coloração de *Perls* (ou reação do azul da Prússia) que é utilizada para a identificação do ferro celular na forma de ferritrina ou hemossiderina (Robertis *et al.* 1980).

A avaliação das amostras de fígado foi feita a partir de leituras das preparações permanentes sob microscópio, em que foram observadas algumas alterações no tecido e a presença centros de melano-macrófagos, de parasito microsporídio e de hemossiderina, sendo suas ocorrências registradas através de fotomicrografia, com a utilização de uma câmera digital. Os trabalhos de Hibiya (1982), Agius & Roberts (2003), Stentiford *et al.* (2003) e Blazer *et al.* (2006) foram usados como referências.

Foram observados 49 fígados de exemplares de *A. lineatus* com amplitude de comprimento de 80 a 135 mm, tanto de machos como de fêmeas. As amostras foram separadas em indivíduos jovens e adultos de acordo com o valor do $L_{50}$ das fêmeas dos exemplares coletados, calculado em 111,7 mm. Foram considerados jovens os indivíduos com comprimento abaixo desse valor, e acima, indivíduos adultos. As amostras de fígado provieram dos exemplares das estações oceanográficas 1, 5, 6, 8 e 9. As estações 2 e 4 não tiveram amostras de fígado e a estação 3 não foi computada por ter somente uma amostra de fígado.

Para todas as amostras foi calculado o Índice Hepatossomático (IHS) de

cada exemplar, que é dado pela razão da expressão:

$$IHS = Pf / Pc * 100$$

em que Pf é o peso total do fígado e Pc o peso do corpo (peso total menos o peso da gônada).

A média e o desvio padrão do IHS dos exemplares por local foram lançados em gráfico para a verificação de alteração no tamanho do fígado em relação aos locais de amostragem.

As análises das lesões tiveram duas abordagens, sendo uma quali-quantitativa e outra semi-quantitativa.

1) Quali-quantitativa: referente à ocorrência de alterações observadas a partir de um padrão normal da arquitetura do fígado. A essas alterações foram agregados valores, segundo a metodologia sugerida por Bernet *et al.* (1999). Nessa abordagem, foi calculado o Índice do Órgão, que representa o grau de dano no órgão, ou seja, quanto mais alto o índice, maior o dano.

Para a aplicação deste índice específico, foi registrada a ocorrência das alterações observadas e seu respectivo fator de importância (*w*) para cada corte de fígado analisado, segundo a tabela 6.

Tabela 6. Valores do fator de importância (modificado de Bernet *et al.*, 1999) para as alterações observadas no fígado dos exemplares de *A. lineatus* coletados na baía de Santos e canal de Bertioga.

| **Alteração observada (*alt*)** | **Fator de importância (*w*)** |
|---|---|
| Edema intercelular | 1 - mínima, reversível |
| Alterações estruturais | 1 - mínima, reversível |
| Esteatose | 1 - mínima, reversível |
| Atrofia | 2 - moderada, reversível em muitos casos |
| Necrose | 3 - severa, geralmente irreversível |
| Hipertrofia | 1 - mínima, reversível |
| Hiperplasia | 2 - moderada, reversível em muitos casos |
| Infiltração leucocitária | 2 - moderada, reversível em muitos casos |

Posteriormente atribuiu-se um valor numérico para a ocorrência da alteração observada, segundo o *score* (*a*) de ocorrência: 0 (nula), 2 (leve), 4 (moderada) ou 6 (severa).

Foi calculada a somatória da multiplicação do fator de importância (*w*) com o valor da ocorrência (*a*) de todas as alterações observadas para cada exemplar. Outra somatória calculada foi o padrão de reação (*rp*) que é um valor atribuído a cada grupo de alterações (tabela 7).

Tabela 7. Valores dos padrões de reação (modificado de Bernet *et al.*, 1999) aplicados para avaliação do fígado de *A. lineatus*, coletados na baía de Santos e canal de Bertioga.

| **Padrão de reação (*rp*)** |
|---|
| (1) - Distúrbios circulatórios: fluxos sanguíneos e teciduais em condições patológicas ( edema intercelular) |
| (2) - Alterações regressivas: ocasionam a perda funcional do órgão (alteração estrutural, esteatose, atrofia, necrose) |
| (3) - Alterações progressivas: provocam aumento da atividade celular ou do tecido (hiperplasia e hipertrofia) |
| (4) - Inflamação: invasão do tecido por leucócitos da circulação sanguínea (infiltração leucocitária) |
| (5) - Neoplasmas: proliferação descontrolada de células e tecidos (neoplasia) |

A partir dessas somatórias, foi calculado o Índice do Órgão por exemplar analisado, segundo a fórmula:

$$I_{fíg} = \Sigma_{rp} \; \Sigma_{alt} \, (a \times w)$$

em que I*fíg* é o Índice do órgão, *rp* é o padrão de reação, *alt* as alterações, *a* é o valor da ocorrência e *w* o fator de importância.

A partir desse cálculo foram feitas as somatórias dos índices, médias e desvios-padrão, considerando-se separadamente indivíduos jovens e adultos por estação oceanográfica.

2) Semi-quantitativa: referente à ocorrência de centros de melano-macrófagos, parasitos e homossiderina no tecido. Também aqui se atribuiu um *score* de ocorrência: nula, leve, moderada ou severa. Diferentemente dos valores agregados às alterações estruturais, aqui não foi avaliado o fator de importância, nem considerado o tamanho ou a forma, admitindo-se que, quanto maior o *score* de ocorrência, maior é o efeito potencial de dano no organismo.

Os resultados das duas abordagens foram lançados em gráficos para verificação das diferenças entre os locais de captura e entre os exemplares jovens e adultos quanto à incidência das alterações no tecido e quanto ao nível de ocorrência de centros de melano-macrófagos, de parasito microsporídio e de hemossiderina.

Também foi confeccionada uma tabela com a prevalência das alterações observadas, ou seja, o número de exemplares da população amostrada que apresentaram alterações no momento em que o tecido foi fixado, nos diferentes locais de amostragem.

Para a verificação da ocorrência de intersexo, atresia e centros de melano-macrófagos foi empregada a coloração HE (hematoxilina e eosina), que é adequada para evidenciar as estruturas teciduais, bem como a presença do pigmento melanina no interior dos macrófagos, os quais podem estar associados aos processos de atresia (Agius & Roberts, 2003).

A avaliação das amostras foi feita a partir de leituras das preparações permanentes sob microscópio de luz, em que foram investigados indícios de intersexo, observados folículos atrésicos e centros de melano-macrófagos e sendo suas ocorrências, quando presentes, registradas através de fotomicrografia, com a utilização de uma câmera digital. Os trabalhos de Hunter & Macewicz (1985), Silveira *et al*. (1995), Vazzoler (1996), Dias *et al*. (1998; 2005), Merson *et al*. (2000), Blazer (2002), Stentiford & Feist (2005) e Honji *et al*. (2006) foram usados como referências.

Foram observadas 94 gônadas de exemplares de *A. lineatus* com amplitude de comprimento de 81 a 139 mm, tanto de machos como de fêmeas. As amostras de gônadas provieram dos exemplares das estações oceanográficas 3, 5, 6, 8 e 9. As estações 2 e 4, embora tenham apresentado ocorrência de *A. lineatus,* não tiveram amostras de gônadas.

A análise dos achados nas gônadas teve uma abordagem semi-quantitativa, referente à ocorrência de atresia e centros de melano-macrófagos no tecido. Também aqui se atribuiu um *score* de ocorrência: nula, leve, moderada ou severa. Nenhum valor foi agregado às ocorrências, entretanto, foi verificada a possível associação entre os achados.

Os resultados dessas abordagens foram lançados em gráficos para verificação das diferenças entre os locais de captura quanto ao *score* de

ocorrência e co-ocorrência de atresia e centros de melano-macrófagos.

Tratamento estatístico dos dados

Para os resultados dos três indicadores hepáticos foi aplicado o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis que é um teste indicado para a comparação de médias de “k” amostras independentes, de tamanho desigual (distribuição não normal) e com uma variável. A significância foi considerada para $p < 0,05$. As diferenças, quando ocorreram, foram determinadas pelo teste *a posteriori* de Dunn (Zar, 1984).

Resultados

Fígado

O Índice Hepatossomático não é indicado como biomarcador, porém, pode ser um indicativo do estado do fígado principalmente em dois momentos: pode significar uma reação à injúria, uma vez que respostas como hipertrofia ou hiperplasia causam aumento de peso no fígado; e também uma alteração do tamanho que pode ocorrer no período reprodutivo, em que precursores de vitelogenina para captação pelos ovócitos são sintetizados no fígado.

A figura 21 mostra os Índices hepatossomáticos médios e respectivos desvios-padrão de jovens e adultos por estação oceanográfica, indicando que a estação 6, da baía de Santos, apresentou o maior valor médio para os adultos enquanto que a estação 9, do canal de Bertioga, apresentou o maior valor médio para os exemplares jovens.

O teste Kruskal-Wallis não obteve diferenças significativas para o Índice Hepatossomático entre as estações oceanográficas. Ao analisar as médias entre os indivíduos jovens e adultos, o teste também não revelou diferenças significativas para $p<0,05$. Esses resultados mostram que, desconsiderando-se o período reprodutivo quando pode haver um aumento do tamanho do órgão, o

fígado não apresentou grandes diferenças quanto ao tamanho entre os locais que pudessem ser correlacionadas a uma alteração de origem patológica.

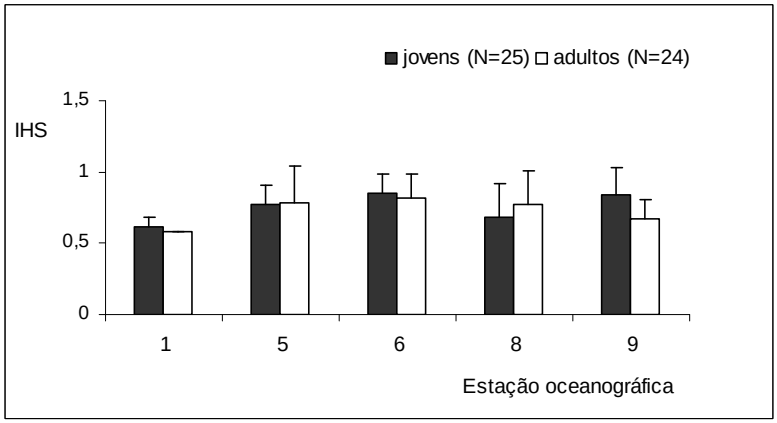



Figura 21. Média e desvio padrão dos valores estimados do Índice Hepatossomático para jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica, coletados na baía de Santos e canal de Bertioga.

O Índice Hepatossomático não foi calculado por época do ano, em função das amostras serem provenientes somente do segundo semestre de 2005. Dessa maneira, assumiu-se que uma série temporal de seis meses não seria suficiente para evidenciar diferenças, assim, os dados foram analisados conjuntamente.

Através da microscopia de luz observou-se que, de uma maneira geral, os hepatócitos variaram ligeiramente na forma e no tamanho entre as amostras analisadas. Foram observados tecidos pancreáticos e ductos biliares distribuídos ao longo do tecido hepático e centros de melano-macrófagos, que também foram comuns. Dos 49 exemplares examinados, apenas nove não apresentaram nenhuma lesão estrutural. Uma forma parasitária pertencente ao Filo Microspora foi recorrente nas amostras de tecido.

Algumas amostras apresentaram sua arquitetura preservada, enquanto que outras apresentaram alguma desorganização na sua estrutura como observado na figura 22:

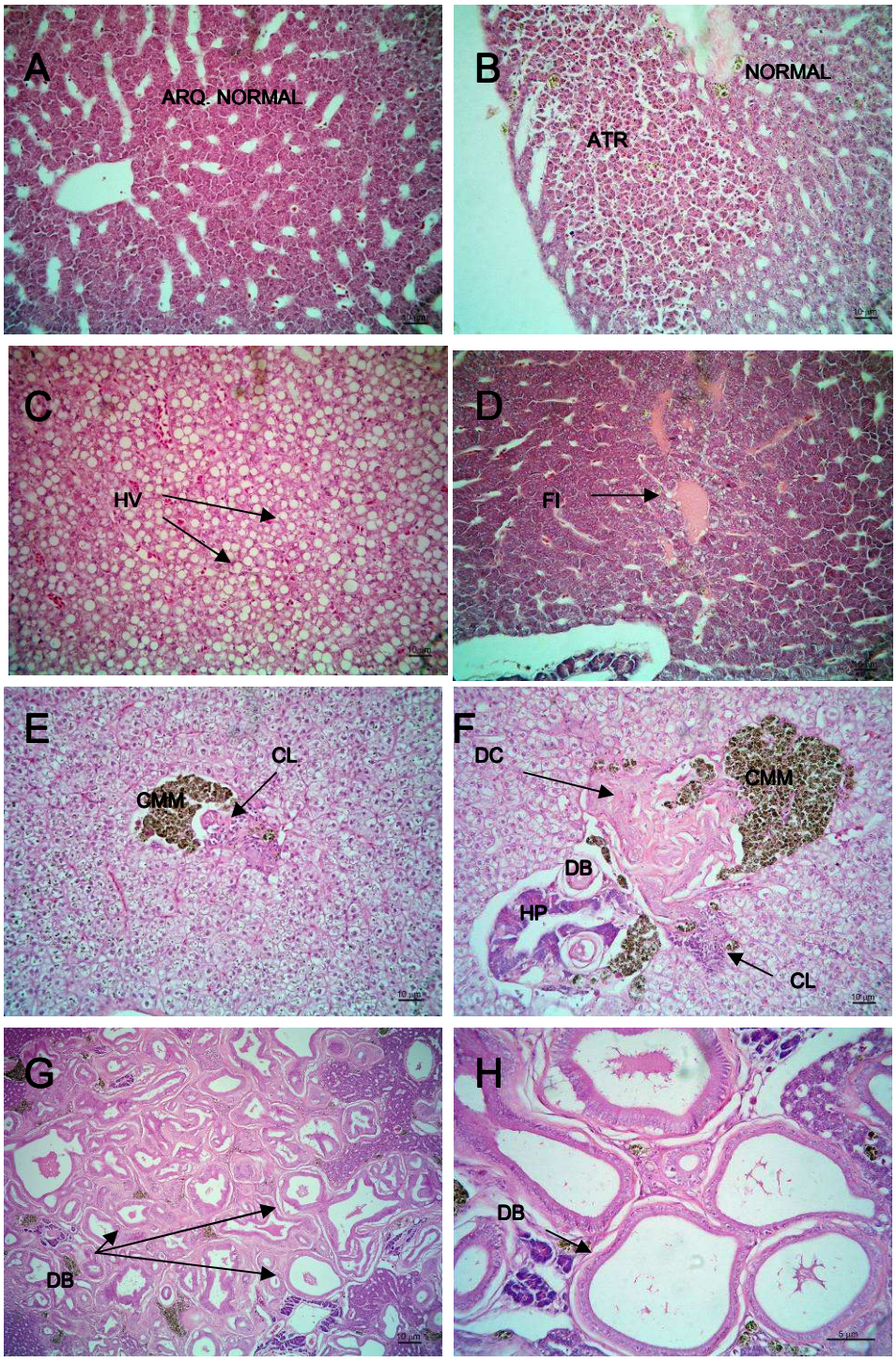



Figura 22. Fotomicrografias do fígado de *A. lineatus*: A - arquitetura normal dos hepatócitos aumento 100x; B – zona de atrofia (ATR) e normal dos hepatócitos, aumento 100x; C – estado de esteatose com os hepatócitos vacuolados (HV), aumento 100x; D – edema com fluido intercelular (FI), aumento 100x; E - infiltrado leucocitário com células leucocitárias (CL) e centro de melano-macrófago (CMM), aumento 100x; F - necrose focal com desorganização celular (DC), centro de melano-macrófago (CMM), pâncreas intra-hepático (HP), ducto biliar (DB) e células leucocitárias (CL), aumento 100x; G - hiperplasia dos ductos biliares (DB), aumento 100x; H - hipertrofia dos ductos biliares (DB ), aumento 400x. Coloração HE. Escala indicada na figura.

A atrofia é uma redução do número e volume das células e da quantidade de substâncias intercelulares que ocasiona uma mudança no aspecto geral da área afetada, que pode ser observada ao se comparar hepatócitos atrofiados com hepatócitos de tamanho normal (Fig. 22-C)

A esteatose, ou degeneração vacuolar, é o acúmulo anormal e reversível de lipídios no citoplasma dos hepatócitos. Esse acúmulo envolve alterações nos processos celulares de armazenagem de gorduras e aparece sob a forma de vacúolos que ocupam quase todo o citoplasma do hepatócito, com o núcleo na periferia. Microscopicamente, os vacúolos mostraram-se bem delimitados e vazios porque os lipídios foram dissolvidos pelo xilol durante o processo de preparação e montagem dos cortes de tecidos. Como o fígado é um órgão relacionado com o metabolismo lipídico, é nele que se encontra mais comumente a esteatose (Fig. 22-D).

O edema intercelular é decorrente da estagnação de fluido tecidual que vazou de capilares dentro do tecido. Ao microscópio, foi observado o fluido entre os hepatócitos com coloração eosinofílica (Fig.22-E).

O infiltrado leucocitário é a invasão de leucócitos nos tecidos pelas paredes dos capilares. É caracterizado pela presença de um ou mais tipos de leucócitos por entre as células do órgão, como neutrófilos e macrófagos, por exemplo, que aumentam em número no local da inflamação. Ao microscópio foram observadas células leucocitárias próximas a um centro de melano-macrófagos (Fig.22-F).

A necrose é o estado no qual as células e tecido estão com a atividade baixa e eventualmente morrem. É uma alteração funcional irreversível. Algumas características foram visíveis ao microscópio como a perda da arquitetura normal do tecido, perda da diferenciação celular, perda da nitidez dos elementos nucleares das células (cariólise), presença de núcleo picnótico (núcleo fortemente condensado e basófilo). O citoplasma apresentou coloração eosinofílica (Fig.22-G e H).

A hiperplasia e a hipertrofia são estados das células e tecido cujas funções estão com a atividade elevada. Na hiperplasia ocorre um aumento do tecido ou órgão pelo maior número de células. Já na hipertrofia ocorre um aumento do volume celular sem o aumento do número de células. Ao microscópio observou-se a proliferação de ductos biliares acompanhada de

uma hipertrofia dos mesmos (Fig. 22-I e 22-J). O indivíduo que apresentou essa lesão (hiperplasia) era adulto, com comprimento de 135 mm da estação 8 (canal de Bertioga). Esse fígado, quando de sua coleta, apresentava coloração amarelada.

Não foram observadas neoplasias nas amostras de fígado de *A. lineatus*, o que pode ser explicado pelo fato de que os exemplares analisados eram, na sua maioria, jovens.

A partir das lesões detectadas em todas as amostras, foi possível calcular um índice que é uma expressão matemática da ocorrência das lesões. O valor médio foi lançado em gráfico por estação oceanográfica (Fig. 23). As estações 1 e 8 foram as que apresentaram os maiores valores do Índice do órgão, enquanto que as estações 5 e 9 os menores valores. É importante lembrar que os altos valores não se referem somente à ocorrência das lesões, mas que há também um valor de importância agregado.

O alto valor apresentado pela estação 1 tem que ser observado com ressalvas, desde que é representada por apenas três exemplares.

O teste Kruskal-Wallis apresentou diferenças significativas entre as estações 1 e 9, entre a 6 e 9 e entre a 8 e 9.ao nível de $p < 0,05$.

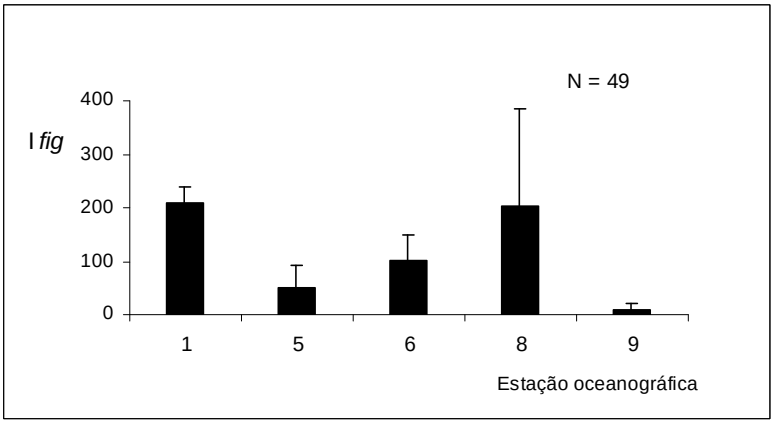



Figura 23. Variações médias e desvios-padrão do Índice do fígado em exemplares de *A. lineatus* por estação oceanográfica.

Ao se analisar separadamente indivíduos jovens e adultos, o teste de Kruskal-Wallis indicou diferenças significativas somente na estação 5 (Fig. 24). Entretanto, o teste não pode ser aplicado com as amostras das estações 1 e 6 por não possuírem número suficiente ou de jovens ou de adultos.

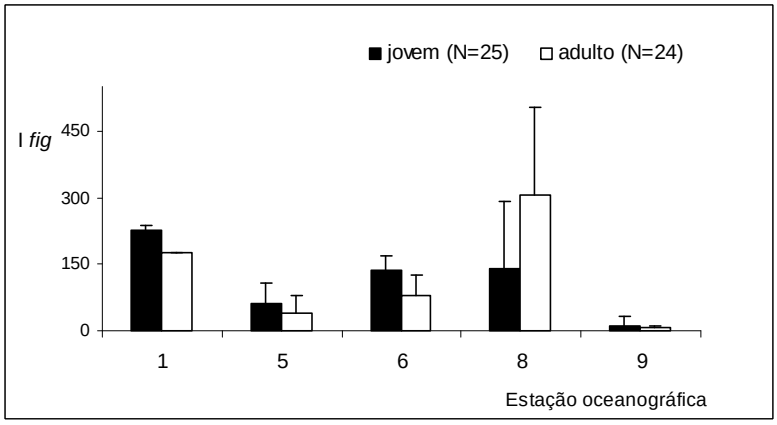



Figura 24. Variações médias e desvios-padrão do Índice do fígado em exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica.

Os melano-macrófagos podem ser visualizados como células pigmentadas ou grupo de células pigmentadas que são denominadas centros de melano-macrófagos. Seu material granular apresenta coloração entre o amarelo e o marrom escuro quando corado com HE. Os centros de melano-macrófagos ocorreram com relativa freqüência nas amostras, às vezes, de forma severa (Fig. 25 A e 25 B).

Foi também verificada a ocorrência de microsporídios no fígado de exemplares de *A. lineatus* (Fig. 25 C-D). Tal ocorrência, associada à de centros de melano-macrófagos foram analisados em conjunto para a verificação de uma possível associação como uma resposta imunológica indireta do organismo.

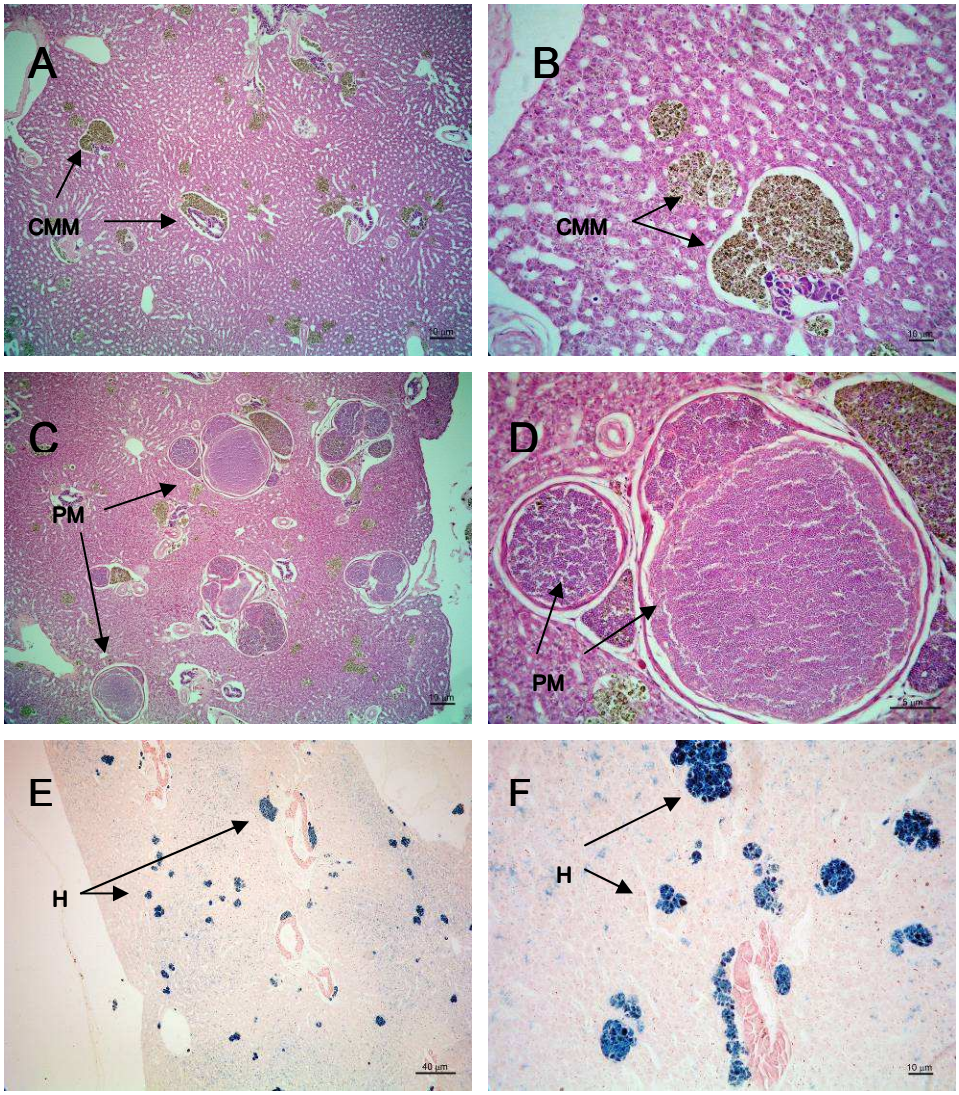



Figura 25. Fotomicrografias do fígado de *A. lineatus*. A e B: centros de melano-macrófagos (CMM) aumento 100x e 400x; C e D: parasito microsporídio (PM), aumento 100x e 400x coloração HE; E e F: Hemossiderina (H), aumento 100x e 400x, coloração de *Perls*. Escala indicada na figura.

Na figura 26 observa-se de maneira geral, que o fígado de *A. lineatus* apresentou o *score* de ocorrência moderada de centros de melano-macrófago e do parasito como predominantes em todas as estações e que ocorrências severas foram mais raras. Também se observou a presença de centros de melano-macrófagos (CMM) quando ocorre o parasito microsporídio, sendo que o contrário não é observado. Esse fato pode ser indicativo de uma resposta imunológica.

Os gráficos permitem visualizar também, que a estação 5 apresentou as ocorrências mais severas de ambos, enquanto que as estações 1 e 9 apresentaram ocorrências predominantemente moderadas, as estações 6 e 8

as ocorrências foram de moderadas a raras.

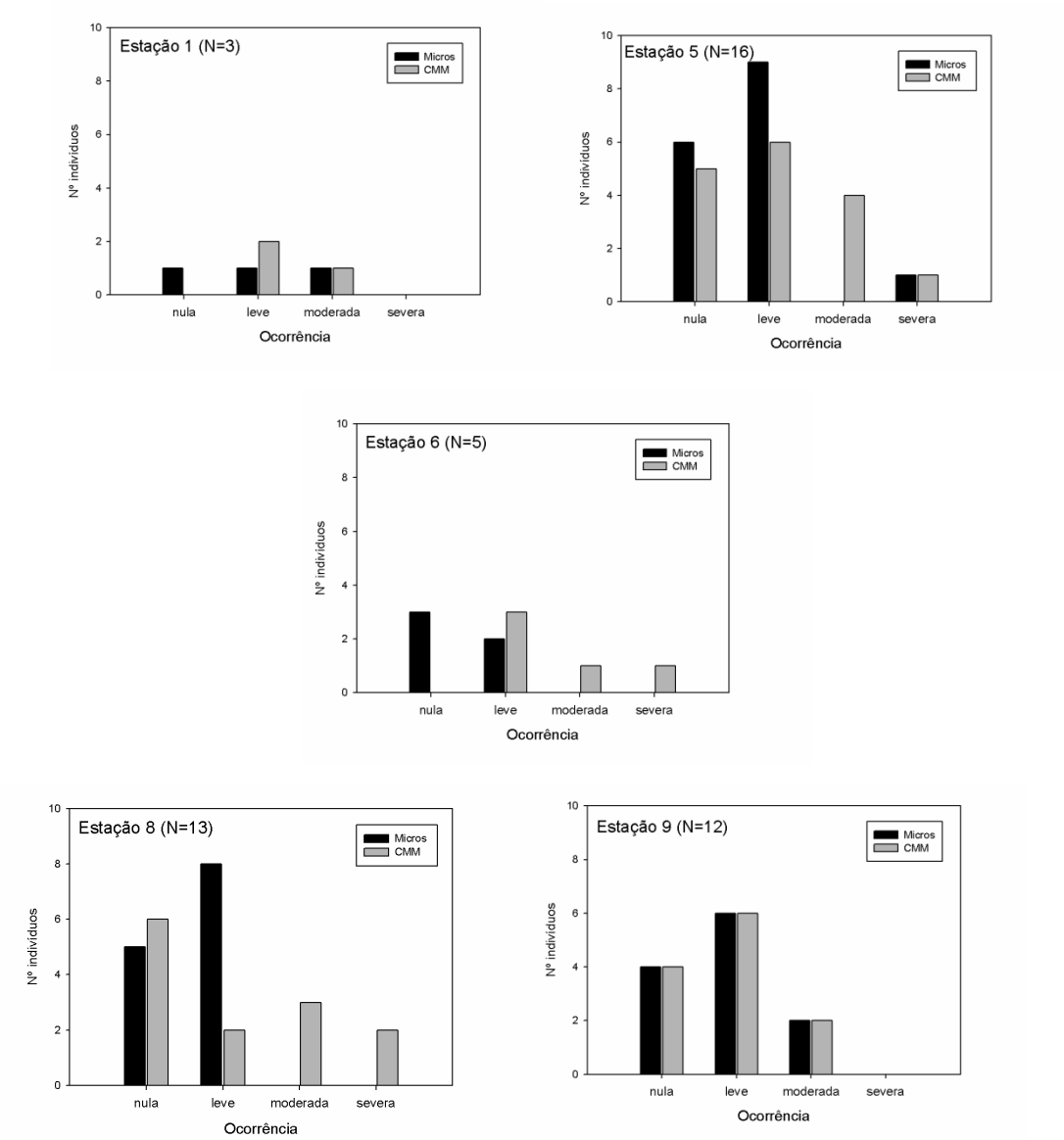



Figura 26. Distribuição do *score* de ocorrência do parasito microsporídeo e de centros de melano-macrófago nos fígados de *A. lineatus* por estação oceanográfica.

A hemossiderina é um pigmento de origem endógena, resultante da degradação de hemáceas. A formação da hemossiderina geralmente ocorre após a hemorragia de um órgão. Quando o sangue deixa um vaso sanguíneo rompido, suas células morrem e a hemoglobina das hemácias é liberada no

espaço intracelular. Ao microscópio, a hemossiderina apresenta-se com coloração azul escura após a reação de *Perls*. Essa reação se processou pela quebra da proteína ligada ao ferro pelo ácido hidroclorídrico, permitindo que o ferrocianeto de potássio combinasse com o ferro férrico. Pôde ser observada tanto dispersa pelo tecido como dentro dos centros de melano-macrófagos (Fig. 25 E-F).

A ocorrência severa de hemossiderina foi predominante em todas as estações (figura 27). A estação 5 apresentou a maior variação do *score* de ocorrência e a única que apresentou exemplares sem hemossiderina.

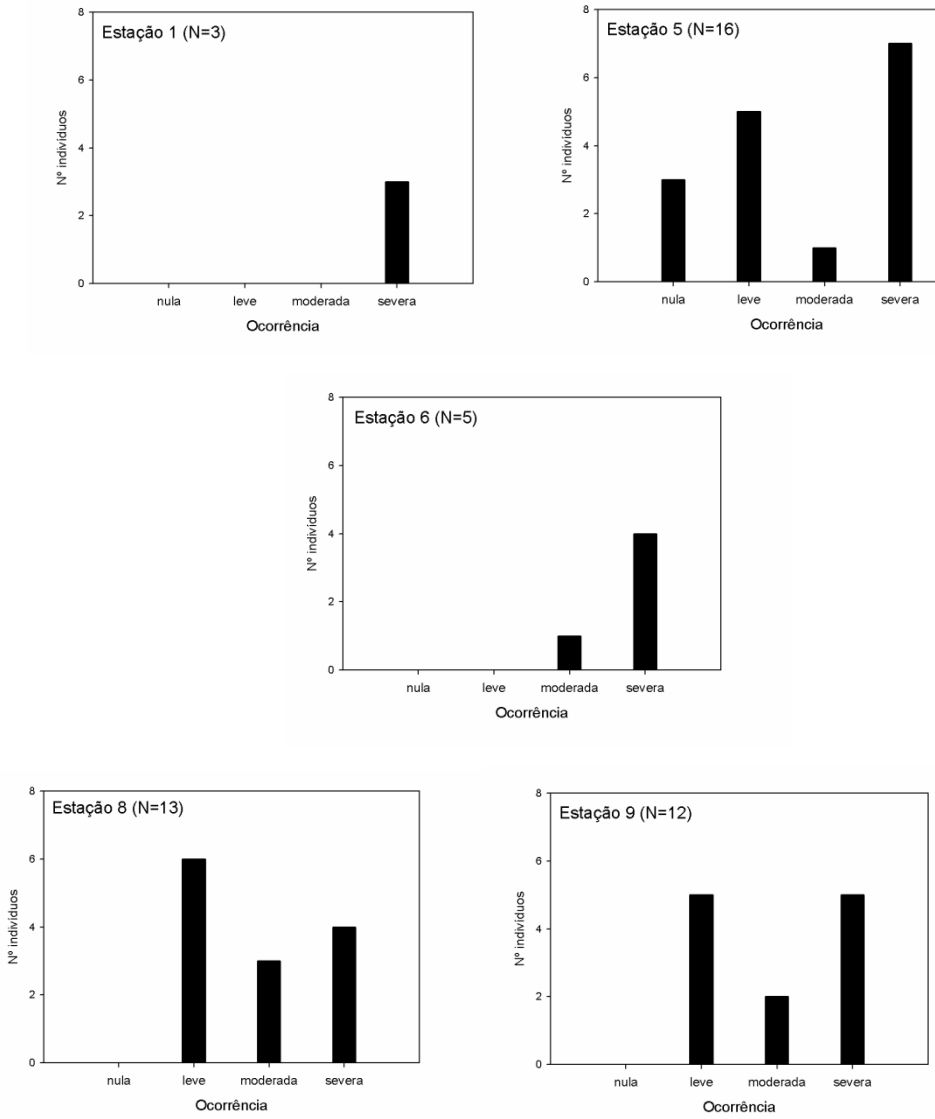



Figura 27. Distribuição do *score* de ocorrência de hemossiderina nos fígados de *A. lineatus* por estação oceanográfica.

A prevalência permite verificar o quanto é comum, ou rara, uma determinada alteração nos indivíduos da população amostrada. Na tabela 8 verifica-se o número de ocorrências de cada alteração observada por local, bem como o número de ocorrências dos centros de melano-macrófagos, de microsporídios e de hemossiderina.

As maiores ocorrências detectadas foram necrose (53%) e infiltrado leucocitário (49%), ambas com maior prevalência nas estações 6 e 8. Ao analisar separadamente a baía de Santos e o canal de Bertioga têm-se 54 e 52% de necrose e 58 e 40% de infiltrado leucocitário nos fígados dos indivíduos analisados, respectivamente.

Tabela 8. Prevalência (%) das alterações observadas no fígado dos indivíduos de *A.lineatus*, por estação oceanográfica. n= número de indivíduos.

| **Prevalência em %** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **Estação oceanográfica** | | | | |
| **Lesões observadas** | **1** (N=3) | **5** (N=16) | **6** (N=5) | **8** (N=13) | **9** (N=12) |
| edema | 33 | 0 | 0 | 15 | 0 |
| alteração estrutural | 33 | 6 | 40 | 30 | 0 |
| esteatose | 100 | 31 | 60 | 84 | 33 |
| atrofia | 0 | 31 | 20 | 53 | 0 |
| necrose | 100 | 43 | 80 | 76 | 15 |
| hipertrofia | 0 | 18 | 20 | 38 | 0 |
| hiperplasia | 100 | 12 | 20 | 30 | 8 |
| infiltrado leucocitário | 100 | 50 | 60 | 61 | 8 |
| parasitas | 66 | 62 | 40 | 61 | 66 |
| centro de melanomacrófago | 100 | 68 | 100 | 53 | 58 |
| hemossiderina | 100 | 81 | 100 | 100 | 100 |

A ocorrência de hemossiderina foi prevalente em todas as estações, com exceção da estação 5. Os centros de melano-macrófagos ocorreram em todas as estações, mas em menor intensidade nas estações 5 e 8. Quanto ao microsporídio, sua prevalência foi constante e uniforme entre todas as estações.

Gônadas

Pela leitura das preparações permanentes não foram observados indícios de intersexo em nenhuma das gônadas analisadas.

Entretanto, foi observada a ocorrência de atresia e de centros de melano-macrófagos. Os centros de melano-macrófagos já foram descritos anteriormente e sua ocorrência nas gônadas pode estar relacionada aos processos de atresia, que representam um processo fisiológico comum de degeneração e absorção, mais observado na fase vitelogênica. Não foi observada a ocorrência de infiltrado leucocitário nas amostras.

O formato dos folículos atrésicos é irregular, sendo caracterizados pela desintegração do núcleo, da membrana vitelínica e liquefação dos grânulos de vitelo. Pode apresentar alguns estágios seqüenciais de degeneração (α, β, γ e δ) e ao microscópio aparece levemente descolorido (Fig. 28-A-B). Centros de melano-macrófagos são mostrados nas figuras 28 C e 28 D.

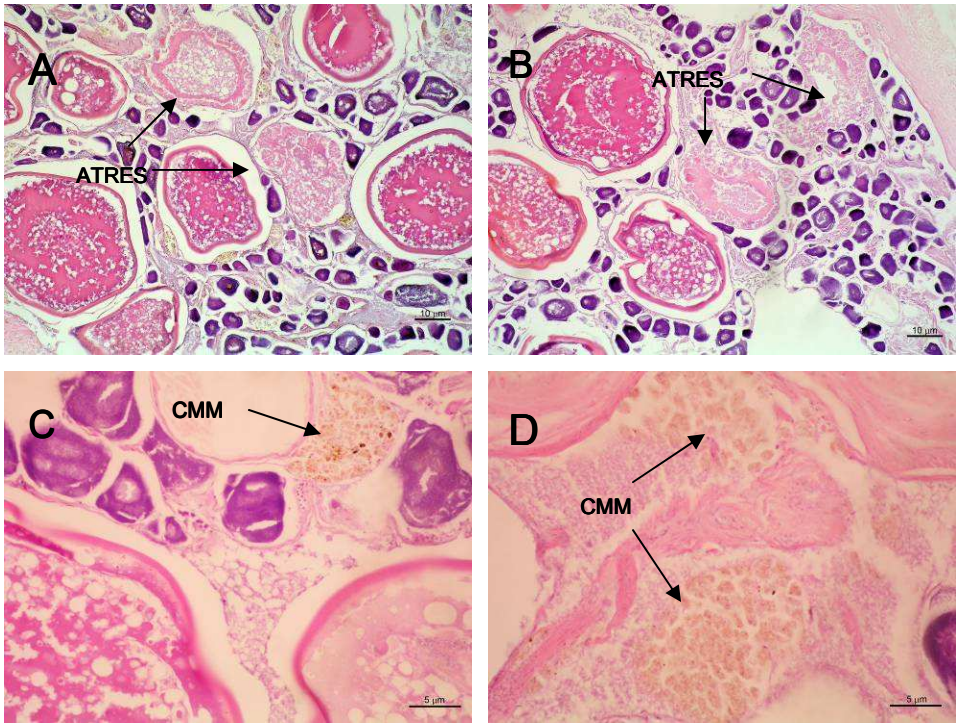



Figura 28. Fotomicrografias da gônada de *A. lineatus*. Mostrando. A e B: atresia (ATRES), (aumento 100x); C e D: centros de melano-macrófagos (CMM), aumento 400x, coloração HE. Escala indicada na figura.

Atresia foi observada em aproximadamente um terço (ou 36%) das amostras ao longo do ano e pode ser verificada em vários meses, com maior intensidade nos meses de março e maio, mas principalmente em maio, meses estes que coincidem com a época de desova de *A. lineatus* estimada no presente estudo (Fig. 29). Os meses em que não foi verificada a ocorrência de atresia foram os meses de inverno (junho, julho e agosto) e em fevereiro.

Os centros de melano-macrófagos ocorreram em quase metade (ou 46%) das amostras ao longo do ano, mostrando um padrão de distribuição semelhante durante os picos de ocorrência de atresia, principalmente em março e em maio. Ocorreram em praticamente todos os meses, com exceção dos meses de abril, agosto e setembro.

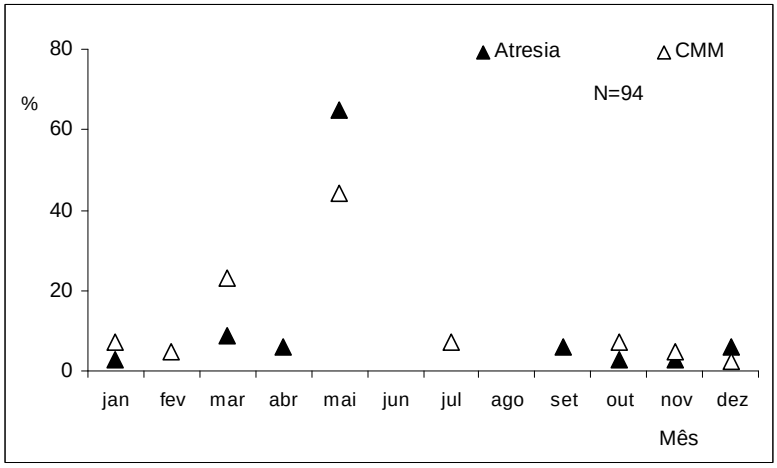



Figura 29. Distribuição percentual de ocorrência de atresia e de centros de melano-macrófagos nas gônadas de *A. lineatus* para todo o período na baía de Santos e no canal de Bertioga.

A distribuição do *score* de ocorrência revelou que a única gônada analisada da estação 3 apresentou ocorrência nula para os achados. Embora as ocorrências mais severas tenham sido nas estações 5 e 6, a estação 5 apresentou um alto valor de ocorrência nula e a estação 6 toda a gama de ocorrências, e um alto número de ocorrência leve. A estação 5 foi a única que apresentou centros de melano-macrófagos sem a presença de atresia (Fig. 30).

As estações do canal de Bertioga, 8 e 9, apresentaram exclusivamente *scores* de ocorrência nula e leve para os achados.

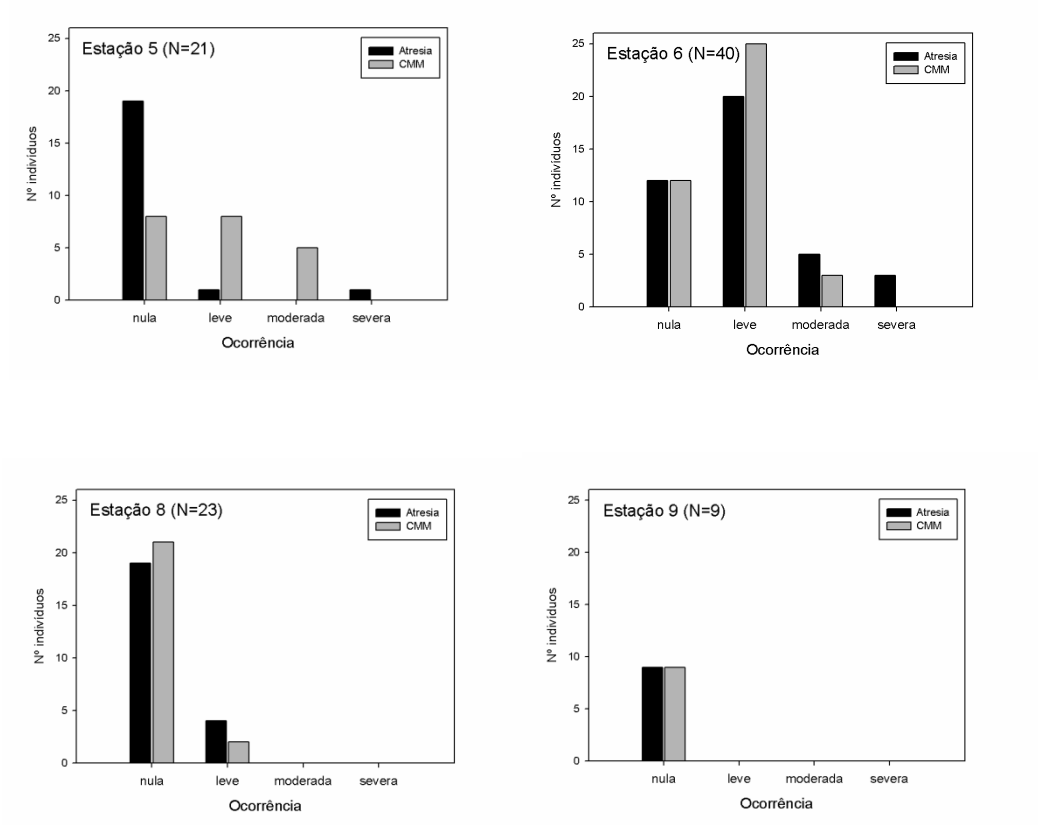



Figura 30. Distribuição do *score* de ocorrência de atresia e de centros de melano-macrófagos nas gônadas de *A. lineatus* por estação oceanográfica.

Considerando-se a atresia e os centros de melano-macrófagos em todas as gônadas, cerca de 20% das amostras apresentaram co-ocorrência dos achados. Dentre estas, 95% ocorreram na estação 6 e 5% na estação 5. As estações 8 e 9, apesar de apresentarem números amostrais semelhantes para os *scores* de ocorrência, não apresentaram uma co-ocorrência dos achados.

Se os centros de melano-macrófagos forem derivados apenas das atresias, a ocorrência apenas de atresia poderia indicar desova mais tardia em relação àquelas fêmeas em que aparecem ambas as estruturas.

As estações 5 e 6 apresentaram as maiores prevalências (Tab. 9). Os resultados indicam que na estação 6, os centros de melano-macrófagos estão relacionados à presença de atresia, porém o mesmo não aconteceu na estação 5, onde a ocorrência desses últimos deve estar relacionada a outros fatores.

As estações do canal de Bertioga apresentaram um padrão diferente da baía de Santos, com menores prevalências de atresia e centros de melano-macrófagos na estação 8 e nenhuma na estação 9.

Tabela 9. Prevalência (%) dos achados observados nas gônadas de *A.lineatus*, por estação oceanográfica. N= número de indivíduos.

| Prevalência em % | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Estação oceanográfica | | | | |
| **Achados** | **3 (N=1)** | **5 (N=21)** | **6 (N=40)** | **8 (N=23)** | **9 (N=9)** |
| atresia | 0 | 10 | 70 | 17 | 0 |
| centro de melanomacrófago | 0 | 62 | 70 | 9 | 0 |

## Discussão

O fígado dos actinopterígios é o órgão primário para a biotransformação de contaminantes orgânicos, metabolismo de hormônios sexuais e de alguns metais. Os fígados são sensíveis aos contaminantes, que podem se bioacumular em níveis muito mais altos, até várias ordens de magnitude, que o meio ou mesmo em relação a outros órgãos (Au, 2004).

Diversos trabalhos têm demonstrado correlação entre lesões no fígado e exposição de peixes de fundo que habitam áreas contaminadas como, por exemplo, a neoplasia que é associada à exposição de PAHs (Landahl, *et al.*, 1990; Myers *et al.*, 1990/1991; Murchelano & Wolke, 1991; Collier & Varanasi, 1991; Simpson *et al*., 2000; Blazer *et al.*, 2006). Estas lesões são geralmente consideradas como biomarcadores histopatológicos efetivos de exposição aos contaminantes, sendo reconhecidas como ferramentas importantes para a detecção de efeitos crônicos adversos derivados dessa exposição (Hinton, 1989; Myers *et al.*, 1998).

Contudo, alguns autores atentam para o fato de que as correlações não são conclusivas (Au, 1994; Chang *et al.*, 1998). Embora apresente uma alta relevância ecológica e alta sensibilidade, a análise histopatológica do fígado, em geral, tem baixa especificidade para os contaminantes, já que certas lesões podem ser específicas da espécie em estudo e também pelo fato de as estruturas podem ser derivadas de diversos estressores, podendo interferir num diagnóstico correto ou numa avaliação causa-efeito (Au, 2004).

Outro aspecto apontado por este autor é a sinergia ou o antagonismo das interações químicas serem responsáveis pelo difícil entendimento das relações de causa e efeito entre contaminação e biomarcadores. Entretanto, algumas lesões têm sido frequentemente relacionadas a certos tipos de contaminantes, cujas ocorrências são freqüentes em áreas impactadas com derramamento de óleo (Marty, *et al.* 2003).

Assim, pode-se inferir que o uso dessa ferramenta de avaliação não é indicado para se identificar a fonte da contaminação, entretanto, é eficiente para se comparar áreas submetidas a diferentes graus de impacto, ao se avaliar o estado de higidez do organismo em estudo. Dessa maneira, a aplicação do índice no presente estudo, proposto por Bernet *et al.* (1999), foi apropriado, porque a abordagem matemática dos achados histológicos permitiu uma quantificação padronizada e uma interpretação dos resultados menos subjetiva.

Outros aspectos a serem considerados são a conveniência da utilização de um índice em trabalhos de campo, quando nem sempre é possível obter amostras de um local de referência, ou mesmo realizar experimentos para uma validação. Um índice permite uma comparação dos resultados entre locais com diferentes graus de contaminação e permite a comparação dos resultados com outras espécies, a qual nem sempre é possível devido ao fato de certas lesões serem espécie-específicas.

Em levantamento realizado sobre contaminantes orgânicos no sistema estuarino de Santos, os resultados mostraram a presença de três categorias de contaminantes orgânicos, presentes tanto na água como no sedimento: hidrocarbonetos, aromáticos e alifáticos, PCBs, de origem principalmente industrial; e esteróis fecais que são indicadores de esgoto (Ferreira, 2008). Os níveis mais altos desses contaminantes encontraram-se principalmente em duas áreas: HPAs e PCBs na porção mais interior do estuário e no entorno da boca do emissário submarino na baía de Santos, e esteróis fecais principalmente no entorno da boca do emissário, sendo que resultados semelhantes foram encontrados por outros autores, como Abessa (2002), Medeiros & Bícego (2004), Bícego *et al.*(2006) e Souza *et al.* (2007).

Na baía de Santos, os dados obtidos por Ferreira (2008) mostram que as estações oceanográficas de estudo apresentaram valores considerados

baixos para todos os contaminantes orgânicos avaliados, exceto na área de influência do emissário submarino.

Esses resultados condizem com os obtidos nos estudos histopatológicos do fígado de *Stellifer rastrifer* na baía de Santos (Dias, 2008), em que a influência do emissário na estação 5 foi apontada como responsável pelos resultados da maior prevalência de histopatologias hepáticas nas amostras de cangoás (*Stellifer rastrifer*) coletados nessa área.

Esse fato pode ter tido como uma das causas o hábito alimentar da espécie em questão. Um dos itens alimentares de *S. rastrifer* é o camarão, que é abundante na área próxima à boca do emissário, devido à grande quantidade de matéria orgânica no local, fato esse observado tanto *in loco* durante a campanha de coleta como em laboratório durante a dissecação dos tratos digestórios de indivíduos da espécie. Considerando-se que a fauna bêntica é interdependente do sedimento e da água intersticial e, portanto, fortemente exposta à contaminação (Chapman & Wang, 2001), esse hábito alimentar de *S. rastrifer* pode determinar sua presença de maneira mais intensa na área da estação 5 tendo, assim, uma maior probabilidade de exposição aos contaminantes do efluente lançado pelo emissário.

Porém, os resultados do presente estudo referentes às lesões hepáticas observadas na estação 5 não refletiram as condições de contaminação desse local, desde que os resultados apresentaram os valores mais baixos do índice de lesões na baía de Santos. *A. lineatus* foi capturado nos mesmos arrastos que *S. rastrifer* do estudo acima, o que teoricamente indicaria que esteve exposto aos mesmos contaminantes.

Ao se considerar a variação espacial da meiofauna bêntica na baía de Santos, o grupo dos poliquetas, um dos principais itens alimentares de *A. lineatus* (Gasalla, 1995; Chaves & Serrano, 1998; Louro, 2007; Guedes & Araújo, 2008), foram encontrados em maiores densidades na estação alinhada com o emissário submarino, seguida das estações do lado leste da baía, e as menores densidades encontradas na estação situada a oeste da baía (Ferreira, 2008). Observa-se a mesma distribuição espacial de *A. lineatus* na baía. Caso essa distribuição esteja condicionada à presença das presas, seria de se esperar que as amostras de fígado de indivíduos da estação 5 também apresentassem mais indícios de contaminação, refletidas num alto índice de

lesões hepáticas, como no caso de *Stellifer rastrifer.* Porém, esse fato não ocorreu, pelo menos no que diz respeito às amostras de fígado analisadas.

A análise histopatológica revelou que 18% das amostras não apresentaram alteração estrutural, enquanto que 82% apresentaram pelo menos uma lesão hepática. Embora com um número de amostras menor e somente da baía de Santos, a mesma porcentagem foi obtida para *Stellifer rastrifer*. Estes últimos apresentaram o infiltrado leucocitário, acompanhado de necrose e hepatite, como alterações histopatológicas de maior prevalência (63%) na estação 5, ocorrendo na estação 1 a menor prevalência.

Os valores mais elevados do índice de lesão hepática, verificados na estação 1, e num grau um pouco menor na estação 6 do presente estudo, podem indicar que esses locais sofrem influência dos sedimentos contaminados provindos do alto estuário, pelo fluxo unidirecional; ou que os exemplares em estudo estiveram expostos aos contaminantes em outras áreas mais contaminadas antes de estarem no local onde foram coletados na baía de Santos. A primeira hipótese parece não ser verdadeira, desde que as ocorrências de contaminantes orgânicos e metais-traço na estação 1 foram baixas (Ferreira, 2008).

Esse fato pode explicar as diferenças entre as prevalências de lesões entre *A. lineatus* e *S. rastrifer.* Os resultados opostos das duas espécies podem estar revelando o fato de que *A. lineatus* de fato realiza migrações entre o interior do estuário e a baía de Santos (inclui-se aqui também o canal de Bertioga) e de que *S. rastrifer* permanece na baía.

Azevedo (2008), em seus estudos histopatológicos do fígado de *Cathorops spixii* no sistema estuarino de Santos, aplicou o mesmo índice de Bernet *et al.* (1999) e encontrou a prevalência de necrose (71%) e infiltrado leucocitário (41%) em suas amostras. As mesmas prevalências foram encontradas no presente trabalho para todas as amostras: necrose (53%) e infiltrado leucocitário (49%). Apesar das espécies serem diferentes, esse fato pode ser um indicativo de que os contaminantes responsáveis por estas lesões sejam comuns, bem como as respostas fisiológicas a eles. .

A necrose pode ter várias causas, como a conversão de um contaminante em um metabólito tóxico, que pode incluir radicais livres ou oxigênio reativo. Estes levam à lesão peroxidativa dos lipídios da membrana e

consequentemente necrose. Já o infiltrado leucocitário é uma resposta inespecífica, produzida tanto por agentes químicos como por patógenos. Sua função é manter a integridade do tecido infectado quando estímulos físicos, químicos ou por parasitos, afetam fortemente o tecido.

Chang *et al.* (1998) ao monitorarem o linguado *Pleuronectes americanus* nos estuários da costa nordeste dos Estados Unidos, estimaram alta associação positiva entre lesões necróticas no fígado e contaminantes, como alguns congêneres de PCBs e alguns metais-traço como arsênio, zinco, níquel e mercúrio. Também, lesões inflamatórias tiveram associação positiva com HPAs, PCBs, pesticidas e elementos-traço como cromo, chumbo e selênio. Estes resultados são extremamente reveladores, uma vez que todos esses elementos estão presentes nos sedimentos do sistema estuarino de Santos - São Vicente.

Os HPAs também estão presentes na baía de Santos, segundo Barbosa (2009). A autora verificou a biodisponibilidade de HPAs pelo estudo dos metabólitos biliares e da atividade da enzima EROD, na bile de *S. rastrifer* (cangoá), *Micropogonias furnieri* (corvina), *Nebris microps* (pescada-banana) e *Sphoeroides testudineus* (baiacú) coletados concomitantemente aos linguados do presente estudo em 2005. Como resultado, os níveis de HPAs na bile dos exemplares capturados na baía de Santos apresentaram-se próximos aos valores encontrados em regiões contaminadas. Não houve diferenças nas concentrações de metabólitos entre as estações de coleta dentro da baía, o que indicou que o local onde foram obtidas as amostras de peixes pode não corresponder, necessariamente, ao local de contaminação pelos HPAs, lembrando também da alta capacidade de integrar ambientes que as espécies do nécton apresentam.

Bícego *et al.* (2006) encontraram nos sedimentos do alto estuário e nos canais de Santos e São Vicente uma grande predominância de HPAs originários da combustão de carvão, petróleo bruto, óleo diesel, atividades portuárias e humanas nas vizinhanças do estuário.

Os HPAs, especialmente o benzo(a)pireno, foram encontrados em concentrações muito elevadas nos sedimentos do canal da COSIPA pela CETESB (2001), sendo os valores muito superiores àqueles determinados em ambientes considerados poluídos em outras regiões do mundo. Além desse

local, foi observada a acumulação de diversos HPAs no rio Casqueiro e no rio Santo Amaro (CETESB, 2001).

Quanto à baía de Santos, na ponta do Itaipú, local que foi utilizado até 1974 para descarte de material dragado do canal de Santos, foram encontrados pireno, fluoranteno, fenantreno, dibenzo(*a*)antraceno, benzo(*a*)pireno, benzo(*a*)antraceno, antraceno e acenaftileno nos sedimentos em concentrações que causam efeito tóxico à biota, e a persistência desses compostos nas áreas que receberam o material dragado contaminado (CETESB, 2001).

Os poluentes orgânicos persistentes (POPs), tais como compostos organoclorados (OCs), hidrocarbonetos de petróleo etc., também estão presentes na região de estudo (Bícego *et al.*, 2006). Esse trabalho cita que a natureza lipofílica, a hidrofobicidade e baixa taxa de degradação química e biológica dos POPs, tais como pesticidas organoclorados e bifenilos policlorados (PCB) podem levar a uma bioacumulação em tecidos biológicos e subsequente aumento de suas concentrações em níveis tróficos superiores via teia alimentar. A contaminação por esses compostos, segundo os autores, está associada principalmente às atividades industriais ou aterros sanitários na região do alto estuário, em especial, próximo ao complexo industrial de Cubatão ou da boca do rio Santo Amaro, que revelaram níveis mais elevados do que os outros pontos amostrados.

Segundo a CETESB (2001), os bifenilos policlorados (PCBs) na baixada santista tem uma distribuição difusa, ocorrendo em todos os locais avaliados, com níveis de concentração nos sedimentos acima do limite que causa efeito tóxico à biota na região da saída do emissário submarino de Santos, no rio Cubatão e na região da COSIPA. A contribuição atmosférica é apontada como uma importante via de entrada de PCBs na região, além de outras fontes difusas tais como as águas de escoamento superficial. Foi verificado, também, bioacumulação de PCBs em alguns organismos coletados no estuário de Santos, especialmente aqueles que são sésseis e filtradores (ostras e mexilhões), ocorrendo alguns valores acima do critério para consumo humano.

A distribuição de metais-traço na baía de Santos e no canal de Bertioga apresenta resultados conflitantes em alguns trabalhos. Enquanto alguns autores detectaram concentrações baixas para diversos elementos (Ferreira,

2008; Zaroni, 2006), os estudos de Hurtado (2003), revelam relativamente altas concentrações de metais principalmente no centro-oeste da baía e na desembocadura do canal de Santos.

As estações oceanográficas do canal de Bertioga não serviram como área de referência pouco impactada, como se pensava no início das coletas. Pelo contrário, a maior prevalência de lesões hepáticas ocorreu na estação 8, próxima à desembocadura do rio Itapanhaú. Não há uma explicação conhecida para a contaminação dessa área, uma vez que os manguezais em Bertioga, que podem ser indicadores de preservação ambiental, ainda se encontram em boas condições (CETESB, 2007), sendo estes um dos principais retentores e mitigadores dos baixos níveis de contaminação da baía de Santos. Entretanto, Zaroni (2006) classificou a região como moderadamente degradada, segundo testes ecotoxicológicos realizados com amostras provenientes da região.

Bertioga é o município paulista com o maior ritmo de crescimento populacional entre 2000 e 2005 (8,4% ao ano), segundo a Fundação SEADE (Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados) do estado de São Paulo. Dados de 2004 revelaram que o sistema de coleta e tratamento do esgoto atendia apenas 28% do total da população, sendo que os principais problemas ambientais relacionados são a demora da instalação de rede de esgoto, o alto número de ligações clandestinas de esgotos, as deficiências no sistema de tratamento do esgoto coletado e a dispersão de esgoto em valas de drenagem (Carmo, 2004). Dessa maneira, o esgoto *in natura* pode representar uma fonte de contaminação do canal de Bertioga.

Campos (2003) realizou uma análise das lesões histopatológicas observadas no fígado do peixe *Trematomus newnesi* na Estação Antártica Brasileira “Comandante Ferraz” em experimentos *in situ*, na saída do esgoto e em laboratório. As lesões predominantes no fígado foram vacuolização lipídica e a presença de macrófagos principalmente nos peixes coletados em campo que, segundo a autora, apresentou o maior potencial de risco devido, provavelmente ao efluente do esgoto.

As causas mais comuns de alterações metabólicas na célula que originam a vacuolização lipídica ou esteatose podem ser tóxicas, provocando uma diminuição do metabolismo celular onde a falta de oxigênio leva à queda de ATP. Essa queda diminui a síntese de fosfolipídios, onde uma carência

induz uma diminuição na quantidade dessas moléculas, alterando sua relação com a gordura neutra, tornando o componente lipídico visível na célula. O acúmulo de lipídios pode ser normal, mas pode também representar uma defesa contra contaminantes altamente lipossolúveis, principalmente pesticidas e hidrocarbonetos industriais (Kime, 1995).

A esteatose foi prevalente nas amostras de fígado nas estações 1 (baía) e 8 (canal). A estação 8 parece estar mais contaminada do que os estudos revelam, devido ao alto grau de prevalência não só de esteatose, mas também de necrose e infiltrado leucocitário.

A atividade humana devido à ocupação desordenada nos últimos anos próximo ao rio Itapanhaú pode também ser uma das causas da contaminação atual, em relação aos efluentes de esgoto, principalmente pelo fato da estação 8 encontrar-se com índices de lesão bem maiores que a estação 9 próxima à barra do canal. Dados de contaminação por metais no sedimento superficial dessa área revelaram baixas concentrações metais (Hurtado, 2003; Zaroni, 2006), indicando que a contaminação provinda do alto estuário não chega até o local do ponto de coleta 9 no canal de Bertioga, pois se depositaria antes, na altura do largo do Candinho.

Entretanto, o canal de Bertioga apresentou, em amostragens realizadas pela CETESB em 2001, níveis de HPAs totais elevados na região, com valores inferiores somente aos da região da COSIPA. A Companhia acredita que esta contaminação é, provavelmente, decorrente da exportação de material particulado suspenso oriundo da bacia de evolução da COSIPA (CETESB, 2001). Já Bícego e Montone (2007) encontraram presença significativa de HPAs no canal de Bertioga do tipo HPA com dois anéis, que é característico de óleos leves como o diesel, indicando que as embarcações de turismo seriam as responsáveis pela introdução desse contaminante na área.

Os registros da presença de larvas de Achiridae nas porções mais medianas do canal de Bertioga (Katsuragawa, 2008) podem indicar que, do mesmo modo que há a hipótese de os ovos e as larvas na baía de Santos adentram o estuário via canal de Santos, haja um transporte dos ovos e larvas para o meio do canal de Bertioga, na altura do largo do Candinho, onde há uma presença maior de contaminação provinda do alto estuário santista. Esta é apenas uma suposição, desde que não se sabe exatamente onde ocorre a

desova de *A. lineatus* no canal de Bertioga.

Quanto às outras alterações hepáticas verificadas nas amostras de *A. lineatus*, os centros de melano-macrófagos ocorreram em todas as estações de forma moderada e de forma severa apenas na estação 5. A prevalência total foi de 67%, sendo que na baía foi 79% e no canal foi de 56%. Os maiores valores de prevalência ocorreram nas estações 1 e 6. *Stellifer rastrifer* apresentou prevalência mais alta, de 82% com ocorrência uniforme entre as estações (Dias, 2008).

Dentre as várias funções dos centros de melano-macrófagos, o sequestro de produtos de degradação celular e material potencialmente tóxico é particularmente importante em um ambiente poluído (Agius & Robert, 2003). Um alto grau de centros de melano-macrófagos em peixes sob estresse pode, possivelmente, estar relacionado com um alto conteúdo de necrose ou de degeneração de tecidos e/ou uma alta suscetibilidade do peixe às infecções e infestações parasitárias (Au, 2004).

Essa função ligada ao sistema imunológico, como sequestro de antígenos, pode se desenvolver nas lesões inflamatórias de caráter crônico, e em uma variedade de infecções como algumas doenças bacterianas, fúngicas, viróticas e parasitárias. Assim, a atividade dos macrófagos é um dos primeiros indicadores de que um estressor pode estar presente, podendo fornecer uma indicação precoce das condições patológicas do organismo (Roberts, 1978; Agius & Roberts, 2003).

Segundo Au (2004), os centros de melano-macrófagos nos peixes possuem alta sensibilidade aos estressores ambientais, porém não são biomarcadores específicos de exposição, desde que diversos fatores podem confundir o diagnóstico, como a privação de alimento e alguns fatores físicos, como o calor.

Com seu aparecimento relacionado a uma série de fatores, os centros de melano-macrófagos nos peixes revelam alta sensibilidade, mas ao mesmo tempo, baixa especificidade quanto aos estressores. Os resultados do presente estudo sugeriram uma associação da ocorrência de centros de melano-macrófagos com a presença do parasito microsporídio. De fato, uma co-ocorrência foi observada em todas as estações de coleta, embora a presença de centros de melano-macrófagos pudesse ocorrer mesmo sem a presença do

parasito.

Os microsporídia são parasitas unicelulares eucariontes pertencentes ao Filo Microspora, desprovidos de mitocôndrias, e desenvolvem-se por divisão múltipla ou merogonia, seguida de esporogonia, no interior da célula do hospedeiro. A classificação das espécies (cerca de quase mil) é baseada em características ultra-estruturais, como o tamanho e morfologia dos diferentes estágios de desenvolvimento, na configuração do núcleo e no número de espirais do túbulo polar. Outro critério é a especificidade do local de desenvolvimento, sendo que algumas espécies são restritas a uma célula específica de um único órgão ou sistema enquanto que outras causam infecção sistêmica, envolvendo diferentes órgãos e sistemas (Brasil, 1997; Shaw & Kent, 1999).

A gama de hospedeiros é extensa e inclui a maioria dos invertebrados e todas as classes de vertebrados. Os microsporídeos têm sido associados a doenças humanas, que parece manifestar principalmente em pessoas imunodeficientes. As manifestações clínicas são variadas e incluem microsporidiose intestinal, pulmonar, ocular, muscular, e doença renal. As fontes de infecção humana microsporidial e modos de transmissão são desconhecidos (Weber & Bryan, 1994).

Takvorian & Cali (1984) observaram um microsporídio, o *Glugea stephani,* no linguado *Pseudopleuronects americanus* em New York-New Jersey Lower Bay Complex nos Estados Unidos, com prevalências entre 0,63 a 25% e um aumento do parasitismo correlacionado ao aumento de temperatura da água. Embora a infecção ocorresse durante todo o ano, os autores concluíram que peixes que habitam águas mais quentes têm maior prevalência dessa infecção parasitária. Shaw & Kent (1999) relatam que os impactos negativos na higidez dos peixes chegam ao aumento da mortalidade em algumas espécies, tanto por inanição quanto por diminuição das taxas de crescimento e, consequente predação.

Azevedo (2008) observou em *Cathorops spixii* a ocorrência de parasitos vermiformes e cistos de *Calyptospora spinosa*, um protoparasita patogênico. As formas vermiformes ocorreram no canal de Santos durante o verão, e os cistos de *Calyptospora spinosa* ocorreram no canal de São Vicente e na baía de Santos, com maior freqüência no inverno. Um menor padrão de infestação

desse parasito foi observado durante o verão.

Embora o presente estudo não tenha dados de ocorrência para todas as estações do ano, observou-se uma prevalência de parasitos de 61% para o total, sendo 58% para as amostras da baía e 64% para as amostras do canal. Na baía, somente a estação 5 teve alta prevalência, o que justificaria a incidência mais severa de centros de melano-macrófagos nesse mesmo local. As outras maiores prevalências ocorreram nas duas estações de coleta do canal de Bertioga.

Nos estudos de Dias (2008) a prevalência encontrada em *Stellifer rastrifer* foi alta nas estações 4 e 5 (88%), um pouco menor na estação 6 (50%), não ocorrendo na estação 1. Estes resultados foram semelhantes aos encontrados no presente estudo, exceto pela estação 1, onde os três indivíduos apresentaram prevalência de 100% em mais da metade das lesões observadas.

A hemossiderose, uma desordem metabólica caracterizada por acúmulo de ferro nos hepatócitos, pode ocorrer quando há um depósito contínuo e progressivo de ferro nas células do fígado (Myers *et al.*, 1987). Em alto grau, pode causar insuficiência desse órgão. Esse excesso pode ser causado pela degradação da hemoglobina pelos macrófagos, produzindo hemossiderina e porfirina, e pode ocorrer também pela incapacidade de adsorção pelo intestino de todo o ferro presente no organismo.

A ocorrência severa de hemossiderina nos fígados analisados de *A. lineatus* foi observada em todas as estações de coleta, com uma prevalência de 93% (87% na baía e 100% no canal). A estação 5 foi a única que apresentou amostras de fígado sem a ocorrência de hemossiderina. Para *Stellifer rastrifer*, a hemossiderose foi prevalente entre 17-50% e ocorreu em todas as estações de coleta, sendo que as estações 1 e 6 apresentaram as maiores prevalências (Dias, 2008).

Há evidencias que a idade dos peixes tem um importante fator de risco para vários tipos de lesões (Myers *et al.*, 1998). Esses autores observaram que, em geral, a idade é um fator de risco altamente significativo em espécies em que foram observadas lesões com um período relativamente longo de latência para o desenvolvimento de neoplasias, alterações celulares focais pré-neoplásicas e outras, sendo que para alguns tipos de lesão, cada ano de idade

aumenta aproximadamente de 1,3 a 2,0 vezes o risco de lesão. As lesões necróticas, no entanto, não são consideradas dependentes da idade.

Embora não tenha sido estimada a idade dos linguados coletados, os exemplares foram divididos em jovens e adultos para a verificação de diferenças na incidência de lesões. As amostras do canal de Bertioga não apresentaram diferenças significativas na ocorrência de lesões em jovens e adultos de *A. lineatus*. Na baía de Santos, somente na estação 5 houve diferenças entre os jovens e adultos, sendo que os exemplares considerados jovens apresentaram valores do Índice do órgão maiores que os exemplares adultos. Ao grupar todos os exemplares da baía e comparar com os do canal, observaram-se diferenças significativas entre os jovens e adultos da baía de Santos, sendo que os jovens apresentaram valores mais elevados do Índice. Tal fato pode ser uma das causas de mortalidade. Esse resultado evidencia que lesões mais severas, como a neoplasia, que elevariam o valor do índice do órgão, não ocorreram nas amostras do fígado de *A. lineatus* adultos.

De acordo com Myers *et al.* (1998), avaliações histopatológicas deveriam ser realizadas em indivíduos mais jovens, os quais dariam respostas mais confiáveis desde que ainda não tivessem realizado migrações entre *habitats* contaminados e não contaminados, por exemplo, como na época de desova. Esse argumento se aplica em espécies que apresentam padrões de deslocamento entre *habitats*, como foi constatado para *A. lineatus* que alcança áreas mais internas do estuário e, portanto, mais contaminadas. Quando os indivíduos jovens migram para a baía, podem já ter sofrido uma exposição mais intensa aos contaminantes, o que justificaria as lesões observadas, fato esse evidenciado nas amostras da estação 1, com altos índices de lesão no fígado.

Stentiford *et al. (*2003) atestam que, após tantos estudos e resultados de monitoramentos ambientais, é geralmente aceito que determinadas lesões hepáticas em linguados marinhos possam ser induzidas por contaminantes presentes no ambiente e que essas representam um *end point* ecologicamente relevante de exposição à poluição. Entretanto, fica claro também, que nem todas as lesões podem ser utilizadas em todas as espécies como biomarcadores histopatológicos, o que torna necessária uma padronização da avaliação para que resultados de várias regiões possam ser comparados.

Os resultados obtidos sugeriram que *A. lineatus* é resistente aos

contaminantes presentes no sistema estuarino quanto à condição do intersexo e lesões nas gônadas. Entretanto, junto com a histologia das gônadas são necessários estudos que envolvam também o sistema endócrino, para tentar estabelecer a influência dos *EDC*s, desde que os efeitos podem ocorrer em múltiplos locais do sistema reprodutivo (Kime, 1995; Blazer, 2002).

A complexidade da ação dos *EDC*s é revelada ao expressar sua toxicidade de maneira não direta. Muitos dos compostos resistem aos processos normais de decomposição e se acumulam no organismo, resultando numa contaminação crônica. Esses compostos são lipofílicos e a gordura nos tecidos pode ser metabolizada em diferentes circunstâncias, na falta de alimento e na época de reprodução. Nesses casos ocorre um aumento da liberação e ativação de substâncias acumuladas nos tecidos gordurosos. A partir daí, podem entrar em ação diversos mecanismos e distúrbios no processo reprodutivo (Streit, 1992).

As informações sobre a ocorrência de intersexo em peixes no ambientes marinhos são escassas, embora já tenha sido bastante reportado em espécies de águas continentais e espécies migratórias, como os estudos de Harshbarger *et al*. (2000) com esturjão no rio Mississipi (EUA), que encontraram 29% das gônadas dos machos com intersexo. Embora de maneira inconclusiva, os autores sugerem que esses achados estejam relacionados à contaminação por *EDC*s.

Stentiford & Feist (2005) relataram alguns estudos com espécies estuarinas e marinhas onde foi detectada uma alta prevalência de intersexo, entre eles, os estudos com linguados em locais como costa da Inglaterra (*Platichthys flesus*), na costa do Japão (*Bothus pantherinus*) e na baía de Tóquio (*Pleuronctes yokohamae*), indicando a ação dos disruptores endócrinos nos ambientes costeiros.

A condição mais comum de intersexo é o ovotestes, que é a presença do tecido ovariano nos testículo dos machos. Aparecem como poucos ovócitos pré-vitelogênicos dispersos pelo tecido testicular em vários estádios testiculares (Blazer, 2002). Stentiford & Feist (2005) num programa de monitoramento em Northern Dogger Bank, no mar do Norte com o linguado *Limanda limanda*, encontraram dois entre 14 machos (prevalência de 14,3%) que apresentaram gônadas classificadas como ovotestes, em que foram

observados ovócitos vitelogênicos, espermatogônias e espermatócitos no mesmo tecido.

O tamanho da amostra dificultou a investigação da condição de intersexo, desde que parece não haver uma prevalência muito alta. De uma maneira geral, estudos que envolvam a investigação das causas que afetam a reprodução do peixe têm um potencial para um alto grau de variabilidade em sistemas naturais, assim, o número de exemplares e um extensivo banco de dados são cruciais para se estabelecer uma clara tendência nos dados obtidos em estudos de campo (Kovacs *et al*. 1997).

O número de amostras do presente estudo, principalmente o baixo número de machos, não foi suficiente para avaliar se de fato a área de estudo não está exposta às substâncias causadoras desse tipo de anomalia. Entretanto, essa justificativa é muito simplista, desde que apenas um aspecto foi investigado para tentar se estabelecer a relação entre substância disruptoras endócrinas e o intersexo.

Segundo Kime (1995), exposição aos contaminantes por um longo período pode levar a uma diminuição da RGS, devido à inibição de vitelogenina, mais ovócitos menores e menos desenvolvidos e menos ovócitos grandes e maduros e a um aumento do número de folículos atrésicos. Entretanto, ao fim da época de desova é comum a presença de atresia (West, 1990): um número significante de ovócitos pós-vitelogênicos (2-10%) falham no processo de maturação e subsequentemente degeneram-se e são absorvidos, isto é, tornam-se atrésicos (Mayer *et al*. 1988). Conclui-se que a atresia, além de indicar o fim da desova (Hunter & Macewicz, 1985), precisa ser analisada dentro de um contexto maior, antes de ser utilizada como um resultado de contaminação.

Um estudo sobre os efeitos dos contaminantes (HPAS e PCBs) sobre o desenvolvimento ovariano e sucesso de desova foi realizado com o linguado *Pleuronectes bilineatus* em Puget Sound, Washington (EUA) e foi verificada uma redução leve a moderada no sucesso reprodutivo. Entre os efeitos, houve uma redução no peso dos ovócitos, os quais foram relacionados a uma elevada concentração de PCBs no tecido e um distúrbio da desova e redução na viabilidade dos ovos dos espécimes em contato com sedimento com concentração de HPAs mais altas. Especificamente em relação às lesões

ovarianas, a prevalência obtida para a atresia foi similar nos exemplares desovados e não desovados, sendo que para o total de peixes coletados foi de 18%. No presente estudo, a prevalência de atresia severa foi de 4,5%.

As maiores presenças de atresia, bem como dos centros de melano-macrófagos ocorreram nos meses de março e maio, e principalmente na estação 6, onde ocorreu atividade de desova mais intensamente, sugerindo que as altas prevalências estão de fato relacionadas com o período de desova e não como uma resposta à ação de contaminantes. Entretanto, a estação 5, na boca do emissário submarino, apresentou uma alta porcentagem de centros de melano-macrófagos com pouca prevalência de atresia, sugerindo outro tipo de resposta imunológica pelos indivíduos.

Em trabalhos de campo, há uma grande necessidade de um conhecimento sobre as variações naturais e sua influência nos diferentes *habitats*, para assegurar que comparações não sejam equivocadas. Essa constatação é particularmente importante nas investigações sobre reprodução e poluição.

Referências

ABESSA, D. M. S. **Avaliação da qualidade de sedimentos do sistema estuarino de Santos.** 2002. 290f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2002.

AGIUS, C.; ROBERTS, R. J. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. **J. Fish Disease**, v. 26, p. 499-509, 2003.

ARINÇ, E.; SEN, A.; BOZCAARMUTLU, A. Cytochrome P4501A and associated mixedfunction oxidase induction in fish as a biomarker for toxic carcinogenic pollutants in the aquatic environment. **Pure Appl. Chem.**, v. 72, n. 6, p. 985–994, 2000.

AU, D. W. T. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 48, p. 817-834, 2004.

AZEVEDO, J. S. **Biomarcadores de contaminação ambiental em *Cathorops spixii* nos estuários de Santos/São Vicente e Cananéia, São Paulo,**

**Brasil.** 2008. 219f. Tese (Doutorado em Oceanografia Química e Geológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2008.

AZEVEDO, J. S.; FERNANDEZ, W. S.; FARIAS, L. A.; FAVARO, D. T. BRAGA, E. S. Use of *Cathorops spixii* as bioindicator of pollution of trace metals in the Santos Bay, Brazil. **Ecotoxicol.** 2009. Published online: 30 April 2009.

BARBOSA, A. C. R. A. **Avaliação da biodisponibilidade de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs) na baía de Santos através de metabólitos biliares.** 2009. 102f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Química e Geológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2009.

BERNET, D.; SCHMIDT, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **J. Fish Disease**, v. 22, p. 25-34, 1999.

BÍCEGO, M. C.; SATIE, T.; 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 biphenylsand aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of the Santos and São Vicente Estuary System, São Paulo, Brazil. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 52, p. 1784-1832, 2006.

BÍCEGO, M. C.; MONTONE, R. C. **Contaminantes orgânicos.** In: PIRES VANIN, A. M. S. Projeto ECOSAN: A influência do complexo estuarino da Baixada Santista sobre o ecossistema da plataforma adjacente. São Paulo: IO –USP. 2007. p. 40 – 87. (Relatório III - FAPESP, processo N 03/09932-1).

BLAZER, V. S; WOLKE, R. E.; BROWN, J.; POWELL, C. A. Piscine macrophage aggregate parameters as health monitors: effect of age, sex, relative weight, season and site quality in largemouth bass *(Micropterus salmoides*). **Aquat. toxicol.**, v. 10, p. 199-215, 1987.

BLAZER, V. S. Histopathological assessment of gonodal tissue in wild fishes. **Fish physiol. biochem.**, v. 26, p. 85-101, 2002.

BLAZER, V. S.; FOURNIE, J. W.; WOLF, J. C.; WOLFE, M. J. 2006. Diagnostic criteria for proliferative hepatic lesions in brown bullhead *Ameiurus nebulosus*. **Dis. aquat. org.**, v. 72, p. 19-30.

BRASIL, P.; LIMA, D. B.; MOURA, H. Microsporidiose humana na síndrome de imunodeficiência adquirida. **Rev. Ass. Med. Brasil**, v. 43, n. 3, p. 254-64, 1997.

BUCKE, D.; VETHAAK, A. D.; LANG, T. Quantitative assessment of melanomacrophage centres (MMCs) in dab *Limanda limanda* along a pollution transect in the German Bight. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, v. 91, p. 193-196, 1992.

CAMPOS, D. Y. F. **Análises das respostas citogenéticas e histopatológicas do peixe *Trematomus newnesi* exposto à água do mar diante da Estação Antártica Brasileira "Comandante Ferraz", Ilha Rei Jorge, Antártica.** 2003. 97f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfica, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2003.

CETESB (Companhia Ambiental do estado de São Paulo). **Sistema estuarino de Santos e São Vicente.** São Paulo: Relatório técnico, 2001. 183p.

CETESB (Companhia Ambiental do estado de São Paulo). **Relatório de monitoramento de emissários submarinos.** São Paulo: Relatório técnico, 2007. 106p.

CHANG, S.; ZDANOWICZ, V. S.; MURCHELANO, R. A. Associations between liver lesions in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) and sediment chemical contaminants from north-east United States estuaries. ICES **J. Mar. Sci.**, v. 55, p. 954–969, 1998.

CHAPMAN, P. M.; WANG, F.; JANSSEN, C.; PERSOONE, G.; ALLEN, H. E. Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.,** v. 55, p. 2221–2243, 1998.

CHAVES, P. T. C.; SERENATO, A. Diversidade de dietas na assembléia de linguados (Teleostei, Pleuronectiformes) do manguezal da baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Rev. bras. Oceanogr.**, v. 46, n. 1, p. 61-68, 1998.

COLLIER, T. K.; VARANASI, U. Hepatic activities of xenobiotic metabolizing enzymes and biliary levels of xenobiotics in English sole (*Parophrys vetulus*) exposed to environmental contaminants. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 20, p. 462-473, 1991.

De METRIO G., A. CORRIERO, S. DESANTIS, D. ZUBANI, F. CIRILLO, M.

DEFLORIO, C.R. BRIDGES, J. EICKER, J.M. DE LA SERNA, P. MEGALOFONOU; D.E. Kime, Evidence of a high percentage of intersex in the Mediterranean swordfish (Xiphias gladius L.), **Mar. Pollut. Bull**., v. 46, p. 358–361, 2003.

DIAS, J. F. **Ictiofauna da baixada santista: baía de Santos, canal de Bertioga e plataforma continental interna.** In: PIRES VANIN, A. M. S. Projeto ECOSAN: A influência do complexo estuarino da Baixada Santista sobre o ecossistema da plataforma adjacente. São Paulo: IO –USP. 2008. p. 524 – 578. (Relatório IV - FAPESP, processo N 03/09932-1).

DIAS, J. F.; PERES-RIOS, E.; CHAVES, P. T. C.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. Análise macroscópica dos ovários de teleósteos: problemas de classificação e recomendações de procedimentos. **Rev. Brasil. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 58, n. 1, p. 55-69, 1998.

DIAS, J. F.; FIADI, C. B.; SILBIGER, H. L. N.; SOARES, L. S. H. Reproductive and population dynamics of the Bay whiff *Citharichthys spilopterus* Gunther, 1862 (Pleuronectiformes: Paralichthyidae) in the Mamanguá Inlet, Rio de Janeiro, Brazil. **Neotrop. Ichthyol.**, v. 3, n. 3, p. 411-419, 2005.

GASALLA, M. DE LOS A. **Organização trófica da ictiofauna do Saco do Mamanguá, Parati, estado do Rio de Janeiro.** 1995. 145f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1995.

GUEDES, A. P. P.; ARAÚJO, F. G. Trophic resource partitioning among five flatfish species (Actinopterygii, Pleuronectiformes) in a tropical bay in south-eastern Brazil. **J. Fish Biol.**, v. 72, p. 1035–1054, 2008.

HARSHBARGER, J. C.; COFFEY, M. J.; YOUNG, M. Y. Intersex in Mississippi River shovelnose sturgeon sample below Saint Louis, Missouri, USA. **Mar. Environ. Res.**, v. 50, p. 247-259, 2000.

HEATH, A. G. **Water pollution and fish physiology.** 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 1995. 359 p.

HIBIYA, T. **An atlas of fish histology** – normal and pathological features. Tokyo: Kodanska / Stuttgart: Fischer Verlag,1982. 147p.

HINTON, D. E. Environmental contamination and cancer in fish. **Mar. Environ. Res.**, v. 28, p. 411-416, 1989.

HUNTER, J. R.; MACEWICZ, B. J. Rates of atresia in the ovary of captive and

wild northern anchovy, *Engraulis mordax*. **Fish. Bull.**, v. 83, p. 119-136, 1985.

HURTADO, S.N. **Dinâmica de sedimentação atual associada à contaminação por metais nos sedimentos do Estuário Santista e do Canal de Bertioga, SP.** 2003. 74f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo. São Paulo. 2003.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica.** Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S.A.,1982. 533p.

KATSURAGAWA, M. **Dinâmica do Ictioplâncton e do zooplâncton**: ictioplânton. In: PIRES VANIN, A. M. S. Projeto ECOSAN: A influência do complexo estuarino da Baixada Santista sobre o ecossistema da plataforma adjacente. São Paulo: IO –USP. 2008. p. 311 – 364. (Relatório IV - FAPESP, processo N 03/09932-1).

KIME, D. E. The effects of pollution on reproduction in fish. **Rev. Fish Biol. Fish.**, v. 5, n. 1, p. 52-96, 1995.

KOVACS, T. G.; VOSS, R. H.; MEGRAW, S. R.; MARTEL, P. H. Perspectives on Canadian field studies examining the potential of pulp and paper mill effluent to affect fish reproduction. **J. Toxicol. Environ. Health**, v. 51, p. 305-352, 1997.

LANDAHL, J. T.; MCCAIN, B. B.; MYERS, M. S; RHODES, L. D.; BROWN, D. W. Consistent associations between hepatic lesions in English sole (*Parophrys vetulus*) and polycyclic aromatic hydrocarbons in bottom sediment. **Environ. health perspect.**, v. 89, p. 195-203, 1990.

LEINO, R. O.; JENSEN, K. M.; ANKLEY, G. T. Gonadal histology and characteristic histopathology associated with endocrine disruption in the adult fathed minnow (*Pimephales promelas*). **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, v. 19, n. 1, p. 85-98, 2005.

LOURO, M. P. **A ictiofauna do estuário do rio Itanhaém, SP, Brasil: dinâmica espaço-temporal e aspectos biológicos das espécies principais.** 2007. 247 f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2007.

MARTY, G. D.; HOFFMANNN, A.; OJIHIRO, M. S.; HEPLER, K.; HANES, D. Retrospective analysis: bile hydrocarbons and histopathology of demersal

rockfish in Prince William Sound, Alaska, after the Exxon valdez oil spill. **Mar. Environ. Res.**, USA, v. 56, p. 569–584, 2003.

MATOS, E.; MATOS, P.; CORRAL, L.; AZEVEDO, C. A morfologia ultra-estrutural de microrganismos parasitos que causam microsporidioses e mixosporidioses em peixes tropicais brasileiros. **Boletim Técnico do CEPTA,** Pirassununga, v. 16, p. 27-40, 2003.

MAYER, I.; SHACKLEY, S. E.; RYLAND, J. S. Aspects of reproductive biology of the bass, *Dicentrarchus labrax* L.I. An histological and histochemical study of oocyte development. **J. Fish Biol.**, v. 33, p. 609-622, 1988.

MERSON, R. R.; CASEY, C. S.; MARTINEZ, C.; SOFFIENTINO, B.; CHANDLEE, M.; SPECKER, J. L. Oocyte development in summer flounder: seasonal changes and steroid correlates. **J. Fish Biol.**, v. 57, p. 182-196, 2000.

MILLS, L. J.; CHICHESTER, C. Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? **Sci. total environ.**, v. 343, p. 1– 34, 2005.

MURCHELANO, R. A.; WOLKE, R. E. Neoplasms and nonneoplastic liver lesions in winter flounder, *Pseudo-pleuronectes americanus*, from Boston harbor, Massachusetts. **Environ. health perspect.**, v. 90, p. 17-26, 1991.

MYERS, M. S.; RHODES, L. D.; MCCAIN, B. B. Pathologic anatomy and patterns of occurrence of hepatic neoplasms, putative preneoplastic lesions and other idiopathic hepatic conditions in English sole (*Parophrys vetulus*) from Puget Sound, Washington, USA. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 78, p. 333-363, 1987.

MYERS, M. S.; LANDAHL, J. T.; KRAHN, M. M.; JOHSON, L. L.; MCCAIN, B. B. Overview of studies on liver carcinogenesis in English sole from puget sound; evidence for a xenobiotic chemical etiology I: pathology and epizootiology. **Sci. total environ.**, v. 94, p. 33-50, 1990.

MYERS, M. S.; LANDAHL, J. T.; KRAHN, M. M.; JOHSON, L. L.; MCCAIN, B. B. Relationships between hepatic neoplasms and related lesions and exposure to toxic chemicals in marine fish from the U.S. west coast. **Environ. health perspect.**, v. 90, p. 7-15, 1991.

MYERS, M. S.; JOHSON, L. L.; OLSON, O. P.; STEHR, C. M.; HORNESS, B. H.; COLLIER, T. K.; MCCAIN, B. B. Toxicopathic hepatic lesions as

biomarkers of chemical contaminants exposure and effects in marine bottom fish species from the Northeast and Pacific coast, USA. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 37, n.1-2, p. 92-113, 1998.

PRINTES, L. B. **Biomarcadores: bases e aplicações.** São Pedro: IX Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia, 2006. 26p.

ROBERTIS, E. D. P.; SAEZ, F. A.; ROBERTIS, E. M. F. **Biologia celular.** Rio de Janeiro: Ed. El Ateneo do Brasil Ltda, 1980. 567p.

SHAW, R. W.; KENT, M. L. Fish microsporidia. In: WITTNER, M.; WEISS, L.M. (Ed.) **The microsporidia and microsporidiosis.** Washington, DC.: ASM Press, 1999, p. 447-502.

SIMPSON, M. G.; PARRY, M.; KLEINKAUF, A.; SWARBRECK, D.; WALKER, P.; LEAH, R.T. Pathology of the liver, kidney and gonad of flounder (*Platichthys flesus*) from a UK estuary impacted by endocrine disrupting chemicals. **Mar. Environ. Res.**, v. 50, p. 283-287, 2000.

SILVEIRA, M. P. M.; COUSIN J. C. B.; HAIMOVICI, M. Estrutura ovárica e testicular do linguado *Paralichthys orbignyanus* (VALENCIENNES, 1839). **Atlântica**, v. 17, p. 137-152, 1995.

STEINTIFORD, G. D.; FEIST, S. W. First reported cases of intersex (ovotestis) in the flatfish dab *Limanda limanda*: Dogger Bank, North Sea. **Mar. Ecol. Progr. Ser.**, v. 301, p. 307-310, 2005.

STENTIFORD, G. D.; LONGSHAW, M.; LYONS, B. P; JONES, G.; GREEN, M.; FEIST, S. W. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. **Mar. environ. res.**, v. 55, p. 137–159, 2003.

SOUSA, E. C. P. M.; ABESSA, D. M. S.; RACHID, B. R. F.; GASPARRO, M. R.; ZARONI, L. P. Ecotoxicological assessment of sediments from the Port of Santos and the disposal sites of dredged material. **Brazil. J. oceanogr.**, v. 55, n. 2, p. 75-81, 2007.

TAKVORIAN, P. M.; CALI, A. Seasonal prevalence of the microsporidian, *Glugea stephani* (Hagenmuller) in winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum), from the New-York-New Jersey Lower Bay Complex. **J. Fish Biol.**, v. 24, p. 655-663, 1984.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish Bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Envir. Toxicol.**

**Pharmacol.**, v. 13, p. 57-149, 2003.

VAZZOLER, A. E. A. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos:** teoria e prática. Maringá: EDUEM/SBI, 1996. 169 p.

WEBER, R.; BRYAN, R. T. Microsporidial infections in immunodeficient and immunocompetent patients. **Clin. infect. dis.**, v. 19, n. 3, p. 517-521, 1994.

WEST, G. Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. **Aust. J. Mar. Freshwater Res.**, v. 41, p. 199-222, 1990.

WOLKE, R. E.; MURCHELANO, R. A.; DICKSTEIN, C. D.; GEORGE, C. J. Preliminary evaluation of the use of macrophage aggregates (MA) as fish health monitors. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 35, p. 222-227, 1985.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis.** 2nd ed. New Jersey: Prentice Hall, 1984. 718 p.

ZARONI, L. P. **Avaliação da qualidade dos sedimentos marinhos e estuarinos no município de Bertioga – SP.** 2006. 193f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006.

## 2º MÉTODO DE AVALIAÇÃO: BIOCUMULAÇÃO DE METAIS

### Análise de metais no tecido muscular

### Introdução

Contaminação pode ser definida como a condição na qual substâncias estão presentes onde normalmente não estariam, ou quando ocorrem em concentrações acima dos níveis naturais para uma determinada região. Com o aumento da quantidade de substâncias introduzidas pelo homem e um grande crescimento populacional em regiões costeiras, há a transformação desses ambientes, onde o equilíbrio biológico natural e os processos biogeoquímicos são frequentemente afetados em função da carga excessiva de substâncias, que está além da capacidade de diluição e dispersão do ambiente (Chapman & Anderson, 2005).

Nesse cenário, a *5th International Conference on Marine Pollution and Ecotoxicology* (Wu, 2008), realizada na China, apontou duas substâncias em particular que, em excesso, merecem atenção: os nutrientes, que são responsáveis pelos processos de eutrofização e hipóxia, e os compostos orgânicos e inorgânicos que podem causar efeitos adversos múltiplos sobre o sistema biológico aquático. Dentre esses últimos, encontram-se os metais pesados que são potencialmente danosos para a maioria dos organismos em algum nível de exposição e absorção (Förstner & Wittmann, 1983; Kennish, 1997, Yalmaz, 2003).

Metais pesados são definidos como metais ou semi-metais da tabela periódica de elementos químicos cujas densidades são maiores que 5 g/cm$^3$ e, no contexto ambiental, como aqueles elementos em que há uma conotação de toxicidade (Siqueira, 2003). A grande presença desses elementos metálicos no meio aquático pode estar associada ao transporte e precipitação atmosférica, à lixiviação a partir da uma rocha matriz ou através de fontes antropogênicas, como efluentes industriais, esgotos e resíduos de tratamento de esgoto. Os sistemas estuarinos, frequentemente, sofrem os efeitos adversos mais agudos, em função do seu papel de receptor desses efluentes (CETESB, 2001).

Metais de alta toxicidade como mercúrio, cádmio, arsênio, chumbo e

outros, quando entram nos sistemas aquáticos, podem permanecer dispersos na coluna d´água como íons solúveis que se aderem ao material em suspensão, ou podem ser fixados nos sedimentos por processos de complexação/floculação, de precipitação ou de adsorção sobre as superfícies das partículas minerais como areia, silte e argila (Quináglia, 2006). Portanto, o sedimento é um importante receptor de metais e pode se tornar, dessa maneira, a maior via de exposição para alguns organismos que mantêm contato com o fundo (Siqueira, 2003). Tal fato é evidenciado em diversos estudos que indicam acumulação de altos níveis de metais em diferentes tecidos dos peixes, como fígado, gônada e músculo (Kalay, 1999; Teodorovic *et al*., 2000; Lewis *et al*., 2002; Yilmaz, 2003).

Os aportes de metais pesados nos ambientes marinhos têm se tornado motivo de grande preocupação em todo o mundo pelo seu significado ecológico devido à toxicidade e comportamento bioacumulativo dos elementos. Assim, estudos sobre metais pesados são importantes porque podem auxiliar a prevenção da degradação dos sistemas aquáticos ao identificar as fontes que os ameaçam (Turkmen, *et al.*, 2005). Mas também são importantes sob o ponto de vista da saúde pública ao medir a bioacumulação de metais em organismos, principalmente daqueles que oferecem risco à saúde humana.

Alguns metais são chamados de essenciais por sua atuação nos sistemas biológicos como, por exemplo, o ferro (II) que na hemoglobina é um constituinte essencial das células vermelhas do sangue para o processo de trocas gasosas, o magnésio na molécula de clorofila, o cobre na citocromo c-oxidase mitocondrial, o zinco das proteínas ligantes de DNA etc. (Förstner & Wittmann, 1983). De uma maneira geral, os metais essenciais funcionam como catalisadores, induzindo ou aumentando a atividade enzimática, ao se associar fortemente a uma proteína e, frequentemente, constituir o centro ativo de uma célula, catalisando somente uma reação específica. Esse fato é importante para se entender porque concentrações muito baixas têm um poder grande de, algumas vezes, influenciar as funções biológicas.

Os metais não essenciais são aqueles que não ocorrem naturalmente no organismo e não desempenham nenhuma função bioquímica, como o chumbo, cádmio, arsênio e mercúrio, e são potencialmente tóxicos mesmo em baixas concentrações, porque podem alterar, bloquear, substituir ou interagir com os

metais essenciais no mecanismo homeostático do organismo. De uma maneira geral, os elementos não essenciais em baixas concentrações são mais tóxicos que os elementos essenciais em altas concentrações (Tallandini, *et al*., 1989; Prego & Cabelo-García, 2003; Turkmen *et al*., 2005).

Não é a concentração total do metal presente no sedimento que produz um efeito negativo ou positivo sobre o organismo, mas a sua forma física e química, chamada especiação química (Quináglia, 2006). A concentração das diferentes formas químicas (espécies) de um elemento numa matriz constitui a concentração total do elemento na amostra (Barra, 1999). A ocorrência dos metais no sedimento é registrada sob as formas de carbonato, óxido hidratado, sulfeto, argilominerais e compostos orgânicos e é essa variedade de formas que permite diferentes associações ao sedimento e que determina, também, o tempo de permanência dos elementos metálicos no meio (Siqueira, 2003).

A biodisponibilidade de um metal aos organismos aquáticos é definida como a fração da quantidade total do metal presente no sedimento e na água intersticial que pode ser assimilada por um organismo e estocada em seus tecidos em algum momento do seu ciclo de vida (Beifroid *et al*., 1996 *apud* van der Oost *et al*., 2003). Processos de transformação podem ocorrer para tornar as formas metálicas mais biodisponíveis para esses organismos, como os processos microbianos, que incluem a transformação da matéria orgânica em compostos de peso molecular mais baixo, ou mudanças nas propriedades físicas do meio pela atividade metabólica, ou ainda a conversão de compostos inorgânicos pelo processo de óxido-redução (Förstner & Wittmann, 1983). Como exemplo, tem-se a conversão de formas inorgânicas e orgânicas de mercúrio em metil e dimetilmercúrio, que são altamente tóxicas (Silva, *et al*., 1982).

Enquanto que análises químicas do sedimento quantificam as concentrações de metais, os testes de toxicidade provêem evidências mais diretas das conseqüências de uma contaminação nos sistemas biológicos e podem estimar os efeitos tóxicos interativos de misturas de contaminantes (Abessa, 2002; Burton Jr., 1992 *apud* César *et al*., 2006). A toxicidade dos elementos metálicos é bastante variável, sendo dependente: da especificidade química do metal para a assimilação biológica; da sua concentração no meio; da presença de outros metais e substâncias, em função de processos de

interação ou antagonismo; e de fatores ambientais como temperatura, pH, oxigênio dissolvido e salinidade (Azevedo, 2008). Também a condição do organismo pode determinar o nível de toxicidade que o elemento irá causar, como por exemplo, a fase do ciclo de vida, tamanho e idade, sexo, condição nutricional *etc.* (Azevedo, 2008). Exemplos de metais relativamente acessíveis no ambiente aquático e de toxicidade são: níquel, cobre, zinco, arsênio, selênio, cádmio, mercúrio e chumbo. O alumínio e o ferro são considerados não-críticos para esse parâmetro.

A biomagnificação resulta do processo de bioacumulação pelos quais concentrações de metais nos tecidos aumentam sistematicamente de um nível trófico para o seguinte (*CCREM*, 1987). Esse processo, portanto, representa um risco de contaminação aos consumidores do topo da teia alimentar, incluindo o homem.

Os metais possuem uma meia vida elevada em sistemas biológicos e podem ter alta solubilidade, o que pode determinar uma ampla gama de efeitos tóxicos nos organismos aquáticos (Azevedo, 2008). Alguns metais como o arsênio, cádmio, cromo, mercúrio, chumbo são considerados riscos à saúde humana por causarem problemas neurológicos, gástricos, lesões renais e mesmo câncer, como no caso do chumbo (Mantovani, 2005).

Trabalhos realizados na baía de Santos e no canal de Bertioga

Desde a década de setenta, são realizados levantamentos e estudos sobre contaminação de espécies da ictiofauna por metais na região da baixada santista, principalmente nos estuários de Santos e São Vicente, na baía de Santos e no canal de São Vicente: CETESB (1978; 1981); Silva *et al*. (1983); Boldrini & Navas-Pereira (1987); Azevedo (2008); e Dias *et al*. (em prep.) As espécies estudadas foram *Mugil curema*, *Eucinostomus gula*, *Achirus sp*., *Cathorops spixii* e *Stellifer rastrifer*.

Um histórico da contaminação por metais na baixada santista, com ênfase nas análises de sedimentos provenientes da baía de Santos e no canal de Bertioga, foi apresentado anteriormente nesse trabalho.

A obtenção de dados pretéritos da concentração de metais em tecidos biológicos, também é útil para o entendimento do processo temporal de

contaminação do ambiente.

O sistema estuarino de Santos possui várias fontes de poluição. Em relação aos metais pesados, podem-se destacar as seguintes (CETESB, 2001; Umbuzeiro *et al*., 2005):

- Disposição de resíduos sólidos domésticos: aterro sanitário de Cubatão (cobre, manganês e zinco) e lixão de Pilões (arsênio, cádmio, chumbo, cobre, cromo, manganês, mercúrio, níquel e zinco). Deve-se destacar que na disposição do lixão estão incluídos também resíduos industriais;
- Áreas industriais contaminadas: CARBOCLORO (mercúrio) e PETROBRAS (cádmio, arsênio, cádmio, chumbo, mercúrio e zinco);
- Deposição irregular de resíduos sólidos industriais: PETROBRAS / Cubatão (chumbo); e
- Disposição de sedimentos contaminados: COSIPA (arsênio, cádmio, chumbo, cobre, cromo, manganês, mercúrio, níquel e zinco).

Além das fontes citadas acima, deve-se mencionar a contribuição originada pelas atividades portuárias, dragagem do canal de Santos e esgotos *in natura*. Também, a deposição atmosférica e a drenagem superficial que carrega partículas e substâncias dissolvidas para os cursos d´água são significativas fontes de poluição para os sistemas aquáticos (CETESB, 2001).

Na baía de Santos a presença do emissário submarino contribui principalmente com nutrientes e substâncias orgânicas, mas também com metais pesados. No canal de Bertioga, também se destacam os efluentes de esgoto tratados e *in natura* que podem ser importantes fontes de contaminação por metais, desde que o saneamento básico atende apenas 19,5% da população (Zaroni, 2006).

A acumulação de elementos nos peixes pode causar distúrbios no crescimento, reprodução, imunossupressão, mudanças histopatológicas na pele, brânquias, fígado, e rins, além de deformações no esqueleto (Vitek *et al.*, 2007).

A principal hipótese deste estudo se relaciona com o fato de que, apesar dos resultados sobre a melhora do controle da contaminação ambiental geral ocorrida na região, e que na baía de Santos, por sua dinâmica, não há ambiente deposicional, os deslocamentos dos indivíduos entre o canal de Bertioga e a baía de Santos são suficientes para a bioacumulação de metais na

musculatura dos espécimes de *A. lineatus* coletados na baía.

Tendo em vista os trabalhos realizados na baía de Santos e canal de Bertioga e a importância da região do ponto de vista da ictiofauna, são propostos os objetivos específicos deste estudo.

Objetivos específicos

- Quantificar os metais na musculatura de exemplares de *Achirus lineatus* capturados na baía de Santos;
- Analisar os resultados obtidos nas amostras de músculo quanto à sensibilidade do método PIXE na detecção de metais traços presentes no ambiente;
- Avaliar natureza e extensão da contaminação por metais nos diferentes locais de coleta;
- Verificar diferenças na bioacumulação de metais entre indivíduos jovens e adultos de *Achirus lineatus*.

Métodos de coleta e tomada de dados

A coleta dos espécimes e a tomada de dados foram descritas no item “Material e Métodos” deste trabalho.

Metodologia de análise

Com o objetivo de se buscar novas tecnologias para o estudo e monitoramento de áreas impactadas, foi utilizada espectroscopia por emissão de raios-X induzida por partículas, também conhecida por *Particle Induced X-Ray Emission* ou *PIXE* para a detecção de metais em tecidos biológicos. É um método analítico elementar em que se detectam raios-X característicos emitidos quando uma amostra é bombardeada/irradiada por um feixe de íons com energia da ordem de unidades de MeV/u.m.a. Tem sido considerada uma técnica adequada para o estudo dos níveis de concentração de elementos-traço em tecidos (Tallandini, *et al*., 1989).

A técnica *PIXE* consiste na emissão de raios-X induzidos por partículas, em que um átomo é bombardeado por um próton que lhe transfere energia; nesse processo, elétrons podem ser emitidos das camadas mais internas para as mais externas. Quando o átomo volta ao seu estado anterior através de um rearranjo de suas camadas eletrônicas, pode ocorrer uma emissão de raios-X, no momento em que os elétrons das camadas mais externas se acomodam nas camadas mais internas (Yoneama & Dias, 2004; Fernandez, 2007). O método é sensível para elementos da tabela periódica e permite determinar, por correspondência, a composição elementar de amostras diminutas, com menos de 0,1 mg de massa, com sensibilidade da ordem de μg/g (ppm). A área do feixe que é bombardeada é de $4mm^2$ e revela quais elementos estão presentes na amostra, porém, sem especificação da distribuição dos elementos encontrados.

Para a análise foram processadas 49 amostras de músculo de *A. lineatus*, provenientes da baía de Santos e canal de Bertioga. Cada amostra continha massa muscular de apenas um indivíduo, proveniente de diferentes locais: das estações 5 e 6 da baía de Santos foram analisados 9 e 13 indivíduos, respectivamente, e do canal de Bertioga, nas estações 8 e 9, foram analisados 17 e 10 indivíduos, respectivamente. De acordo com o protocolo, as amostras de músculos foram congeladas no momento em que os exemplares foram processados e passaram pelo processo de liofilização. Posteriormente, as amostras liofilizadas foram trituradas em cadinhos de porcelana até serem pulverizadas e armazenadas em criotubos. Esse pó foi prensado para a obtenção de pastilhas, que foram montadas sobre um suporte e bombardeadas.

A análise foi realizada no laboratório de Indução Iônica do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, que possui um acelerador eletrostático do tipo Tandem e detector de raios-X de germânio puro de alta eficiência.

Os valores das concentrações são apresentados em partes por milhão (ppm), que é equivalente às unidades micrograma por grama (μg/g) e miligrama por quilograma (mg/kg) na base seca. Esse critério é necessário para permitir uma comparação dos resultados do presente trabalho com os da

literatura, salvo, quando estes especificarem a unidade como μg/g na base úmida, o que não permite uma comparação direta sem um fator de conversão.

As amostras foram separadas em indivíduos jovens e adultos de acordo com o valor do $L_{50}$ dos exemplares coletados, calculado em 111,7 mm. Foram considerados jovens os indivíduos com comprimento abaixo desse valor, e acima, indivíduos adultos. Esse procedimento foi empregado para verificação da variação da suscetibilidade à exposição de metais em função do tamanho. Foram confeccionados gráficos das concentrações médias de cada elemento metálico por estação oceanográfica, na baía de Santos (estações 5 e 6) e no canal de Bertioga (estações 8 e 9).

Para uma avaliação temporal da bioacumulação nos peixes na área de amostragem, foi elaborada uma tabela referente aos resultados das concentrações residuais em músculo, que compila dados pretéritos e dados recentes para diferentes espécies. Os resultados foram expressos como valores médios ± desvio padrão, sempre que disponível.

Como os valores pretéritos da literatura não podem ser usados como referência, os valores do *Clark* regional estimados por Tessler (2007) apontam para uma grande contribuição antropogênica na região de estudo.

Tratamento estatístico dos dados

Para a comparação dos resultados entre as estações de coleta, foi aplicado o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis que é uma análise de variância indicada para a comparação de médias de *k* amostras independentes, de tamanho desigual e com uma variável. O nível de significância considerado foi de $p < 0,05$.

Para uma avaliação dos resultados referentes à variação da suscetibilidade às concentrações de metais entre os jovens e adultos, foi aplicado o teste paramétrico *t* de *Student* ao nível de significância de 0,05, normalmente utilizado quando o tamanho da amostra é igual ou inferior a 30 unidades e as variâncias paramétricas são desconhecidas (Zar, 1984).

Um teste de correlação, o coeficiente de Pearson ($r$), foi aplicado para verificar se houve associação entre as concentrações de metais no sedimento e no tecido muscular. Se o *r* for próximo a +1 ou -1 será rejeitada a hipótese de

nulidade de que não há associação entre os valores do sedimento e os valores de bioacumulação.

Critérios de avaliação da qualidade de sedimentos e de resíduo no tecido

Somente dados de concentração de metais não fornecem uma medida de efeitos biológicos adversos ou mesmo de efeitos potenciais. Assim, alguns países desenvolveram critérios de avaliação chamados de *Sediment Quality Guidelines*, ou *SQGs*, que têm como função proteger a vida aquática, ao fornecerem valores de referência máximos, que indicam proteção de todos os efeitos adversos ou potencialmente danosos. Esses valores são estimados segundo investigações das concentrações de substâncias que ocorrem naturalmente numa região (*background*) e uma série de testes desenvolvidos para avaliar a significância toxicológica de um químico em particular (*CCME*, 2005).

Dentre os *SQGs* mais utilizados, estão os valores desenvolvidos pelo governo do Canadá, que na sua abordagem, apresenta valores de referência para a avaliação específica do sedimento marinho. São eles: *TEL* (*Threshold Effect Level*), ou nível de efeito limiar, acima do qual ocasionalmente pode ser observado efeito tóxico sobre a biota e o valor de referência *PEL* (*Probable Effect Level*), ou nível de efeito provável, acima do qual existe um efeito tóxico sobre a biota. Os valores intermediários indicam que efeitos podem potencialmente ocorrer (*CCME*, 2005).

Entretanto, há de se considerar, que os limites que definem as concentrações, nas quais efeitos adversos podem ocorrer, são baseados em argumentos estritamente empíricos, desde que medidas de concentração não correspondem diretamente à toxicidade do sedimento (O'Connor & Paul, 2000). Outra questão a ser considerada, quando da utilização dessas referências, é que estas foram obtidas, em geral, em sistemas aquáticos dos países que os desenvolveram, portanto, com características próprias e distintas.

Como o Brasil não tem referência de qualidade do sedimento, foram utilizados os valores de referência *TEL* e *PEL*, por estes já terem sido aplicados em trabalhos anteriores na região de Santos e em programas de monitoramento da CETESB.

Além dos valores que a legislação fornece do que é considerado contaminação, como no caso acima, é possível comparar os valores obtidos num levantamento com um *background* regional. É definido “como a capacidade média que uma determinada litologia tem de fornecer um determinado metal ao seu entorno; esta capacidade é medida em mg/g e é chamada de *Clark*” (Tessler, 2007). Esses valores são obtidos a partir do conhecimento da distribuição dos elementos químicos naturais de uma região e sua abundância média. Ao contrário dos *SQGs*, o *Clark* não indica possíveis efeitos nos organismos aquáticos, mas pode indicar que uma região está sofrendo aporte de origem não natural.

A análise de composição química ou física de tecidos provê informação sobre a ocorrência e distribuição de contaminantes nos sistemas monitorados (*U.S.EPA*, 2002). Alguns órgãos ambientais internacionais também desenvolveram critérios para avaliação de resíduos em tecidos biológicos, que auxiliam na interpretação de dados de monitoramento e na avaliação do risco potencial de exposição pelo consumo de organismos contaminados. Foram desenvolvidos alguns valores de referência chamados de *Tissue Residue Guidelines*, ou *TRGs*, que indicam a concentração numérica máxima de uma substância química num tecido da biota aquática na qual é esperado não resultar num efeito adverso para a vida selvagem. A escolha dos elementos para os critérios se baseia em sua maior concentração nos tecidos (*CCME*, 2005; *U.S.EPA*, 2002).

Os valores de referência aplicados no presente estudo foram os “Limites Máximos de Tolerância” ou LMT, para contaminantes inorgânicos em pescado, desenvolvidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA) do governo brasileiro (Brasil, 1965 e 1998). Somente na falta de um valor específico da legislação brasileira, foi utilizado um valor de referência internacional (*TRG*) indicado na tabela.

Apesar do conhecimento sobre diversos elementos metais em peixes mostrar que a musculatura é o tecido em que pode ocorrer os menores valores de concentração (Lacerda *et al*., 2007; Pierron *et al*., 2008;), a musculatura foi escolhida, pois é amplamente consumida não somente pelos predadores, é de mais fácil conservação e há dados disponíveis na literatura para comparações.

Resultados

Os resultados obtidos a partir do método *PIXE* permitiram uma avaliação da bioacumulação de metais no tecido muscular do modelo biológico, em diferentes pontos da baía de Santos e canal de Bertioga.

Os metais detectados nas amostras do músculo de *Achirus lineatus* foram: alumínio (Al), arsênio (As), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), estrôncio (Sr), manganês (Mn), mercúrio (Hg), níquel (Ni), selênio (Se) e zinco (Zn). A seguir, serão apresentados os resultados referentes às concentrações médias para cada elemento por estação oceanográfica.

Alumínio (Al)

A concentração total do alumínio no tecido muscular de *A. lineatus* apresentou valor mínimo de 3,20 ppm e valor máximo de 53,99 ppm. A distribuição da concentração média foi homogênea entre as estações, e apresentou maior bioacumulação nos indivíduos jovens do que em adultos, mas houve diferença significativa entre a acumulação em jovens e adultos somente na estação 6 (Fig. 31). Não há valores de referência para o consumo do alumínio em pescado.

O alumínio é um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre e esteve presente em 97,9% das amostras.

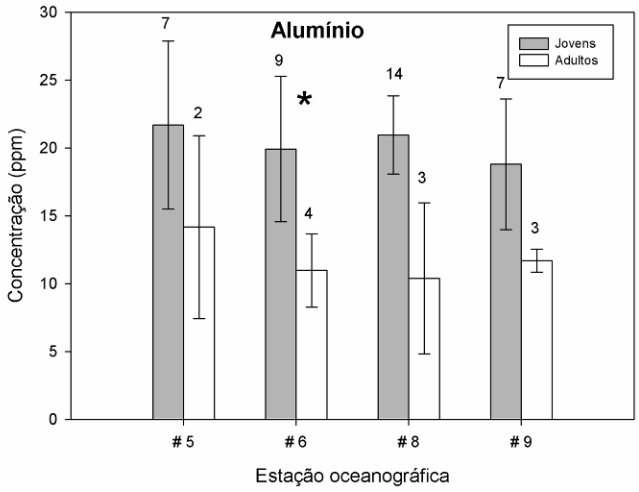



Figura 31. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão para o alumínio (Al) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica. Acima da barra de erro consta o número das amostras (exemplares) analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica.

Arsênio (As)

A distribuição total do arsênio variou de 1,52 ppm a 29,64 ppm. Todos os valores médios das amostras de tecido ultrapassaram o Limite Máximo Tolerável que é 1,0 ppm para o arsênio, como observado na figura 32. Houve uma tendência de bioacumulação maior nos indivíduos jovens para as estações da baía de Santos e nos adultos para o canal de Bertioga, sendo que os indivíduos jovens e adultos das estações oceanográficas 5 e 9 apresentaram diferenças significativas na concentração desse elemento. Os exemplares adultos da estação 9 apresentaram as maiores concentrações, bem acima do limite permitido para o consumo do pescado.

O arsênio esteve presente em 83,67% das amostras.

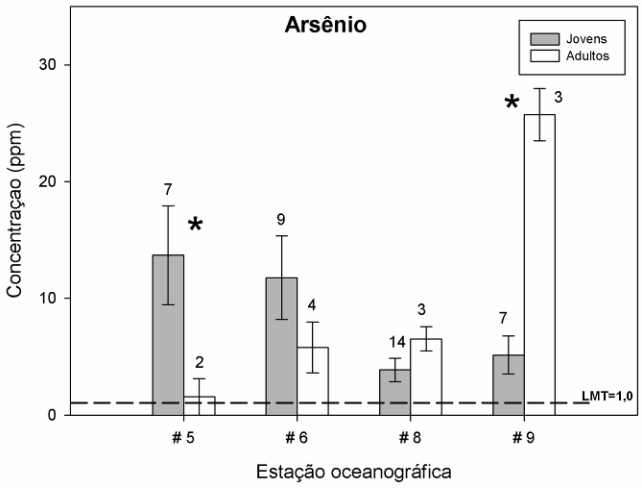



Figura 32. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão para o arsênio (As) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. A linha tracejada indica o limite permitido para o consumo de pescado. O símbolo # representa estação oceanográfica.

Chumbo (Pb)

Todos os valores médios da concentração de chumbo ultrapassaram o Limite Máximo Tolerável que é 2,00 ppm, sendo que o valor mínimo das amostras de *A. lineatus* foi 3,60 ppm e o valor máximo 310,4 ppm. Observa-se uma alta concentração de chumbo nos tecidos do músculo na estação 6 e na estação 8, as quais não refletiram as concentrações obtidas para o sedimento (Fig. 33). Uma leve tendência aparece entre concentrações do tecido e de

sedimento nas outras estações. Não houve padrão de bioacumulação em relação ao tamanho dos exemplares. No sedimento as maiores concentrações ocorreram na estação 5.

O chumbo é relativamente abundante na crosta terrestre e esteve presente em 65,31% das amostras.

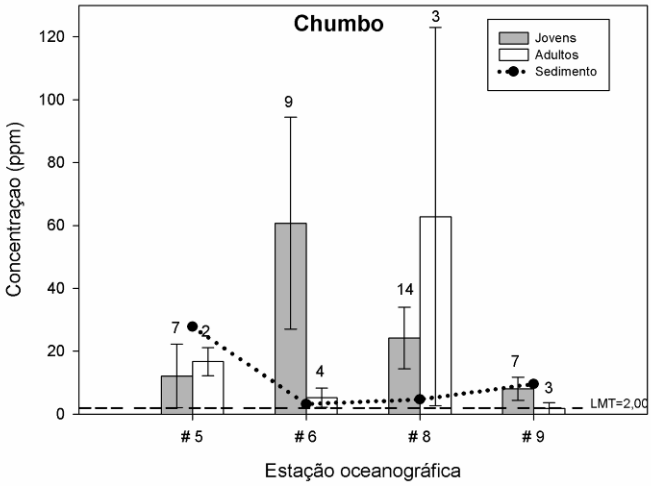



Figura 33. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do chumbo (Pb) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. A linha pontilhada refere-se aos valores das concentrações do chumbo no sedimento. O símbolo # representa estação oceanográfica.

Cobre (Cu)

O cobre apresentou concentrações médias baixas em todas as estações e seus valores mínimo e máximo foram de 0,17 e 3,88 ppm. Não há um Limite Máximo Tolerável específico para o pescado. A estação 5 apresentou diferenças significativas entre os jovens e os adultos e a análise de variância mostrou diferenças significativas entre as estações 5 e 9 (Fig. 34).

O cobre é um metal essencial para a nutrição animal e foi presente em 67,35 % das amostras.

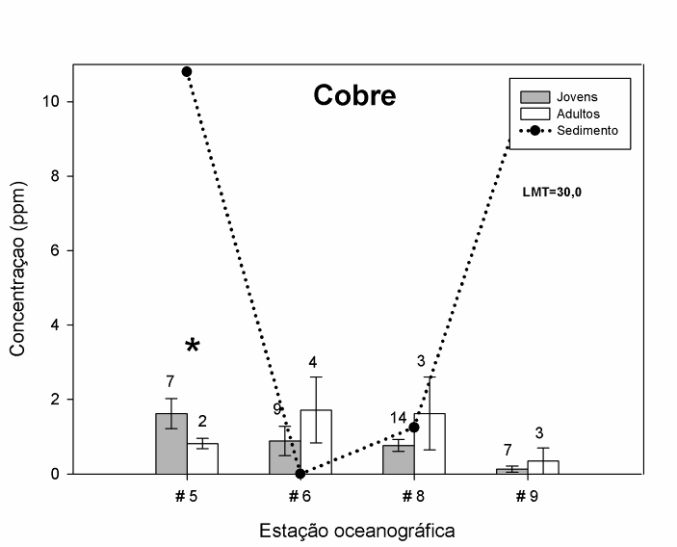



Figura 34. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do cobre (Cu) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. A linha pontilhada refere-se aos valores das concentrações do cobre no sedimento. O símbolo # representa estação oceanográfica.

Cromo (Cr)

O valor mínimo do cromo foi de 0,40 ppm e o valor máximo foi de 22,79 ppm. De uma maneira geral, o cromo apresentou uma distribuição heterogênea entre os pontos de coleta. As maiores concentrações nos tecidos ocorreram no canal de Bertioga. Os resultados ultrapassaram o Limite Máximo Tolerável para alimentos em geral que é de 0,10 ppm (Fig. 35), embora não haja um valor específico para o pescado. Houve diferenças significativas entre as estações 5 e 8 e entre a 5 e 9, segundo a análise de variância.

O cromo é um metal abundante na costa terrestre e foi presente em 85,71 % das amostras.

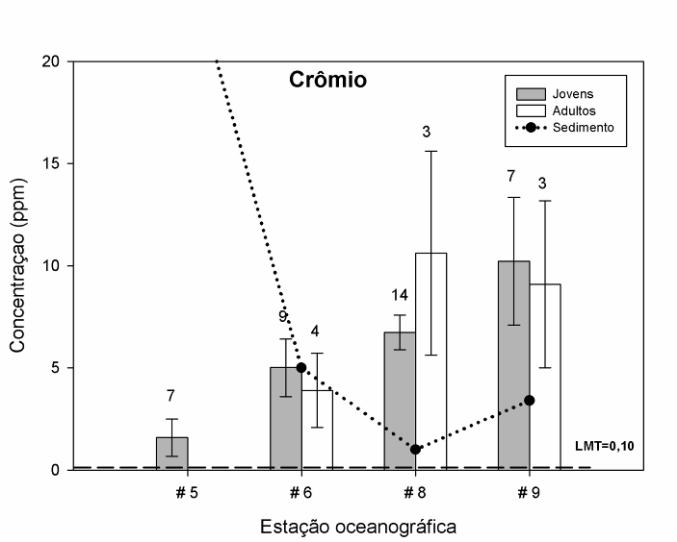



Figura 35. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do cromo (Cr) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. A linha pontilhada refere-se aos valores das concentrações do chumbo no sedimento. O símbolo # representa estação oceanográfica.

Ferro (Fe)

Observa-se na figura 36 uma distribuição das concentrações do ferro relativamente homogênea entre as estações, e uma tendência de bioacumulação maior entre os indivíduos jovens. O maior valor foi apresentado pelos jovens da estação 5. Não há Limite Máximo Tolerável para o ferro. A estação 8 apresentou diferenças significativas entre jovens e adultos. O valor mínimo do ferro foi de 33,41 ppm e o valor máximo foi de 611,7 ppm para o total amostrado Não há registros de análise de tecido para esse elemento na região de estudo.

O ferro é o quarto elemento químico mais abundante do planeta e é um elemento essencial, ocorrendo em 100 % das amostras.

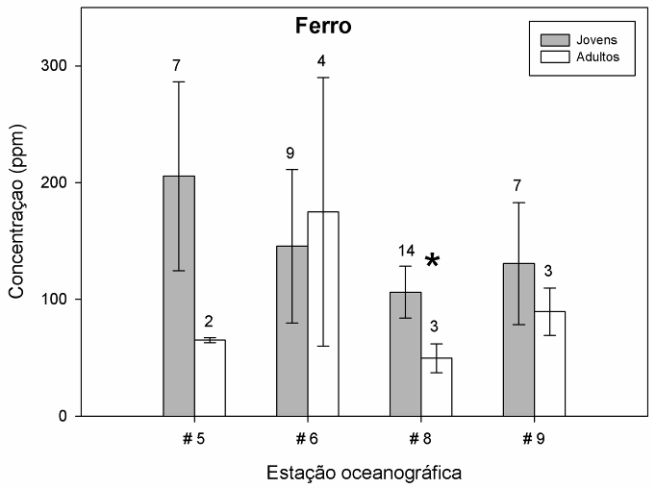



Figura 36. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão de Ferro (Fe) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica. Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica.

Estrôncio (Sr)

A distribuição total do estrôncio variou de 1,85 ppm a 31,78 ppm. Não há Limite Máximo Tolerável para o estrôncio na legislação brasileira. Na figura 37 observa-se a distribuição média do elemento entre as estações, com a estação 9 apresentando os menores valores. Verificaram-se diferenças significativas entre as estações 5 e 9 e entre as estações 6 e 9. Houve diferenças significativas entre jovens e adultos na estação 8, porém sem padrões de bioacumulação. Não há registros de níveis de metais no sedimento e em tecido para esse elemento.

O estrôncio é abundante na natureza na forma de sulfatos e carbonatos. Esteve presente em 95,92 % das amostras.

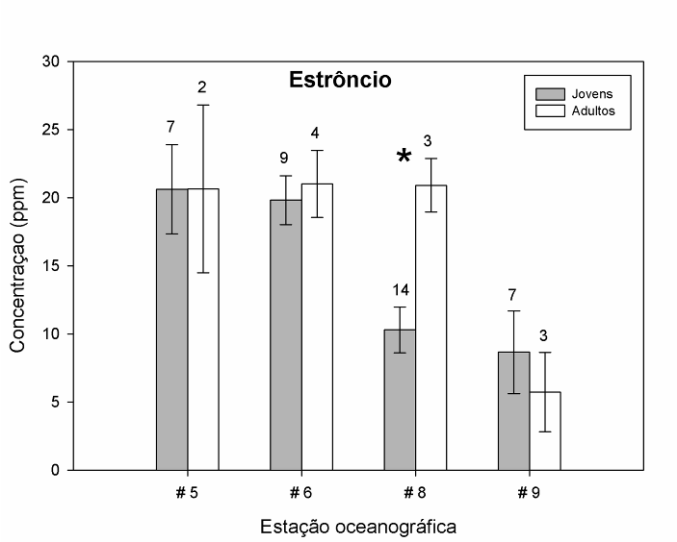



Figura 37. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do estrôncio (Sr) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica. Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença estatística significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica.

Manganês (Mn)

Os indivíduos jovens da estação 8 apresentaram os maiores valores de concentração para o manganês. Houve diferenças significativas entre jovens e adultos na estação 6, porém sem tendências claras de bioacumulação. Nenhum valor de concentração ultrapassou esse limite. A análise de variância mostrou diferenças significativas entre as estações 5 e 8, entre 5 e 9 e entre 6 e 9 (Fig. 38). A distribuição total de concentração variou de 0,60 ppm a 65,13 ppm. Não há registros de análise de tecidos para esse metal.

O manganês é um elemento essencial para todas as formas de vida. Ocorreu em 97,96 % das amostras.

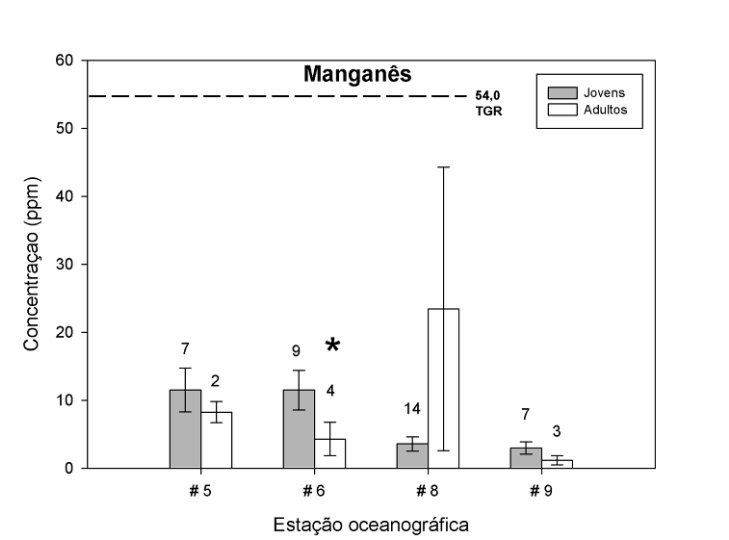



Figura 38. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do manganês (Mn) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o *Tissue Residue Guideline* (*TRG*). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica.

Mercúrio (Hg)

Todas as estações indicaram a presença de mercúrio no músculo de *Achirus lineatus*, e todas as concentrações obtidas nas amostras estavam acima dos limites máximos para consumo humano que é definido entre 0,5 e 1,0 ppm, dependendo do hábito alimentar da espécie.

De acordo com a distribuição total de mercúrio, o valor mínimo foi 2,99 ppm e o valor máximo foi 15,85. As concentrações médias de mercúrio não mostraram um padrão aparente de distribuição e de bioacumulação entre jovens e adultos. Os valores mais altos ocorreram nas estações da baía de Santos, sendo que na estação 5 só os jovens apresentaram mercúrio no tecido muscular (Fig.39).

O mercúrio é um metal-traço largamente distribuído pelo meio devido a processos naturais e antropogênicos. Esse elemento ocorreu em 61,22 % das amostras.

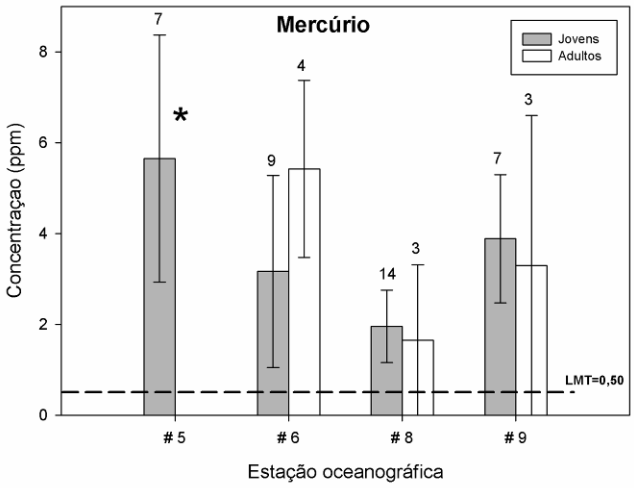



Figura 39. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do mercúrio (Hg) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica.

Níquel (Ni)

De uma maneira geral, os maiores valores da concentração de níquel, ocorreram nas estações do canal de Bertioga (Fig.40). Não houve padrão para bioacumulação entre jovens e adultos. Embora as concentrações médias não tenham alcançado o Limite Máximo Tolerável para o níquel que é 5,00 ppm para alimentos em geral, na estação 9, alguns indivíduos apresentaram concentrações acima do permitido, com valores máximos de 11,18 ppm (a mínima foi de 0,74 ppm). Não há registros de análise desse metal em tecido biológico na região de estudo.

É encontrado combinado com diversos minerais e é um elemento–traço muito semelhante ao ferro em sua função biológica. O níquel ocorreu em 61,2 % das amostras.

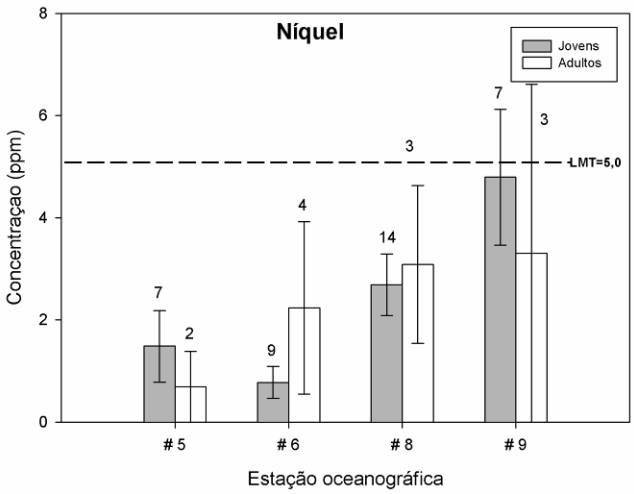



Figura 40. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão de Níquel (Ni) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (ppm). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica.

Selênio (Se)

As concentrações médias do selênio foram maiores nas estações da baía de Santos e apresentaram uma tendência de maior bioacumulação em indivíduos jovens, com exceção da estação 8 (Fig. 41). Não há um Limite Máximo Tolerável específico para pescado. Todas as amostras excederam esse limite. O valor mínimo da concentração total foi de 1,06 ppm e a máxima foi de 9,74 ppm. Não há registros de concentração em sedimento ou em tecidos para o selênio na baixada santista.

O selênio esteve presente em 59,18 % das amostras.

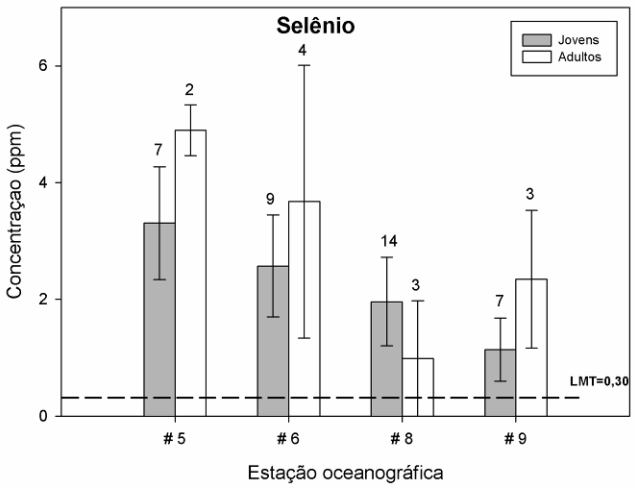



Figura 41. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão do selênio (Se) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. O símbolo # representa estação oceanográfica.

Zinco (Zn)

Não há Limite Máximo Tolerável específico para o zinco em pescados, mas para alimentos em geral este valor é 50,00 ppm. Nenhuma amostra ultrapassou esse limite, embora as concentrações de uma maneira geral não tenham sido baixas e o valor máximo da concentração total tenha sido de 69,49 ppm, acima do valor permitido para o consumo. O valor mínimo foi de 16,07 ppm. Houve diferenças significativas entre jovens e adultos na estação 6 e 9, mas não houve tendência de bioacumulação entre jovens e adultos. A estação 5 apresentou os maiores valores de zinco. Houve uma leve tendência entre as concentrações do sedimento e do tecido muscular, como pode ser observado (Fig. 42).

O zinco é um elemento essencial aos organismos vivos e é altamente abundante na natureza, sendo detectado em 100 % das amostras.

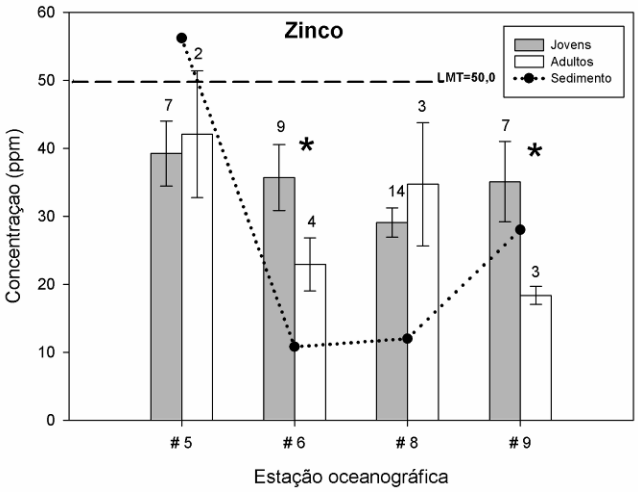



Figura 42. Concentração média em partes por milhão (ppm) e erro padrão de Zinco (Zn) nos exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* por estação oceanográfica e o valor do Limite Máximo Tolerável (LMT). Acima da barra de erro consta o número das amostras analisadas. Asterisco indica diferença significativa entre jovens e adultos de mesmo local. A linha pontilhada refere-se aos valores das concentrações do zinco no sedimento. O símbolo # representa estação oceanográfica.

## Discussão

Segundo Chapman *et al*. (1998) a concentração total de um contaminante no sedimento pode ser convenientemente medida, entretanto, ela sozinha provê pouca informação sobre os níveis e possíveis efeitos sobre os organismos aquáticos, uma vez que os resultados expressos em concentração total, não revelam a toxicidade e nem a fração biodisponível dos elementos metais. Por outro lado, diferenças espaciais de pequena escala na concentração de diferentes elementos e formas, como Hg e metilmercúrio, Cd, Cr, Cu e Zn, são encontradas (Seixas *et al*., 2007).

Os metais, ao entrarem no meio aquático, podem permanecer em solução como íons livres ou como complexos solúveis de ânions orgânicos e inorgânicos. Portanto, a exposição da biota aquática é, na maioria das vezes, pela captação direta de íons livres na água, normalmente pela via respiratória, ou diretamente pelas membranas celulares das plantas e bactérias. Posteriormente, os metais ligam-se fortemente aos grupos sulfidrila das proteínas. Essas ligações podem causar mudanças na estrutura e nas atividades enzimáticas de proteínas e podem provocar efeitos tóxicos evidentes no organismo como um todo (Hodson, 1988).

De maneira geral, tanto as respostas fisiológicas como as bioquímicas e a geoquímica dos metais são responsáveis pelas diferentes concentrações observadas em diferentes populações de espécies aquáticas. O entendimento da acumulação de metais é dificultado pelo próprio retrabalhamento do elemento no organismo, durante seu sequestro, distribuição e eliminação (Wang & Rainbow, 2008).

As formas iônicas ou metiladas dos elementos são as formas mais facilmente assimiladas pelos organismos aquáticos (Braga, 2002). O processo de metilação é mais importante quando é biologicamente mediado, uma vez que é mais eficiente, aumentando significativamente a disponibilidade dos metais (Mela, 2004). Alguns metais movimentam-se pela teia alimentar com a forma orgânica como o mercúrio, por exemplo, e outros são assimilados na forma inorgânica por organismos bentônicos ao ingerir sedimentos, como o selênio (Hodson, 1988).

Os peixes podem ter alta mobilidade e integrar contaminantes de áreas geográficas relativamente amplas. Assim, os níveis de contaminantes acumulados nos tecidos dos peixes acabam sendo mais representativos do grau total de contaminação na área do que concentrações achadas num número limitado de amostras de sedimentos ou mesmo em organismos sedentários (Kennish, 1997). Embora possa haver, entre as diversas espécies, variações nas respostas bioquímicas e fisiológicas, os peixes são considerados um dos grupos mais confiáveis para o monitoramento da poluição no sistema aquático (van der Oost *et al.*, 2003)

Os metais podem se bioacumular nos peixes de forma direta ou indireta: pela água via brânquias, pelo sedimento ou alimentação via trato digestório (Alquezar *et al*., 2006). Evidentemente, há algumas variáveis envolvidas nesses processos, como o tipo de presa, o *habitat* da espécie, a idade, o tamanho do peixe, entre outras, o que torna a bioacumulação um processo que apresenta também uma variação espécie-específica (U.S.EPA, 2000). Segundo Alquezar *et al*.(2006), estudos têm demonstrado que altos níveis de metais na água são frequentemente refletidos no tecido branquial de peixes pelágicos e altos níveis de metais são acumulados pela dieta em peixes bentônicos.

Uma vez dentro do organismo, o metal é transportado pela corrente sanguínea para sítios de estoque, de transformação ou ambos (Azevedo,

2008). Um dos modelos descritos por Chapman *et al*. (1998), sobre o transporte do metal para dentro da célula, indica que ocorre uma dissociação e troca de complexos metálicos na camada de difusão da membrana celular, sendo que o transporte para dentro das células ocorre rapidamente. Dentro das células, alguns metais se ligam às moléculas de lipídeos em órgãos como fígado e rim e, adicionalmente, podem ser estocado diretamente no músculo.

Segundo Fowler (1987), alguns compartimentos intracelulares estão envolvidos com o sequestro de metais e exercem um papel importante nos mecanismos homeostáticos e de danos às células, como as proteínas de alta especificidade que se ligam a metais, ou os lisossomos e os precipitados intracelulares, tais como inclusões e concreções minerais. As proteínas específicas têm papel regulador na homeostase de metais, tanto essenciais como os não-essenciais e, segundo o autor, há indicação que a quantidade de metal tóxico não seqüestrado por essas proteínas específicas está relacionada com o desenvolvimento de injúrias na célula.

Essa constatação deixa claro que o organismo, quando exposto às altas concentrações de metais, tem um limite de compensação e, quando esse é ultrapassado, os íons metálicos tóxicos que não estão sob controle homeostático, produzem toxicidade podendo reagir com outras moléculas sensíveis de alto ou baixo peso molecular (Fowler, 1987). O autor afirma que entender o movimento dos metais entre os compartimentos intracelulares é essencial para se estabelecer as relações entre o total bioacumulado, os padrões de seqüestro intracelular de metais e os mecanismos de injúria. O processo de seqüestro de metais depende, naturalmente, do tipo de célula, órgão, espécie ou fase do ciclo de vida em questão.

A indução de proteínas com função de proteger as células de danos ocorre pela exposição a uma variedade de metais. É mais intensa em tecidos que são mais ativos nos processos de assimilação, estocagem e excreção, como fígado e brânquias. Como exemplo, pode-se citar as metalotioneínas, que são proteínas de baixo peso molecular e têm como função a regulação de metais essenciais como cobre e zinco e detoxicação dos não-essenciais como cádmio e mercúrio, sendo que sua detecção é utilizada como um biomarcador bioquímico específico de metais (van der Oost *et al*., 2003).

Metalotioneínas têm um importante papel no metabolismo celular normal

de metais traço, o que ressalta a importância geral da integração das medidas biológica e química em qualquer avaliação de impacto ambiental por micropoluentes (Golsoyr, 1996).

Porém, medidas de bioacumulação, por si só, não são indicativas dos efeitos que o metal irá causar nos organismos (Chapman *et al*., 1998), mas são informações importantes para entender o destino dos metais nos sistemas biológicos. Mesmo que um elemento metal não seja detectado em análises da água e do sedimento, os níveis de resíduos acumulados em tecidos de peixes podem revelar que o ambiente está contaminado por metais sob formas biodisponíveis ou que o peixe se contaminou em outro local. Tal fato é comprovado quando os valores de bioacumulação em tecidos biológicos apresentam-se mais elevados do que aqueles encontrados no meio.

Outros aspectos importantes no processo de bioacumulação precisam ser considerados. Em épocas em que a disponibilidade de alimento diminui ou durante o período reprodutivo, pode ocorrer a liberação de metais lipofílicos estocados para o sistema sanguíneo, o que pode afetar diretamente a saúde do indivíduo. Certamente outro aspecto é a bioacumulação de substâncias tóxicas via teia alimentar (Streit, 1992).

O modelo biológico *A. lineatus* foi objeto desse estudo por ser uma espécie fortemente ligada ao substrato onde vive. Apesar dos juvenis terem uma breve vida planctônica, as larvas dessa espécie metamorfoseiam-se e adotam vida bentônica (Froese & Pauly, 2006). Vivem preferencialmente sob fundos de areia e lama, onde se enterram como tática para capturar presas e fugir dos predadores. Assim, pode-se dizer que é uma espécie que mantém estreita relação com o sedimento durante a maior parte do seu ciclo de vida, tanto pelo contato direto do tegumento e brânquias com o sedimento como pela via alimentar.

Uma das hipóteses propostas no presente estudo é que, ao passar parte do seu desenvolvimento no interior do estuário, o processo de bioacumulação já tenha se iniciado nos juvenis e que, ao se moverem do estuário para a baía, já apresentem elementos metálicos estocados nos seus tecidos. A mobilidade dos indivíduos entre esses ambientes poderia explicar as altas concentrações de metais encontrados no tecido muscular e que não apresentaram uma correlação direta com os níveis de metais encontrados no sedimento da baía

de Santos.

Essa hipótese, no entanto, baseia-se no fato de que *A. lineatus* não habita a porção centro-oeste da baía, onde foram encontradas as maiores concentrações de metais segundo Hurtado (2003) e Ferreira (2008). Sua ocorrência se limitou predominantemente, à boca do canal de Santos e região centro-leste da baía. De fato, dentre os doze elementos químicos detectados na musculatura de *A. lineatus*, separados em jovens e adultos nas quatro estações de coleta, cinco tiveram predominância de jovens (mais que três estações) com maior concentração do que os adultos analisados.

Amara *et al*. (2009) acreditam que taxas de crescimento e condição nutricional das larvas de linguados podem ser afetadas pelo conteúdo de metais no sedimento dos locais em que passam esta fase de seu ciclo de vida.

Mas outras possibilidades têm que ser consideradas. A via alimentar pode ser talvez, a principal contribuinte para o processo de bioacumulação. A espécie *A. lineatus* é predadora de meiofauna bêntica, principalmente de poliquetas (Gasalla, 1995; Chaves & Serrano, 1998; Louro, 2007; Guedes & Araújo, 2008). Os poliquetas são abundantes na baía de Santos e Ferrreira (2008) observou, em seus estudos sobre associações de poliquetas, que a estação 6 exibiu altos valores de riqueza específica e diversidade e a estação 5 altos valores de abundância e menor número de espécies e riqueza específica, ambos os locais de ocorrência de *A. lineatus*.

Segundo Fattorini & Regoli (2004), estudos revelaram que os poliquetas podem exibir uma grande capacidade para colonizar meios instáveis e tolerância elevada ao estresse químico. Embora Ferreira (2008) não tenha realizado análises de contaminação nos tecidos dos poliquetas amostrados, é reportado que organismos bentônicos, em geral, além de serem fontes alimentares para muitas espécies de peixes, tendem a ter um importante papel na ciclagem de nutrientes e de contaminantes entre o sedimento e a coluna d´água (Chapman & Wang, 2001), o que faz dos poliquetas presentes na baía, uma via potencial de assimilação e de bioacumulação para a espécie em estudo.

Cabe lembrar que a dieta também pode não ser a única fonte de metais, com foi mostrado através de medidas realizadas com peixes em cultivo para cobre, zinco e cádmio, uma vez que a concentração dos metais na ração era

menor que a das medidas dos espécimes para Cu e Cd (Dean *et al*., 2007).

Todos esses aspectos estão refletidos nos resultados das análises do tecido muscular dos exemplares de *A. lineatus* capturados: os elementos presentes na musculatura sofreram bioacumulação. Porém, não houve como definir qual é a contribuição de cada via para o processo de bioacumulação nem o local onde o processo tenha se iniciado.

A tabela 10 compila dados de concentração média de cada elemento em músculos de peixes coletados na baía de Santos desde 1974 até 2005-2006 e traça um perfil histórico. Estão incluídos nessa tabela os resultados gerados neste estudo para *A. lineatus*, aqueles obtidos para o peixe-rei (*Atherinella brasiliensis*) da praia de Itamambuca (Ubatuba) (Dias *et al*., 2009), e os de outra espécie da baía de Santos, o cangoá (*Stellifer rastrifer*). Das duas espécies em que foi utilizada a mesma metodologia de análise, o peixe-rei, apesar de ser uma espécie muito diferente do linguado em termos de *habitat*, pode servir como referência para uma espécie de uma área pouco impactada, enquanto o cangoá também vive na baía de Santos e se alimenta no fundo.

Nos primeiros estudos sobre resíduos de metais em tecido biológico, na década de setenta, foram analisadas as vísceras e músculos de algumas espécies de peixes, e constatou-se que apenas os níveis de zinco e mercúrio apresentaram-se mais elevados para algumas espécies do que para outras. Na área da boca do canal de Santos, as espécies que ocorreram (*Eucinostomus gula* e *Mugil curema*), apresentaram concentrações baixas dos metais analisados. Considerando-se os outros locais da baía, foi constatado que o zinco ocorreu em níveis elevados nas vísceras dos ariídeos *Cathorops spixii* e *Bagre bagre*, ultrapassando os limites recomendados de 100 μg/g para consumo humano segundo o *Quality Criteria for Water* de 1976 da agência de proteção ambiental americana (CETESB, 1978).

As concentrações de mercúrio mais elevadas ocorreram nas vísceras de *Cathorops spixii* nos pontos próximos às praias da baía de Santos e nas vísceras e na musculatura do cienídeo *Micropogonias furnieri* num ponto próximo ao centro da entrada da baía de Santos. Os valores de referências utilizados nesse levantamento são bem semelhantes aos valores empregados atualmente, com exceção do zinco e do chumbo em que os limites máximos eram mais elevados do que os atuais (CETESB, 1978).

Em coletas no período de 1979 e 1980, análises realizadas pela CETESB (1981) em tecido muscular de *Achirus sp*., não revelaram concentrações acima dos limites permitidos para os elementos analisados. Porém, a mesma espécie acusou níveis elevados de mercúrio no músculo em análises realizadas dois anos depois por Silva *et al*. (1983).

Ainda na baía de Santos, o bagre *Cathorops spixii* apresentou valor próximo ao limite máximo permitido para o mercúrio (Azevedo, 2008).

Tabela 10. Concentração média e desvio-padrão (em µg/g na base seca) dos metais detectados nas amostras de músculo, na baía de Santos. Os valores dos Limites Máximos de Tolerância (LMT) são da ANVISA e o valor de *Tissue Residue Guideline* (*TRG*) é da *U.S.EPA*. Notas: # - estação oceanográfica; ( ) – número de amostras analisadas; em negrito os valores excedidos.

| | | Elemento (µg/g) | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Espécie e Ano de coleta** | **Local (n)** | **Al** | **Fe** | **Cr** | **Cu** | **Zn** | **Hg** | **Pb** | **As** | **Ni** | **Mn** | **Se** | **Sr** |
| *Mugil curema* [1] *(1975-78)* | Boca canal | | | **<0,61** | <0,22 | 5.27 | 0.05 | <0,18 | | | | | |
| *Eucinostomus gula* [1] *(1975-78)* | Boca canal | | | **<0,61** | 0.34 | 11.50 | 0.23 | <0,18 | | | | | |
| *Achirus* sp. [2] *(1979-80)* | C. S. Vicente | | | 0.07 | 0.22 | 11.20 | 0.03 | 0.18 | | | | | |
| *Achirus* sp. [3] *(1979-80)* | C. S. Vicente (n=7) | | | 0.04 | 0.40 | 6.64 | 0.12 | 0.09 | | | | | |
| *Achirus* sp. [4] *(1982)* | Estuário e baía | | | | | | **0.56** | | | | | | |
| *A. brasiliensis* [5] *(2004 - 05)* | Itamambuca (n =84) | 28.2 | 63.15 | **26.4** | 5.4 | **52.5** | | | **3.15** | 4.2 | 2.7 | **0.95** | 12.25 |
| *Achirus lineatus* [6] *(2005)* | # 5 (n=9) | 20,02±14,93 | 174,21±195,72 | **1,23±2,20** | 1,44±0,98 | 39,86±11,92 | **4,39±6,70** | **13,12±23,36** | **11,00±11,10** | 1,30±1,68 | 10,78±7,58 | **3,65±2,33** | 20,62±8,11 |
| *Achirus lineatus* [6] *(2005)* | # 6 (n=13) | 17,16±14,06 | 154,55±198,36 | **4,67±3,95** | 1,14±1,36 | 31,76±13,94 | **3,86±5,63** | **43,64±86,85** | **9,93±9,48** | 1,22±1,97 | 9,27±8,30 | **2,90±3,20** | 20,18±5,07 |
| *Achirus lineatus* [6] *(2005)* | # 8 (n=17) | 19,09±11,11 | 96,18±78,84 | **7,42±4,44** | 0,91±0,87 | 30,08±9,41 | **1,90±2,86** | **30,99±51,72** | **4,343±3,59** | 2,75±2,24 | 7,08±15,39 | **1,78±2,65** | 12,16±7,16 |
| *Achirus lineatus* [6] *(2005)* | # 9 (n=10) | 16,66±10,99 | 118,33±115,64 | **9,87±7,55** | 0,19±0,35 | 30,07±15,13 | **3,71±4,08** | **6,20±8,53** | **11,31±10,70** | 4,34±4,00 | 2,44±2,23 | **1,50±1,62** | 7,78±7,11 |
| *Stellifer rastrifer* [7] *(2005)* | Baía de Santos | | 18,985±10,71 | **3,22±4,34** | 3,35±2,64 | 21,06±5,09 | | | 0,44±1,24 | 2,75±2,91 | 3,18±2,43 | **2,54±2,91** | |
| *Cathorops spixii* [8] *(2005 -2006)* | E. S e S.V. (n = 99) | | | | | | 0.462 | | | | | | |
| **CONAMA** | **LMT** | | | **0.10** | **30.00** | **50.00** | **0.50** | **2.00** | **1.00** | **5.00** | | **0.30** | |
| **USEPA** | **TRG** | | | | | | | | | | **54,00*** | | |

Referências e locais de coleta

* - µg/g na base úmida

1- Cetesb, 1978 - boca do canal de Santos
2- Cetesb, 1981 - canal de São Vicente
3- Vargas-Boldrini & Navas-Pereira, 1987 - canal de São Vicente
4- Silva *et al*., 1983 - estuário e baía de Santos
5- Dias, *et al*., 2009 - praia e rio Itamambuca (Ubatuba)
6- Presente trabalho - baía de Santos
7- Dias, 2008 - baía de Santos
8- Azevedo, 2008 - estuários de Santos e São Vicente

Dias *et al*. (2009) em seus estudos com o peixe rei em Ubatuba (SP), constataram alguns elementos acima do Limite Máximo de Tolerância, como cromo, zinco, selênio e arsênio. Esses dois últimos registros são inéditos para esses metais.

*S. rastrifer*, capturado concomitantemente à *A. lineatus*, não apresentou os elementos chumbo e mercúrio na musculatura (Dias, 2008).

O presente estudo constatou a presença de vários elementos, incluindo metais, no tecido muscular de *A. lineatus*, dentre os quais, as concentrações médias de cromo, chumbo, arsênio, selênio e mercúrio encontram-se acima dos valores permitidos para consumo. Porém, levando-se em conta as concentrações totais, os metais zinco e níquel também apresentaram alguns valores acima do Limite Máximo de Tolerância.

De uma maneira geral, observa-se um aumento da concentração de todos os elementos em que há registros como o cromo e o zinco (Tabela 10). Porém, o chumbo e o mercúrio revelaram um aumento relativamente maior e com todos os valores recentes de concentração acima dos limites máximos para o consumo.

Ao se verificar os resultados referentes à bioacumulação de metais em tecidos ao longo do tempo, observa-se que os níveis no tecido muscular aumentaram consideravelmente nas espécies de peixes amostradas. Os registros das décadas de 70 a 90 indicam que concentrações de cromo, de cobre, de mercúrio e de chumbo foram abaixo de 1,0 μg/g e o valor máximo da concentração de zinco foi 11,5 μg/g. Os resultados obtidos no presente estudo, com exceção do cobre, estão muito acima desses valores, sendo que todas as amostras de cromo, mercúrio, chumbo, arsênio e selênio ultrapassaram o limite máximo permitido para o consumo humano.

Assim, pode-se constatar que, apesar das concentrações de metais no sedimento da baía de Santos terem apresentado uma recente diminuição nos níveis de contaminação (Ferreira, 2008), os registros das análises de bioacumulação revelam um aumento crescente da contaminação dos peixes.

Na tabela 11 encontram-se as concentrações médias de elementos detectadas no músculo de peixes em algumas regiões do mundo. Os valores das concentrações de cada região foram grupados para facilitar uma comparação, com a ressalva de que estão envolvidas espécies de níveis tróficos diferentes e que algumas concentrações foram expressas na base úmida as quais apresentam, naturalmente, valores menores que os expressos na base seca.

Tabela 11. Concentração média de metais no tecido muscular de algumas espécies de diversas regiões retirada da literatura. Valores expressos em µg/g na base seca, exceto quando indicado na tabela.

| Região de estudo | Nº | Al | Cr | Mn | Fe | Ni | Cu | Zn | As | Se | Sr | Hg | Pb |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Mar Mediterrâneo [1] | 60 | | 1,45 ± 0,14 | | 70,36 ± 16,83 | 1,45 ± 0,14 | 3,95 ± 0,62 | 24, 73 ± 3,83 | | | | | 6,37 ± 0,37 |
| Costa da Coréia [2] | 26 | | 0.04 ± 0,02 | | | 0.02 ± 0,01 | 0.34 ± 0,23 | 9.80 ± 2,60 | | | 0.68 ± 0,61 | | 0.07 ± 0,04 |
| Golfo do México [3] | 24 | | 0,12 ± 0,03 | 0,07 ± 0,05 | 2,13 ± 1,38 | | 0,17 ± 0,09 | 5,10 ± 2,37 | 6,96 ± 13,45 | 0,07 ± 0,03 | | 0,40 ± 0,22 | 0,07 ± 0,02 |
| Mar Adriático [4] | 55 | | 3,33 ± 1,70 | 2,10 ± 0,70 | 66,00 ± 24,00 | 1,20 ± 0,60 | 4,40 ± 1,50 | 42,30 ± 12,70 | | 1,60 ± 0,50 | 12,20 ± 8,10 | | |
| Mar de Marmara [5] | 24 | | <0.06 | 1,03 ± 0,05 | 36,00 ± 10,39 | <0.01 | 2,26 ± 0,80 | 19,23 ± 2,01 | | | | | <0.01 |
| Costa da Turquia [6] | 20 | | 1,37 ± 0,12 | | 56,06 ± 20,11 | 1,08 ± 0,19 | 1,37 ± 0,11 | 28, 89 ± 13,20 | | | | | 4,24 ± 4,53 |
| Mar Mediterrâneo [7] | 88 | | 1,89 ± 0,46 | | 39,46 ± 20,40 | | 3,32 ± 0,98 | 27,39 ± 7,57 | | | | | 4,96 ± 1,14 |
| Costa da Turquia [8] | 135 | 1,32 ± 0,78 | 1,88 ± 0,73 | 1,58 ± 0,49 | 9,00 ± 4,53 | 3,47 ± 2,71 | 1,58 ± 0,53 | 3,98 ± 0,92 | | | | | 2,52 ± 0,85 |
| Costa do Egito [9] | 4 | | | 2,59 ± 2,51 | 33,18 ± 15,43 | | 2,72 ± 0,46 | 24,18 ± 13,20 | | | | | |
| Costa da Turquia [10] | 63 | | 0,37 | 0,52 | 26,46 | 1,11 | 0.78 | 6,85 | | | | | 0,36 |
| Baía de Santos (# 5) [11] | 9 | 20,02 ± 14,92 | 1,23 ± 2,19 | 10,78 ± 7,57 | 174,21 ± 195,72 | 1,30 ± 1,68 | 1,44 ± 0,98 | 39,86 ± 11,92 | 11,00 ± 11,10 | 3, 65 ± 2,33 | 20,62 ± 8,11 | 4,39 ± 6,70 | 13,12 ± 23,36 |
| Baía de Santos (# 6) [11] | 13 | 17,16 ± 14,06 | 4,67 ± 3,94 | 9,27 ± 8,30 | 154,55 ± 198,36 | 1,22 ± 1,97 | 1,14 ± 1,36 | 31,76 ± 13,94 | 9,93 ± 9,48 | 2,90 ± 3,20 | 20,18 ± 5,07 | 3,86 ± 5,63 | 43,64 ± 86,85 |
| Canal de Bertioga (# 8) [11] | 17 | 19,09 ± 11,11 | 7,42 ± 4,44 | 7,08 ± 15,38 | 96,18 ± 78,84 | 2,75 ± 2,24 | 0,91 ± 0,87 | 30,08 ± 9,41 | 4,34 ± 3,59 | 1,78 ± 2,65 | 12,16 ± 7,16 | 1,90 ± 2,86 | 30,99 ± 51,72 |
| Canal de Bertioga (# 9) [11] | 10 | 16,66 ± 10,99 | 9,87 ± 7,55 | 2,44 ± 2,23 | 118,33 ± 115,64 | 4,34 ± 4,00 | 0,19 ± 0,35 | 30,07 ± 15,13 | 11,31 ± 10,70 | 1, 50 ± 1,62 | 7,78 ± 7,11 | 3,71 ± 4,08 | 6,20 ± 8,53 |

[1] Kalay & Canli, 1999
[2] Kwon & Lee, 2001 (peso base úmida)
[3] Lewis *et al*., 2002 (peso base úmida)
[4] Canly & Atli, 2003
[5] Topcuoglu *et al*., 2003
[6] Yilmaz, 2003 (peso base úmida)
[7] Canly & Atli, 2003
[8] Turkmen *et al*., 2005
[9] Abdallah & Abdallah, 2008
[10] Tepe *et al*., 2008 (peso base úmida)
[11] Presente estudo

A maioria dos estudos sobre metais utiliza um método químico de detecção, onde as amostras são submetidas a processos de homogeneização ou de separação de frações específicas que apresentem as propriedades investigadas. Depois as amostras ou frações específicas são submetidas a ataques ou extrações químicas que visam liberar os elementos a serem quantificados (Licht, 2001). Diferentemente, o método *PIXE* preserva as propriedades físicas e químicas das amostras, o que representa uma vantagem, já que nada é perdido. Como são métodos de princípios diferentes pode ocorrer, eventualmente, diferenças entre os resultados.

Nota-se que os valores encontrados no presente estudo são geralmente maiores, com destaque para os elementos mercúrio, chumbo e ferro. Isso pode indicar uma contaminação maior na baixada santista em relação a outras localidades, mas as características espécie-específicas dos exemplares podem ter influenciado nos resultados, como sua posição na cadeia trófica. Além disso, as propriedades físico-químicas da água e do sedimento na região, as interações entre os metais e sua biodisponibilidade estão entre os fatores que podem ter causado essa variabilidade.

Entretanto, é interessante notar que o mercúrio, o chumbo e o ferro foram os metais que mais apresentaram aumento de concentração na região da baixada santista, indicando que, mesmo ao se utilizar um valor médio com diferentes espécies, o mesmo padrão foi encontrado.

É importante mencionar que poucos sistemas aquáticos contaminados contêm apenas um único elemento tóxico. A mistura de elementos, embora pareça similar, é frequentemente tão única que uma comparação entre locais torna-se difícil, quando não impossível. Uma vez assimilado, cada elemento dentro da mistura é um participante único numa interação complexa. E cada um deles é presente numa forma química específica e numa razão também específica em relação a outros elementos, podendo ocasionar respostas aditivas ou sinergéticas. A interação pode ocorrer de forma direta, como por exemplo, competição por ligações biológicas, reações químicas entre si, alteração do metabolismo, ou ocorrer de forma indireta, com interações que influenciam alguns processos fisiológicos antagonisticamente (Sorensen, 1991).

Especificamente sobre os elementos encontrados na musculatura, seguem abaixo algumas considerações.

Arsênio

O metabolismo do arsênio consiste principalmente de uma reação redox e biometilação. Na reação redox, o arsênio pentavalente é convertido em arsênio trivalente (arsenito), que é 60 vezes mais tóxico do que a forma oxidada pentavalente (arseniato). Na metilação, as algas e bactérias biotransformam o arsênio inorgânico em um composto orgânico, a arsenobetaína, via íon monometilarsônico e íon dimetilarsínico (Barra, 1999; *U.S.EPA*, 2000; Fattorini & Regoli, 2004).

A forma predominante de arsênio na água do mar é o arseniato, mas é a forma orgânica, a arsenobetaína, o principal derivado do arsênio encontrado nos organismos marinhos. Essa forma é pouco tóxica em relação aos compostos inorgânicos que são 100 vezes mais tóxicos do que as formas parcialmente metiladas (Barra, 1999).

Os sedimentos são importantes fontes de arsênio para os invertebrados bentônicos; dessa maneira, os peixes, poderiam acumular arsênio ao se alimentar de organismos contaminados. Assim, os produtores primários que assimilam arsênio, principalmente na forma inorgânica, são os que correm maiores riscos de contaminação em relação aos consumidores que assimilam arsênio predominantemente na forma orgânica (arsenobetaína), menos tóxica. Peixes demersais, como alguns linguados, ao se alimentarem de espécies bentônicas, como poliquetas, possuem maiores níveis de arsênio do que as espécies de hábitos pelágicos e planctófagos. Isso acontece porque a toxicidade do arsênio é dependente da posição do organismo na teia trófica e da espécie de arsênio acumulado (Bryan, 1992).

As análises para detecção do arsênio só começaram a ser realizadas recentemente (Tab. 10), embora já seja observado um nítido aumento de sua concentração no ambiente de um ano para outro. Em 1999 a CETESB encontrou, na região da baixada de Santos, arsênio no sedimento, com distribuição difusa, com maiores concentrações próximas às fontes industriais, lixão do Alemoa e locais de deposição de material dragado, porém não ultrapassando os valores do *TEL* (CETESB, 2001). Já Siqueira no ano de 2000

(Siqueira, 2003) detectou arsênio também, porém em concentrações acima dos valores do *TEL* na baía de Santos.

São quase inexistentes dados sobre arsênio em tecido biológico no Brasil e pouco se sabe sobre os efeitos em peixes. Dias *et al*. (2009) encontraram os valores de 3,0-3,3 μg/g em *Atherinella brasiliensis* em Ubatuba, bem abaixo dos valores encontrados no sistema estuarino de Santos - São-Vicente, tendo utilizado a mesma metodologia de análise. Cabe destacar que a metodologia de análise permite identificar a quantidade do elemento, mas não especifica qual a espécie arsenial encontrada. No presente trabalho, o arsênio apresentou altos níveis de concentração no músculo, sendo que todas as médias ultrapassaram o limite máximo permitido para o consumo. Uma das amostras do canal de Bertioga apresentou quase 30 μg/g de concentração. Não se sabe até o momento a fonte de arsênio na região do canal de Bertioga. Já na baía de Santos, o monitoramento realizado pela CETESB (2008), no entorno da boca do emissário, revelou a presença do arsênio no sedimento e em concentração acima do limite para o efeito limiar.

O arsênio total também apresenta maiores concentrações em vísceras como testículos, ovários e estômago, em comparação como o músculo para *Mugil cephalus* (Liu *et al*., 2006). Embora o arsênio se concentre em espécies marinhas, não há um padrão trófico clássico de bioacumulação e biomagnificação, reforçando a idéia que é importante analisar as espécies de arsênio (Peshut *et al.*, 2008).

Chumbo

É um elemento que se acumula principalmente no tecido ósseo, mas também se acumula em outros tecidos. Níveis de chumbo no músculo geralmente são mais baixos do que em outros tecidos devido à sua pouca afinidade com os grupos sulfidrilas, bem como a baixa solubilidade e realocação restrita dos sais de chumbo. Como a maioria dos elementos, o chumbo é absorvido pelo epitélio tanto das brânquias como do intestino o qual é secretado rapidamente. Todas as fases do ciclo de vida são sensíveis aos efeitos tóxicos, embora a fase embrionária seja a mais suscetível (Sorensen, 1991).

O valor do *background* regional para o chumbo é 40 μg/g (Tessler, 2007). Os teores encontrados no alto estuário (242 μg/g) revelam contaminação por chumbo, enquanto que na baía de Santos e canal de Bertioga apresentaram 40 e 19 μg/g, respectivamente, indicando que não há um aporte significativo de chumbo (Tessler, 2007). As áreas do alto estuário contaminadas com chumbo, segundo levantamento da CETESB (2001), estão relacionadas às fontes industriais de Cubatão e apresentam as maiores concentrações na área da COSIPA e da Dow Química, embora tenha sido observada, também, uma redução de chumbo nos organismos investigados em relação ao levantamento realizado pelo mesmo órgão em 1990.

Entretanto, o monitoramento do entorno da boca do emissário na baía detectou chumbo acima do limite para efeito limiar (CETESB, 2007), assim como Hurtado (2003) encontrou chumbo acima dos valores de referência *TEL* na porção centro-oeste, na desembocadura do canal de Santos e próximo à ponta da Munduba, com valor máximo de 41 ppm. No canal de Bertioga não houve indicação de contaminação, segundo os valores de Hurtado (2003) e Zaroni (2006).

Ferreira (2008) verificou valores de chumbo abaixo do valor de referencia *TEL*, porém, as maiores concentrações foram encontradas nas estações oceanográficas 5 e 2, na boca do emissário e no centro-oeste da baía, respectivamente.

Dentre os trabalhos realizados no Brasil, podem-se citar os estudos de Pfeiffer *et al*. (1985) que verificaram uma variação de 0,57 a 1,48 μg/g na base úmida nas amostras de quatro espécies de peixes na baía de Sepetiba (RJ) e os estudos de Boldrini & Pereira (1987) onde encontraram chumbo no tecido muscular de diversas espécies de peixes com concentrações variando entre 0,07 a 0,10 μg/g no sistema estuarino. Este mesmo estudo verificou que não houve uma relação direta entre as concentrações e os hábitos alimentares das espécies analisadas. Dias *et al*. (2009) não detectaram chumbo nas amostras peixe-rei coletados em Ubatuba. No presente estudo, as concentrações médias de chumbo no tecido muscular variaram entre 6,2 a 43,64 μg/g. O limite máximo permitido é de 2,0 μg/g, o que significa que as concentrações apresentaram-se muito altas em relação à indicação de área não impactada

por chumbo.

Cobre

A especiação do cobre (II) é muito variável e, geralmente, somente a forma solúvel é disponível para os peixes, embora o precipitado de cobre também seja importante. Como elemento essencial, faz parte de cerca de 30 enzimas e glicoproteínas (ex. catalase, peroxidase, citocromo oxidase etc.). O cobre promove a absorção e o transporte do ferro dos tecidos para o plasma, se liga a $\alpha$-globulina no sangue e é transportado para o fígado e estocado no músculo. A homeostase interna é mantida desde que quantidades traços de fontes externas sejam normais, mas quando esses níveis apresentam-se em excesso, os mecanismos de proteção no peixe começam a ser acionados, como a indução de proteínas hepáticas, incluindo a metalotioneína (Sorensen, 1991).

Em Boldrini & Pereira (1987) há referência a um estudo de caso com o linguado *Pleuronectes platessa*, onde foi detectado que três vias são importantes pra a absorção do cobre: o tegumento, as brânquias e o trato digestório, sendo este último, provavelmente o mais importante.

O aumento da salinidade e a dureza da água protegem os peixes dos efeitos do cobre. Entretanto, o tamanho do peixe tem grande importância nos níveis de acumulação desse elemento. Mesmo que este afete o peixe durante todas as fases do ciclo de vida, os períodos reprodutivo e embrionário são os mais críticos (Sorensen, 1991).

Apesar do cobre ter em seu registro histórico períodos de maior concentração no sedimento, os últimos registros apontam valores abaixo de *TEL*. Os locais de maiores concentração são próximos à COSIPA e ao rio Santo Amaro, mas houve indicação de uma diminuição dos níveis de cobre nos peixes coletados (CETESB, 2001). Hurtado (2003) obteve concentrações entre 4 e 42 ppm, indicando contaminação. Também o valor do *background* regional indicou que a baía de Santos é um ambiente contaminado, sendo o teor de cobre encontrado de 42 $\mu$g/g para um valor de 13 $\mu$g/g de *background*. O canal de Bertioga não apresentou sinais de contaminação por cobre, segundo Hurtado (2003). As concentrações deste metal no sedimento da baía de Santos, descritas por Ferreira (2008) e Zaroni (2006), foram abaixo dos valores

de *TEL* e *PEL* e não apresentaram tendência junto às concentrações encontradas nos músculos.

Pfeiffer *et al*. (1985) na baía de Sepetiba (RJ) detectou cobre nas quatro espécies de estudo com valores variando entre 0,27 e 0,70 μg/g na base úmida. Não há um Limite Máximo Tolerável específico para o pescado, mas para alimentos em geral que é de 30,00 ppm, que é um valor muito acima dos resultados obtidos. Entretanto, o monitoramento do emissário pela CETESB (2007) indicou que o cobre está acima do limite para efeito limiar, o que pode justificar os valores mais altos da concentração de cobre encontrados na estação 5 no presente estudo.

Ferro e alumínio

O ferro está presente em praticamente todos os organismos e participa de diversas funções metabólicas. Uma das mais importantes é o transporte de $O_2$ no sangue pela hemoglobina. Outras proteínas associadas ao ferro são a mioglobina, que armazena $O_2$, o citocromo P450 que catalisa a oxidação de compostos hidrofóbicos, a peroxidase e catalase que catalisam a oxidação de peróxidos etc. Tanto a falta como o excesso de ferro são prejudiciais ao organismo (*U.S.EPA*, 2000).

O ferro dissolvido, que é a forma assimilada pelos organismos aquáticos, apresenta-se ou na forma ferrosa ($Fe^{2+}$) ou na forma férrica ($Fe^{3+}$). No sistema estuarino de Santos - São Vicente, Ducatti (2003) verificou que a forma férrica na água foi a mais disponível no sistema, sendo que os valores mais altos ocorreram no canal de Santos e áreas mais internas do sistema estuarino. Na baía de Santos, valores de ferro dissolvido total, de uma maneira geral, apresentaram-se baixos, exceto na área da boca do emissário e no lado leste da baía.

O valor de *background* regional para o ferro no sedimento é de 13.700 μg/g, sendo que os teores desse metal obtidos por Tessler (2007) foram 100.000 μg/g no alto estuário e 40.000 μg/g na baía de Santos. Os valores indicam que o ambiente possui forte contribuição antropogênica de ferro na região, fato esse observado no final da década de 1970 por Tommasi (1979), que encontrou valores de 59.080 a 1.723 μg/g para a região e especificamente

entre 3.600 a 25.369 μg/g na baía de Santos. O autor sugeriu que o aporte de ferro seria proveniente do grande volume de fumaça, rica em óxido de ferro, expelida da empresa COSIPA. Hurtado (2003) encontrou as maiores concentrações de ferro na porção centro-oeste, na desembocadura do canal de Santos e na ponta da Munduba.

Não há valores de *background* regional para o alumínio nem registros de alumínio na baía de Santos. Porém, há registro de alumínio no canal de Bertioga obtido por Hurtado (2003), sendo os menores valores, entre 3.6 e 6,68 ppm, encontrados próximos à desembocadura do canal.

Sabe-se que o sulfato de alumínio é utilizado nas estações de tratamento de água como floculante primário (CETESB, 2007); porém os resultados obtidos para a estação 5, próxima à boca do emissário, não são diferentes do das outras estações.

Em Ubatuba, Dias *et al*. (2009) encontraram concentrações que variaram entre 58,5-67,8 μg/g para o ferro e 25,4-31,0 para o alumínio. Na baía de Santos e canal de Bertioga os valores médios variaram entre 56,18-174,21 μg/g, sendo que os maiores valores foram encontrados na estação oceanográfica 5. Para o alumínio a variação foi de 16,66 a 20,02 μg/g, sem grandes diferenças entre a baía e o canal de Bertioga. Não há informações sobre bioacumulação em tecidos biológicos com os elementos ferro e alumínio na baía de Santos e canal de Bertioga.

Cromo, níquel, manganês e estrôncio

Esses elementos, com exceção do estrôncio, são elementos essenciais para os sistemas biológicos, embora em excesso sejam prejudicais, podendo causar danos no fígado e no rim. O estrôncio chega a substituir o cálcio em ossos, otólitos e conchas de organismos marinhos, sob condições de baixa salinidade local, mas não tem papel biológico conhecido.

Segundo os registros históricos de ocorrência, as concentrações de cromo mostraram uma tendência de aumento ao longo dos anos, mas registros mais recentes mostraram uma queda nos valores, abaixo dos valores de referência *TEL*. A CETESB (2001) observou que as maiores concentrações de cromo ocorreram em rios do alto estuário e nas proximidades da COSIPA. As

concentrações no sedimento da baía de Santos obtidas por Ferreira (2008) e Zaroni (2006) também apresentaram um padrão heterogêneo com todas as concentrações abaixo dos valores de *TEL* e *PEL* e não sendo registrada tendência entre aquelas encontradas dos sedimentos e nos músculos.

Registros antigos da baía de Santos indicam que não havia contaminação por cromo, a mesma constatação foi obtida por Pfeiffer *et al*. (1985) na baía de Sepetiba (RJ), que encontraram valores médios entre 0,31 a 0,77 μg/g.

As amostras do tecido muscular do presente estudo apresentaram concentrações elevadas de cromo, em relação ao limite máximo para o consumo que é 0,10 μg/g. Ao se observar os registros pretéritos desse elemento, nenhuma concentração estava acima do LTM. É desconhecida a razão desse aumento em relativamente pouco tempo, mas o fato é que os valores das concentrações indicam contaminação desse elemento, sendo a mesma situação obtida por Dias *et al*. (2009) em Ubatuba, que encontraram um valor médio variando entre 22,6-30,2 μg/g.

A alta concentração de cromo encontrada pela CETESB (2008) nos sedimentos do entorno da boca do emissário submarino, estão acima do limite para efeito limiar, bem como Hurtado (2003) que encontrou valores acima do *TEL* na porção centro-oeste e desembocadura do canal de Santos, com valores entre 11 e 73 ppm.

As informações sobre o níquel na baía de Santos são de Hurtado (2003) que encontrou concentração máxima de até 23 ppm, na ponta da Munduba, na porção centro-oeste e desembocadura do canal de Santos. As fontes de níquel não são conhecidas (CETESB, 2001),

As maiores concentrações de níquel no tecido muscular dos linguados detectadas no presente estudo ocorreram nas estações oceanográficas do canal de Bertioga. Embora as concentrações médias não tenham ultrapassado o LMT que é 5,0 μg/g, alguns valores de concentração total excederam o valor de 11,0 μg/g. Dias *et al*. (2009) obtiveram valor abaixo de 5,0 μg/g em Ubatuba.

A CETESB (2001) verificou que as maiores concentrações de manganês no sedimento foram observadas na área de influência da COSIPA. Entretanto, os teores de manganês obtidos por Tessler (2007) revelaram um forte aporte

do elemento no sistema estuarino, com valores de 1.100 μg/g no alto estuário, 1.085 μg/g na baía de Santos e 597 μg/g no canal de Bertioga, desde que o valor do *background* regional é de 230 μg/g. Hurtado (2003) encontrou valores semelhantes na baía de Santos, com valores máximos de 1085 ppm. No canal de Bertioga, esse autor encontrou na desembocadura do canal, os menores valores de manganês, entre 49 a 158,6 ppm.

Quanto ao manganês em tecidos biológicos, um dos poucos trabalhos realizados no Brasil, é o de Pfeiffer *et al*. (1985) na baía de Sepetiba (RJ) onde foram investigados, entre outros organismos marinhos, quatro espécies de peixes, e foi verificada uma variação de 0,20 a 0,97 μg/g para o manganês e o trabalho de Dias *et al*. (2009) que encontraram os valores médios entre 2,6-2,8 μg/g para o manganês e 20,1 μg/g para o estrôncio. No presente estudo, os valores médios do manganês e estrôncio variaram entre 2,44-10,78 μg/g e 7,78-20,62 μg/g respectivamente. Ambos os elementos apresentaram valores mais elevados na baía de Santos do que no canal de Bertioga. Não há valores de referência para o estrôncio e para o manganês, o valor de referência da *U.S.EPA* é de 54,0 μg/g (*U.S.EPA*, 2000). Embora esse valor seja expresso na base úmida, o valor é bem acima dos valores médios encontrado na costa sudeste brasileira, indicando que o ambiente não está contaminado por esses elementos metálicos.

Mercúrio

Os níveis de metilmercúrio (MEHg) nos sedimentos são controlados por uma competição simultânea entre metilação e desmetilação. Normalmente o MEHg representa cerca de 1,5% da concentração de Hg total nos sedimentos (Hortellani, 2008).

Em tecidos de peixes, a maior parte do mercúrio está sob a forma de MEHg, o qual é rapidamente ou quase completamente absorvido pelo trato digestório (cerca de 90 a 100%), sendo esse um dos fatores que afetam sua toxicidade (*U.S.EPA*, 2000; Türkmen *et al*., 2009). O MEHg é altamente lipofílico, o que facilita sua passagem pelas membranas lipídicas das células, ligando-se rapidamente às proteínas específicas e facilitando sua distribuição pelos tecidos. Entre os elementos metais, o mercúrio é um dos mais danosos

para os peixes por causa da forte ligação do mercúrio com os grupos sulfridilas. O mercúrio inorgânico divalente $Hg^{+2}$ pode ser metilado a dimetilmercúrio $(CH_3)_2Hg$ e a sal alquilmercúrio ($CH_3Hg^{++}$). Sua alta lipofilicidade causa um aumento marcante na acumulação do mercúrio e na sua toxicidade (Sorensen, 1991).

Esse metal tende a se acumular no fígado e no rim, ou pode se ligar aos aminoácidos no tecido muscular. Em *Trichiurus lepturus* (espada), foram observadas lesões no rim, que incluem metaplasias e presença de centros de melano-macrófagos, apesar de as concentrações encontradas terem sido maiores no músculo do que no cérebro ou no rim (Cardoso *et al*., 2009).

Essa afinidade por gorduras e proteínas e a baixa taxa de eliminação determina um longo tempo de retenção nas células dos organismos (*U.S.EPA*, 2000). Essa retenção seletiva do MEHg se reflete nos níveis tróficos da teia trófica e está relacionada à alta solubilidade lipídica, a meia vida biológica longa e ao aumento da longevidade dos predadores de topo da cadeia. Como resultado, o MEHg provê um dos melhores exemplos de biomagnificação de metal na teia trófica (Bryan, 1992).

Uma das medidas de proteção dos peixes é a secreção de muco. O mercúrio inorgânico ($Hg^{+2}$) é rapidamente capturado pelo muco, numa concentração quatro vezes maior, enquanto o mercúrio orgânico ($CH_3Hg^{++}$) parece ser capaz de cruzar o muco do epitélio mais rapidamente por causa de sua característica lipofílica. A presença de $Hg^{+2}$ na água estimula a síntese de muco na superfície dos teleósteos, interagindo e retendo esse elemento sob uma condição estável indefinidamente. Essa capacidade é uma das principais razões para uma maior assimilação de $CH_3Hg^{++}$ e subseqüente toxicidade (Sorensen, 1991).

A fase do ciclo de vida é importante para determinar os níveis de mercúrio no tecido dos peixes. As concentrações geralmente aumentam com o ganho de peso, tamanho e com a idade de actinopterígios e elasobrânquios, mas nem sempre esse padrão ocorre (Marins *et al*., 1998; *U.S.EPA*, 2000; Lacerda, 2000; Lacerda *et al*., 2007; Costa & Lacerda, 2009). Porém, maiores concentrações em musculatura de peixes foi encontrada em espécies onívoras, enquanto as mais baixas em detritívoros (Alonso *et al.*, 2000)

Levantamentos sobre a presença de mercúrio no sedimento do sistema

estuarino de Santos - São Vicente, foram realizados desde a década de 1970, mas é só a partir da década seguinte que os teores de mercúrio começaram a ultrapassar os valores de referência *TEL*. De acordo com os registros históricos, os níveis de mercúrio no ambiente vieram aumentando, desde então. Porém, entre os últimos levantamentos, os níveis apresentaram-se mais baixos (Tab. 10).

Na baía de Santos, Hurtado (2003) encontrou mercúrio no sedimento com valor médio de 14,6 ppb, sendo que os maiores valores foram encontrados na porção centro-oeste da baía (valor máximo de 267 ppb) e na desembocadura do canal de Santos (cerca de 130 ppb). O mesmo autor não detectou mercúrio ao longo de todo o canal de Bertioga, tampouco Ferreira (2008) ou Zaroni (2006) detectaram mercúrio nas amostras de sedimento da baía de Santos e do canal de Bertioga.

Os registros históricos revelaram que os tecidos musculares dos peixes analisados não continham mercúrio em altas concentrações, embora possam ter ocorrido valores elevados em outros órgãos analisados. Os níveis mais elevados de mercúrio começaram a ser detectados no tecido muscular a partir da década de 1980, embora as concentrações encontradas estejam próximas dos limites máximos permitidos. Somente os registros mais recentes apontam bioacumulação elevada no tecido muscular, com exceção dos resultados apresentados por Azevedo *et al*. (2009) na baía de Santos com o músculo da espécie *Cathorops spixii* que encontrou o valor de 0,25 μg/g para o mercúrio total (Hg) e de 0,21 μg/g para o metilmercúrio (MEHg).

No presente estudo, o tecido muscular apresentou concentrações elevadas de mercúrio, entre 1,90 e 4,39 μg/g de valor médio, tanto nas estações oceanográficas da baía de Santos, como nas do canal de Bertioga, valores acima do máximo permitido para o consumo que é de 0,5 μg/g.

Para 38 espécies de pescados da cadeia produtiva da baixada santista, coletadas em nove pontos, as concentrações médias não ultrapassaram o máximo permitido para o consumo pela legislação brasileira, excetuando-se a meca (*Xiphias gladius*) e o bagre (*Genidens barbus*) (Morgano *et al.*, 2007). Similarmente, estudos realizados na Lagoa dos Patos e Mirim revelaram a presença de maiores concentrações na musculatura de corvina e peixe-rei

coletados na Lagoa dos Patos, embora os valores tenham sido baixos, com máximos em torno de 180 $ng.g^{-1}$ (Niencheski *et al.*, 2001).

Selênio

O selênio é metilado e provavelmente dimetilado no meio por microorganismos presentes no sedimento. Os peixes acumulam mais $Se^{4+}$ que é a forma inorgânica, e estudos indicam que a rota mais importante para os processos de bioacumulação do selênio é via alimentar. Em geral, a acumulação nos peixes ocorre mais no fígado do que nas gônadas e do que no músculo (Sorensen, 1991; Lemly, 1998), entretanto, a acumulação no músculo parece ser a única que sofre influência direta do hábito alimentar (Seixas *et al*., 2006).

Apesar do pouco conhecimento sobre o efeito do excesso de selênio em peixes, este elemento começa a se tornar uma preocupação em áreas sujeitas aos aportes antropogênicos, desde que tem um potencial razoável para a magnificação na teia trófica e que uma significante porção do selênio é passada aos descendentes ao se acumular nas gônadas (Lemly, 1998). Quando os níveis de selênio são elevados, há indicações de declínio da população do pescado devido à falhas no processo reprodutivo (Hodson, 1988).

As análises de selênio em tecidos biológico são escassas e poucos trabalhos têm envolvido a análise desse elemento. Selênio já foi encontrado no sedimento no sistema estuarino de Santos - São Vicente (CETESB, 2001), entretanto, o elemento só foi verificado em tecido muscular primeiramente por Seixas (2006) na costa do Rio de Janeiro e por Dias *et al*. (2009) na costa norte do estado de São Paulo. Ambos os trabalhos detectaram selênio no tecido muscular de peixes, porém, os níveis foram baixos, indicando pouco impacto desse elemento nas respectivas regiões de estudo.

Esses valores foram ligeiramente inferiores aos do presente trabalho, cujos valores médios variaram de 1,50 a 3,65 μg/g, sendo que algumas amostras ultrapassaram valores de 9 μg/g de concentração total na base seca. Essa diferença de valores pode estar relacionada às diferentes localidades onde as amostras foram coletadas e às diferenças inerentes a cada espécie. No presente estudo, as maiores concentrações ocorreram na baía e não houve

um padrão diferente na assimilação entre jovens e adultos, corroborando o fato de que não há evidencia de um aumento na concentração em relação à idade (Lemly, 1998).

Lemly (1998) compilou alguns dados referentes aos valores dos resíduos em tecidos e determinou que valores entre 6-8 μg/g indicam contaminação do ambiente por selênio e provável efeito no processo reprodutivo dos peixes, sendo que valores menores que 3 μg/g são utilizados como valores de referência de locais não poluídos. Os valores obtidos no presente estudo foram em torno de 3 μg/g, indicando que a área de estudo não está dentro dos limites definidos para área contaminada por selênio.

Zinco

O zinco é co-fator de várias enzimas e é encontrado, em geral, em grandes quantidades nos tecidos, abaixo apenas do elemento ferro. A toxicidade induzida pelo zinco é uma função da especiação desse elemento e há indicações de que a acumulação do zinco é uma função da taxa metabólica e, portanto, varia com o tamanho do peixe (Sorensen, 1991). O zinco é transferido das células epiteliais para as brânquias rapidamente; depois é distribuído para o tegumento, músculo e ossos e uma pequena quantidade é acumulada no fígado e no rim (Hogstrand, 1991). Um dos mecanismos de proteção na presença desse elemento é a produção de muco (Sorensen, 1991).

A CETESB (2001) indicou a porção superior do estuário de Santos (COSIPA e rio Santo Amaro) como a região de maior concentração de zinco no sedimento, porém, não reportou aumento na concentração de zinco nos tecidos dos organismos amostrados em relação a levantamentos anteriores. Os registros mais atuais da concentração de zinco no sedimento, bem como os resultados do monitoramento do emissário (CETESB, 2007), revelam valores abaixo dos valores de referência *TEL*, indicando que a baía de Santos e canal de Bertioga não estão impactados pelo elemento zinco.

Entretanto, essa constatação não está refletida nos teores de zinco detectados no sedimento da baía de Santos (260 μg/g) e do canal de Bertioga (80 μg/g) (Zaroni, 2006; Ferreira, 2008). Esses valores indicam aporte

antropogênico na região, desde que o valor de *background* regional para o zinco é de 45 μg/g. Hurtado (2003) encontrou um valor de mediana de 31 ppm para a baía, sendo que foram constatados valores mais altos próximo à ponta de Itaipu, com valores ultrapassando os de referência *TEL*.

Nos registros pretéritos referentes à baía de Santos, os valores de zinco encontrados variaram entre 5,27 e 11,50 μg/g (e especificamente 11,20 μg/g para *Achirus sp*., tabela 2). Boldrini & Pereira (1987) encontraram zinco na musculatura nas espécies de peixes amostradas com concentrações que variaram de 3,34 a 17,5 μg/g, sendo que os maiores valores foram encontrados nos bagres. Neste mesmo trabalho foi indicado que, segundo a *U.S.EPA*, valores entre 6 a 1.500,00 μg/g são considerados usuais nos tecidos dos peixes.

Na baía de Sepetiba, Pfeiffer *et al*. (1985) encontram zinco no pescado com valores médios entre 3,42 a 27,3 μg/g na base úmida. No litoral paulista, os estudos de Dias *et al*. (2009) verificaram que a concentração média de zinco no músculo do peixe-rei em Ubatuba foi 53,5 μg/g.

Os resultados do presente trabalho apresentaram concentrações que variaram entre 30,07 e 39,86 μg/g para *A. lineatus*, sendo que o maior valor de concentração total foi 69,49 μg/g. Os teores de zinco foram maiores que outras localidades e indicam uma tendência de aumento para a região de estudo.

Análises multielementais em peixes são complexas e valores obtidos por Tuzen (2009) para o Mar Negro revelam resultados para *Psetta maxima*, outro linguado, de concentrações mais baixas do que aqueles aqui encontrados, exceção para Zn e Ni, com valores próximos.

<u>O uso da bioacumulação como biomarcador</u>

Segundo Streit (1992) o termo bioacumulação é usado de duas formas: 1) para descrever um processo dinâmico de assimilação passiva ou ativa e concentração de um elemento ou composto dentro de um organismo e 2) num senso estático, significando uma concentração alta como o resultado de processos prévios de acumulação.

Considerando-se esses dois preceitos, o processo de bioacumulação pode ser entendido como um processo ativo, onde há uma reação fisiológica para o excesso de contaminante, bem como um processo mais passivo, em que se é constatada apenas uma diferença de concentração do contaminante no organismo em relação ao meio.

No entanto, é importante ressaltar que os organismos mantêm ativamente as concentrações internas de metais essenciais pelo uso de mecanismos homeostáticos (Chapman, *et al*., 1998).

A definição de biomarcador consiste em uma resposta biológica de um organismo que reflete uma condição adversa ou, de acordo com a *World Health Organization* (*WHO*), inclui quase qualquer medida que reflita uma interação entre um sistema biológico e uma ameaça potencial, a qual pode ser química, física ou biológica. Num contexto ambiental, essas respostas são indicadores sensíveis que demonstram que contaminantes têm entrado no organismo, tendo sido distribuído pelos tecidos e despertando um efeito tóxico nos alvos críticos (McCarthy and Shugart, 1990 *apud* van der Oost *et al.,* 2003).

Assim, sob o ponto de vista de um processo ativo de reação ao contaminante, organizações como a *WHO* consideram a bioacumulação de certos contaminantes ambientais biomarcadores de exposição para esses químicos. Porém, a função do biomarcador é de fornecer um sinal de alerta precoce de efeitos biológicos significantes em níveis mais altos de organização biológica. Essa capacidade preditiva não é clara nos estudos de bioacumulação, que também não provê informações sobre problemas relacionados à saúde do organismo.

Alguns autores consideram que bioacumulação deveria ser apenas um critério de risco, desde que alguns efeitos podem ser somente reconhecidos numa fase mais tardia do ciclo de vida, ou se manifestar somente em predadores do topo da teia trófica, por exemplo. Autores, como van der Oost *et al*., (2003), definem os resíduos nos tecidos como marcadores de bioacumulação. Enquanto que a toxicidade é frequentemente obtida em experiências feitas em laboratório, medidas de bioacumulação podem ser mais confiáveis em investigações de campo (Chapman, *et al*., 1998).

Independentemente da classificação que lhe é atribuída, a grande questão nos estudos sobre bioacumulação em organismos é que esse

processo pode aumentar a persistência de químicos de origem antropogênica no ecossistema como um todo. Essa constatação tem um significado muito importante porque uma vez estocado, o contaminante fica preservado de alguma forma, já que não estaria mais exposto diretamente a uma degradação física, química e biológica (Streit, 1992). No caso dos predadores, os metais assimilados através dos alimentos são digeridos dos tecidos das presas e solubilizados, o que permite a disponibilização para os predadores (Goto & Wallace, 2009).

Diferentemente de outros indícios de exposição, os resíduos encontrados no tecido são evidências de que o peixe esteve, em algum momento de sua vida, num local contaminado, além de validar outros possíveis efeitos detectados no organismo como um todo.

Um dos objetivos específicos do Projeto ECOSAN foi verificar a extensão da contribuição de contaminantes (esgoto, poluentes orgânicos persistentes, hidrocarbonetos do petróleo e metais) provenientes do alto estuário para a baía de Santos e plataforma interna, em amostras de sedimentos e organismos marinhos. Nesse contexto, foi verificado que, além processos físicos que contribuem para a transferência e dispersão dos aportes de substâncias orgânicas e inorgânicas para fora do sistema, esse estudo propõe que os peixes atuam também, em menor escala, como agentes biológicos de transferência e dispersão de contaminantes nesse ambiente, assumindo-se que, devido a sua grande mobilidade, algumas espécies podem se contaminar em áreas mais internas do sistema e se transferirem para outras áreas menos contaminadas ou não contaminadas.

## Referências

ABDALLAH, M. A. M.; ABDALLAH, A. M. A. 2008. Biomonitoring study of heavy metals in biota and sediments in the South Eastern coast of Mediterranean sea, Egypt. **Environ. Monit. Assess**, v. 146, p. 139–145, 2008.

ABESSA, D. M. S. **Avaliação da qualidade de sedimentos do Sistema estuarino de Santos.** 2002. 290 f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São

Paulo. 2002.

ALONSO, D.; PINEDA, P.; OLIVERO, J.; GONZÁLEZ, H. Mercury levels in muscule of two fish species and sediments from the Cartagena Bay and in the Ciénaga Grande de Santa Marta, Colombia. **Environ. Pollut.**, v. 109, p. 157-163, 2000.

ALQUEZAR, R.; MARKICH, S. J.; BOOTH, D. J. Metal accumulation in the smooth toadfish, *Tetractenos glaber*, in estuaries around Sydney, Australia. **Environ. Pollut.**, v. 142, p. 123-131, 2006.

AMARA, R.; SELLESLAGH, J.; BILLON, G.; MINIER, C. Growth and condition of 0-group European flounder, *Platichthys flesus* as indicator of estuarine habitat quality. **Hydrobiol.**, v. 627, n. 1, p. 87-98, 2009.

AZEVEDO, J. S. **Biomarcadores de contaminação ambiental em *Cathorops spixii* nos estuários de Santos/São Vicente e Cananéia, São Paulo, Brasil.** 2008. 219f. Tese (Doutorado em Oceanografia Química e Geológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2008.

AZEVEDO, J. S.; FERNANDEZ, W. S.; FARIAS, L. A.; FAVARO, D. T. BRAGA, E. S. Use of *Cathorops spixii* as bioindicator of pollution of trace metals in the Santos Bay, Brazil. **Ecotoxicol.** 2009. Published online: 30 April 2009.

BARRA, C. M.; SANTELLI, R. E.; ABRÃO, J. J.; DE LA GUARDIA, M. Especiação de arsênio - uma revisão. **Quím. Nova**, v. 23, n. 1, p. 58-70, 1999.

BERVOETS, L.; BLUST, R.; VERHEYEN, R. Accumulation of metals in the tissue of three spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) from natural fresh waters. **Ecotoxicol. environ. saf.**, v. 48, p. 117-127, 2001..

BOLDRINI, C. V.; NAVAS-PEREIRA, D. N. Metais pesados na baía de Santos e estuário de Santos e São Vicente. **Ambiente**, v. 1, n. 3, p. 118-127, 1987.

BRAGA, E. S. **Bioquímica marinha e efeitos da poluição nos processos bioquímicos.** 2nd. ed. São Paulo: FUNDESPA, 2002. 108p.

BRYAN, G. W.; LANGSTON, W. J. Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. **Environ. Pollut.**, v. 76, p. 89-131, 1992.

BRASIL. **Decreto n° 55.871 de 26 de março de 1965 do Ministério da Saúde.** Limites máximos para contaminantes inorgânicos em alimentos.

1965. Disponível em: http://e-legis.anvisa.gov.br

BRASIL. **Portaria n° 685 de 27 de agosto de 1998 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde.** Princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos nos alimentos. 1998. Disponível em: http://e-legis.anvisa.gov.br

CANLI, M.; ATLI., G. The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe,Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. **Environ. Poll.** v. 121, n. 1, p. 129–136, 2003.

CARDOSO, T. P.; MÁRSICO, E. T.; MEDEIROS, R. J.; TORTELLY, R.; SOBREIRO, L. G. Concentração de mercúrio e análise histopatológica em músculo, rim e cérebro de peixe-espada (*Trichiurus lepturus*) coletados na praia de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Rural**, Sta Maria, v. 39, n. 2, p. 540-546, 2009.

CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). **Canadian Environmental Quality Guidelines.** 2005. Disponível em: http⁄⁄ www.env.gov.bc.ca

CCREM (Canadian Council of Resource and Environmental Ministers). **Canadian water quality guidelines. Canadian Council of Resource and Environmental Ministers. Water Quality Branch, Environment Canada, Ottawa.** 1987. Disponível em: http⁄⁄ www.env.gov.bc.ca

CETESB (Companhia Ambiental do estado de São Paulo). **Poluição das águas no estuário e baía de Santos.** São Paulo: Relatório técnico, 1978. volume I e II. 71p+anexos.

CETESB (Companhia Ambiental do estado de São Paulo). **Metais pesados na baía de Santos e estuários de Santos e São Vicente.** São Paulo: Relatório técnico, 1981. 143p.

CETESB (Companhia Ambiental do estado de São Paulo). **Sistema estuarino de Santos e São Vicente.** São Paulo: Relatório técnico, 2001. 183p.

CETESB (Companhia Ambiental do estado de São Paulo). **Relatório de monitoramento de emissários submarinos.** São Paulo: Relatório técnico, 2007. 106p.

CÉSAR, A.; PEREIRA, C. D. S.; SANTOS, A. R.; ABESSA, D. M. S.; FERNÁNDEZ, N.; CHOUERI, R. B.; DELVALLS, T. A. Ecotoxicological assessment of sediments from the Santos and São Vicente estuarine

system – Brazil. **Brazil. J. Oceanogr.**, v. 54, n. 1, p. 55-63, 2006.

CHAPMAN, P. M.; WANG, F.; JANSSEN, C.; PERSOONE, G.; ALLEN, H. E. Ecotoxicology of metals in aquatic sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment, and remediation. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, v. 55, p. 2221–2243, 1998.

CHAPMAN, P. M.; ANDERSON, J. **A Decision-Making Framework for Sediment Contamination. Integrated Environmental Assessment and Management**. Canadá: SETAC. 2005, v. 1, n. 3, p. 163–173.

CHAPMAN, P. M.; WANG, F. Assessing sediment contamination in estuaries. **Environ. toxicol. chem.**, v. 20, n. 1, p. 3-23, 2001.

CHAVES, P. T. C.; SERENATO, A. Diversidade de dietas na assembléia de linguados (Teleostei, Pleuronectiformes) do manguezal da baía de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Rev. bras. Oceanogr.**, v. 46, n. 1, p. 61-68, 1998.

COSTA, B. G. B.; Lacerda, L.D. Concentração de Mercúrio total em Cavala (Scomberomorus cavalla-Cuvier, 1829) e Serra (Scomberomorus brasiliensis - Collette, Russo & Zavala-Camin, 1978) comercializados nas bancas de pescado do Mucuripe, Fortaleza, CE. **Arq. Ciênc. Mar.**, v. 42, p. 22-29, 2009.

DEAN, R. J.; SHIMMIELD, T. M.; BLACK, K. D. Copper, zinc and cadmiun in marine cage fish farm sediments: an extensive survey. **Environ. Pollut.**, v. 145, p. 84-95, 2007.

DESHPANDE, A.; BHENDIGERI, S.; SHIRSEKAR, T.; DHAWARE, D.; KHANDEKAR, R. N. Analysis of heavy metals in marine fish from Mumbai Docks. **Environ. Monit. Assess.,** 2008. Published online: 17 December 2008.

DIAS, J. F.; FERNANDES, W. S.; BOUFLEUR, L. A.; SANTOS C. E. I.; AMARAL L.; YONEAMA M. L.; DIAS, J. F. 2009. Biomonitoring study of seasonal anthropogenic influence at the Itamambuca beach (SP, Brazil). **Nucl. instrum. methods phys. Res.**, v. 267, n. 11, p. 1960-1964.

DUCATTI, G. M. F. **Estudo da distribuição sazonal do Ferro e do silício no sistema estuarino de Santos/São Vicente e baía de Santos (SP, Brasil).** 2003. 136f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Química e Geológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2003.

FATTORINI, D.; REGOLI, F. Arsenic speciation in tissue of the mediterranean polychaeta *Sabella spllanzanii*. **Environ. toxicol. chem.**, v. 23, n. 8, p. 1881-1887, 2004.

FERNANDES, C.; FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; CABRAL, D.; SALGADO, M. A. Heavy metals in water, sediment and tissues of *Liza saliens* from Esmoriz–Paramos lagoon, Portugal. **Environ. monit. Assess.**, v. 136, p. 267–275, 2008.

FERNANDEZ, W. S. **Dinâmica populacional de *Atherinella brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) da praia de Itamambuca, Ubatuba (SP).** 2007. 123f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2007.

FERREIRA, J. A. **Estudo das associações de anelídeos Polychaeta da baía de Santos e plataforma continental adjacente (SP, Brasil) e suas interrelações com parâmetros físicos e geoquímicos estruturadores.** 2008. 186f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2008.

FÖRSTNER, U.; WITTMANN, G. T. W. **Metal pollution in the aquatic environment.** 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag, 1983. 486p.

FOWLER, B.A. Intracellular compartmentation of metals in aquatic organisms: roles in mechanisms of cell injury. **Environ. Health Perspec.**, v. 71, p. 121-128. 1987.

FROESE, R.; PAULY, D. (Ed.) **FishBase:** World Wide Web eletronic. 2006. Disponível em: www.fishbase.org.version (03/2009).

GASALLA, M. DE LOS A. **Organização trófica da ictiofauna do Saco do Mamanguá, Parati, estado do Rio de Janeiro.** 1995. 145f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Biológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1995.

GOKSOYR, A.; BEYER, J.; EGAAST, E.; GROSVIK, B. E.; HYLLAND, K.; SANDVIKT, M.; SKAARET, J. U. Biomarker Responses in Flounder (*Platihthys flesus*) and their use in Pollution Monitoring. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 33, n. 1, p. 36 45, 1996.

GOTO, D.; WALLACE, W. G. 2009. Influences of prey- and predator-dependent processes on cadmium and methylmercury trophic transfer to mummichogs (*Fundulus heteroclitus*). **Can. J. Fish. Aquat. Sci**, v. 66, p. 836-846.

GUEDES, A. P. P.; ARAÚJO, F. G. Trophic resource partitioning among five flatfish species (Actinopterygii, Pleuronectiformes) in a tropical bay in south-eastern Brazil. **J. Fish Biol.**, v. 72, p. 1035–1054, 2008.

HODSON, P. V. The effect of metal metabolism on uptake, disposition and toxicity in fish. **Aquat. Toxicol.**, v. 11, p. 3-18, 1988.

HOGSTRAND, C.; HAUX, C. Binding and detoxification of heavy metals in lower vertebrates with reference to metallothionein. **Camp. Biochem. Physiol.**, v. 100, n. C l/2, p. 137-141, 1991.

HORTELLANI, M. A.; SARKIS, J. E. S.; ABESSA, D. M. S.; SOUSA, E. C. P. M. Avaliação da contaminação por elementos metálicos dos sedimentos do estuário Santos – São Vicente. **Quim. Nova**, v. 31, n. 1, p. 10-19, 2008.

HURTADO, S.N. **Dinâmica de sedimentação atual associada à contaminação por metais nos sedimentos do Estuário Santista e do Canal de Bertioga, SP.** 2003. 74f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo. São Paulo. 2003.

KENNISH, M. J. **Practical handbook of estuarine and marine pollution.** Boca Raton: CRC Press, 1997. 524 p.

KALAY, M.; AY, Ö; CANLI, M. Heavy Metal Concentrations in Fish Tissues from the Northeast Mediterranean Sea. Bull. **Environ. Contam. Toxicol.**, v. 63, p. 673-681, 1999.

KWON T.T.; LEE, C.W.. Ecological risk assessment of sediment in wastewater discharging area by means of metal speciation. **Microch. J.** v. 70 , p. 255–264, 2001.

LACERDA, L. D.; PARAQUETTI, H. H. M.; MARINS, R. V.; REZENDE, C. E; ZALMONI, I. R.; GOMES, M. P.; FARIAS, V. Mercury content in shark species from the south-eastern Brazilian Coast. **Rev. Bras. Biol.**, v. 60, n. 4, p. 571-576, 2000.

LACERDA, L. D.; SANTOS, J. A.; CAMPOS, R. C.; GONÇALVES, R. A.; SALLES, R. Total-Hg and organic-HG in *Cephalopholis fulva* (Linnaeus, 1758) from inshore and offshore waters of NE Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 67, n. 3, p. 493-498, 2007.

LEMLY, A. D. A position paper on selenium in ecotoxicology: a procedure for deriving site-specific Water Quality Criteria. **Ecotoxicol. environ. saf.**, v.

39, p. 1-9, 1998.

LEWIS, M. A.; SCOTT, G. I.; BEARDEN, D. W.; QUARLESA, R. L.; MOOREA, J.; STROZIER, E. D.; SIVERTSEN, S. K.; DIAS, A. R.; SANDERS, M. Fish tissue quality in near-coastal areas of the Gulf of Mexico receiving point source discharges. **Sci. total environ.**, v. 284, p. 249-261, 2002.

LICHT, O. A. B. **A geoquímica multielementar na gestão ambiental.** 2001. 199 f. Tese (Doutorado em Geologia). Universidade Federal do Paraná, Paraná. 2001.

LIU, C. W.; LIN, K. H.; JANG, C. S. Tissue accumulation of arsenic compounds in aquacultural and wild mullet (*Mugil cephalus*). **Bull. Environ. Contami. Toxicol.**, v. 77, p. 36-42, 2006.

LOURO, M. P. **A ictiofauna do estuário do rio Itanhaém, SP, Brasil: dinâmica espaço-temporal e aspectos biológicos das espécies principais.** 2007. 247 f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2007.

MANTOVANI, D. M. B. **Contaminantes inorgânicos na cadeia produtiva do pescado.** 2005. São Vicente I Simpósio de controle do pescado: qualidade e sustentabilidade.

MARINS R. V.; LACERD, L. D. A; PARAQUETTI, H. H. M. ; PAIVA, E. C. de ; VILLAS BOAS, R. C. Geochemistry of Mercury in Sediments of a Sub-Tropical Coastal Lagoon, Sepetiba Bay, Southeastern Brazil. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**. v. 61, p. 57-64, 1998.

MELA, M. Uso de Biomarcadores na Avaliação dos Efeitos do Metilmercúrio em Hoplias malabaricus (BLOCK, 1794) (Traíra). 2004. 123 f. Tese (Dissertação em Ciências Biológicas) - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2004.

MORGANO, M. A.; PEREZ, A. C. A.; MILANI, R. F.; MANTOVANI, D. M. B.; NEIVA, C. R. P.; FURLAN, E. F.; TOMITA, R. Y.; LOPES, R. G.; NETOS, M. J. L. Mercúrio total em pescado da cadeia produtiva da baixada santista, estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 66, n. 2, p. 164-171, 2007.

NIENCHESKI, L. F.; WINDOM, H. L.; BARAJ, B.; WELLS, D.; SMITH, R. Mercury in fish from Patos and Mirim Lagoons, southern Brazil. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 42, n. 12, p.1403-1406, 2001.

O'CONNOR, T. P.; PAUL, J. F. Misfit between sediment toxicity and chemistry. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 40, n. 1, p. 59-64, 2000.

PIERRON, F.; BAUDRIMONT, M.; DUFOUR, S.; ELIE, P., BOSSY, A.; BALOCHE, S.; MESMER-DUDONS, N.; GONZALEZ, P.; BOUDINEAUD, J. P.; MASSABUAU, J. C. How cadmium could compromise the completion of European eel's reproductive migration? **Environ. Sci. Technol**. v. 42, p. 4607–4612, 2008.

PESHUT, P. J.; MORRISON, R. J.; BROOKS, B. A. Arsenic speciation in marine fish and shellfish from American Samoa. **Chemosphere**, v. 71, p. 484-492, 2008.

PFEIFFER, W. C.; LACERDA, L. D.; FIZMAN, M.; LIMA, N. R. W. Metais pesados no pescado da baía de Sepetiba, estado do Rio de Janeiro RJ. **Ciência e Cultura**, v. 37, n. 2, p. 297-302, 1985.

PREGO R.; COBELO-GARCÍA, A.. Twentieth century overview of heavy metals in the Galician Rias (NW Iberian Peninsula), **Environ. Poll**. v.121 , p. 425–452, 2003.

QUINÁGLIA, G. A. **Caracterização dos níveis basais de concentração de metais nos sedimentos do sistema estuarino da baixada santista.** 2006. 239f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006.

SEIXAS, T. G.; KEHRIG, H. A.; MOREIRA, I.; MALM, O. Selênio em Tecidos de Organismos Marinhos da Baía de Guanabara, Brasil. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 1, n.1, p. 21-25, 2006.

SEIXAS, T. G.; MOREIRA, I.; KEHRIG, H. A.; MALM, O. Distribuição de selênio em organismos marinhos da baía de Guanabara/RJ. **Quím. Nova**, v. 30, n. 3, p. 554-559, 2007.

SIQUEIRA, G. W. **Estudo dos teores de metais pesados e outros elementos em sedimentos superficiais do sistema estuarino da Santos (baixada santista - São Paulo) e da plataforma continental do Amazonas (margem continental norte).** 2003. 327f. Tese (Doutorado em Oceanografia Química e Geológica), Universidade de São Paulo, São Paulo. 2003.

SILVA, C. C. A.; TOMMASI, L. R.; VARGAS-BOLDRINI, C.; NAVAS-PEREIRA, D. Níveis de mercúrio na baixada santista. **Cienc. Cult.**, v. 35, n. 6, p. 771-

773, 1983.

SORENSEN, E. M. **Metal poisoning in fish.** Boca Raton: CRC Press, 1991. 374 p.

STREIT, B. Bioaccumulation processes in ecosystems. Bioaccumulation processes in ecosystems. **Experientia**, v. 48, n. 10, p. 955-970, 1992.

TALLANDINI, L.; GIACOBINI, F.; TURCHETTO, M.; GALASSINI, S.; LUI, Q.X; SHAO, H.R.; MOSCHINI, G. MORO, R. GIALANELLA, G.; GHERMANDI, G.; CECCHI, R.; INJUK, J.; VALKOVIC, V. Naturally occurring levels of elements in fishes as determined by PIXE and XRF methods. **Nucl. instrum. methods phys. res., B40**; v. 41, p. 630-634, 1989.

TEODOROVIC, I.; DJUKIC, N.; MALETIN, S.; MILJANOVIC, B.; JUGOVAC, N. Metal pollution index: proposal for freshwater monitoring based on trace metal accumulation in fish. **Tiscia**, v. 32, p. 55-60, 2000.

TEPE, Y.; TÜRKMEN, M.; TÜRKMEN, A. Assessment of heavy metals in two commercial fish species of four Turkish seas. **Environ. Monit. Assess**, v. 146, p. 277–284, 2008.

TESSLER, M. G. **Granulometria e metais**. In: PIRES VANIN, A. M. S. Projeto ECOSAN: A influência do complexo estuarino da Baixada Santista sobre o ecossistema da plataforma adjacente. São Paulo: IO –USP. 2007. p. 36 – 39. (Relatório III - FAPESP, processo N 03/09932-1).

TOMMASI, L. R. Considerações ecológicas sobre o sistema estuarino de Santos (SP). 1979. 489f. Tese (Livre-Docência) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1979.

TOPCUOGLU, S.; GÜVEN, K. C., BALKIS, N., & KIRBASOGLU, Ç. Heavy metal monitoring of marine algae from the Turkish Coast of the Black Sea, 1998–2000. **Chemosphere**, v. *52*, p. 1683–1688, 2003.

TURCHETO, M.; TALLANDINI, L.; GIACOBINI, F.; GALASSINI, S.; LIU, Q. X.; SHAO, H. R.; MOSCHINI, G.; MORO, R.; GIALANELLA, G.; GUERMANDI, G.; CECCHI, R.; INJUK, J.; VALKOVIC, V. Naturally occurring levels of elements in fishes as determined by PIXE and XRF methods. **Nucl. instrum. methods phys. res.**, v. B40/41, p. 630-634. 1989.

TÜRKMEN, A.; TÜRKMEN, M.; TEPE, Y.; AKYURT, I. Heavy metals in three commercially valuable fish species from Iskenderun Bay, Northern East Mediterranean Sea, Turkey. **Food chem.**, v. 91, p. 167–172, 2005.

TÜRKMEN, A.; TEPE, Y.; TÜRKMEN, M.; MUTLU, E. Heavy metal contaminants in tissues of the garfish, *Belone belone* L., 1761, and the bluefish, *Pomatomus saltatrix* L., 1766, from Turkey Waters. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 82, p. 70-74, 2009.

TUZEM, M. Toxic and essential trace elements contents in fish species from the Black Sea, Turkey. **Food Chem. Toxicol.**, v. 47, p. 1785-1790, 2009.

UMBUZEIRO, G. A.; KUMMROW, F.; ROUBICEK, D. A.; TOMINAGA, M. Y. Evaluation of the water genotoxicity from Santos Estuary (Brazil) in relation to the sediment contamination and effluent discharges. **Environ. Int.,** v. 32, p. 359-364, 2006.

*U.S.EPA* (*US Environmental Protection Agency*). **Guidence for assessing chemical contaminant data for use in fish advisories.** 2000. Vol. 2: Risk assessment and fish consumption limits. Third edition. World Wide Web eletronic. Disponível em: http://www.epa.gov

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish Bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Envir. Toxicol. Pharmacol.**, v. 13, p. 57-149, 2003.

VITEK, T.; SPURNY, P.; MARES, J.; ZOKOVA, A. A heavy metal contamination of the Loucka River water ecosystem. **Acta Vet. Brno.**, v. 76, p.140-154, 2007.

YILMAZ, A. B. Levels of heavy metals (Fe, Cu, Ni, Cr, Pb, and Zn) in tissue of *Mugil cephalus* and *Trachurus mediterraneus* from Iskenderun Bay, Turkey. **Environ. Res.,** v. 92, p. 277–281, 2003.

YONEAMA, M. L.; DIAS, J. F. Espectroscopia por emissão de raios-X induzida por partículas (PIXE). In: TEIXEIRA, E. C.; RODRIGUES, M. J. P.; FERRARO, L. W.; DOBROVOLSKI, R. L.; GUERRA, T. **Estudos Ambientais em Candiota - Carvão e seus Impactos.** 1st.ed. Porto Alegre: 2004, v. 04, p. 209-215.

WANG, W. X.; RAINBOW, P. S. Comparative approaches to understand metal bioacumulation in aquatic animals. **Comp. biochem. physiol., Part C**, v. 148, p. 315-323, 2008.

WU, R. Marine pollution bulletin special issue – 5th international conference on marine pollution and ecotoxicology. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 57, p. 219–220, 2008.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis.** 2nd ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1984. 718p.

ZARONI, L. P. **Avaliação da qualidade dos sedimentos marinhos e estuarinos no município de Bertioga – SP.** 2006. 193 f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006.

## 3º MÉTODO DE AVALIAÇÃO: INDICADORES ECOLÓGICOS

A estrutura da ictiofauna e a ocupação humana na baía de Santos e canal de Bertioga

### Introdução

A comunidade ictíica pode ser descrita de acordo com uma variedade de características como a composição, a estrutura trófica e a diversidade, bem como a abundância e biomassa dos indivíduos, os quais podem ser utilizados para monitorar sua condição (Coates *et al*., 2007).

A modificação do ambiente pela ação humana pode trazer alterações nessas características e uma das formas de avaliação é a utilização de análises univariadas. Estas podem apresentar apenas uma variável resposta como, por exemplo, a abundância de uma espécie sensível ou podem apresentar uma variável que leve em consideração as informações sobre todas as espécies da região de estudo como, por exemplo, índices de diversidades, riqueza, índices multimétricos e outros (Melo, 2008).

A riqueza e os índices de diversidade reúnem informações de todas as espécies encontradas no local. A riqueza é uma das métricas mais simples e mais utilizadas e os índices de diversidade refletem a combinação entre a abundância relativa e a riqueza, supondo-se que os valores aumentam de acordo com a qualidade do meio. Os mais usados são os índices de diversidade de Shannon e Simpson (Melo, 2008).

Os índices multimétricos são modelos que usam uma combinação das características mensuráveis para prover uma avaliação da condição da comunidade, de um ecossistema ou de uma área. Assim, tem-se que índice significa uma combinação numérica de contagens derivadas de medidas biológicas e métricas como sendo uma enumeração as quais representam alguns aspectos da comunidade (estrutura e função) ou outras características mensuráveis que pode mudar em resposta a mudanças ambientais *U.S.EPA* (2000).

Em 1981, Karr desenvolveu o primeiro índice multimétrico, o chamado

Índice de Integridade Biótica (*Index of Biotic Integrity* ou *IBI*), delineado para avaliar a qualidade de águas continentais usando a comunidade de peixes. A premissa do modelo de Karr baseia-se no fato de que a integridade biológica de um sistema é a capacidade de manter uma comunidade com riqueza de espécies, composição e organização funcional comparáveis à de sistemas não perturbados por atividades humanas (Karr & Dudley, 1981 *apud* Oliveira, *et al*. 2008).

Segundo seu idealizador a vantagem do modelo *IBI* é sua capacidade de integrar diversos atributos ecológicos, evitando a seleção de determinado critério isolado que possa resultar em diagnósticos menos confiáveis do que um conjunto de medidas (Karr, 1981). Dessa maneira, ele tem como característica empregar uma série de métricas, baseadas na estrutura e função da comunidade de peixes, que são integradas numa escala de índice numérico que reflete a higidez da comunidade biótica, ao mesmo tempo que compara um sistema impactado com um não impactado (Melo, 2008). Idealmente, locais não poluídos devem ser usados como referências, ou regiões pouco impactadas. Mas o modelo permite, também, o uso de registros históricos, como o levantamento de espécies para construir valores teóricos esperados para as métricas (Araújo, 2003).

Nos últimos 30 anos, o modelo *IBI* têm sido modificado e adaptado em diversas regiões do mundo, para a adequação à ictiofauna que é naturalmente diferenciada (Araújo, 1983; 2003; Hughes *et al*., 2002; Pont, *et al*. 2006; Baptista, 2008; Puente & Diaz, 2008). Índices de Integridade Biótica, como o *FBI* (*Fish Biotic Index*), *EFCI* (*Estuarine Fish Community Index*) e curvas de dominância *ABC* (*Abundance Biomass Comparison*) foram desenvolvidos e vem sendo aplicados em diferentes ambientes. O índice *ABC* avalia, a partir de atributos temporais, métricos e/ou dados pretéritos, a condição ecológica do ambiente. Através da aplicação desses indicadores é possível avaliar a condição geral do ambiente, sem que toda a complexidade do ecossistema seja avaliada. Por outro lado, as principais dificuldades estão relacionadas à identificação dos indicadores ideais, devido à sensibilidade variada de cada espécie aos fatores estressores, bem como à busca de uma área prístina para comparações.

As métricas são baseadas numa suposição ecológica de que a

comunidade de peixes é um indicador sensível da qualidade ambiental, ao reagir significativamente a quase todos os tipos de pertubações antropogêncas, como contaminação química e alterações físicas do ambiente (Araújo, 2003; Ponte *et al*., 2006; Baptista, 2007) Essa sensibilidade à qualidade do meio em que vive é a base para o uso do biomonitoramento de peixes para avaliar a degradação ambiental (Ponte *et al*, 2006).

O critério de escolha das métricas deve levar em consideração que estas devem representar processos complexos do ecossistema (Oliveira, *et al*., 2008). Outro importante critério na aplicação dos índices é quanto à sensibilidade das métricas escolhidas em função do local a ser monitorado, desde que o *IBI* foi idealizado para a aplicação em comunidades de peixes de rios (Karr, 1981), onde as espécies e seus requerimentos ecológicos podem ser mais facilmente determinados em função da área ser mais restrita, quando comparados a um ambiente maior e mais complexo que é o estuarino. Este já possui uma variabilidade que lhe é inerente em função de suas características físico-químicas, o que torna uma distinção entre os fatores naturais e antropogênicos mais difícil (Elliott & Quintino, 2007).

Teoricamente, tem-se que em estuários, especificamente para a ictiofauna, a higidez da comunidade é traduzida em uma diversidade alta para os padrões da região, uma combinações e integrações de guildas tróficas e ciclos sazonais também relativos aos padrões da região. Ao contrário, em sistemas sob estresse, a diversidade é mais baixa do que o esperado, há uma redução da disponibilidade da presa e há perda ou escassez das espécies sensíveis (Whitfield & Elliott, 2002).

Por exemplo, a presença de espécies carnívoras indica uma comunidade saudável e diversificada e quando a qualidade do ambiente declina, essas populações tendem a diminuir ou desaparecer (Karr, 1981). O parâmetro abundância também é indicativo, como as elevadas capturas que são frequentemente associadas a ambientes ricos e de boa qualidade (Araújo, 1983).

Elliott e Quintino (2007) destacaram algumas tendências esperadas em ecossistemas estressados apontados por Odum (1985 *apud* Elliott & Quintino, 2007) junto com suas observações quanto à sensibilidade das métricas de ambientes estuarinos. Em relação à estrutura das comunidades, há um

aumento da proporção das espécies *r*-estrategistas, observado pela alta abundância de espécies de ciclo de vida curto e tolerantes ao estresse; o tamanho dos organismos diminui, o que é de fato observado pela alta abundância de pequenos organismos dominantes; o tipo de ciclo de vida dos organismos tende a ser menor, o que geralmente acontece ao ser observado uma alta abundância de pequenos organismos dominantes; a cadeia alimentar diminui por causa da redução do fluxo de energia dos níveis tróficos mais altos ou por uma maior sensibilidade do predador ao estresse o que, segundo Elliott e Quintino (2007) não acontece necessariamente, desde que a cadeia pode ser curta ou pode ser longa também, devido à natureza oportunista de muitos predadores.

O Índice *ABC*, ou curvas de porcentagem cumulativa de abundância e biomassa por espécies ordenadas, é um método desenvolvido por Warwick (1987) para avaliar, originalmente, os efeitos da poluição sobre as comunidades marinhas de macro-invertebrados. Esse método parte do pressuposto que sob condições estáveis a competição interespecífica resultará num relativamente baixo equilíbrio de diversidade, em que as espécies competitivas são *k*-estrategistas, ou seja, indivíduos grandes, ciclo de vida longo e tamanho de população constante. Ao contrário, sob condições de estresse, não há equilíbrio competitivo, a diversidade diminui, as espécies dominantes são r-estrategistas, pequenos e com ciclo de vida curto (Bervoets *et al.*, 2005).

Os índices multimétricos são usados há várias décadas nos Estados Unidos e na União Européia como protocolo de biomonitoramento de águas continentais (Oliveira *et al*. 2008), embora sua aplicação também ocorra, em menor escala, em estuários (Deegan *et al*., 1997; Hughes *et al*. 2002; Whitfield & Elliott, 2002; Coates *et al*. 2007; Puente *et al*. 2008). Na Grã-Bretanha e Austrália, o biomonitoramento também se baseia na preparação de uma lista dos táxons esperados (que pode ser um levantamento histórico) para aquele local que depois é comparada com a lista das espécies observadas (Norris, 1995 *apud* Melo, 2008).

No Brasil, os índices têm sido aplicados basicamente em comunidades de peixes de águas continentais (Araújo, 1983; 2003; Baptista, 2007; Ferreira, 2007; Jaramillo-Villa & Caramaschi, 2008; Gonçalves & Braga, 2008; Oliveira *et*

*al*., 2008).

Para avaliar as possíveis alterações na estrutura da ictiofauna da baía de Santos e canal de Bertioga, que pudessem indicar a influência de impactos ambientais em maior ou menor grau, foram utilizados índices univariados, como os índices de diversidade, e as curvas de abundância por espécies ordenadas e as de *K*-dominância. Em conjunto, tais indicadores podem identificar alterações na comunidade de peixes causadas por contaminantes através de mudanças no padrão de dominância e diversidade específica.

A hipótese de trabalho é que os índices de diversidade e o índice *ABC* refletem a qualidade ambiental da baía de Santos e canal de Bertioga ao avaliar o estado de higidez da comunidade de peixes.

Objetivos específicos

Levantar informações sobre a estrutura da comunidade ictíica da baía de Santos e canal de Bertioga para se verificar alterações nessa estrutura a partir de indicadores ecológicos e de curvas de dominância e biomassa para espécies ordenadas, partindo-se do pressuposto de que perturbações recentes e freqüentes podem modificar a diversidade.

Método de coleta e tomada de dados

A coleta dos espécimes e a tomada de dados foram descritas no item “Material e Métodos” deste trabalho.

Apesar da utilização de uma arte de pesca mais direcionada à captura de organismos demersais e bentônicos, a coluna de água na baía de Santos é pequena, e mesmo as espécies classificadas como “pelágicas” serão consideradas.

Metodologia de análise

A partir dos dados obtidos, foram apresentados o número e peso total da ictiofauna da baía de Santos coletada no final de 2004 (mês de novembro) e ao

longo do ano de 2005, bem como os dados da fauna do canal de Bertioga, entre setembro e dezembro de 2005.

Medidas de diversidade de espécies são estimadas pelo cálculo de índices de diversidade, que são comumente definidos como um número que combina dados de abundância ou número total de espécies, bem como o número de indivíduos por espécie. Para tanto foram calculados para cada mês na baía de Santos e no canal de Bertioga os seguintes índices (Odum, 1983; Brower *et al.*, 1990):

Diversidade de Margalef (R), que é um índice de riqueza, o qual é uma simples medida que incorpora o número de espécies e o número total de indivíduos em todas as espécies:

$$R = (S-1) / \ln N$$

em que *S* é o número de espécies e *N* é o número de indivíduos;

Dominância de Simpson (D), o qual considera não só o número de espécies e o número total de indivíduos, mas também a proporção do total que ocorre em cada espécie, tornando esse índice particularmente sensível a mudanças nas espécies mais abundantes:

$$D = \Sigma\, ni\, (ni-1) / N(N-1)$$

em que *ni* é o número de indivíduos da espécie *i* e *N* é o número total de indivíduos;

Diversidade de Shannon (H'), o qual assume que se tenham amostras ao acaso de uma comunidade infinita; é um índice que atribui um peso maior às espécies raras e é um dos mais utilizados em trabalhos sobre ecologia de comunidades:

$$H' = \Sigma - pi * \ln pi$$

em que *pi* é a proporção de indivíduos da espécie *i*

Equitatividade de Pielou (J), o qual mede a uniformidade das espécies dentro de uma comunidade:

$$J' = H' / \ln (S)$$

em que *H'* é a diversidade (de Shannon) e *S* o número total de espécies.

O Índice *ABC*, ou curvas de porcentagem cumulativa de abundância e biomassa por espécies ordenadas, foi calculado a partir dos dados de abundância e biomassa da comunidade de peixes da baía de Santos e do canal de Bertioga por mês e por estação oceanográfica. Esse índice relaciona a sobreposição da curva de abundância sobre a curva de biomassa e permite uma relação com a condição ambiental, juntamente com a estatística W, que consiste numa sumarização numérica da curva *ABC* (Otero, 2006; Queiroz *et al*., 2007; Falcão, 2008; Gonçalves & Braga, 2008).

Hipoteticamente, tem–se que quando a curva de biomassa supera a de abundância, indica ambiente não impactado. Se as curvas se apresentarem próximas, indica ambiente moderadamente poluído e se a curva de abundância supera a de biomassa, indica ambiente severamente poluído (Warwick, 1986).

## Resultados

A ictiofauna da baía de Santos foi representada por 39.944 indivíduos com peso total de 543.521,29 g (tabela 12). Os meses de abril e maio foram os que apresentaram maior abundância numérica e biomassa e em setembro, os menores valores. Quanto ao número de espécies, janeiro apresentou a maior diversidade, seguido de março e novembro de 2004. O canal de Bertioga apresentou 1553 indivíduos, 42890,4 g de biomassa em peso, e 50 espécies, com distribuição semelhante ao longo dos meses, tanto de número de espécies como de freqüência numérica.

Tabela 12. Abundância relativa (%) do número total de espécimes e de biomassa em peso (%) da ictiofauna amostrada, por mês, na baía de Santos e no canal de Bertioga.

| | baía de Santos | | | canal de Bertioga | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Mês | N % | Peso % | N Espécies | N % | Peso % | N Espécies |
| nov/04 | 5,37 | 8,88 | 47 | | | |
| jan/05 | 5,47 | 6,74 | 53 | | | |
| fev/05 | 4,16 | 4,95 | 38 | | | |
| mar/05 | 8,16 | 10,15 | 49 | | | |
| abr/05 | 15,63 | 12,42 | 33 | | | |
| mai/05 | 12,31 | 12,72 | 26 | | | |
| jun/05 | 8,28 | 7,19 | 30 | | | |
| jul/05 | 11,45 | 10,08 | 36 | | | |
| ago/05 | 6,28 | 5,39 | 36 | | | |
| set/05 | 2,4 | 3,93 | 31 | 21,79 | 19,95 | 30 |
| out/05 | 7,21 | 5,7 | 33 | 26,5 | 21,35 | 32 |
| nov/05 | 7,54 | 7,74 | 37 | 26,5 | 21,79 | 32 |
| dez/05 | 5,73 | 4,11 | 30 | 25,21 | 36,88 | 35 |
| TOTAL | 100 | 100 | 95 | 100 | 100 | 50 |

As CPUEs resultantes da baía de Santos e do canal de Bertioga podem ser comparáveis, uma vez que tanto a rede como o tempo de operação foram os mesmos. Um valor médio de 512 indivíduos por arrasto foi capturado na baía, enquanto que no canal este valor foi 129 indivíduos por arrasto.

Na baía de Santos ocorreram 95 espécies de peixes distribuídas em 29 famílias, sendo 28 pertencentes aos Actinopterygii e apenas uma aos Chondrichthyes. Dentre todos os peixes coletados, mais de 70% pertencem à família Sciaenidae, sendo que mais de 50% de toda a captura foi devida a uma única espécie, *S. rastrifer* (tabelas 13 e 14). Apenas cinco espécies corresponderam a 80 % da ictiofauna total, em termos de abundância. As famílias mais abundantes foram Sciaenidae, Ariidae, Pristigasteridae, Trichiuridae e Carangidae, representadas por *Stellifer rastrifer, Cathorops spixii, Pellona harroweri, Isopisthus parvipinnis, Stellifer brasiliensis, Macrodon ancylodon, Paralonchurus brasiliensis, S. stellifer, Thichiurus lepturus, Nebris microps* e *Chloroscombrus chrysurus*. No nível taxonômico Família, na baía de Santos somente uma é responsável por 73 % da freqüência relativa (Sciaenidae).

Já no canal de Bertioga, quatro famílias (Ariidae, Sciaenidae, Trichiuridae e Carangidae) somam mais de 73 % e cinco (Sciaenidae,

Pristigasteridae, Dactylopteridae, Monacanthidae e Carangidae) alcançam 77 % somadas.

Tabela 13. Lista das espécies de peixes capturadas na baía de Santos, o número de exemplares (N) e respectivas porcentagens de abundância (%). As famílias estão em ordem filogenética de acordo com Menezes *et al.* 2003).

| Família | Espécies | N | % |
|---|---|---|---|
| Rhinobatidae | *Rhinobatos percellens* | 2 | 0,01 |
| Ophichthidae | *Ophichthus gomesii* | 4 | 0,01 |
| Engraulidae | *Anchoa filifera* | 96 | 0,24 |
| Engraulidae | *Anchoa januaria* | 11 | 0,03 |
| Engraulidae | *Anchoa marinii* | 11 | 0,03 |
| Engraulidae | *Anchoa spinifera* | 9 | 0,02 |
| Engraulidae | *Anchoa tricolor* | 1 | 0,00 |
| Engraulidae | *Anchovia clupeoides* | 1 | 0,00 |
| Engraulidae | *Anchoviella brevirostris* | 1 | 0,00 |
| Engraulidae | *Anchoviella lepidentostole* | 17 | 0,04 |
| Engraulidae | *Lycengraulis grossidens* | 9 | 0,02 |
| Pristigasteridae | *Chirocentrodon bleekerianus* | 4 | 0,01 |
| Pristigasteridae | *Pellona harroweri* | 5294 | 13,25 |
| Clupeidae | *Harengula clupeola* | 11 | 0,03 |
| Clupeidae | *Opisthonema oglinum* | 5 | 0,01 |
| Clupeidae | *Platanichthys platana* | 1 | 0,00 |
| Ariidae | *Aspistor luniscutis* | 85 | 0,21 |
| Ariidae | *Bagre bagre* | 61 | 0,15 |
| Ariidae | *Cathorops spixii* | 2878 | 7,21 |
| Ariidae | *Genidens barbus* | 55 | 0,14 |
| Ariidae | *Genidens genidens* | 14 | 0,04 |
| Ariidae | *Notarius grandicassis* | 4 | 0,01 |
| Ariidae | *Potamarius grandoculis* | 6 | 0,02 |
| Synodontidae | *Synodus foetens* | 3 | 0,01 |
| Phycidae | *Urophycis brasiliensis* | 1 | 0,00 |
| Batrachoididae | *Porichthys porosissimus* | 17 | 0,04 |
| Ogcocephalidae | *Ogcocephalus vespertilio* | 1 | 0,00 |
| Scorpaenidae | *Scorpaena brasiliensis* | 1 | 0,00 |
| Triglidae | *Bellator brachychir* | 1 | 0,00 |
| Triglidae | *Prionotus nudigula* | 1 | 0,00 |
| Triglidae | *Prionotus punctatus* | 13 | 0,03 |
| Centropomidae | *Centropomus parallelus* | 26 | 0,07 |
| Serranidae | *Diplectrum radiale* | 10 | 0,03 |
| Serranidae | *Rypticus randalli* | 17 | 0,04 |
| Serranidae | *Rypticus sp* | 1 | 0,00 |
| Carangidae | *Chloroscombrus chrysurus* | 324 | 0,81 |
| Carangidae | *Hemicaranx amblyrhynchus* | 7 | 0,02 |
| Carangidae | *Oligloplites saliens* | 6 | 0,02 |
| Carangidae | *Selene setapinnis* | 106 | 0,27 |
| Carangidae | *Selene vomer* | 28 | 0,07 |
| Carangidae | *Trachinotus carolinus* | 2 | 0,01 |
| Gerreidae | *Diapterus olisthostomus* | 2 | 0,01 |
| Gerreidae | *Diapterus rhombeus* | 14 | 0,04 |
| Gerreidae | *Eucinostomus argenteus* | 6 | 0,02 |
| Gerreidae | *Eucinostomus gula* | 13 | 0,03 |
| Gerreidae | *Eucinostomus melanopterus* | 3 | 0,01 |
| Haemulidae | *Conodon nobilis* | 53 | 0,13 |
| Haemulidae | *Genyatremus luteus* | 9 | 0,02 |
| Haemulidae | *Orthopristis ruber* | 4 | 0,01 |
| Haemulidae | *Pomadasys corvinaeformis* | 3 | 0,01 |
| Polynemidae | *Polydactylus oligodon* | 2 | 0,01 |
| Polynemidae | *Polydactylus virginicius* | 1 | 0,00 |

| Família | Espécies | N | % |
|---|---|---|---|
| Sciaenidae | *Bairdiella ronchus* | 45 | 0,11 |
| Sciaenidae | *Ctenosciaena gracilicirrhus* | 3 | 0,01 |
| Sciaenidae | *Cynoscion jamaicencis* | 34 | 0,09 |
| Sciaenidae | *Cynoscion leiarchus* | 3 | 0,01 |
| Sciaenidae | *Cynoscion sp.* | 9 | 0,02 |
| Sciaenidae | *Cynoscion virescens* | 72 | 0,18 |
| Sciaenidae | *Isopisthus parvipinnis* | 2246 | 5,62 |
| Sciaenidae | *Larimus breviceps* | 117 | 0,29 |
| Sciaenidae | *Macrodon ancylodon* | 1152 | 2,88 |
| Sciaenidae | *Menticirrhus americanus* | 56 | 0,14 |
| Sciaenidae | *Menticirrhus littoralis* | 2 | 0,01 |
| Sciaenidae | *Micropogonias furnieri* | 268 | 0,67 |
| Sciaenidae | *Nebris microps* | 461 | 1,15 |
| Sciaenidae | *Ophioscion punctatissimus* | 5 | 0,01 |
| Sciaenidae | *Paralonchurus brasiliensis* | 1629 | 4,08 |
| Sciaenidae | *Stellifer brasiliensis* | 1670 | 4,18 |
| Sciaenidae | *Stellifer rastrifer* | 20629 | 51,64 |
| Sciaenidae | *Stellifer sp* | 229 | 0,57 |
| Sciaenidae | *Stellifer stelifer* | 668 | 1,67 |
| Sciaenidae | *Umbrina canosai* | 5 | 0,01 |
| Sciaenidae | *Umbrina coroides* | 3 | 0,01 |
| Ephippidae | *Chaetodipterus faber* | 27 | 0,07 |
| Trichiuridae | *Trichiurus lepturus* | 763 | 1,91 |
| Stromateidae | *Peprilus paru* | 48 | 0,12 |
| Paralichthyidae | *Citharichthys dinoceros* | 1 | 0,00 |
| Paralichthyidae | *Citharichthys macrops* | 1 | 0,00 |
| Paralichthyidae | *Citharichthys spilopterus* | 6 | 0,02 |
| Paralichthyidae | *Etropus crossotus* | 13 | 0,03 |
| Paralichthyidae | *Etropus longimanus* | 1 | 0,00 |
| Achiridae | *Achirus declives* | 4 | 0,01 |
| Achiridae | *Achirus lineatus* | 188 | 0,47 |
| Achiridae | *Catathyridium garmini* | 1 | 0,00 |
| Achiridae | *Trinectes paulistanus* | 126 | 0,32 |
| Cynoglossidae | *Symphurus jenynsi* | 1 | 0,00 |
| Cynoglossidae | *Symphurus tesselatus* | 59 | 0,15 |
| Cynoglossidae | *Symphurus trewavasae* | 3 | 0,01 |
| Monacanthidae | *Monacanthus ciliathus* | 1 | 0,00 |
| Monacanthidae | *Stephanoleps hispidus* | 2 | 0,01 |
| Tetraodontidae | *Lagocephalus laevigatus* | 71 | 0,18 |
| Tetraodontidae | *Sphoeroides greeleyi* | 7 | 0,02 |
| Tetraodontidae | *Sphoeroides spengleri* | 1 | 0,00 |
| Tetraodontidae | *Sphoeroides testudineus* | 45 | 0,11 |
| Diodontidae | *Cyclichthys spinosus* | 14 | 0,04 |

.

Tabela 14. Lista das espécies de peixes capturadas no canal de Bertioga, o número de exemplares (N) e respectivas porcentagens de abundância (%). As famílias estão em ordem filogenética de acordo com Menezes et al. (2003).

| Família | Espécies | N | % |
|---|---|---|---|
| Engraulidae | *Anchoa januaria* | 1 | 0,07 |
| Engraulidae | *Anchoviella lepidentostole* | 22 | 1,50 |
| Engraulidae | *Centegraulis edentulus* | 11 | 0,75 |
| Engraulidae | *Lycengraulis grossidens* | 5 | 0,34 |
| Pristigasteridae | *Pellona harroweri* | 29 | 1,98 |
| Clupeidae | *Harengula clupeola* | 21 | 1,43 |
| Clupeidae | *Opisthonema oglinum* | 10 | 0,68 |
| Ariidae | *Aspistor luniscutis* | 64 | 4,36 |
| Ariidae | *Cathorops spixii* | 245 | 16,70 |
| Ariidae | *Genidens barbus* | 27 | 1,84 |
| Ariidae | *Genidens genidens* | 172 | 11,72 |
| Synodontidae | *Synodon foetens* | 1 | 0,07 |
| Triglidae | *Prionotus punctatus* | 20 | 1,36 |
| Centropomidae | *Centropomus parallelus* | 3 | 0,20 |
| Serranidae | *Diplectrum radiale* | 5 | 0,34 |
| Serranidae | *Rypticus sp* | 1 | 0,07 |
| Carangidae | *Chloroscombrus chrysurus* | 100 | 6,82 |
| Carangidae | *Selene vomer* | 4 | 0,27 |
| Gerreidae | *Diapterus olisthostomus* | 1 | 0,07 |
| Gerreidae | *Diapterus rhombeus* | 1 | 0,07 |
| Gerreidae | *Eucinostomus gula* | 1 | 0,07 |
| Gerreidae | *Fistularia tabacaria* | 1 | 0,07 |
| Haemulidae | *Pomadasys corvinaeformis* | 32 | 2,18 |
| Sciaenidae | *Bairdiella ronchus* | 29 | 1,98 |
| Sciaenidae | *Isopisthus parvipinnis* | 3 | 0,20 |
| Sciaenidae | *Larimus breviceps* | 1 | 0,07 |
| Sciaenidae | *Menticirrhus americanus* | 22 | 1,50 |
| Sciaenidae | *Micropogonias furnieri* | 76 | 5,18 |
| Sciaenidae | *Ophioscion punctatissimus* | 1 | 0,07 |
| Sciaenidae | *Paralonchurus brasiliensis* | 1 | 0,07 |
| Sciaenidae | *Stellifer rastrifer* | 227 | 15,47 |
| Sciaenidae | *Stellifer stelifer* | 52 | 3,54 |
| Ephippidae | *Chaetodipterus faber* | 28 | 1,91 |
| Trichiuridae | *Trichiurus lepturus* | 119 | 8,11 |
| Paralichthyidae | *Citharichthys spilopterus* | 30 | 2,04 |
| Paralichthyidae | *Etropus crossotus* | 33 | 2,25 |
| Achiridae | *Achirus lineatus* | 1 | 0,07 |
| Cynoglossidae | *Symphurus tesselatus* | 9 | 0,61 |
| Monacanthidae | *Stephanolepis hispidus* | 1 | 0,07 |
| Tetraodontidae | *Lagocephalus laevigatus* | 27 | 1,84 |
| Tetraodontidae | *Lagocephalus lagocephalus* | 8 | 0,55 |
| Tetraodontidae | *Sphoeroides greeleyi* | 14 | 0,95 |
| Tetraodontidae | *Sphoeroides spengleri* | 1 | 0,07 |
| Tetraodontidae | *Sphoeroides testudineus* | 3 | 0,20 |
| Tetraodontidae | *Sphoeroides tyleri* | 1 | 0,07 |
| Diodontidae | *Cyclichthys spinosus* | 3 | 0,20 |

A ocorrência das espécies por época de coleta estão apresentadas na tabela 15 e 16.

Tabela 15. Ocorrência mensal das espécies capturadas e identificadas ao longo do período de estudo, na baía de Santos.

| Espécie | nov/04 | jan/05 | fev/05 | mar/05 | abr/05 | mai/05 | jun/05 | jul/05 | ago/05 | set/05 | out/05 | nov/05 | dez/05 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Stellifer rastrifer* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Pellona harroweri* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Cathorops spixii* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Isopisthus parvipinnis* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Stellifer brasiliensis* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Paralonchurus brasiliensis* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Macrodon ancylodon* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Trichiurus lepturus* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Stellifer stelifer* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Nebris microps* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Chloroscombrus chrysurus* | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | |
| *Micropogonias furnieri* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Stellifer sp* | X | | | X | X | | X | X | X | X | X | X | |
| *Achirus lineatus* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Trinectes paulistanus* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Larimus breviceps* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | | X |
| *Selene setapinnis* | X | X | X | X | X | X | | X | | | | X | X |
| *Anchoa filifera* | X | X | | X | | | | | | | | | |
| *Aspistor luniscutis* | X | X | X | X | X | | | X | X | | | | |
| *Cynoscion virescens* | X | X | | | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Lagocephalus laevigatus* | X | X | | | | | X | X | X | X | X | X | X |
| *Bagre bagre* | | | | | X | X | X | X | X | | X | | |
| *Menticirrhus americanus* | X | X | X | X | X | X | X | | X | | | | X |
| *Genidens barbus* | | X | X | X | X | | | X | | X | | X | X |
| *Conodon nobilis* | X | X | X | X | X | | X | X | X | | X | X | |
| *Symphurus tesselatus* | X | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| *Peprilus paru* | X | X | X | | X | | X | X | X | X | X | X | X |
| *Bairdiella ronchus* | X | X | | X | | | | | | | | | |
| *Sphoeroides testudineus* | X | X | X | X | | | | X | X | X | X | X | X |
| *Cynoscion jamaicencis* | X | X | X | X | X | | | X | | X | | | |
| *Selene vomer* | X | X | X | | | X | X | X | | | X | | X |
| *Chaetodipterus faber* | X | | X | X | | X | | X | | X | | X | |
| *Centropomus parallelus* | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | |
| *Anchoviella lepidentostole* | X | | | X | | | | X | X | | X | X | X |
| *Porichthys porosissimus* | X | | | | | | | X | | X | | X | X |
| *Rypticus randalli* | X | | X | X | | X | | | | | | | |
| *Cyclichthys spinosus* | X | | X | X | | X | | | | | | | |
| *Diapterus rhombeus* | | X | | | X | | | | | | X | X | X |
| *Genidens genidens* | | X | X | X | X | | | | | X | | | |
| *Eucinostomus gula* | X | X | | X | | | | | | | | X | X |
| *Prionotus punctatus* | | X | X | | | | | X | X | | X | | |
| *Etropus crossotus* | | X | X | X | | | | X | | | | X | |
| *Anchoa januaria* | | | | | | | X | | X | | | | X |
| *Anchoa marinii* | | | | | | | | | X | | | | |
| *Harengula clupeola* | X | X | X | X | | | | | | | X | X | |
| *Diplectrum radiale* | X | | X | X | | X | | | | | | | |
| *Anchoa spinifera* | | | | | | | X | | | | X | | |
| *Cynoscion sp.* | X | | | | | | | | | | | | |

| Espécie | nov/04 | jan/05 | fev/05 | mar/05 | abr/05 | mai/05 | jun/05 | jul/05 | ago/05 | set/05 | out/05 | nov/05 | dez/05 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Genyatremus luteus* | | | | | | | | | | X | | | |
| *Lycengraulis grossidens* | | | | X | X | | | | | | X | | |
| *Sphoeroides greeleyi* | | X | X | | | | X | X | | | | | |
| *Hemicaranx amblyrhynchus* | | | | X | X | | | | X | X | | | |
| *Citharichthys spilopterus* | | | X | | | | | | | | | X | |
| *Eucinostomus argenteus* | | X | | X | | | | | | | | | |
| *Oligloplites saliens* | | | | X | | | | | | | | X | |
| *Potamarius grandoculis* | | | | X | | | | | | | | | |
| *Ophioscion punctatissimus* | | X | | | | | | | | | | | |
| *Opisthonema oglinum* | | | | | | | | | X | | | | |
| *Umbrina canosai* | | | X | X | | | | | | | | | |
| *Chirocentrodon bleekerianus* | | X | | X | | | X | X | | | | | |
| *Notarius grandicassis* | | X | | | | | | | | | | | |
| *Ophichthus gomesii* | X | | | | | | | | | | X | | |
| *Achirus declives* | | | | X | | | | | X | | | | |
| *Ctenosciaena gracilicirrhus* | X | X | | | | | | | | | | | |
| *Cynoscion leiarchus* | | X | | | | | | | | | | | |
| *Eucinostomus melanopterus* | | X | | | | | | | | | | X | |
| *Orthopristis ruber* | X | X | | | | | | | | X | | | X |
| *Pomadasys corvinaeformis* | X | | | | | | | | | X | | | |
| *Symphurus trewavasae* | | X | | | | | | | | | | | |
| *Synodus foetens* | X | | X | | | | | | | | | | |
| *Umbrina coroides* | | | | X | | | | | | | | | |
| *Diapterus olisthostomus* | | X | | | | | | | | | | | |
| *Menticirrhus littoralis* | | X | | | X | | | | | | | | |
| *Polydactylus oligodon* | | | | X | | | | | | | | | |
| *Rhinobatos percellens* | | X | | | X | | | | | | | | |
| *Stephanoleps hispidus* | | | | | | | | | | | | X | |
| *Trachinotus carolinus* | | X | | X | | | | | | | | | |
| *Anchoa tricolor* | X | | | | | | | | | | | | |
| *Anchovia clupeoides* | | | | | | | | | | | X | | |
| *Anchoviella brevirostris* | | | | | | | | | X | | | | |
| *Bellator brachychir* | X | | | | | | | | | | | | |
| *Citharichthys dinoceros* | | X | | | | | | | | | | | |
| *Citharichthys macrops* | | | | X | | | | | | | | | |
| *Etropus longimanus* | | X | | | | | | | | | | | |
| *Monacanthus ciliathus* | | | | | | | | | | | | X | |
| *Ogcocephalus vespertilio* | | | | | | | | | | | | | X |
| *Platanichthys platana* | X | | | | | | | | | | | | |
| *Polydactylus virginicius* | | | | X | | | | | | | | | |
| *Prionotus nudigula* | | | | X | | | | | | | | | |
| *Rypticus sp* | | | | | | | X | | | | | | |
| *Scorpaena brasiliensis* | | X | | | | | | | | | | | |
| *Sphoeroides spengleri* | X | | | | | | | | | | | | |
| *Symphurus jenynsi* | | X | | | | | | | | | | | |
| *Urophycis brasiliensis* | | | | | | | | | | | | X | |
| *Catathyridium garmini* | | | | | | | | | X | | | | |

Tabela 16. Ocorrência mensal das espécies capturadas e identificadas ao longo do período de estudo, no canal de Bertioga.

| Espécie | set/05 | out/05 | nov/05 | dez/05 |
|---|---|---|---|---|
| *Cathorops spixii* | X | X | X | X |
| *Stellifer rastrifer* | X | X | X | X |
| *Genidens genidens* | X | X | X | X |
| *Trichiurus lepturus* | | X | X | X |
| *Chloroscombrus chrysurus* | X | X | X | X |
| *Achirus lineatus* | X | X | X | X |
| *Micropogonias furnieri* | X | X | X | X |
| *Aspistor luniscutis* | X | X | X | X |
| *Stellifer stelifer* | X | X | X | X |
| *Etropus crossotus* | X | X | X | X |
| *Pomadasys corvinaeformis* | X | X | X | X |
| *Citharichthys spilopterus* | X | X | X | X |
| *Bairdiella ronchus* | X | X | X | X |
| *Pellona harroweri* | X | X | X | X |
| *Chaetodipterus faber* | X | X | X | X |
| *Genidens barbus* | X | X | X | X |
| *Lagocephalus laevigatus* | X | X | X | X |
| *Anchoviella lepidentostole* | X | X | X | X |
| *Menticirrhus americanus* | | X | X | X |
| *Harengula clupeola* | X | X | X | |
| *Prionotus punctatus* | X | X | X | X |
| *Sphoeroides greeleyi* | X | X | X | X |
| *Centegraulis edentulus* | | | X | X |
| *Opisthonema oglinum* | | X | | |
| *Symphurus tesselatus* | X | X | X | X |
| *Lagocephalus lagocephalus* | | | | X |
| *Diplectrum radiale* | X | X | X | X |
| *Lycengraulis grossidens* | | | X | X |
| *Selene vomer* | X | | | X |
| *Centropomus parallelus* | X | | X | |
| *Cyclichthys spinosus* | X | X | X | |
| *Isopisthus parvipinnis* | X | | X | |
| *Sphoeroides testudineus* | | X | X | X |
| *Centropomus undecimalis* | X | | | X |
| *Achirus declives* | X | | | |
| *Anchoa januaria* | X | | | |
| *Diapterus olisthostomus* | | X | | |
| *Diapterus rhombeus* | | X | | |
| *Eucinostomus gula* | | | | X |
| *Fistularia tabacaria* | | | | X |
| *Larimus breviceps* | | X | | |
| *Mugil curvidens* | | | X | |
| *Ophioscion punctatissimus* | | | | X |
| *Paralonchurus brasiliensis* | | | X | |
| *Rypticus sp* | X | | | |
| *Sphoeroides spengleri* | | | | X |
| *Sphoeroides tyleri* | | X | | |
| *Stephanolepis hispidus* | | | | X |
| *Synodon foetens* | | | | X |
| *Trinectes paulistanus* | | X | | |

Os resultados referentes às medidas de diversidade estão na tabela 5. Em relação à distribuição mensal, observa-se nos primeiros meses do ano de 2005 um maior número de espécies e de Índice de Riqueza em relação ao restante dos meses, com exceção de novembro de 2004, que também apresentou índices altos. O Índice de Riqueza foi o índice que apresentou as maiores variações, enquanto que os outros índices apresentaram pequenas variações ao longo do ano.

Tabela 17. Índices ecológicos para o total da captura por mês na baía de Santos e no canal de Bertioga. Sendo S = número de espécies; Ni = número de indivíduos; Índices: R = Riqueza de Margalef; J = Equitabilidade de Pielou; H ´= Diversidade de Shanon; λ = Dominância.

| Local | Mês | N Espécies | N indivíduos | Índice de Equitividade de Pielou (J) | Índice de Diverdidade de Shanon (H') | λ-Lambda |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | nov/04 | 47 | 2146 | 0,4901 | 1,887 | 0,6865 |
| | jan/05 | 53 | 2185 | 0,472 | 1,874 | 0,6965 |
| | fev/05 | 38 | 1663 | 0,557 | 2,026 | 0,7768 |
| | mar/05 | 50 | 3261 | 0,567 | 2,218 | 0,8067 |
| | abr/05 | 33 | 6244 | 0,3402 | 1,19 | 0,4555 |
| | mai/05 | 26 | 4917 | 0,4626 | 1,507 | 0,5972 |
| | jun/05 | 30 | 3309 | 0,4014 | 1,365 | 0,5431 |
| | jul/05 | 36 | 4575 | 0,3564 | 1,277 | 0,4933 |
| | ago/05 | 36 | 2507 | 0,5546 | 1,987 | 0,77 |
| | set/05 | 31 | 957 | 0,6233 | 2,14 | 0,793 |
| | out/05 | 34 | 2881 | 0,4906 | 1,73 | 0,7077 |
| | nov/05 | 37 | 3012 | 0,5344 | 1,93 | 0,7772 |
| Baía de Santos | dez/05 | 30 | 2287 | 0,5302 | 1,803 | 0,7337 |
| | set/05 | 30 | 238 | 0,8319 | 2,83 | 0,9255 |
| | out/05 | 32 | 651 | 0,623 | 2,159 | 0,8049 |
| | nov/05 | 32 | 380 | 0,7599 | 2,634 | 0,8737 |
| Canal de Bertioga | dez/05 | 35 | 284 | 0,7989 | 2,84 | 0,9054 |

As curvas *ABC* mostraram uma mesma tendência para todas as estações oceanográficas, em que a curva de abundância supera a de biomassa (W<0). As curvas da estação 6 mostraram um padrão mais diferenciado, com a curva da abundância mais separada que as demais (Fig. 43). As curvas apresentadas pela estação 2 mostraram-se muito próximas.

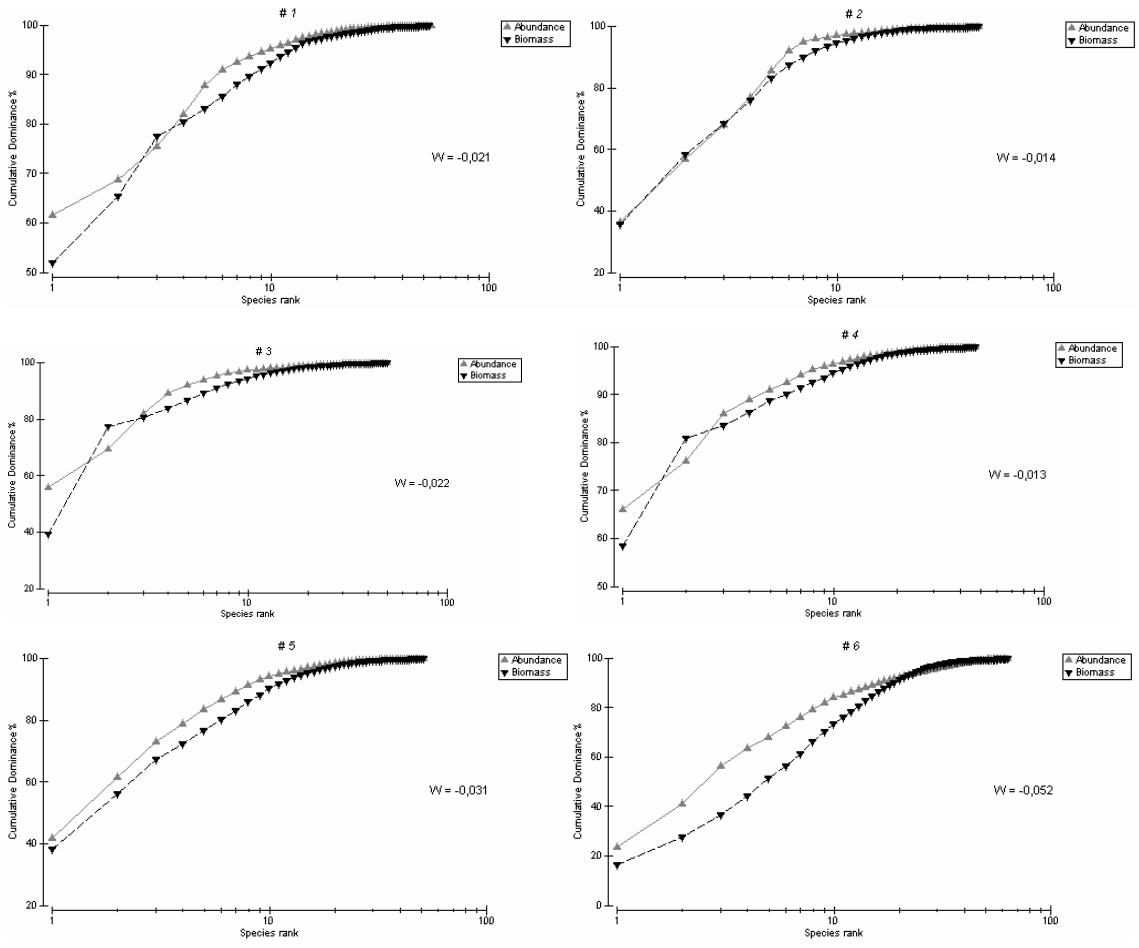
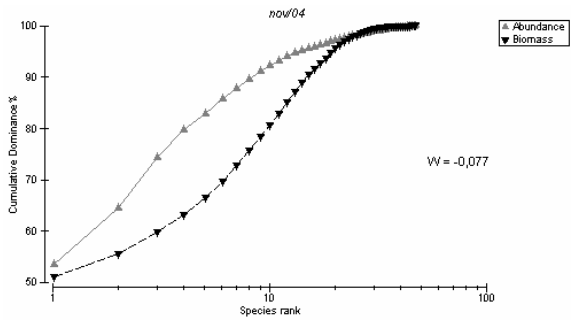
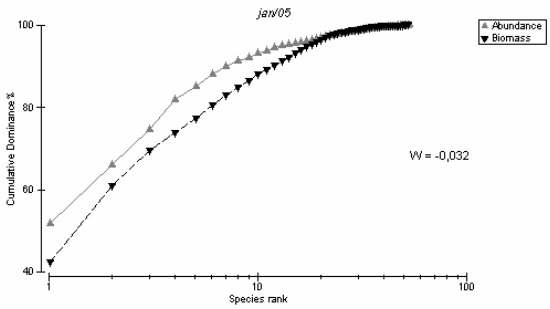


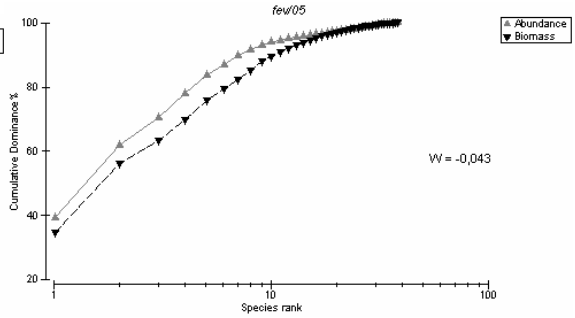

Figura 43. Curvas de dominância cumulativa por espécies ordenada (*ABC*) por local, segundo dados de abundância e biomassa da ictiofauna da baía de Santos. # = número da estação e W = Índice *ABC*.

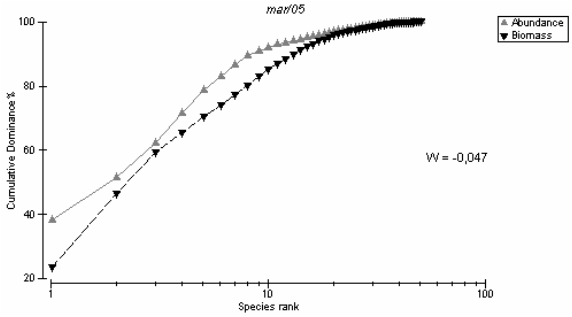
Ao se analisar as curvas ao longo do ano, também foi observado que as curvas de abundância superam as curvas de biomassa (W<0), porém, um pouco mais pronunciadas do que as curvas cumulativas por local. As maiores diferenças entre as curvas, ocorreram em novembro de 2004, junho e outubro de 2005. O mês de agosto apresentou a única exceção, em que para o *rank* mais baixo das espécies a curva de biomassa superou a de abundância (Fig.44).

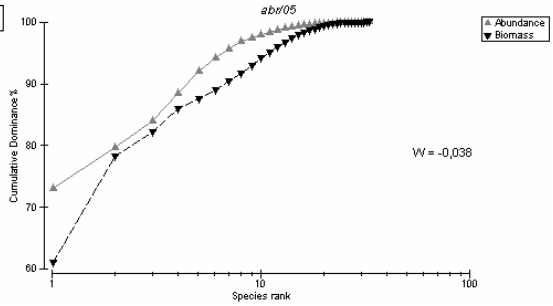
Não foram estimados os índices *ABC* para o canal de Bertioga, uma vez que o número de meses com coletas para o canal de Bertioga foi restrito a quatro.

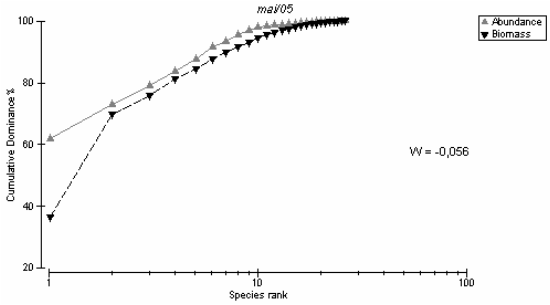

now/04
Abundance
Biomass
W = -0,077
Cumulative Dominance %
Species rank

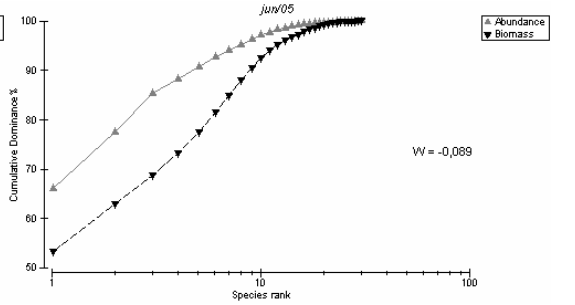

jan/05
Abundance
Biomass
W = -0,032
Cumulative Dominance %
Species rank

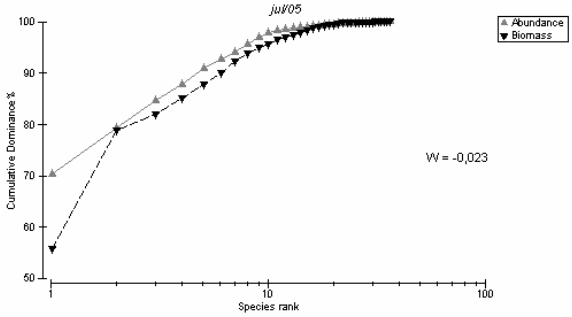

fev/05
Abundance
Biomass
W = -0,043
Cumulative Dominance %
Species rank

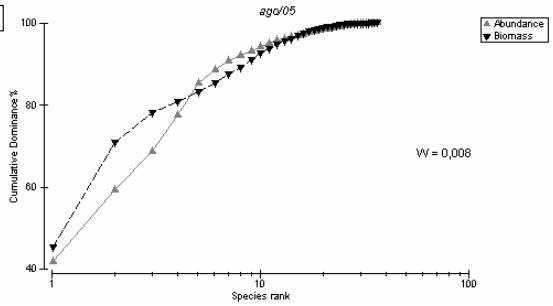

mar/05
Abundance
Biomass
W = -0,047
Cumulative Dominance %
Species rank


abr/05
Abundance
Biomass
W = -0,038
Cumulative Dominance %
Species rank


mai/05
Abundance
Biomass
W = -0,056
Cumulative Dominance %
Species rank


jun/05
Abundance
Biomass
W = -0,089
Cumulative Dominance %
Species rank


jul/05
Abundance
Biomass
W = -0,023
Cumulative Dominance %
Species rank


ago/05
Abundance
Biomass
W = 0,008
Cumulative Dominance %
Species rank

Cont.

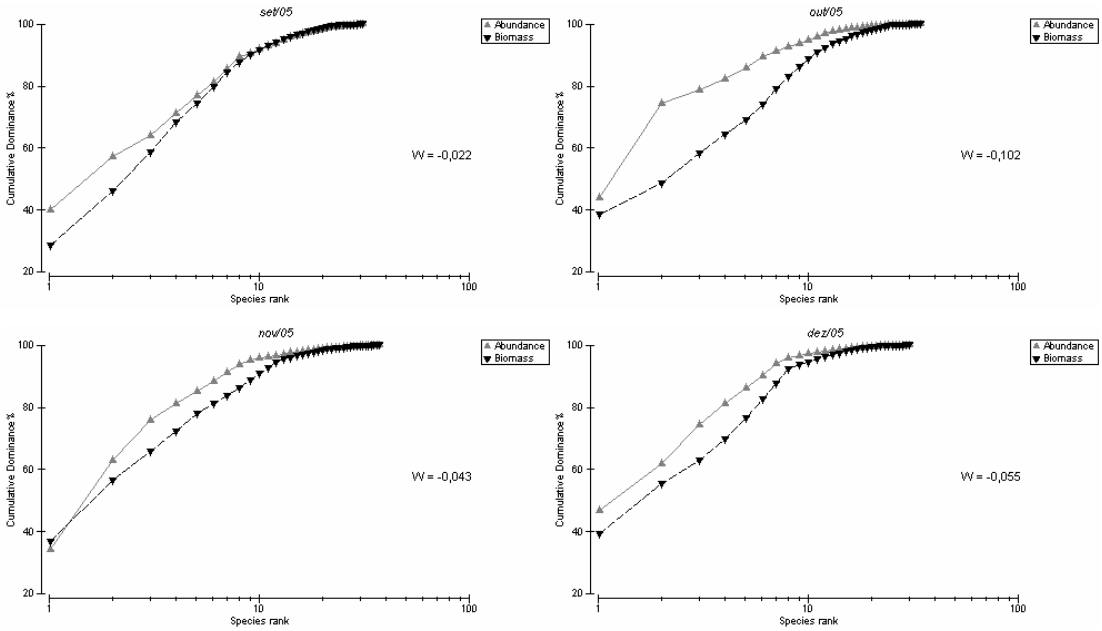



Figura 44. Curvas de dominância cumulativa por espécies ordenadas (*ABC*) por mês, segundo dados de abundância e biomassa da ictiofauna da baía de Santos. # = número da estação e W = Índice *ABC*.

## Discussão

De maneira geral, a composição e a ocorrência das famílias e das espécies mais abundantes na baía de Santos e no canal de Bertioga são similares a outros ambientes (estuários, baías) não margeados por manguezais, em que Sciaenidae é a família dominante. A ictiofauna típica de regiões estuarinas ou de baías influenciadas por estuários é caracterizada por um número reduzido de espécies dominantes, muito abundantes (Haedruch, 1983). Regiões em que o impacto ambiental é menor, como a de Cananéia, por exemplo, oito espécies compõem aproximadamente 80 % do total de espécies capturadas (Peres-Rios, 2001), enquanto em Santos apenas cinco espécies somam pouco mais que 80 %.

Embora as espécies não sejam as mesmas, fatores abióticos, como a variação da salinidade condiciona padrões de ocupação da ictiofauna que compartilha estratégias comuns (Kennish, 1990; Barleta *et al*., 2005). Porém, a representatividade das populações das espécies, principalmente das pelágicas, é apenas relativa, devido à seletividade e forma de operação das artes de pesca.

Utilizando-se a classificação adaptada por Bernardes (1996) sobre os componentes da comunidade e sua freqüência de ocorrência, nota-se que a ictiofauna de Santos apresenta espécies permanentes, acessórias e ocasionais. Por outro lado, algumas parecem ser nitidamente sazonais, como é o caso de *A. lineatus*, para o primeiro semestre do ano e *Stellifer sp.* para o segundo.

Apesar de os índices univariados aplicados parecerem simples na sua concepção e leitura, eles envolvem um grande e importante volume de dados. O último levantamento mais completo realizado na região da baía de Santos, em nível de comunidade, data da década de 1980, realizado por Ribeiro Neto (1989). Assim, esses resultados em forma de índices e listas de espécie permitem algumas considerações acerca de mudanças ocorridas nos últimos vinte anos na comunidade de peixes, especialmente na baía de Santos.

Os resultados de Ribeiro Neto (1989) mostraram que as principais espécies na área da baía foram os cienídeos, sendo *Stellifer rastrifer* o de maior ocorrência. Dessa maneira, *S. rastrifer* e *Pellona harroweri* em segundo lugar, permanecem como as espécies mais abundantes da baía de Santos, mesmo após um intervalo de 20 anos. Os outros cienídeos amostrados por Ribeiro-Neto (1989) foram um pouco menos expressivos em termos de abundância, em relação ao presente trabalho, como *Micropogônias furnieri* que foi descrita como a terceira espécie mais abundante. Entretanto, o ariídeo *Cathorops spixii* (espécie *k*-estrategista) que foi a sétima espécie mais abundante em 1989, no presente estudo ela foi a terceira espécie mais importante. Outra diferença foi quanto ao número de espécies dominantes: em 1989, sete espécies compuseram 75-80% do total de captura, sendo que em 2005 foram apenas 4 espécies.

Foi verificado, também, um decréscimo na abundância e tamanho dos predadores maiores como o robalo-flexa, robalo-peba, moréias, raias, barracudas e corvina, sendo que essa última foi a terceira espécie mais abundante no levantamento de 1989. Vale lembrar que o declínio da qualidade do ambiente é sugerido como sendo uma causa provável da diminuição da presença dos peixes carnívoros (Araújo, 2003).

A tabela 18 sumariza as diferenças entre a estrutura da comunidade da baía de Santos na década de 1980 e deste estudo.

Tabela 18. Valores de alguns atributos obtidos para a baía de Santos, a partir dos resultados deste trabalho e de Ribeiro Neto (1989) *.

| **Atributos** | **1985-1986*** | **2004-2005** |
|---|---|---|
| % táxons pelágicos | mais alta | mais baixa |
| elamobrânquios | 2 espécies | 1 espécie |
| moréias | 1 espécie | 0 espécies |
| N espécies/famílias | 92/37 | 95/29 |
| *Stellifer rastrifer* – N- CPUE | 1° lugar | 1° lugar |
| *Pellona harroweri* – N-CPUE | 2° lugar | 2° lugar |
| *Cathorops spixii* – N - CPUE | 7° lugar | 3° lugar |
| 75-80 % | 7 espécies | 4 espécies |

Assim, a riqueza persiste, mas a estrutura da comunidade está ainda mais simples e dominada por poucos táxons. Além disso, a variação mensal na riqueza de espécies pode ter sido influenciada pelo maior número de juvenis, como também apontado por Ribeiro Neto (1989), caracterizando recrutamento. Por outro lado, na ictiofauna da baía de Santos a importância do bagre-amarelo como estruturador da ictiofauna local cresceu, apesar de ser esta uma espécie *k*-estrategista, com taxa de crescimento baixa, cuidado com a prole, fecundidade também baixa.

Os índices de diversidade são utilizados para o estudo da estrutura da comunidade, mas também refletem as condições ambientais, desde que eles representam a combinação entre abundância relativa e riqueza, os quais são indicativos do estado da comunidade (Melo, 2008). Como a comunidade é dependente da integridade do ambiente, na maioria dos índices, os valores aumentam de acordo com a qualidade deste (Whitfield & Elliott, 2002; Elliott & Quintino, 2007).

Com relação aos índices ecológicos, tanto a riqueza como a diversidade foram mais altas em novembro de 2004, janeiro e março de 2005 na baía de Santos; no canal, a riqueza foi mais elevada em dezembro de 2005 e a diversidade em novembro de 2005.

Dessa maneira, observa-se que, passados 20 anos, houve um decréscimo de predadores, perda de importância de cienídeos de pequeno porte na região e uma espécie *k*-estrategista toma importante posição de abundância. Entretanto, como apontado por Dias (2008), não é prudente relacionar essas mudanças com o declínio da qualidade ambiental, sem que certas ressalvas sejam feitas: o aumento da importância dos bagres pode estar relacionado com sua maior capacitação competitiva, bem como com seus mecanismos fisiológicos de resistência, ou ainda com uma real melhora ambiental. Também há de se considerar os efeitos da pesca artesanal que atua fortemente na região da baía de Santos e que podem acarretar falhas no recrutamento de cienídeos de pequeno porte (Paiva-Filho & Schmiegelow, 1986).

Segundo Warwick (1986), considerações teóricas sugerem que a distribuição de número de indivíduos entre as espécies deve se comportar diferentemente da distribuição de biomassa entre as espécies quando influenciadas por distúrbios induzidos pela poluição. Em ambientes não poluídos, a biomassa será aumentada pela dominância de uma ou poucas espécies de grande porte, cada uma representada por poucos indivíduos; os dominantes numericamente, no entanto, são espécies de pequeno porte. Sob tais circunstâncias, a distribuição do número dos indivíduos entre as espécies será mais equitativa do que a distribuição de biomassa, esta última mostrando forte dominância. As abundâncias e biomassas teóricas para um ambiente não poluído têm a curva de biomassa acima da curva de abundância em toda a sua extensão. As curvas *ABC* obtidas no presente trabalho mostraram uma tendência ao longo dos meses e entre as estações oceanográficas da curva de abundância acima da curva de biomassa, embora não em toda sua extensão. Esse resultado pode ser reflexo da grande dominância numérica de *S. rastrifer*, porém, sem a dominância de espécies de grande porte, as quais tiveram a presença diminuída (Dias, 2008).

Sob poluição moderada, as espécies dominantes de grande porte são eliminadas e a desigualdade entre os dominantes em termos de número e de biomassa é reduzida, assim, não é esperada diferença entre a curva de biomassa e de abundância, tornando-as próximas e que podem se cruzar algumas vezes. Esse padrão foi o mais observado nas curvas *ABC* na

comunidade da baía de Santos, principalmente entre as estações oceanográficas.

Ainda segundo Warwick (1986), em ambientes severamente poluídos, as comunidades são cada vez mais dominadas por um ou algumas espécies de pequeno porte e algumas espécies de maior porte também estão presentes, embora esses contribuam proporcionalmente mais para a biomassa total. As curvas apresentam, então, curva de abundância acima da de biomassa em toda sua extensão.

As curvas *ABC* podem ser interpretadas considerando-se as estratégias *r-k* de ciclo de vida das espécies (Gonçalves & Braga, 2008). Em ambientes relativamente estáveis, a curva de biomassa aparece acima da de abundância, indicando presença de espécies com estratégia do tipo *k*, de maior porte e ciclos de vida mais longos. Tais espécies seriam poucas, mas dominantes no ambiente. Embora os resultados para a baía de Santos revelem curvas de abundância acima das de biomassa, a subida do bagre-amarelo do sétimo para o terceiro lugar em abundância pode revelar que a baía tende à estabilidade ambiental.

Guardadas as diferenças sazonais, de aporte de águas interiores e variações de penetração e influência de massas de água da plataforma continental ou simplesmente de temperaturas, o padrão geral indica diferenciação da ictiofauna que pode estar associada à diminuição dos distúrbios de grande e média escala. A ocorrência, abundância e dominância das espécies se modificaram e, comparando-se às dominantes das de áreas com menor grau de impacto (Maciel, 2001; Spach *et al*., 2007; Falcão *et al*., 2008;)

Embora os modelos teóricos sejam atrativos para explicar a complexa estrutura e função das comunidades, algumas variáveis têm que ser consideradas, como por exemplo, a relação biomassa/abundância pode ser influenciada pela ocorrência de juvenis na região de estudo (Jung, 2001 *apud* Otero, *et al*., 2006). Otero, *et al*. (2006) e Falcão, *et al*. (2008) utilizaram as curvas *ABC* para avaliar a comunidade de peixes das baías de Antonina e Paranaguá, e das planícies de maré do complexo estuarino de Paranaguá, no Paraná, sendo que os autores consideraram que a metodologia sozinha não é suficiente para um diagnóstico, mas é promissora quando analisada com outros

indicadores ecológicos.

Os indicadores ecológicos analisados não resolveram a questão da avaliação da comunidade de peixes, mostrando-se insuficientes para um diagnóstico, embora tenham refletido o esperado para a região. Cabe destacar que ambas as regiões são moderadamente impactadas, desde que efetivamente a baía de Santos e o canal de Bertioga recebem aportes pontuais de contaminantes (CETESB, 2001), mas ao mesmo tempo apresentam tipo de fundo e hidrodinâmica propícias para a dispersão dos contaminantes.

Referências

ARAUJO, F. G.; FICHBERG, I.; TEIXEIRA, B. C.; PEIXOTO, M. G. A preliminary index of biotic integrity for monitoring condition of the rio Paraíba do Sul, Southeast Brazil. **Environ. Manage.**, v. 32, n. 4, p. 516-526, 2003.

BAPTISTA, D.F. Uso de Macroinvertebrados em Procedimentos de Biomonitoramento em Ecossistemas Aquáticos. **Oecol. Bras.**, v.12, n.3, p. 425 – 441. 2008.

BARLETTA, M.; BARLETTA-BERGAN, A.; SAINT-PAUL, U.; HUBOLD, G. The role of salinity in structuring the fish assemblages in a tropical estuary. **J. Fish Biol.**, v. 66, p. 45-72, 2005.

BERNARDES, R.A. Estrutura e dinâmica da ictiofauna do Saco de Mamanguá (Paraty - RJ). 1996. 145f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1996.

BERVOETS, L.; KNAEPKENS, G.; EENS, M.; BLUST, R. Fish community responses to metal pollution. **Environ. Pollut**., v. 138, p. 338-349. 2005.

BROWER, J.E.; ZAR, J.H.; VON ENDE, C.N. **Field and laboratory methods for general ecology**. 3rd ed. Dubuque, McGraw-Hill, 1990. 237p.

COATES, S.; WAUGH, A.; ANWAR, A.; ROBSON, M. Efficacy of a multimetric fish index as an analysis tool for the transitional fish component of the Water Framework Directive. **Mar. Pollut. Bull.,** v. 55, p. 225–240. 2007.

DEEGAN, L.A.; FINN, J.T.; AYVAZIAN, S.G.; RYDER-KIEFFER, C.A.; BUONACCORSI, J. Development and validation of an estuarine biotic

integrity index. **Estuar.**, v.20, n.3, p. 601-617.

DIAS, J. F. **Ictiofauna da baixada santista**: baía de Santos, canal de Bertioga e plataforma continental interna. In: PIRES VANIN, A. M. S. Projeto ECOSAN: A influência do complexo estuarino da Baixada Santista sobre o ecossistema da plataforma adjacente. São Paulo: IO – USP. 2008. p. 524 – 578. (Relatório IV - FAPESP, processo N 03/09932-1).

ELLIOT, M.; QUINTINO, V. The estuarine quality paradox, environmental homeostasis and the difficulty of detecting anthropogenic stress in naturally stressed areas. **Mar. Pollut. Bull.,** v. 54, p. 640–645. 2007.

FALCÃO, M. G.; SPACH, H. L.; GODEFROID, R. S.; OTERO, M. E. B.; PICHLER, H. A. ; FELIX, F. C.; ARAUJO, K. C. B. de . A ictiofauna como indicador de qualidade ambiental em planícies de maré do complexo estuarino de Paranaguá, Brasil. **Cadernos da Escola de Saúde da UniBrasil**, v. 1, p. 1-16, 2008.

FERREIRA, C.P.; CASANTTI, L. Integridade biótica de um córrigo na bacia do alto rio Paraná avaliada por meio da qualidade de peixes. **Biota Neotrópica**, v.6, n.3, 2006.

GONÇALVES, C. S.; BRAGA, F. M. S . Diversidade e ocorrência de peixes na área de influência da UHE Mogi Guaçu e lagoas marginais, bacia do alto Rio Paraná, São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 8, p. 103-114, 2008.

HAEDRICH, R. L. Estuarine Fishes. In: KETCHUM, B. H. (Ed.). **Estuaries and Enclosed Seas**. Elsevier Publishing Company (Ecosystems of the World, 26), 1983. p. *183- 207*.

HUGHES, J.E.; DEEGAN, L.A.; WYDA, J.C.; WEAVER, M.J.; WRIGHT, A. The effects of eelgrass habitat loss on estuarine fish communities of southern New England. **Estuaries**, v.25, n. 2, p. 235-249. 2002.

JARAMILLO-VILLA, U.; CARAMASCHI, E.P. índices de integridade biótica usando peixes de água doce: uso na região tropical e subtropical. **Oecol. Brás**., v. 12, n. 3, p. 442-462. 2008.

KARR, J. R. Assessment of biotic integrity using fish communities. **Fisheries***,* v. 6, n. 6, p. 21-27. 1981.

KENNISH, M.J. **Ecology of estuaries.** Boca Raton, CRC Press,1990. 391p.

MACIEL, N. A. L. **Composição, abundância e distribuição espaço-temporal da ictiofauna do complexo estuarino-lagunar de Iguape-Cananéia -**

**São Paulo-Brasil.** 2001. 252f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2001.

MELO, A.S. & HEPP, L.U. Ferramentas estatísticas para análise de dados provenientes de biomonitoramento. **Oecol. Brás**., v. 12, n, 3, p. 463-486. 2008.

ODUM, E.P. 1983. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Edt. Guanabara, 1983. 434p.

OLIVEIRA, R.B.S.; CASTRO, C.M.; BAPTISTA, D.F. Desenvolvimento de índices multimétricos para utilização em programas de monitoramento biológico da integridade de ecossistemas aquátiocos. **Oecol. Brás**., v.12, n.3, p. 487-505. 2008.

OTERO, M. E. B.; SPACH, H. L.; PICHLER, H. A.; QUEIROZ, G. M. L. N. de; SANTOS, C.; SILVA, A. L. C. da. O uso de atributos das assembléias de peixes para avaliar a integridade biótica em hábitats rasos das baías de Antonina e Paranaguá, Paraná. **Acta Biol. Par.**, v. 35, p. 69-82, 2006.

PAIVA-FILHO, A.M.; SCHMIEGELOW J.M.M. Estudo sobre a ictiofauna acompanhante da pesca do camarão sete barbas (Xiphopenaeus kroyeri) nas proximidades da Baía de Santos - SP. I. Aspectos quantitativos. **Bol. Inst. oceanogr. S Paulo**, v. 34, p. 79-85, 1986.

PERES-RIOS, E. Papel do estuário no ciclo de vida das espécies dominantes da ictiofauna do complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape. 2001. 128f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2001.

PONT, D.; HUGUENY, B.; BEIER, U.; GOFFAUX, D.; MELCHER, A.; NOBLE, R.; ROGERS, C.; ROSET, N.; SCHMUTZ, S. Assessing river biotic condition at the continental scale: a European approach using functional metrics and fish assemblages. **J. Appl. Ecol.,** v. 43, p. 70-80. 2006.

PUENTE A., DIAZ R.J. Is it possible to assess the ecological status of highly stressed natural estuarine environments using macroinvertebrates indices? **Mar. Pollut. Bull.,** v. 56, p.1880–1889. 2008.

RIBEIRO NETO, F.B. 1989. Estudo da comunidade de peixes da baía de Santos, SP. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, São Paulo.

SCHREIBER A.M. Schreiber, Metamorphosis and early larval development of

the flatfishes (Pleuronectiformes): an osmoregulatory perspective, **Comp. Biochem. Physiol**. 129B , pp. 587–595, 2001

SPACH, H. L.; QUEIROZ, G. M. L. N. de; SOBOLEWSKI, M.; SCHWARZ JUNIOR, R. A ictiofauna demersal de áreas com diferentes níveis de ocupação humana, no estuário de Paranaguá. **Arq. Ciên. Mar**, v. 40, p. 80-91, 2007.

U.S.EPA (US Environmental Protection Agency). **Guidence for assessing chemical contaminant data for use in fish advisories.** 2000. Vol. 2: Risk assessment and fish consumption limits. Third edition. World Wide Web eletronic. Disponível em: http⁄⁄www.epa.gov

WARWICK, R.M. A new method for detecting pollution effects on marine macrebenthic communities. **Mar. Biol**., n.92, p. 557-562. 1986.

WHITFIELD, A.K.; ELLIOTT, M. Fishes as indicators of environmental end ecological changes within estuaries: a review of progress and some suggestions for the future. **J. Fish Biol**., n. 61, p. 229-250. 2002.

# CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir das hipóteses levantadas neste trabalho, foi verificado que a espécie *A. lineatus* é apropriada para o uso em programas de biomonitoramento, porque refletiu processos de contaminação, ao se detectar contaminantes em seus tecidos, mesmo quando análises químicas não indicaram suas presenças no ambiente. Foi evidenciada a importância de se conhecer previamente o ciclo de vida da espécie a ser monitorada, desde que áreas com diferentes níveis de contaminação podem ser integradas pelo modelo utilizado no estudo, como foi observado com *A. lineatus* que, devido à sua movimentação dentro do sistema estuarino de Santos-São Vicente, teve um papel de agente biológico de transferência e dispersão de contaminantes. Quanto à ictiofauna, os índices de avaliação aplicados não diagnosticaram a condição da comunidade de peixes da área de estudo, porém não está descartada a sua aplicação aliada a outros indicadores ecológicos. Dessa forma, concluiu-se que:

- *A. lineatus* completa seu ciclo de vida dentro do sistema estuarino de Santos - São Vicente;

- A vizinhança da boca do canal de Santos na baía de Santos foi considerada como área de desova da espécie, no verão e no outono, com indícios de desova também no fim da primavera;

- O registro da ocorrência de larvas de *Achirus lineatus* nas áreas mais internas do estuário indica que a espécie se distribui mais amplamente do que o representado nas áreas de coleta com os adultos;

- Essas constatações em conjunto confirmam a hipótese de trabalho que *A. lineatus* se movimenta entre *habitas* com diferentes níveis de contaminação;

- A metodologia para a avaliação das lesões proposta por Bernet *et al.* (1999), de padronização das análises, pôde ser adaptada para o presente

estudo e permitiu uma comparação entre os locais de coleta, que por sua vez, refletiram os níveis de contaminação do ambiente;

- A estação oceanográfica 8, no canal de Bertioga, foi o local mais contaminado, segundo o nível de incidência de lesões no fígado, provavelmente em função da presença de efluentes de esgoto próximos ao rio Itapanhaú;

- Houve poucas diferenças significativas de incidências de lesões entre jovens e adultos, principalmente pelo fato de lesões características de populações mais velhas, como as neoplasias, não terem sido detectadas nas populações amostradas;

- A análise histopatológica do fígado de *A. lineatus* indicou que a maioria das lesões não foi severa, porém, indicou um alto grau de hemossiderose que significa excesso de ferro no organismo, podendo causar insuficiência desse órgão;

- Não foi verificada a presença de intersexo nas gônadas de *A. lineatus* e a alta ocorrência de atresia e centros de melano-macrófagos nos meses de março e maio sugere que esses achados estão relacionados ao período de desova da espécie;

- A estação 5, na baía de Santos, mostrou-se atípica: menor índice de lesão do fígado, alta ocorrência nula de atresia, porém, ocorrência severa de parasito Microsporídeo e centros de melano-macrófagos tanto no fígado como na gônada. Esses resultados indicam uma deficiência imunológica maior dos indivíduos coletados na área do efluente do emissário submarino em relação aos outros locais de coleta;

- As amostras da estação 8, no canal de Bertioga, apresentaram índice de lesão do órgão incompatível com os dados de contaminação da região indicados como baixos, revelando que ou *A. lineatus* sofre exposição de

contaminantes em outro local, ou a área está mais poluída do que mostram as análises químicas;

- De acordo com os resultados obtidos neste estudo, o método *PIXE* mostrou-se eficiente para a avaliação dos níveis de concentração de metais em tecido biológico;

- Foram observadas diferenças entre a baía de Santos e o canal de Bertioga quanto à natureza e nível de contaminação, embora não tenha havido uma correlação com os níveis de contaminação do sedimento para a maioria dos metais analisados, com exceção do chumbo e zinco;

- Não houve um padrão claro de assimilação diferencial dos metais entre exemplares jovens e adultos de *A. lineatus* e

- Os índices univariados não foram suficientes para avaliar a higidez da comunidade de peixes da baia de Santos e do canal de Bertioga. É sugerido que outros índices sejam aplicados em conjunto e novas métricas sejam consideradas.