LEONARDO SHINTIO KUNIYOSHI

**Bioacumulação de elementos-traço e expressão de
micronúcleos em *Cathorops spixii* (biomonitor) como
ferramentas de avaliação da influência antrópica em dois
setores do complexo estuarino-lagunar de Cananéia-
Iguape, São Paulo, Brasil**

(Versão corrigida)

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

**Orientadora: Prof^a Dr^a Elisabete de
Santis Braga da Graça Saraiva**

**SÃO PAULO
2011**

Universidade de São Paulo
Instituto Oceanográfico

Bioacumulação de elementos-traço e expressão de micronúcleos em
Cathorops spixii (biomonitor) como ferramentas de avaliação da influência
antrópica em dois setores do complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape,
São Paulo, Brasil

Leonardo Shintio Kuniyoshi

Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São
Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em
Ciências, Programa de Oceanografia Química e Geológica.

Julgada em 12 / 09 / 2011 por

Prof^a Dr^a Elisabete de Santis Braga da Graça Saraiva

Conceito

Prof. Dr. Vicente Gomes

Conceito

Prof. Dr. Pio Colepicolo Neto

Conceito

*À minha querida avó, Reiko Nakashima Kurauti
(in memoriam)*

Agradecimentos

À Prof^a Dr^a Elisabete de Santis Braga da Graça Saraiva, pela confiança depositada, pelo apoio e orientação neste trabalho, por todos os conhecimentos transmitidos, por todas as experiências e oportunidades vividas no LABNUT. Muito obrigado!

À minha família, por todo apoio e companheirismo em todas as etapas da minha vida, sobretudo nesta que se conclui.

À minha querida Tatá, por ser essa pessoa maravilhosa, que sempre me apoiou e incentivou para a conclusão deste trabalho e, com certeza estará presente em todas as outras etapas da vida que estão por vir. Te amo gatona!

Agradeço à Equipe LABNUT (professora, Cadu, João, Vitor, Esther, Samara, Lívia, Ricardo, e todos os estagiários) por toda ajuda: nas coletas, maceração, estatísticas, pelos ótimos momentos de convívio, de novelas chilenas...

Ao Sérgio Teixeira de Castro, chefe do Museu Oceanográfico do IO-USP, por ceder o espaço do museu para a realização dos trabalhos de biometria e obtenção das amostras de músculos.

À Dr^a Deborah Inês Teixeira Fávaro, pelo acolhimento no Laboratório de Ativação Neutrônica do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (LAN-IPEN), pela supervisão na realização das análises dos elementos traços, pelos conhecimentos analíticos transmitidos e pela atenção dada sempre que solicitada.

À Dr^a Marília Gabriela Miranda Catharino Semmler e ao Dr Edson Moreira, do IPEN, pela ajuda com as análises por Espectrometria de Absorção Atômica.

Ao Prof. Dr. Vicente Gomes, por ceder o uso do equipamento para o registro fotográfico das células.

Ao pessoal da biblioteca, sempre muito solícitos, em especial ao Wagner Pinheiro, que auxiliou na formatação das referências bibliográficas.

À tripulação do B/Pq Albacora – Mestre Sérgio, Evandro (Nhonhô) e Ulisses – pela ajuda durante as coletas.

Aos amigos, pelos bons momentos de descontração...

Ao CNPq e aos projetos VAGRA e INCT-TMCOcean, pelo financiamento do projeto.

À CAPES, pela bolsa concedida.

Ao IBAMA, por permitir o uso do alojamento localizado na cidade de Iguape para a realização das coletas.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
ÍNDICE DE TABELAS.....	vii
Resumo.....	ix
Abstract.....	x
I. INTRODUÇÃO.....	1
1. Elementos traço no ambiente estuarino.....	1
1.1. Chumbo (Pb).....	4
1.2. Arsênio (As).....	5
1.3. Cromo (Cr).....	5
1.4. Mercúrio (Hg).....	6
1.5. Cádmio (Cd).....	7
1.6. Zinco (Zn).....	8
1.7. Cobalto (Co).....	8
2. Elementos-traço em organismos.....	9
3. Toxicidade dos elementos traço nos processos fisiológicos.....	10
4. Biomonitorios de contaminação por elementos traço.....	11
4.1. <i>Cathorops spixii</i>	12
5. Biomarcadores de contaminação ambiental.....	15
5.1. Teste do micronúcleo.....	16
II. OBJETIVOS.....	18
1. Objetivo Geral.....	18
2. Objetivos específicos.....	18
III. ÁREA DE ESTUDO.....	19
1. O Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape.....	19
2. Histórico do Canal do Valo Grande.....	21
3. O Complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape e o biomonitor <i>C. spixii</i>	23
IV. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
1. Parâmetros hidrológicos.....	25
1.1. Maré.....	26
1.2. Transparência da água.....	27
1.3. Temperatura da água.....	27
1.4. Salinidade.....	27
1.5. Potencial Hidrogeniônico.....	28
1.6. Oxigênio Dissolvido.....	28

1.7. Silicato dissolvido.....	28
1.8. Material particulado em suspensão.....	28
2. Parâmetros Bióticos – <i>C. spixii</i>	29
2.1. Amostragem.....	29
2.2. Identificação e processamento dos peixes em laboratório.....	30
2.3. Biometria – Comprimento Total e Peso Total.....	30
2.4. Retirada, verificação da porcentagem de umidade e homogeneização das amostras de músculos.....	31
2.5. Determinação dos elementos traço no músculo de <i>C. spixii</i>	33
2.5.1. Análise por ativação com nêutrons instrumental – AANI para determinação de As, Cr, Co e Zn.....	33
2.5.1.1. Procedimento experimental.....	36
2.5.1.1.1. Análise de materiais de referência certificados.....	36
2.5.1.1.2. Pesagem das amostras e materiais de referência certificados para análise.....	36
2.5.1.1.3. Irradiação e decaimento das atividades.....	37
2.5.1.1.4. Tratamento dos dados da AANI.....	37
2.5.2. Determinação por espectrometria de absorção atômica.....	38
2.5.2.1. Determinação de Pb e Cd por Espectrometria de Absorção Atômica com atomização em forno de grafite para determinação de Pb e Cd.....	40
2.5.2.1.1. Soluções utilizadas para as construções das curvas de calibração.....	41
2.5.2.2. Determinação de Hg por Espectrometria de Absorção Atômica com geração de vapor frio.....	42
2.5.2.2.1. Soluções utilizadas no equipamento.....	43
2.5.2.2.2. Soluções utilizadas para a construção da curva de calibração.....	43
2.5.2.3. Procedimento experimental para determinação dos elementos traço por Espectrometria de Absorção Atômica.....	44
2.5.2.3.1. Materiais de referência certificados.....	44
2.5.2.3.2. Pesagem das amostras e materiais de referência certificados para análise.....	45
2.5.2.3.3. Digestão das amostras e materiais de referência certificados.....	45
2.6. Observação de micronúcleo em eritrócitos de <i>C. spixii</i>	45
V. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
1. Dados hidrológicos.....	48
1.1. Maré.....	48
1.2. Condições da água.....	49
2. Parâmetros bióticos.....	56
2.1. Dados biométricos gerais.....	56
2.2. Elementos-traço em músculo de <i>C. spixii</i>	58
2.2.1. Chumbo (Pb).....	59
2.2.2. Mercúrio (Hg).....	69
2.2.3. Cádmio (Cd).....	75
2.2.4. Arsênio (As).....	80

2.2.5. Cromo (Cr).....	86
2.2.6. Zinco (Zn).....	90
2.2.7. Cobalto (Co).....	95
2.3. Micronúcleos nos eritrócitos de <i>C. spixii</i>	99
2.4. Discussão integrada.....	104
VI. CONCLUSÕES.....	109
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagem de um indivíduo da espécie <i>Cathorops spixii</i>	13
Figura 2. Esquema de formação de células normais (à esquerda) e com micronúcleo (à direita) (Al-Sabti & Metcalfe, 1995).....	16
Figura 3. a) Complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape; b) Cananéia; c) Iguape.	20
Figura 4. Local onde a água trazida pelo Valo Grande deságua no Mar Pequeno.	22
Figura 5. B/Pq. Albacora.	25
Figura 6. Locais em que foram realizadas as coletas de <i>C. spixii</i>	26
Figura 7. Garrafas do tipo: a) Nansen; b) van Dorn.....	26
Figura 8. Disco de Secchi.....	27
Figura 9. Termômetros de reversão protegidos, em destaque, na garrafa de Nansen.	27
Figura 10. Rede de arrasto utilizada na coleta.	29
Figura 11. Caixa em que os peixes foram acondicionados logo após a captura.	30
Figura 12. Exemplar de <i>C. spixii</i> em ictiômetro.	30
Figura 13. Retirada de sangue a bordo.	46
Figura 14. Lâminas contendo as extensões sanguíneas secando ao ar livre.	46
Figura 15. Curva de maré no dia 10/02/2009, em Cananéia.....	48
Figura 16. Curva de Maré no dia 12/02/2009, em Iguape.	48
Figura 17. Curva de maré no dia 20/08/2009, em Cananéia.....	48
Figura 18. Curva de maré no dia 21/08/2009, em Iguape.	49
Figura 19. Temperatura média das águas próximas aos locais de coleta dos peixes.	50
Figura 20. Salinidade média próxima aos locais de coleta de peixes.....	51
Figura 21. Valores médios de CT e PT dos bagres utilizados neste estudo. ..	57
Figura 22. Valores de comprimento total de <i>C. spixii</i> em cada período de coleta apresentado com recurso do <i>boxplot</i> . Números entre parênteses representam a quantidade de peixes.....	58
Figura 23. Porcentagem de indivíduos analisados que apresentaram concentrações de chumbo menor que o limite de detecção do método adotado no trabalho ($0,011 \mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido).	59
Figura 24. Concentração de Pb no músculo dos indivíduos da espécie <i>C. spixii</i> , coletados em cada local e época do ano, apresentados em <i>boxplot</i> . Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.....	62
Figura 25. Concentração de Pb no músculo de <i>C. spixii</i> coletados na região de Cananéia.	63
Figura 26. Relação entre o Comprimento Total e a concentração de Pb no músculo de <i>C. spixii</i>	64

Figura 27. Relação entre Peso Total (PT) e concentração de Pb no músculo de <i>C. spixii</i> .	64
Figura 28. Medianas das concentrações de Pb no músculo de <i>C. spixii</i> e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.	65
Figura 29. Medianas das concentrações de Hg no músculo de <i>C. spixii</i> e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.	71
Figura 30. Concentração de Hg no músculo dos indivíduos da espécie <i>C. spixii</i> , coletados em cada local e época do ano, apresentados em <i>boxplot</i> . Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.	72
Figura 31. Relação entre Comprimento Total (CT) e Concentração de Hg no músculo de <i>C. spixii</i> .	73
Figura 32. Relação entre Peso Total (PT) e Concentração de Hg no músculo <i>C. spixii</i> .	73
Figura 33. Concentrações de Hg no músculo de <i>C. spixii</i> coletados na região do Mar de Cananéia.	75
Figura 34. Concentração de Cd no músculo dos indivíduos da espécie <i>C. spixii</i> , coletados em cada local e época do ano, apresentados em <i>boxplot</i> . Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.	77
Figura 35. Medianas das concentrações de Cd no músculo de <i>C. spixii</i> e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.	77
Figura 36. Relação entre o Comprimento Total (CT) e a concentração de Cd no músculo de <i>C. spixii</i> .	78
Figura 37. Relação entre o Peso Total (PT) e a concentração de Cd no músculo de <i>C. spixii</i> .	78
Figura 38. Concentração de Cd no músculo de <i>C. spixii</i> coletados na região de Cananéia.	79
Figura 39. Concentração de As total no músculo dos indivíduos da espécie <i>C. spixii</i> , coletados em cada local e época do ano, apresentados em <i>boxplot</i> . Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.	82
Figura 40. Medianas das concentrações de As total no músculo de <i>C. spixii</i> e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.	82
Figura 41. Concentração de As no músculo de <i>C. spixii</i> coletados na região de Cananéia.	84
Figura 42. Concentração de Cr no músculo dos indivíduos da espécie <i>C. spixii</i> , coletados em cada local e época do ano, apresentados em <i>boxplot</i> . Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.	87

Figura 43. Medianas das concentrações de Cr no músculo de <i>C. spixii</i> e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.	88
Figura 44. Relação entre o Comprimento Total (CT) e a concentração de Cr no músculo de <i>C. spixii</i>	89
Figura 45. Relação entre o Peso Total (PT) e a concentração de Cr no músculo de <i>C. spixii</i>	90
Figura 46. Concentração de Zn no músculo dos indivíduos da espécie <i>C. spixii</i> , coletados em cada local e época do ano, apresentados em <i>boxplot</i> . Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.....	92
Figura 47. Medianas das concentrações de Zn no músculo de <i>C. spixii</i> e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.	92
Figura 48. Concentração de Zn no músculo de <i>C. spixii</i> coletados na região de Cananéia.	93
Figura 49. Relação entre o Comprimento Total (CT) e a concentração de Zn no músculo de <i>C. spixii</i>	94
Figura 50. Relação entre o Peso Total (PT) e a concentração de Zn no músculo de <i>C. spixii</i>	94
Figura 51. Concentração de Co no músculo dos indivíduos da espécie <i>C. spixii</i> , coletados em cada local e época do ano, apresentados em <i>boxplot</i> . Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.....	96
Figura 52. Medianas das concentrações de Co no músculo de <i>C. spixii</i> e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.	97
Figura 53. Concentração de Co no músculo de <i>C. spixii</i> coletados na região de Cananéia.	98
Figura 54. Relação entre o Comprimento Total (CT) e a concentração de Co no músculo de <i>C. spixii</i>	98
Figura 55. Relação entre o Peso Total (PT) e a concentração de Co no músculo de <i>C. spixii</i>	99
Figura 56. Células sanguíneas de <i>C. spixii</i> observadas no presente estudo:	100
Figura 57. Frequências médias de micronúcleos nos eritrócitos de <i>C. spixii</i> . Números entre parênteses representam a quantidade de bagres que tiveram seus respectivos sangues analisados.....	100
Figura 58. Tratamento MDS considerando todos os parâmetros analisados no estudo em Cananéia e em Iguape, no verão e inverno de 2009.	106
Figura 59. Dendrograma mostrando o agrupamento entre as regiões em estudo, em ambos os períodos.....	107

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Valores dos materiais de referência certificados <i>Peach Leaves</i> SRM 1547 (NIST) e Dorm-2 (NRCC), e dos valores obtidos pela técnica de Análise por Ativação Neutrônica para os elementos os elementos As, Co, Cr, Zn.....	36
Tabela 2. Valores dos materiais de referência certificados <i>Mussel Tissue</i> (NIST 2976) e Dorm-2 (NRCC), e dos valores obtidos pela técnica de Espectrometria de Absorção Atômica para os elementos os elementos Pb, Hg e Cd.....	44
Tabela 3. Dados hidrológicos e hidroquímicos obtidos em pontos próximos aos locais de coleta dos peixes.	49
Tabela 4. Dados biométricos de todos os peixes (<i>C. spixii</i>) analisados neste estudo.	56
Tabela 5. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de Pb em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro sendo N = quantidade de bagres analisados; LD = 0,011 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido).....	60
Tabela 6. Concentrações de Pb no músculo obtidos por diverso autores em diverso locais do mundo (* valor em peso úmido).	68
Tabela 7. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de Hg em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro sendo N = quantidade de bagres analisados; LD = 1,0 ng g^{-1} (peso úmido).....	69
Tabela 8. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de Cd em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro sendo N = quantidade de bagres analisados; LD = 1,0 ng g^{-1} (peso úmido).....	76
Tabela 9. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de As em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro sendo: N = quantidade de bagres analisados. Valores em negrito indicam que estão acima do limite (1,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido) tolerado em peixes pela ANVISA (1998).	81
Tabela 10. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de Cr em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro sendo: N = quantidade de bagres analisados; LD = 0,012 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco). Valores em negrito indicam que estão acima do limite tolerado em peixes (0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido) pelo Ministério da Saúde (1977).	86
Tabela 11. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de Zn em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro (N = quantidade de bagres analisados).	90

Tabela 12. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de Co em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro sendo: N = quantidade de bagres analisados.	96
Tabela 13. Matriz de correlação de Pearson ($p < 0,05$) dos dados de 5m de profundidade dos parâmetros ambientais e dados bióticos médios de Cananéia-Iguape considerando os períodos de verão e inverno 2009....	104

Resumo

Este trabalho teve como objetivo estudar a bioconcentração de elementos-traço no músculo e a presença de micronúcleos nos eritrócitos de *Cathorops spixii*, coletados no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape, nos setores norte e sul, no verão e inverno de 2009, verificando a influência sazonal e antrópica em cada área. As análises dos elementos traços foram realizadas por Ativação Neutrônica e Espectrometria de Absorção Atômica. Em geral, os peixes apresentaram níveis seguros para consumo humano, exceto para o As, sobretudo nos peixes capturados em Cananéia. Recomenda-se a revisão dos índices de As em relação aos produtos marinhos e mais estudos da relação entre salinidade e bioacumulação deste elemento. Pb e Hg apresentaram maiores concentrações nos peixes de Iguape, independentemente da época do ano, enquanto que As e Cr foram mais elevados em Cananéia. As variações sazonais, nas duas regiões, mostraram que o Hg, Cd e Co apresentaram maiores concentrações no verão, enquanto que o As e o Cr foram maiores no inverno. A expressão de micronúcleo foi baixa, sendo ligeiramente maior na região norte, local mais exposto aos contaminantes devido ao aporte de água do Rio Ribeira de Iguape por meio do canal do Valo Grande, que trás consigo resíduos dos municípios localizados no vale do Ribeira. *C. spixii* mostrou ser um bom biomonitor ambiental, com potencial para integrar programas de monitoramento em ambientes costeiros e estuarinos em nível nacional.

Palavras-chave: *Cathorops spixii*, complexo estuarino-lagunar de Cananéia Iguape, elementos-traço; metais pesados; micronúcleo; biomonitoramento.

Bioaccumulation of trace elements and micronuclei expression in *Cathorops spixii* (biomonitor) as assessment tools of the anthropic influences in two sectors of the Estuarine-Lagoon Complex of Cananéia-Iguape, São Paulo, Brazil.

Abstract

The aim of this work was study the bioaccumulation of trace elements in the muscle and the presence of micronuclei in the erythrocytes of *Cathorops spixii*, collected in the Cananéia-Iguape Estuarine-Lagoon Complex, in the sectors north and south, in the summer and winter of 2009, in order to verify the anthropogenic and seasonal influences in each area. Trace elements were analyzed by Neutronic Activation and Atomic Absorption Spectrometry techniques. In general, the fishes had levels safe for human consumption, except for As, especially in fish caught in Cananéia. It is recommended the review of the legislation besides the study of the relationship between salinity and bioaccumulation of this element. Pb and Hg showed higher concentrations in the fishes from Iguape, regardless of the season, while As and Cr were higher in those captured in Cananéia. Seasonal variations in both regions showed higher concentrations of Hg, Cd and Co in the summer, while As and Cr were higher in the winter. The expression micronuclei was low, being slightly higher in the northern region, the most exposed to the contaminants due to the inflow of water from Ribeira de Iguape River, through the Valo Grande Channel, which brings with it waste of municipalities located in the Ribeira Valley. *C. spixii* proved to be a good environmental biomonitor with potential to integrate monitoring programs in coastal and estuarine environments at the national level.

Keywords: *Cathorops spixii*; Cananéia-Iguape Estuarine-Lagoon Complex; trace elements; heavy metals; micronucleus; biomonitoring

I. INTRODUÇÃO

1. Elementos-traço no ambiente estuarino

Os sistemas costeiros e estuarinos do mundo todo constituem o destino final para uma infinidade de substâncias geradas por atividades humanas que acabam sendo despejadas no ambiente, de maneira intencional e acidental (Kennish, 1997).

Os elementos-traço, os quais incluem os metais traço, estão presentes naturalmente na água em menos de 0,01% da concentração de sais (Niencheski *et al.*, 2008). Eles estão entre os poluentes que têm recebido grande atenção em estudos de contaminação de ambientes estuarinos e marinhos (Azevedo *et al.*, 2009; Maluf, 2009; Coelho *et al.*, 2010).

Os elementos-traço presentes em ambientes costeiros apresentam ciclos biogeoquímicos complexos envolvendo vários compartimentos abióticos e bióticos. Quando em águas naturais, eles estão envolvidos em diversos processos que alteram sua forma físico-química ou sua distribuição espaço-temporal nos quatro principais compartimentos abióticos: material em suspensão, sedimentos, águas superficiais e águas intersticiais / subterrâneas (Niencheski *et al.*, 2008). Os metais-traço podem assumir as seguintes formas químicas em seu caminho até os oceanos: a) em solução, tanto na forma de íons inorgânicos como na forma de complexos orgânicos ou inorgânicos; b) adsorvidos em superfícies; c) sob a forma de partículas orgânicas sólidas; d) recobrendo partículas de detritos após co-precipitação com óxidos de ferro e manganês; e) incrustados no material cristalino detrítico e; f) precipitados como fases puras, possivelmente como partículas de detritos. Dentre as formas de metais existentes no ambiente marinho (dissolvida, coloidal e particulada), as concentrações das formas dissolvidas são baixas.

A alta reatividade dos elementos-traço faz com que eles sejam rapidamente adsorvidos em material particulado em suspensão ao entrar em águas de rios ou de estuários. Essa interação é mais intensa na zona de máxima turbidez reativa, onde ocorre maior interação entre as partículas em suspensão (Kennish, 1997).

Os metais-traço apresentam diferentes níveis de toxicidade e abundância, sendo que, alguns atuam como micronutrientes essenciais aos organismos, quando em quantidades traço, como o cobalto (Co), ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu) e manganês (Mn), no entanto, quando em quantidades excessivas podem causar danos aos organismos. E também existem aqueles elementos que podem causar danos aos seres vivos, mesmo em baixas concentrações, como é o caso do mercúrio (Hg), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e o arsênio (As) (Furness & Rainbow, 1990).

A atenção sobre os problemas ocasionados por contaminação via metais pesados tomou novo rumo após o acidente de Minamata, entre 1953 e 1975, onde ocorreram centenas de mortes e doenças em função da contaminação da Baía de Minamata por mercúrio. As mortes e doenças afetaram, sobretudo, pescadores e suas famílias, cujo hábito de consumir peixe é tradicional (Braga, 2002).

A principal característica que distingue os metais de outros poluentes é o fato de eles não serem biodegradáveis e passam por um ciclo ecológico global, sendo a água o principal caminho deste ciclo (Niencheski *et al.*, 2008). Quando são incorporados ao ambiente, o potencial tóxico dos elementos-traço é controlado por suas formas físico-químicas (Kennish, 1997; Barra *et al.*, 2000; Peshut *et al.*, 2008).

Na água do mar, a toxicidade dos elementos-traço se deve a atividade iônica do elemento, que é influenciada por fatores físico-químicos. De maneira geral, a toxicidade é elevada em condições de baixa salinidade e alta temperatura, que agem sinergeticamente aumentando a mortalidade. O potencial redox também influencia a toxicidade do elemento, particularmente em sedimentos. Condições anóxicas são freqüentemente acompanhadas por elevados níveis de metais em áreas poluídas (Furness & Rainbow, 1990). A combinação de vários fatores físico-químicos, ou entre poluentes e fatores físico-químicos, ou ainda entre diversos poluentes, podem causar a potencialização ou amenização dos efeitos tóxicos (Braga, 2002).

Devido à alta afinidade ao material particulado, os metais tendem a se acumular nos sedimentos de fundo dos estuários e em sistemas costeiros rasos. Assim, os organismos bentônicos de regiões contaminadas estão expostos a altas concentrações de elementos traço. Diversos organismos

estuarinos acumulam elementos-traço provenientes da água, do sedimento, da água intersticial, ou do alimento. (Barra, *et al.*, 2000; Kennish, 1997).

A concentração dos metais-traço nos tecidos dos organismos depende de sua biodisponibilidade, ou seja, da especiação química em que os elementos se encontram e que os tornam assimiláveis pelos organismos. A biodisponibilidade integra características tanto de especificações químicas como do ambiente, além do comportamento e fisiologia do organismo (Ansari *et al.* 2004).

Depois de incorporados, o excesso de elementos-traço no organismo pode causar alterações na taxa de crescimento, no processo reprodutivo, provocar mutações celulares, modificações nos processos enzimáticos, alterações comportamentais e morte (Kennish, 1997; Heath, 1987). Esses efeitos podem influenciar a saúde e a sobrevivência dos indivíduos, da população e, finalmente, da comunidade (Furness & Rainbow, 1990). A idade e o tempo de exposição dos organismos podem ser fatores importantes para determinar o acúmulo de metais (Bryan, 1971).

Dessa forma, avaliando a concentração de um elemento-traço potencialmente tóxico nos tecidos de organismo é possível verificar o grau de exposição que o indivíduo está submetido no ambiente e, assim, contribuir com medidas de gestão e de segurança alimentar.

Dentre os diversos elementos-traço sujeitos à bioconcentração pela ictiofauna, os elementos Cr, Zn e Co são conhecidos por atuarem como micronutrientes em processos bioquímicos e com ação tóxica quando em concentrações que promovem danos e interferências bioquímicas negativas. Já os elementos As, Cd, Hg e Pb são conhecidos pela interferência bioquímica negativa em sistemas biológicos.

Os elementos-traço alvos deste estudo estão descritos a seguir.

1.1. Chumbo (Pb)

O chumbo é um metal que ocorre naturalmente na crosta terrestre em concentrações entre 15 a 20 mg de Pb por kg de crosta. Raramente é encontrado no estado elementar, sendo mais comum no estado oxidado (+2) em vários minérios pelo planeta (ATSDR, 2007a).

A *U.S. Food and Drugs Administration* (FDA) inclui o chumbo em sua lista de substâncias tóxicas e nocivas à saúde, Lista Prioritária de Substâncias Perigosas da CERCLA (*Comprehensive Environmental Response, Compensation and Liability Act*, apud ATSDR, 2007b), que considera este elemento como o segundo dentre 275 substâncias tóxicas.

A população, de um modo geral, está exposta a ingestão de alimento ou água contaminada. Também pode ocorrer exposição através da ingestão casual de poeira contaminada ou contato com tintas à base de chumbo. Os alvos mais sensíveis à toxicidade do chumbo são o sistema nervoso, o hematológico, o cardiovascular e os rins (Järup, 2003; ATSDR, 2007a).

A exposição humana ao chumbo é comum e resulta dos diversos usos deste metal e das suas propriedades excepcionais. O maior uso industrial de chumbo, hoje em dia, ocorre na produção de baterias usadas pela indústria automobilística. Também é utilizado na fabricação de ligas, materiais para solda, barreiras de proteção para equipamentos de raios-x, materiais resistentes a ácidos usados na construção civil (ATSDR, 2007a).

Estudos sugerem que o chumbo é um agente clastogênico, devido à indução de aberrações cromossômicas e micronúcleos em células sanguíneas periféricas (ATSDR, *op. cit.*).

1.2. Arsênio (As)

O Arsênio é um semi-metal que não exerce função de micronutriente, mas é facilmente assimilado pelos organismos marinhos e acaba sendo transformado em formas orgânicas que são bem menos tóxicas que as formas inorgânicas (Barra *et al.*, 2000). Este elemento é considerado como o mais perigoso dentre 275 substâncias tóxicas perigosas da CERCLA (ATSDR, 2007b).

O arsênio é liberado para o ar através de emanções vulcânicas e também pelo intemperismo das rochas contendo minerais com arsênio, e ainda, através dos processos industriais. Elevados níveis de arsênio podem estar presentes no solo, bem como, em depósitos minerais naturais, ou ainda em locais com contaminação oriunda das atividades humanas. A principal forma de exposição humana ao arsênio é através da alimentação e ingestão de água contaminada, mas também pode ocorrer exposição através da inalação de fumaça e poeira (Järup, 2003). Nos alimentos, os maiores níveis de arsênio são encontrados em organismos marinhos. A exposição de seres humanos a compostos inorgânicos de arsênio através da inalação pode conduzir ao câncer de pulmão, enquanto que a ingestão está relacionada ao câncer de pele, bexiga e fígado. A exposição ao pó ou fumaça contendo arsênio pode causar conjuntivite, hiperqueratose, hiperpigmentação, doenças cardiovasculares, distúrbios no sistema nervoso central e vascular periférico, gangrena nos membros, efeitos gastrointestinais, anemia, neuropatia periférica, além de problemas nos rins. (Barra *et al.*, 2000; Järup, 2003; ATSDR, 2005).

1.3. Cromo (Cr)

A toxicidade do cromo está relacionada ao seu estado oxidativo. Em geral, os compostos de cromo (VI) são mais tóxicos do que os compostos de cromo (III) (ATSDR, 2008).

O Cr^{+3} é um íon que apresenta uma relação com a tolerância à glicose, realçando o efeito da insulina. No entanto, sua função no organismo ainda não é inteiramente compreendida (Higdon *et al.*, 2007; ATSDR, 2008a). Sua toxicidade se deve à ligação covalente com as proteínas e ácidos nucleicos

(Furness & Rainbow, 1990). Em seres humanos, o excesso de cromo pode danificar o fígado, a circulação nos rins, os tecidos nervosos e causar irritação na pele (EPA, 2008).

Os teores de cromo nos peixes marinhos normalmente são menores do que $1 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido e, muitas vezes apresentam valores de concentrações próximos ao limite de detecção de muitos métodos analíticos (Furness & Rainbow, 1990). Entretanto, Murray & Portman (1984) *apud* Furness & Rainbow (1990) registraram elevados teores de cromo, entre 3,8 e $6,4 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido no linguado *Pleuronectes platessa* e no arenque *Clupea harengus*, ambos coletados no Mar da Irlanda. Em um estudo realizado no leste do mar Mediterrâneo, Hornung & Ramelow *apud* Furness & Rainbow (1990) encontraram elevadas concentrações de cromo, na ordem de $5,82 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco em músculo de *Saurida undosquamis*. Exemplares da ictiofauna de Cananéia e Santos estudados por Kuniyoshi *et al.* (2009) apresentaram importantes concentrações de cromo, sobretudo na região Santos.

1.4. Mercúrio (Hg)

O mercúrio ocorre naturalmente como mineral e está distribuído em todo ambiente. O elemento na forma inorgânica atinge o ambiente aéreo através dos resíduos formados a partir das atividades de mineração, industriais e queima de carvão. Já nos ambientes aquáticos e terrestres, este elemento entra através de depósitos naturais, disposição de resíduos e atividade vulcânica (ATSDR, 1999). Mexilhões e ostras coletados em estuários poluídos podem conter até $0,65 \text{ mg kg}^{-1}$ de mercúrio e ostras $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$. Na Baía de Minamata, o nível de mercúrio encontrado em moluscos atingiu de 11 a 40 mg kg^{-1} . Os peixes de locais poluídos, como por exemplo, o bacalhau do Mar Báltico, apresentam cerca de $1,3 \text{ mg kg}^{-1}$ de mercúrio enquanto em locais não poluídos apresentam valores em torno de $0,019 \text{ mg kg}^{-1}$ de mercúrio (Braga, 2002). No solo ou na água, bactérias podem sintetizar metilmercúrio, uma forma orgânica do mercúrio. Este composto orgânico também é formado em tecidos de peixes contaminados, de maneira que aqueles indivíduos maiores e mais velhos tendem a ter concentrações maiores deste elemento em seus

tecidos (ATSDR, 1999). Devido a sua periculosidade a EPA (*apud* ATSDR, *op. cit.*) considera o metimercúrio como uma substância carcinogênica ao homem.

Foi provado que o alquil e aril mercúrio impedem a mitose de alguns vegetais, bloqueando a metáfase e ocasionando mitoses incompletas. Mutações cromossômicas nos linfócitos de peixes também foram verificadas em peixes com alto teor de mercúrio no sangue. O efeito direto ocorre nas cromátides, existe o aparecimento de fragmentos extras e quase sempre aparecem cromossomos que não apresentam centrômeros (Braga 2002).

Em seres humanos, o sistema nervoso é muito sensível a todas as formas de mercúrio. A exposição a altas concentrações de mercúrio metálico, inorgânico ou orgânico podem danificar permanentemente o cérebro, os rins, e o desenvolvimento fetal. Os efeitos na função cerebral podem resultar em irritabilidade, tremores, mudanças na visão ou audição e problemas de memória (ATSDR, *op. cit.*). Estudos histopatológicos revelam uma atrofia do córtex cerebral e do cerebelo, além de icnose do pericárdio dos neurônios, sendo muito severa nas células de Purkinje (Braga 2002).

A bioconcentração de mercúrio em alimentos é, em geral, a fonte mais importante de exposição humana não ocupacional a este composto, juntamente com amalgamas dentários (ASTDR, 1999; Järup, 2003).

1.5. Cádmio (Cd)

O cádmio é um elemento natural encontrado na crosta terrestre e está geralmente combinado com outros elementos, como o oxigênio, cloro ou enxofre. É um elemento utilizado na fabricação de baterias, pigmentos, plásticos e revestimentos metálicos (Järup, 2003; ATSDR, 2008b).

O cádmio entra no solo, na água e no ar através de atividades de mineração, queima de carvão, esgotos industriais e domésticos. Existem formas de Cd dissolvidas na água que podem ser incorporadas por diversos tipos de organismos, entre eles os peixes (ATSDR, 2008b). Um estudo com ostras da região de Cananéia mostrou concentração média de Cd no bivalve de $0,11 \mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido (Machado *et al.*, 2002). Já em um trabalho com

peixes comercializados em mercados do Mar Norte entre 1987 e 1999 foi encontrado média de $0,037 \mu\text{g g}^{-1}$ de Cd em peso úmido.

O cádmio possui efeito tóxico em mamíferos, sendo acumulado principalmente nos ossos. Este metal tem uma poderosa ação como agente mutagênico. Estudando linfócitos humanos, foi observado que células expostas ao sulfeto de cádmio por 8 horas apresentaram 14% de quebra cromossômica, 3% de formação de cromossomos dicêntricos e 6% de translocação de fragmentos extras (Braga, 2002).

1.6. Zinco (Zn)

O zinco é um micronutriente constituinte de metaloproteínas, em particular as metaloenzimas, que são essenciais para diversos organismos uma vez que estão envolvidas em uma série de processos metabólicos fundamentais (Furness & Rainbow, 1990; Heath, 1987). A deficiência de zinco, em seres humanos, pode ter graves conseqüências que se refletem na diminuição da taxa de crescimento, imaturidade sexual, lesões na pele e queda do sistema imunológico (Ansari *et al.*, 2004). Por outro lado, o excesso deste metal pode causar diversos efeitos tóxicos, dependendo da sensibilidade e grau de exposição de uma espécie.

O zinco está normalmente presente no ambiente marinho no estágio oxidado, ocorrendo nas formas Zn^{+2} , $\text{Zn}(\text{OH})^+$, ZnCO_3 e ZnCl^+ (Kennish, 1986). As concentrações de zinco em peixes marinhos mostram-se maiores no fígado e no rim e, não parecem apresentar efeitos acumulativos, porém podem ter correlação positiva com os teores de cádmio (Furness & Rainbow, 1990). Este comportamento auxilia na detecção de casos de bioconcentração de cádmio, que por sua vez promove efeitos tóxicos importantes quando fora dos limites que mantém a integridade bioquímica de sistemas biológicos.

1.7. Cobalto (Co)

Assim como o zinco, o cobalto também é considerado um micronutriente essencial para mamíferos, pois o mesmo apresenta uma

importante função como componente da vitamina B12 (cianocobalamina). Essa vitamina é indispensável aos seres humanos para a proliferação dos glóbulos do sangue e para a manutenção da integridade das células nervosas, dessa forma, a sua deficiência pode causar anemia (Alves *et al.*, 2003). Além disso, o cobalto é um elemento essencial para o desenvolvimento de diversas espécies de algas (Nechev *et al.*, 2006).

No entanto, cobalto adquire um caráter potencialmente tóxico quando em excesso, sendo que seu limite de concentração para esta passagem de micronutriente para agente tóxico é extremamente baixa quando comparado ao de outros metais. Este elemento é classificado como possível causador de câncer em seres humanos pela *International Agency for Research on Cancer* (Beyersmann & Hartwig, 1992). Em humanos, a exposição a elevadas concentrações de cobalto pode causar danos à saúde, como pneumonia e problemas no coração e no pulmão caso inalado, além de ser considerado cancerígeno se aplicado diretamente sob a pele e músculo (Ontario – Ministry of the Environment, 2001).

O cobalto é um elemento natural encontrado em todo o meio ambiente. A população em geral pode entrar em contato com o cobalto através da exposição ao ar, à água potável e ao alimento (Ontario – Ministry of the Environment, 2001).

2. Elementos-traço em organismos

A entrada de elementos-traço em organismos marinhos e estuarinos é influenciada por diversos fatores. Os fatores físicos e químicos exercem grande importância no controle da biodisponibilidade de cada metal, entre eles a concentração do metal dissolvido, a temperatura, a salinidade, a presença/ausência de agentes quelantes e a presença/ausência de outros metais. Entre os fatores intra e interespecífica se destacam a permeabilidade superficial, o estado nutricional e o estágio de desenvolvimento do organismo (Kennish, 1997).

Organismos marinhos e estuarinos acumulam metais, sendo a especiação do metal e a biodisponibilidade fatores importantes neste processo

(Kennish, 1997; Apostoli, 2006). Existem duas vias de assimilação dos metais por organismos: i) na forma iônica, por meio de difusão através dos tecidos e; ii) na forma de matéria orgânica pela alimentação por ingestão de material particulado em suspensão contendo metais, ou ainda por ingestão de metais diretamente dos sedimentos de fundo ou da água intersticial. Em peixes, a ingestão de água e consumo de alimento são as rotas primárias para entrada de metais em seus organismos, no entanto, as brânquias apresentam papel importante na absorção de metais dissolvidos (Kennish, 1997; Furness & Rainbow, *op. cit.*). Após entrar na corrente sanguínea do peixe, o metal pode ser armazenado, metabolizado e/ou excretado. A predominância de um destes processos é dependente não só da afinidade do metal por sítios orgânicos específicos, mas também da espécie em questão e da fase de desenvolvimento dos organismos (Heath, 1987).

De acordo com a EPA (2008), bioacumulação é um termo genérico que descreve o processo pelo qual substâncias químicas são absorvidas por vegetal ou animal, quer diretamente a partir da exposição a um meio contaminado (água ou sedimentos) ou pela ingestão de alimentos que contém tal substância. Tal processo depende basicamente da especiação química do elemento e de sua biodisponibilidade (Kennish, 1997; Barra *et al.*, 2000).

Portanto, a acumulação de elementos-traço em peixes é um fato evidente e, dessa forma, deve ser monitorado para ações de gerenciamento de risco da exposição humana e garantir alimento seguro a população (Jardim & Caldas, 2009).

3. Toxicidade dos elementos-traço nos processos fisiológicos

A toxicidade dos elementos-traço sem função biológica positiva é devida à competição entre elementos com cargas iônicas iguais, como por exemplo, a competição entre o Cu e o Zn. Os elementos-traço também podem ter efeitos tóxicos específicos como é o caso do Cr^{+6} que tem sua toxicidade devida às ligações covalentes com proteínas e ácidos nucleicos, ou o chumbo que se liga aos ácidos nucleicos e substitui o Ca nos ossos, além de efeitos

dos componentes organometálicos, como o metilHg e o tributilSn (Furness & Rainbow, 1990).

Os efeitos tóxicos devidos ao excesso de micronutrientes, por sua vez, estão relacionados às atividades catalíticas das metaloenzimas. Essas atividades são características de sua configuração tridimensional específica e, conseqüentemente, se um metal diferente se liga a elas, a geometria da região ativa e as atividades das enzimas serão alteradas. Os íons metálicos possuem diferentes afinidades aos ligantes orgânicos, seguindo a série de Irwing-Williams. Por exemplo, a constante da estabilidade relativa para a cisteína (-SH) em ordem decrescente é $\text{Cu}^{+2} > \text{Ni}^{+2} = \text{Zn}^{+2} > \text{Co}^{+2} > \text{Fe}^{+2} > \text{Mn}^{+2}$; assim, o cobre substituirá o Zn, o Fe, etc. Quando a concentração de íons livres aumenta, essas reações de substituição se tornam significativas e podem levar a uma inibição da atividade enzimática, ou uma desestabilização dos componentes estruturais das moléculas. A toxicidade também pode ser indireta, na qual o metal substituído pode exercer efeitos tóxicos pela ligação com outros componentes celulares (Furness & Rainbow, 1990).

4. Bioindicadores de contaminação por elementos-traço

Bioindicador é o organismo utilizado para quantificar a presença de contaminantes no ambiente através da bioacumulação destes em seus tecidos. Através dele, é possível obter informações sobre a variação temporal e espacial da concentração do contaminante no ambiente, além dos teores encontrados no organismo estarem relacionados com os teores no ambiente (Wallner-Kersanach & Bianchini, 2008).

Vários organismos aquáticos vêm sendo utilizados em estudos ambientais como bioindicadores de contaminação por elementos-traço, como por exemplo: algas, poliquetas, bivalves, crustáceos, tartarugas, peixes (Carvalho *et al.*, 1993; Wakasa, 2003; Seixas & Moreira, 2007; Virga *et al.* 2007; Torres *et al.*, 2008; Barbieri, 2009; Kuniyoshi *et al.*, 2009; Coelho *et al.*, 2010). Estes organismos possuem a capacidade de acumular metais em altas concentrações, superiores às encontradas na água, assim, participando da dinâmica biogeoquímica destes poluentes (Lacerda *et al.*, 1985). A

utilização de organismos biomonitores tem como principal interesse fornecer informações sobre a fração biodisponível de poluentes (Karez *et al.*, 1994; Wallner-Kersanach & Bianchini, 2008). Porém, o conteúdo de metais no tecido é afetado por fatores físicos (temperatura, salinidade, profundidade, etc) e biológicos (tamanho, sexo, condições reprodutiva e nutricional, ciclo de vida, etc.). A cinética de acúmulo e depuração dos metais ainda não é bem conhecida. (Wallner-Kersanach & Bianchini, 2008).

Para ser considerado um bom monitor biológico, o organismo deve apresentar algumas características como: ser sésil, de fácil coleta, possuir vasta distribuição, estar presente ao longo de todo o ano e responder rapidamente às variações das concentrações de metais biodisponíveis no meio (Rezende & Lacerda, 1986). Estas características são de organismos sentinelas, pois são organismos fixos, no caso de peixes, eles também são importantes bioacumuladores e estão expostos aos contaminantes no ambiente, podendo transferi-los aos níveis superiores da cadeia trófica, inclusive o homem (Jha, 2004).

4.1. *Cathorops spixii*

Cathorops spixii (Agassiz, 1829) é uma espécie de bagre, também conhecido como bagre-amarelo (Fig. 1), comum em ambientes estuarinos e foi capturado pela equipe do LABNUT-IOUSP em um pré-estudo nos dois setores, norte e sul, do Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape, o que não ocorreu com outras espécies de peixes que acabaram sendo capturadas em apenas um dos dois locais deste estudo. Devido a isso, *C. spixii* foi a espécie escolhida para o desenvolvimento deste trabalho. Esta espécie tem sido usada em estudos de bioconcentração e biomarcadores por outros autores (Azevedo *et al.*, 2009; Barbosa, 2010; Kirschbaum, 2010).

Figura 1. Imagem de um indivíduo da espécie *Cathorops spixii*.

C. spixii é uma espécie que vive em regiões de clima tropical, distribuindo-se ao longo do Atlântico Oeste, nos rios e estuários caribenhos, ocorrendo desde Belize até o Brasil (Figueiredo & Menezes, *op. cit.*; Fishbase, 2010). De acordo com Figueiredo & Menezes (1978), *C. spixii* é uma das espécies de bagre mais comum do litoral brasileiro. Em um estudo realizado por Chagas (2005), foi observado que esta espécie esteve entre as mais abundantes entre cinco estuários da costa brasileira. Santos (2004) observou que *C. spixii* foi a espécie mais frequente nos arrastos realizados em todas as estações do ano, entre agosto de 2003 e maio de 2004, na enseada de Caraguatatuba. Schmidt *et al.* (2008) coletaram bagres marinhos no estuário de São Vicente, no período de setembro de 2000 e agosto de 2002, e observaram que *C. spixii* apresentou a maior abundância numérica, com ampla distribuição na região amostrada, sendo capturada durante praticamente todo o período do estudo.

C. spixii é uma espécie eurihalina (Rueda, 2001) encontrada em águas marinhas costeiras, salobras/estuarinas, lagunas, desembocadura de rios e em águas hipersalinas (Absolon & Andreata, 2009). Camargo & Isaac (1998), Azevedo *et al.* (1999) e Absolon & Andreata (*op. cit.*) realizaram estudos mostrando que *C. spixii* é abundante em sistemas estuarinos, sendo mais comumente encontrada na região da desembocadura de rios, com diminuição da abundância em direção ao oceano. No estuário de Caeté, Pará, Camargo & Isaac (1998) verificaram que a maior abundância de indivíduos desta espécie se encontrava no canal do Rio Caeté; os jovens eram mais numerosos na região intermediária do estuário, entre a desembocadura do rio e o oceano, enquanto que os estoques reprodutores estavam mais próximos à água doce.

O bagre-amarelo apresenta hábito demersal, podendo atingir 30 cm de comprimento total, mas a maioria dos indivíduos atinge cerca de 20 cm (Fishbase, 2010). Gomes *et al.* (1999) coletaram indivíduos de *C. spixii* entre outubro de 1993 e setembro de 1994 na Baía de Sepetiba – RJ, os quais apresentaram comprimento total entre 10 e 32,5 cm; enquanto que Santos (2004) encontrou uma variação de 56 a 155 mm de comprimento padrão na Enseada de Caraguatatuba, entre 2003 e 2004; e Dias & Schmidt (2008) encontraram indivíduos na Baía de Santos, entre novembro de 2004 e dezembro de 2005, que variaram de 41 a 366 mm de comprimento total.

O hábito alimentar do bagre-amarelo é onívoro-detritívoro e bem variado, se alimentando principalmente organismos bentônicos, como poliquetas, copépodos, bivalves (Santos, 2004), mas também há registros de consumo de anfípodos, decapodas, peixes e outros organismos variando de acordo com a composição da fauna do local em que vivem e também, do estágio do ciclo de vida da espécie (Chalom *et al.*, 2005).

Estudos relacionados à reprodução de *C. spixii* (Silva, 1996; Gomes *et al.*, 1999; Fávaro *et al.*, 2005) demonstraram que a espécie apresenta táticas reprodutivas que visam alcançar sucesso reprodutivo para a espécie, como por exemplo, a desova do tipo total e o cuidado parental com os embriões, nos quais os jovens são carregados na boca pelos pais que os transfere de um lugar para outro, conferindo uma tendência k-estrategista para esta espécie. Silva (1996) relata a região de Cananéia como local de desova da espécie *C. spixii* durante os meses de novembro a fevereiro. No entanto, para alguns autores (Camargo e Isaac, 1998; Gomes *et al.*, 1999; Fávaro *et al.*, 2005), o período de desova desta espécie ocorre no final da primavera e começo do verão, entre os meses de setembro a novembro, coincidindo com o aumento da temperatura e da transparência da água e baixa salinidade.

O início da primeira maturação gonadal para fêmeas e machos é 124,5 e 139 mm de comprimento total, respectivamente; completando-se aos 195 e 200 mm (Silva, 1996).

C. spixii apresenta importância econômica (Figueiredo & Menezes, 1978) e também é consumido em comunidades caiçaras, como as da região de Cananéia-Iguape (Hanazaki & Begossi, 2006). Devido a isso, esta espécie representa um elo importante da cadeia alimentar, ao estar em constante

contato com os sedimentos (muitas vezes contaminados) e também, por servir de alimento para a população humana. Por isso merece atenção quanto à qualidade de sua carne e outras espécies com o mesmo papel também devem ser constantemente monitoradas, além de indicar a qualidade do ambiente em que vive (Azevedo *et al.*, 2009).

5. Biomarcadores de contaminação ambiental

Biomarcadores são respostas fisiológicas mensuráveis produzidas por um organismo ao stress ambiental. Estes vêm sendo utilizados em programas de avaliação do impacto em ecossistemas aquáticos por gerar uma resposta em curto espaço de tempo e serem altamente sensíveis (Amado *et al.*, 2006; Freire *et al.*, 2008). Os biomarcadores são comumente utilizados como indicadores bioquímicos, fisiológicos e histológicos à exposição de xenobióticos ou efeitos de contaminantes químicos (Amado *et al.*, 2006; Kuniyoshi & Braga, 2010).

O contínuo despejo de substâncias tóxicas, como os metais e compostos orgânicos, leva a uma necessidade da avaliação dos efeitos destes compostos em nível molecular para evitar que as conseqüências atinjam níveis mais altos de organização ecológica (Baršienė *et al.*, 2006; Freire *et al.*, 2008; Jesus & Carvalho, 2008).

Existem diversos biomarcadores em peixes, entre eles podem ser citados a biotransformação de enzimas, parâmetros do estresse oxidativo, produtos de biotransformação, estresse de proteínas, metalotioneínas, parâmetros hematológicos, parâmetros imunológicos, parâmetros reprodutivos e endocrinológicos, parâmetros genotóxicos, parâmetros neuromuscular, além de parâmetros fisiológicos, histológicos e morfológicos. É necessário cuidado com o uso dos biomarcadores, pois alterações destes parâmetros podem ser provocadas tanto por fatores ambientais quanto pela poluição (van der Oost *et al.*, 2003).

Dentre os biomarcadores de contaminação ambiental, o teste de micronúcleo em hemácias tem sido utilizado para detectar a exposição

ambiental de peixes a genotoxinas (Al-Sabti & Metcalfe, 1995; Ngan *et al.*, 2007; Bombail *et al.*, 2001).

5.1. Teste do micronúcleo

Micronúcleos são pequenos corpos contendo DNA que podem estar presentes próximos ao núcleo da célula (UNEP/RAMOGGE, 1999), os quais são formados por fragmentos de cromossomos acêntricos ou cromossomos inteiros que não foram incluídos no núcleo principal após a anáfase, durante a divisão mitótica (Al-Sabti & Metcalfe, 1995). A figura 2 mostra um esquema do processo de formação do micronúcleo.

Figura 2. Esquema de formação de células normais (à esquerda) e com micronúcleo (à direita) (Al-Sabti & Metcalfe, 1995).

A formação do micronúcleo pode ocorrer de forma espontânea ou induzida por variações ambientais e poluição (Al-Sabti & Metcalfe, 1995).

O teste de micronúcleo consiste em identificar e quantificar células com micronúcleo. Este teste é aplicado em vários tecidos de diversos animais como

sangue de peixes e hemolinfa de moluscos para o monitoramento de agentes genotóxicos em ambientes aquáticos (Bombail *et al.*, 2001; Russo *et al.*, 2004; Koukouzika & Dimitriadis, 2008). A aplicação do teste de micronúcleo em amostras de sangue periférico é indicado para condições de exposição crônica, como por exemplo em estudos ecotoxicológicos, utilizando espécies marinhas e dulcícolas *in situ* (Udroiu, 2006). Este teste tem se mostrado uma ferramenta eficiente entre os biomarcadores de exposição em experimentos realizados em laboratório. Indivíduos coletados em locais contaminados e não contaminados são utilizados para demonstrar o potencial dos efeitos genotóxicos em peixes. Estudos comparando locais poluídos e não poluídos tem mostrado que os organismos expostos a poluição apresentam mais micronúcleos nas células sanguíneas (Bombail *et al.*, 2001; Rocco *et al.*, 2004; Koukouzika & Dimitriadis, 2008; Kuniyoshi & Braga, 2010).

O teste de micronúcleo tem sido utilizado com sucesso para avaliar o potencial genotóxico de PCBs, benzopirene, cádmio, cromo, mercúrio, selênio, e outros compostos (Udroiu, 2006). Ali *et al.* (2009), em um ensaio de laboratório, expôs uma espécie de peixe de água doce a um determinado pesticida e observaram um aumento na frequência de micronúcleos nos eritrócitos.

É comum o uso da identificação de outras anomalias nucleares como um complemento ao teste de micronúcleo como biomarcadores de genotoxicidade (Bombail *et al.*, 2001; Koukouzika & Dimitriadis, 2008), no entanto, o uso dessas outras anomalias podem não ser uma ferramenta confiável para a avaliação da genotoxicidade em estudos de campo (Galindo & Moreira, 2009), e também a falta de uma padronização na identificação dessas anomalias dificulta as comparações entre laboratórios (Guilherme *et al.*, 2008), por isto neste trabalho foi abordado apenas o micronúcleo.

Al-Sabti & Hardig (1990); Al-Sabti & Metcalfe (1995) e Russo *et al.* (2004) apontam a aplicabilidade e versatilidade do teste de micronúcleo em peixes como um teste *in vivo* e, em coletas de campo para monitoramento da qualidade da água e da presença de agentes genotóxicos. Esse teste é um método capaz de detectar mutagenicidade e genotoxicidade de poluentes em peixes expostos por um curto espaço de tempo (Minissi *et al.*, 1996; Bombail *et al.*, 2001; Ali *et al.*, 2009) e será aplicado nos eritrócitos de *C. spixii*.

II. OBJETIVOS

1. Objetivo geral

O objetivo geral deste estudo é avaliar as diferenças ambientais por meio da contaminação de bagres (*Cathorops spixii*) por elementos-traço através da bioconcentração em tecido muscular e da presença de micronúcleos nos eritrócitos, considerando dois setores sob diferentes graus de impacto antrópico do Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape, de modo a contribuir à geração de dados que possam subsidiar a preservação, manejo e gestão da região, com vistas também, à preservação da saúde humana e validação da indicação desta espécie como biomonitora.

2. Objetivos específicos

- Avaliar os teores de chumbo (Pb), cádmio (Cd), mercúrio (Hg), arsênio (As), cromo (Cr), zinco (Zn) e cobalto (Co) no músculo de *Cathorops spixii* (bagre-amarelo) capturados nos setores norte e sul do Complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape.
- Associar os teores de elementos-traço encontrados nos músculos dos peixes e a biometria dos exemplares aos parâmetros abióticos da água.
- Avaliar as concentrações dos elementos-traço obtidas sob a luz das recomendações para consumo humano, ressaltando seu papel na cadeia trófica, os riscos à saúde humana e à preservação da biodiversidade.
- Avaliar o efeito do estresse ambiental sobre o padrão fisiológico dos indivíduos, considerando a presença e quantidade de micronúcleo nos eritrócitos.
- Avaliar a possível influência da sazonalidade sobre a acumulação de elementos-traço e micronúcleos na espécie estudada.
- Verificar se os parâmetros analisados nos setores norte e sul do sistema, contribuem na avaliação do grau de preservação ou impacto a que estão submetidos.
- Verificar se a espécie estudada é adequada ao biomonitoramento nas regiões de estudo.

III. ÁREA DE ESTUDO

1. O Complexo Estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape

O Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape (Fig. 3) está localizado na sub-unidade sul do litoral do estado de São Paulo e faz divisa com o estado do Paraná. Esta região faz parte da Área de Proteção Ambiental Cananéia-Iguape-Paranaguá e é reconhecida pela UNESCO como parte da Reserva da Biosfera, devido à sua importância como meio ambiente natural e de culturas tradicionais (CETESB, 2003).

É uma região composta por um conjunto de ilhas próximas ao continente, sendo elas: Ilha de Cananéia, do Cardoso, Comprida e de Iguape, sendo esta última uma ilha artificial que surgiu a partir da abertura do Canal do Valo Grande, na cidade de Iguape – porção norte do sistema. Estas ilhas são banhadas por canais que se interligam entre si com o Oceano Atlântico através das barras: Ararapira e Trapandé (próximos a cidade de Cananéia) e de Icapara e do Ribeira próximos a cidade de Iguape.

A Ilha de Cananéia é separada do continente por um canal denominado Mar de Cubatão, ou Mar de Dentro e separada da Ilha Comprida pelo Mar de Cananéia, ou também conhecido como Mar de Fora. Estes dois canais estão interligados na porção sul do sistema pela Baía de Trapandé.

É uma região de clima subtropical, a temperatura do ar média anual da região de Cananéia é de 21,4 °C, sendo em fevereiro a maior média mensal com 25,2 °C, e em julho a mais baixa com 17,8 °C. O período de chuvas está relacionado com as estações do ano, com verões chuvosos e invernos secos. A precipitação média anual é maior que 2.200 mm, sendo o período mais chuvoso de dezembro a abril e o mais seco de maio a novembro (Wainer & Colombo, 1996).

Consequentemente, a descarga de água doce no sistema estuarino através da bacia de drenagem do Rio Ribeira via Valo Grande também segue o padrão sazonal de chuvas, com maiores descargas durante os meses mais chuvosos (verão) com descarga máxima de $1.751 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$; e descargas menores nos meses de secos (inverno), com descarga mínima de $99 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, com média

de $773,56 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (Bérgamo, 2000). Houve um aumento do aporte fluvial para este sistema estuarino devido o rompimento da barragem do Valo Grande em fevereiro de 1995, passando de uma média anual de cerca de $47 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ para $773 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (Bérgamo, 2000).

Figura 3. a) Complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape; b) Cananéia; c) Iguape.

De acordo com o Censo do IBGE 2010, o município de Cananéia, ao sul, possui uma área de 1.242 km^2 e uma população de 12.226 habitantes, com um PIB *per capita* de R\$ 5.148,00 em 2005. Enquanto Iguape, ao norte, está localizada a 211 km da capital, no litoral sul do estado de São Paulo, possui $1.977,4 \text{ km}^2$ de área, representando o maior município do estado. Seu litoral é pouco recortado e pouco povoado, desde a divisa de Peruíbe até a foz do Rio Ribeira de Iguape, onde estão situadas suas principais praias. Atualmente, o

município apresenta uma população de 28.841 habitantes, que em 2005 apresentou um PIB *per capita* de R\$ 6.493,00 (IBGE, 2010).

A economia destes municípios é baseada em atividades primárias, como a pesca, a agricultura – com destaque para o cultivo de banana, maracujá e oleicultura – e o extrativismo, tanto vegetal (madeira e palmito) quanto mineral; sendo esta última, uma atividade de potencial via de poluição por elementos-traço ao Rio Ribeira de Iguape. Enquanto que a atividade turística nestes dois locais é pequena quando comparada as outras atividades citadas e também quando comparada a outros locais do litoral paulista (Fundação Seade, 2000 *apud* CETESB, 2003).

As diferenças de ocupação e intervenção antrópica das duas regiões de estudo refletem nas diferenças hidrológicas entre as porções Norte e Sul do Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape, outrora mais tênue, sobretudo em função da diminuição da salinidade do setor norte devido à influência dos aportes do rio Ribeira de Iguape através do Canal do Valo Grande, que promove a alteração da biodiversidade do local (CETESB, 1984).

2. Histórico do Canal do Valo Grande

O Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape sofre baixo impacto antrópico em sua porção Sul, quando comparado com a região Norte. A construção do Canal do Valo Grande, na cidade de Iguape, em 1841, representa uma importante intervenção antrópica neste sistema. Inicialmente era um canal relativamente estreito para interligar o Rio Ribeira de Iguape ao Mar Pequeno, próximo a cidade Iguape, com o objetivo de escoar mercadorias do interior para o litoral na época colonial. Como o canal foi construído em solo pouco resistente à erosão, a sua largura aumentou de forma gradativa. Quando construído, este canal possuía cerca de 5 metros de largura, mas devido à ação erosiva das águas, as margens foram se alargando, atingindo quase 300 metros de largura (GEOBRAS, 1966).

No entanto, em 1978, foi construída uma barragem no Rio Ribeira, próximo ao Valo Grande. Esta intervenção humana alterou novamente a descarga de água doce no sistema estuarino, causando uma grande

diminuição do fluxo de água. A construção da barragem mudou a dinâmica do sistema já alterado, voltando a uma condição próxima do que era antes da construção do Valo Grande. Dessa forma, a descarga de água doce para dentro do estuário era realizada pelos rios Taquari, Mandira, das Minas, Itapitangui e pequenos canais de maré (Bérgamo, 2000).

Em fevereiro de 1995, por conta de chuvas intensas no Vale do Ribeira, a barragem do Valo Grande se rompeu, abrindo caminho novamente para o aporte da água do Rio Ribeira no complexo estuarino-lagunar Cananéia-Iguape.

O Rio Ribeira de Iguape é o principal rio da região que contribui com a carga de água fluvial para o sistema estuarino, sendo o maior rio paulista que flui diretamente para o Oceano Atlântico. A construção do canal fez com que 2/3 do seu fluxo original do rio fosse desviado diretamente para o Mar Pequeno (Santos, 2007), como mostra a figura 4. Juntamente com este fluxo, sedimentos também são introduzidos na região estuarina, como verificado por Barcellos *et al.* (2009), que observaram que a região de Iguape apresenta deposição sedimentar de origem continental, enquanto que na região de Cananéia a influência marinha é maior. Com isso, os resíduos das atividades da mineração realizadas no Alto Ribeira são detectados nos sedimentos do Mar Pequeno. Os elementos-traços foram trazidos através do Valo Grande na forma dissolvida, ou adsorvidos aos sedimentos (Guimarães, 2007).

Arquivo LABNUT

Figura 4. Local onde a água trazida pelo Valo Grande deságua no Mar Pequeno.

Essas intervenções humanas no ambiente alteraram o equilíbrio da região do complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape, particularmente no Mar Pequeno, por causa do aporte-barragem-aporte de um grande volume de água doce. Isso causou modificações nas condições físico-químicas da água, no balanço sedimentar, onde os sedimentos trazidos pelo Rio Ribeira de Iguape foram desviados de seu trajeto original juntamente com aporte dos resíduos da mineração existente no Vale do Ribeira; alteração da fauna e flora, inclusive com percepção dos pescadores locais (CETESB, 1984; Hanazaki *et al.*, 2007).

3. O complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape e o biomonitor *C. spixii*

Diante das alterações ambientais que vêm ocorrendo no complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape, sobretudo em seu setor norte, trabalhos mostram que existem também modificações no sul deste sistema hídrico, causadas pela construção do Canal do Valo Grande e das barragens no final do Rio Ribeira (Mishima *et al.*, 1985; Braga, 1995). Foi iniciado um trabalho de pesquisa relativo à bioacumulação de alguns metais e uso do bagre como bioindicador como parte do Projeto Mobio “Matéria Orgânica na avaliação de impacto ambiental no meio marinho – bioquímica, bioacumulação e biotoxinas (MOBIO)” Processo FAPESP n. 2005/50769-2, seguido pelo projeto VAGRA CNPq 552437/2007-7, sob a responsabilidade da Prof^a Dr^a Elisabete S. Braga. A atual pesquisa dá prosseguimento ao estudo iniciado e está no âmbito do citado Projeto VAGRA e também do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia –INCT / TMCOcean – Transferência de Materiais Continente-Oceano CNPq 573601/2008-9 e está centrado no estudo do potencial de bioconcentração de elementos traço em *Cathorops spixii* encontrados tanto no setor norte como no sul do Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape. Estes organismos foram encontrados nos dois setores do sistema em um pré-estudo mostrando seu potencial uso em projetos de monitoramento ambiental de regiões estuarinas.

O monitoramento do teor de elementos-traço na ictiofauna e sua relação com os valores ambientais, bem como a avaliação da exposição do ser humano à bioconcentração devem ser acompanhados nestes locais de forte transição entre o sistema terrestre e o oceânico.

Embora não tenha alto valor comercial, o bagre é consumido pela população caiçara (Hanazaki & Begossi, 2006). Seu hábito demersal e estreita relação com o sedimento, de onde retira seu alimento, fazem desta e também de outras espécies que apresentem o mesmo comportamento, importantes no papel da transferência de elementos traço via cadeia alimentar para o ser humano. Assim, as concentrações de elementos traços em músculos de peixes podem indicar a qualidade do ecossistema e também o risco potencial para a saúde humana.

A avaliação do grau de contaminação de organismos estuarinos por elementos-traço é necessária devido ao risco oferecido à biodiversidade nas áreas estudadas e também, porque esses organismos quando contaminados e consumidos pelos seres humanos, podem causar um problema de saúde pública.

IV. MATERIAL E MÉTODOS

1. Parâmetros hidrológicos

Os parâmetros físicos e químicos da água apresentados neste estudo foram obtidos pela equipe do Laboratório de Nutrientes, Micronutrientes e Traços nos Oceanos, do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo – LABNUT/IOUSP no âmbito dos projetos VAGRA/CNPq 552437/2007-7 e INCT-TMCOcean/CNPq 573601/2008-9. Os dados biológicos apresentados também estão no âmbito dos projetos citados, sendo alvo exclusivo desta pesquisa. Houve o aval da Comissão de ética do Instituto Oceanográfico e licença do IBAMA para a realização das coletas.

Para a obtenção das amostras foi utilizado a embarcação pertencente ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, B/Pq Albacora (Fig. 5).

Foto: Braga E. S.

Figura 5. B/Pq. Albacora.

A captura dos peixes ocorreu nos pontos indicados pela figura 6.

Figura 6. Locais em que foram realizadas as coletas de *C. spixii*.

A coleta de água foi realizada com garrafas do tipo Nansen (Figura 7a) e van Dorn (Figura 7b) nas profundidades superfície e 5 m de profundidade, próximos dos locais de coletas dos peixes, no Mar Pequeno (Iguape) e no Mar de Cananéia (Cananéia), nos períodos de verão e inverno de 2009.

Fotos: Braga, E. S.

Figura 7. Garrafas do tipo: a) Nansen; b) van Dorn.

1.1. Maré

As condições da maré no momento das coletas foram retiradas do modelo de previsões de Harari & Mesquita (2008).

1.2. Transparência

A transparência da água foi calculada a partir da profundidade de penetração do Disco de Secchi (Fig. 8).

Foto: Braga, E. S.

Figura 8. Disco de Secchi.

1.3. Temperatura da água

Para a determinação da temperatura da água *in situ* foram utilizados termômetros de reversão protegidos (Fig. 9), calibrados em °C, acondicionados em cartuchos contendo termômetros auxiliares. Dois cartuchos foram acoplados a cada garrafa de Nansen. Precisão de leitura $\pm 0,02$ °C.

Foto: Braga, E. S.

Figura 9. Termômetros de reversão protegidos, em destaque, na garrafa de Nansen.

1.4. Salinidade

A salinidade foi determinada por método indutivo, com o uso de salinômetro da marca Beckman, modelo RS-10, com precisão de $\pm 0,001$. O equipamento foi calibrado com o uso de ampola de água do mar padrão.

1.5. Potencial hidrogeniônico (pH)

A medida de pH foi feita por meio de um potenciômetro portátil Orion® munido de eletrodo de vidro combinado, com precisão de $\pm 0,001$, seguindo as recomendações de Aminot & Chaussepied (1983).

1.6. Oxigênio dissolvido na água (OD)

O oxigênio dissolvido foi analisado por titulação com base no método de Winkler (1888), como descrito por Grasshoff *et al.* (1983), utilizando um titulador automático Titrand – Metrohm®. O método apresenta precisão de $\pm 0,02 \text{ cm}^3 \text{ dm}^{-3}$ para teores de $2 \text{ cm}^3 \text{ dm}^{-3}$ e $\pm 0,04 \text{ cm}^3 \text{ dm}^{-3}$ para teores superiores ao último. A tomada da amostra foi feita com cuidado para evitar a formação de bolhas.

1.7. Silicato dissolvido na água

O silicato foi determinado por método colorimétrico seguindo a metodologia proposta por Grasshoff *et al.* (1983). As leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro da marca Genesys 2 (Bausch & Lomb), sendo o comprimento óptico 810 nm para o silicato, com precisão $\pm 0,02 \mu\text{M}$.

1.8. Material particulado em suspensão

O material particulado em suspensão foi retido em filtro GF/F Whatman®, pelo processo de filtração de até 1L de água. Os dados foram obtidos pelo método gravimétrico conforme descrito em Strickland & Parsons (1968).

2. Parâmetros biológicos – *Cathorops spixii*

2.1. Amostragem

A coleta de peixes da espécie *Cathorops spixii*, popularmente conhecida como Bagre-amarelo foi realizada em duas localidades do Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape, sendo uma no Mar de Cananéia, região do município de Cananéia; e a outra no Mar Pequeno, região do município de Iguape, nos períodos de verão (fevereiro) e inverno (agosto) do ano de 2009, foi utilizada rede de arrasto de fundo *Otter Trawl* (Fig. 10), que apresentava 12 m de boca e malhagem de 30 mm no corpo e manga 25 mm no sacador e portas pesando 40 kg cada. As coletas foram realizadas a bordo da embarcação de pesquisa pertencente ao IO-USP, B/Pq Albacora. Os arrastos foram realizados a uma velocidade média de 2 nós, por cerca de 10 minutos.

Fotos: Braga, E. S.

Figura 10. Rede de arrasto utilizada na coleta.

Dentre os indivíduos capturados, optou-se em selecionar para o estudo aqueles que apresentassem maiores tamanhos para a obtenção de massa suficiente para a realização das análises dos elementos traços no músculo de cada peixe.

Depois de selecionados, os indivíduos foram colocados em caixas plásticas contendo água do local de coleta (Fig. 11), a fim de mantê-los vivos para que fosse possível a retirada de sangue para a preparação das lâminas contendo as extensões sanguíneas a bordo (descrição adiante) para a verificação de micronúcleo nos eritrócitos. Depois que o sangue foi coletado, cada indivíduo foi acondicionado em saco plástico, identificado e imediatamente resfriado para posterior tratamento em laboratório.

Foto: Braga, E. S.

Figura 11. Caixa em que os peixes foram acondicionados logo após a captura.

2.2. Identificação e processamento dos peixes em laboratório

Nas dependências do Museu Oceanográfico do IO-USP, os peixes foram descongelados, para que fosse possível a identificação da espécie de acordo com (Figueiredo & Menezes, 1978), a obtenção de dados biométricos (peso total e comprimento total) e a retirada dos músculos de cada peixe para a análise de elementos-traço.

2.3. Biometria – Comprimento total e Peso total

Depois de identificados, os organismos passaram por verificações biométricas: determinação do comprimento total e peso total. O comprimento total foi obtido com o uso de um ictiômetro (Fig. 12), com precisão de 0,1 mm.

O peso total foi obtido através do uso de balança da marca BEL Engineering, modelo Mark 3100, classe II, com precisão de 0,01g.

Foto: Kuniyoshi, L. S.

Figura 12. Exemplar de *C. spixii* em ictiômetro.

2.4. Retirada e homogeneização das amostras de músculo

A retirada da amostra de músculo foi feita com o auxílio de material cirúrgico, tesoura, bisturi e pinça. Assim que retirado, o tecido foi imediatamente identificado e novamente congelado.

Os músculos congelados foram pesados e logo em seguida submetidos ao processo de liofilização em equipamento da marca Liobras® por cerca de 36 horas. Depois de liofilizados, os tecidos foram pesados novamente para calcular a porcentagem de umidade existente na amostra de acordo com a equação 1.

$$\%Um = \frac{(Pu - Ps) * 100}{Pu} \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo:

%Um: % de água na amostra fresca

Pu: Peso úmido da amostra de músculo congelada (antes de liofilizar)

Ps: Peso seco da amostra de músculo (após liofilizar)

Como as análises dos elementos-traço das amostras foram realizadas na base seca, a legislação brasileira e diversos outros trabalhos utilizam os valores de concentração na base úmida, assim utilizou-se um fator de correção para obter os teores de concentração do elemento em peso úmido, como mostra a equação 2:

$$f = \frac{100 - \%Um}{100} \quad (\text{Equação 2})$$

Sendo:

f: fator que considera a umidade presente na amostra fresca

%Um: % de umidade relativa obtida pela equação 1

Desta maneira, a obtenção da concentração do elemento na base úmida será dada com base na equação 3:

$$[E]_{pu} = [E]_{ps} * f \quad (\text{Equação 3})$$

Sendo:

[E]_{pu}: concentração do elemento em peso úmido

[E]_{ps}: concentração do elemento em peso seco

f: fator que considera a umidade presente na amostra fresca

As amostras de músculo de peixe, após desidratação, passaram por dois processos de homogeneização de acordo com a técnica de análise de elementos-traço utilizados.

Para a determinação utilizando a técnica de análise por ativação com nêutrons instrumental (AANI), também conhecida como análise por ativação neutrônica, as amostras foram maceradas com pistilo e almofariz em ágata, materiais frequentemente utilizados em trabalhos para análise de traços por ser altamente inerte.

O almofariz e o pistilo foram pré-lavados com solução de extran a 2% e enxaguados com água destilada em Milli Q.

Já para a análise utilizando a técnica por absorção atômica (Hg, Pb, Cd), os músculos liofilizados foram homogeneizados através da técnica de moagem criogênica, com o uso de nitrogênio líquido e auxílio de pistilo e almofariz de polipropileno.

2.5. Determinação dos elementos-traço no músculo de *C. spixii*

2.5.1. Análise por ativação com nêutrons instrumental – AANI para determinação de As, Cr, Co e Zn

As análises dos elementos-traços As, Cr, Co e Zn foram realizadas no Laboratório de Ativação Neutrônica (LAN) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares IPEN/CNEN, sob a supervisão da Dr^a Déborah Inês Teixeira Fávaro.

A AANI é uma técnica nuclear analítica que está entre os métodos mais importantes dentre os disponíveis para a análise de elementos-traços. A sua principal vantagem é a capacidade de determinação de muitos elementos com alta sensibilidade sendo possível a sua determinação em níveis de ng^{-1} até %, com exatidão e precisão. É uma técnica não destrutiva, a qual preenche dois requisitos básicos: a especificidade, que é a habilidade de correlacionar diretamente e de forma não ambígua o sinal obtido com o elemento procurado, e a seletividade, que vem a ser a possibilidade de medir o elemento em questão na presença de outros elementos que emitem sinais da mesma natureza. Devido a esses fatores, é uma técnica utilizada para a determinação de elementos químicos em amostras das mais variadas naturezas.

A sensibilidade disponível por AANI depende dos parâmetros de irradiação (fluxo de nêutrons, tempos de irradiação e decaimento), condições de medição (tempos de medição e eficiência do detector), parâmetros nucleares dos elementos em estudo (abundância isotópica, seção de choque para nêutrons, meias vidas e abundâncias de raios gama).

Nesta análise, a ativação da amostra a ser analisada através da irradiação com nêutrons é o primeiro passo. Cada núcleo atômico é capaz de capturar um nêutron durante a irradiação, iniciando-se assim uma reação nuclear. Após a captura, forma-se um núcleo composto e o excesso de energia é liberada na forma de radiação gama (“prompt gamma rays”) e/ou partículas. Este núcleo formado pode ser instável, e assim que formado começará a decair buscando uma configuração mais estável através da emissão de radiação pelos processos de decaimento α , decaimento β^- , decaimento β^+ , captura

eletrônica. Na maioria dos casos, raios-X e radiação gama (“delayed gamma rays”) também são emitidos.

A reação nuclear mais utilizada em AANI é a reação de captura de nêutrons térmicos, ou a reação (n,γ) . Esta reação é expressa pela equação 4:

O núcleo produto (^{60}Co) é radiativo e decai pela emissão de partículas beta e pela emissão de radiação gama, formando por fim um núcleo estável. Através da energia da radiação gama de decaimento e da respectiva meia-vida, o radioisótopo formado (núcleo produto) na reação nuclear pode ser identificado, permitindo assim realizar análises qualitativas e quantitativas do elemento contido na amostra. A reação mostrada acima também pode ser representada de maneira mais compacta pela equação 5:

A técnica de AAN apresenta duas categorias:

- Análise por ativação com nêutrons de raios gamas prontos (“prompt gamma rays”), também conhecida como PGNAA. A medição ocorre durante a irradiação.
- Análise por ativação com nêutrons de raios gama de decaimento (“delayed gamma rays”).

Esta última é a mais comum, e o termo AAN é normalmente empregado para este tipo de análise e também será utilizado com este sentido no presente trabalho.

O método de AAN pode ser comparativo ou absoluto. No presente estudo utilizou-se o método comparativo. Neste método, a amostra é irradiada juntamente com um padrão, de composição o mais similar possível, nas

mesmas condições. Após a irradiação, amostra e padrão são medidos no mesmo detector, o que permite que a concentração desconhecida possa ser diretamente calculada a partir das taxas de contagens da amostra e do padrão e conhecendo-se a massa de ambos, utilizando-se para o cálculo a equação 6:

$$Ca = \frac{(Aa \cdot m_p \cdot e^{\lambda(tda-tdp)})}{Ap \times m_a} \quad (\text{Equação 6})$$

Onde:

Ca: Concentração do elemento na amostra;

Cp: Concentração do elemento no padrão;

Aa: taxa de contagens do elemento na amostra para o tempo de decaimento tda, em contagens por segundo;

Ap: taxa de contagens do mesmo elemento no padrão para o tempo de decaimento tdp;

m_p: massa do elemento no padrão;

m_a: massa total da amostra;

λ: constante de decaimento do núcleo produto, em s⁻¹,

Sendo $\lambda = 0,693 / T_{1/2}$;

tda: tempo de decaimento da amostra, em segundos;

tdp : tempo de decaimento do padrão, em segundos

T_{1/2}: meia vida do núcleo produto, em segundos.

Em resumo, uma quantidade de amostra é pesada e depois submetida a um fluxo de nêutrons simultaneamente com um material cuja concentração do elemento a ser determinada já é conhecida (material de referência certificado), no Reator IEA - R1 do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Feito isso, se obtém a taxa de contagem para a amostra e para o material certificado utilizando-se um sistema de detecção adequado. A comparação entre estas taxas de contagens é a base para o cálculo da concentração do elemento presente na amostra.

2.5.1.1. Procedimento experimental

2.5.1.1.1. Análise de materiais de referência certificados

Foram utilizados materiais de referência certificados para o controle de qualidade dos procedimentos analíticos.

Um dos materiais utilizado foi o *Peach Leaves*, certificado pelo National Institute of Standards & Technology – NIST; e o outro foi o *Dorm-2*, músculo de peixe *dogfish* certificado pelo National Research Council of Canada (NRCC), Marine Analytical Chemistry Standards (Tab. 1).

Tabela 1. Valores dos materiais de referência certificados *Peach Leaves* SRM 1547 (NIST) e *Dorm-2* (NRCC), e dos valores obtidos pela técnica de Análise por Ativação Neutrônica para os elementos As, Co, Cr, Zn.

Elemento	Material de Referência			
	Peach Leaves SRM 1571 (NIST)		Dorm-2 - NRCC (Canada)	
	Valor certificado	Valor encontrado	Valor certificado	Valor encontrado
As ($\mu\text{g g}^{-1}$)	-	-	$18,0 \pm 1,1$	$17,25 \pm 0,29$
Co (ng g^{-1})	70	$68,78 \pm 5,15$	182 ± 31	$209,28 \pm 6,49$
Cr ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1	$1,60 \pm 0,07$	$34,7 \pm 5,5$	$33,95 \pm 0,57$
Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$17,9 \pm 0,3$	$18,48 \pm 0,62$	$25,3 \pm 2,3$	$26,38 \pm 0,85$

Os valores encontrados nos materiais de referências através da técnica de ativação neutrônica indicaram boa precisão e exatidão do método, com o valor de desvio padrão relativo (DPR) menor do que 10 % ($\text{DPR} < 10\%$); e erro relativo (ER) também menor do que 10 % ($\text{ER} < 10\%$).

2.5.1.1.2. Pesagem das amostras e materiais de referência certificados para análise

A partir dos tecidos homogeneizados foram retiradas alíquotas de aproximadamente 200 mg – pesadas em balança Libror AEL-405M da Shimadzu com precisão de 0,0001g – e transferidas para sacos plásticos, confeccionados na hora, de 1 a 2 cm de comprimento e de largura (lavados

previamente com solução de ácido nítrico 10%), com ajuda de uma seladora. Esses pacotes foram lacrados e posteriormente recobertos com papel alumínio, além de serem devidamente identificados.

Este mesmo procedimento foi repetido com os materiais de referência certificados.

2.5.1.1.3. Irradiação e decaimento das atividades

Para serem irradiadas, as amostras dos peixes e os padrões foram colocados de forma intercalada em um recipiente de alumínio chamado de “coelho”. Esse recipiente foi lacrado e irradiado durante oito horas, sob um fluxo de nêutrons térmicos de $1 \text{ a } 5 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$, no Reator de Pesquisa IEA-R1 do IPEN/CNEN-SP.

Após a irradiação, esperou-se uma semana, o chamado tempo de decaimento, para a primeira contagem. O “coelho” foi aberto e as amostras foram tiradas de dentro dele e colocadas pequenos suportes redondos com cerca de três centímetros de diâmetro foram são lacradas com fita adesiva, identificadas e encaminhadas para contagem das atividades. O radioisótopo As foi determinado na primeira contagem.

Após decaimento de vinte dias, foi realizada a segunda contagem, com um tempo de contagem de aproximadamente de 13 horas cada amostra, o que permite a determinação de radioisótopos de meia vida mais longa e com concentrações mais baixas. Foram determinados ^{60}Co , ^{57}Cr e ^{95}Zn na segunda contagem.

As contagens, ou medidas da atividade gama induzida foram realizadas no espectrômetro de raios gama, composto por um detector germânico hiperpuro, modelo GMX2020 ORTEC®, acoplado a um sistema multicanal e eletrônica associado em um microcomputador.

2.5.1.1.4. Tratamento dos dados da AANI

O processamento dos espectros foi feito pelo programa de computador VISPECT2, capaz de localizar os picos, determinar suas energias e calcular

suas áreas. O cálculo das concentrações foi realizado com auxílio de uma planilha de Excel, através do uso da equação 6.

2.5.2. Espectrometria de absorção atômica

A Espectrometria de Absorção Atômica AAS (sigla em inglês referente a *Atomic Absorption Spectrometry*) é uma técnica espectro-analítica para determinação de elementos através da absorção de radiação óptica por átomos livres no estado gasoso.

Os elementos apresentam um número de elétrons associados aos seus respectivos núcleos. A configuração orbital mais estável de um átomo de qualquer elemento é chamada de “estado fundamental”.

Quando a energia de um comprimento de onda específico é aplicada a um átomo, esta é absorvida e o átomo passa a apresentar uma configuração menos estável, chamada “estado excitado”, sendo este o processo de absorção atômica. Uma vez que estado é instável, o átomo retornará ao estado fundamental, emitindo fóton de energia. Este processo é conhecido como emissão atômica.

O princípio fundamental desta técnica envolve a medida da absorção da intensidade da radiação eletromagnética proveniente de uma fonte de luz, por átomos gasosos no estado fundamental. Os componentes básicos de um espectrômetro incluem: fonte de radiação, atomizador, monocromador, detector e processador.

A lâmpada de absorção atômica é capaz de gerar o espectro de emissão de um elemento, o qual será direcionado a um detector passando pelo atomizador, de maneira que o I_0 é a intensidade de radiação emitida e I_t é a intensidade de radiação transmitida. A fonte de radiação mais comum é a lâmpada de cátodo oco, entretanto existe outro tipo de fonte de radiação específica que é a lâmpada de descarga sem eletrodo, que foi utilizada neste trabalho para as determinações de Pb e Cd. Esse tipo de lâmpada fornece intensidades radiantes.

O atomizador é um dispositivo que transforma íons ou moléculas presentes na amostra em átomos no estado fundamental para que possam absorver a radiação proveniente da lâmpada ($M + h\nu \rightarrow M^*$) e desta forma

diminuir a intensidade do sinal emitido pela lâmpada e conseqüentemente ser utilizado para determinar a concentração do elemento de interesse.

Os atomizadores são fabricados pelos seguintes materiais:

Forno de Grafite – Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (GFAAS – em inglês: Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry).

Geração de Vapor frio – Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio (CVAAS – em inglês: Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry).

Chama – Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS – em inglês: Flame Atomic Absorption Spectrometry).

Geração de hidretos - Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos (HGAAS – em inglês: Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry).

Para este estudo foram utilizados os atomizadores forno de grafite para a determinação do Pb e do Cd e o de geração de vapor frio para Hg inorgânico total.

O monocromador tem a função de separar a linha espectral de interesse de várias outras linhas, por um prisma ou grade de difração. O prisma ou a grade de difração decompõe o feixe da radiação em alguns comprimentos de onda, com diferentes ângulos, assim através da fenda de saída pode-se selecionar o comprimento de onda desejado. Os sistemas de detecção mais comuns são os fotomultiplicadores que convertem energia radiante em sinal elétrico.

A lei de Lambert-Beer (Eq. 7) relaciona a concentração de átomos no estado fundamental com a absorbância:

$$A = \log I_0/I_t = \alpha lc \quad (\text{Equação 7})$$

onde:

A = absorbância

I_0 = intensidade da radiação emitida pela fonte de luz

I_t = intensidade da radiação transmitida (não absorvida)

α = coeficiente de absortividade molar do meio

l = espessura da célula de absorção

c = concentração de átomos no estado fundamental

No entanto, existem desvios na linearidade que devem ser determinados experimentalmente na análise por absorção atômica. Para isto, foi preparada uma curva de calibração que cobriu o intervalo das concentrações nas amostras. Assim, a concentração do analito é dada através da equação da reta (Eq. 8):

$$y = ax + b \quad (\text{Equação 8})$$

onde:

y = absorvância (A)

a = coeficiente angular ou inclinação da reta

x = concentração do analito (C)

b = coeficiente linear (A_0)

Temos que a concentração do analito é calculada de acordo com a equação 9:

$$A = aC + A_0 \quad (\text{Equação 9})$$

2.5.2.1. Determinação de Pb e Cd por Espectrometria de Absorção Atômica com atomização em forno de grafite

O atomizador eletrotérmico do tipo forno de grafite é mais utilizado para análises elementares em níveis de $\mu\text{g.L}^{-1}$. Neste trabalho foi utilizado o equipamento AAnalyst 800 da Perkin-Elmer® para a determinação de Pb e Cd.

Um amostrador automático introduz um pequeno volume da amostra a ser analisada (cerca de $20\mu\text{L}$) no interior do tubo de grafite. Após a introdução a amostra passará por etapas de secagem, pirólise e por fim será atomizada

em temperaturas de até 2700 °C. Após a atomização, o tubo de grafite é aquecido novamente sem amostra para a limpeza e por fim o tubo é resfriado para a introdução de nova amostra.

2.5.2.1.1. Soluções utilizadas para as construções das curvas de calibração

- **Solução analítica de cádmio – estoque 1:** solução de cádmio Spex Certiprep de concentração $998,5 \pm 3,0 \text{ mg L}^{-1}$ de Cd em HNO_3 2% (v/v).
- **Solução analítica de cádmio – estoque 2:** preparada a partir de 0,2 mL (volume calibrado do pipetador = 0,20178 mL) da estoque 1 e volume elevado a 100 mL (volume calibrado do balão = 99,823 mL) de HNO_3 2% (v/v) PA Merck, solução de concentração $2018,35 \text{ ng mL}^{-1}$.
- **Solução analítica de cádmio – estoque 3:** preparada a partir de 35 μL (volume calibrado do pipetador = 34,73 μL) da estoque 2 e volume levado a 10 mL (volume do balão calibrado = 10,075 mL) de HNO_3 2% (v/v) PA Merck, preparada diariamente, concentração de $6,9576 \text{ ng mL}^{-1}$.

A curva de calibração para análise de cádmio foi feita com as seguintes concentrações: 1,398, 4,194, 5,592, 6,990 ng mL^{-1} .

- **Solução analítica de chumbo – estoque 1:** solução de chumbo da Merck de concentração $1001 \pm 2 \text{ mg.L}^{-1}$ em HNO_3 0,5 mol L^{-1} .
- **Solução analítica de chumbo – estoque 2:** preparada a partir de 0,1 mL (volume calibrado do pipetador = 0,099441 mL) da estoque 1 e volume levado a 100 mL (volume do balão calibrado = 99,874 mL) de HNO_3 2% (v/v), solução com concentração $996,6602 \text{ ng L}^{-1}$.
- **Solução analítica de chumbo – estoque 3:** a partir de 250 μL (volume do pipetador calibrado = 250,89 μL) da estoque 2 e volume levado a 10 mL (volume calibrado do balão 10,000 mL) de HNO_3 0,2% (v/v), preparada diariamente, com concentração de $25,0052 \text{ ng mL}^{-1}$.
- **Diluyente:** preparado a partir de ácido nítrico concentrado PA Merck, concentração de 0,2% (v/v) HNO_3 .

- **Modificador químico:** solução utilizada para estabilizar termicamente os analitos mais voláteis aumentar a volatilidade dos analitos menos voláteis, diminuindo assim a temperatura da atomização. As espécies interferentes também têm as suas volatilidades aumentadas, causando a eliminação durante pré-tratamento térmico. Solução da Perkin-Elmer de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0,5% (m/v) e $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 0,03% (m/v).

A curva de calibração para análise de chumbo foi feita com as seguintes concentrações: 0,458 1,374 2,290 3,205 4,579 ng mL⁻¹.

Neste método, a curva de calibração é feita a partir de diluições de uma solução previamente preparada (estoque 3) mais concentrada, realizadas pelo próprio equipamento.

2.5.2.2. Determinação de Hg por Espectrometria de Absorção Atômica com geração de vapor frio

O atomizador de geração de vapor frio é aplicável somente para a determinação de mercúrio inorgânico, uma vez que este é o único elemento existente no estado de vapor na temperatura ambiente (20 °C – 14 mg m⁻³ de ar) (Oliveira, 2000 *apud* Semmler, 2007). Para a análise de Hg inorgânico total foi utilizado este tipo de atomizador.

Neste tipo de determinação não é necessário o uso da chama para a atomização do metal, pois o mercúrio inorgânico é reduzido a vapor através da adição de um agente redutor (SnCl_2), como mostra a equação 10:

O equipamento utilizado nas análises de Hg foi o FIMS da Perkin-Elmer® (*Flow Injection Mercury System*). O programa deste equipamento já fornece todos os resultados em ng g⁻¹ após a determinação de acordo com a equação 9.

2.5.2.2.1. Soluções utilizadas no equipamento

- Carregador: solução responsável para transportar a amostra, para a reação com o redutor quando o Hg^{2+} é reduzido a Hg^0 . Solução preparada a partir de ácido clorídrico fumegante PA Merck, concentração de 3% (v/v) HCl.
- Redutor: preparado a partir de $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ em 3% v/v HCl, concentração de 1,1% (m/v) SnCl_2 , preparado diariamente.

2.5.2.2.2. Soluções para a construção da curva de calibração

- **Solução analítica de mercúrio – estoque 1:** preparada a partir da dissolução de 0,11712 g de mercúrio metálico PA Merck em 1 mL de HNO_3 concentrado PA Merck, e o volume foi elevado a 100 mL (volume do balão calibrado foi de 99,846 mL). Solução de concentração $1,173006 \text{ mg mL}^{-1}$.
- **Solução analítica de mercúrio – estoque 2:** preparada a partir da diluição de 100 μL (volume calibrado do pipetador foi de 99,441 μL) da estoque 1 em 100 mL (volume do balão calibrado foi de 99,823 mL), com adição de 2 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 10% (m/v), obtendo-se uma concentração de $1168,52 \text{ ng mL}^{-1}$.
- **Solução analítica de mercúrio – estoque 3:** preparada a partir de 1 mL (volume calibrado do pipetador foi de 1,01159 mL) da estoque 2 e volume levado a 10 mL (volume calibrado do balão foi de 9,988 mL), preparada diariamente, concentração de $118,35 \text{ ng mL}^{-1}$.
- **Solução de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$:** preparada a partir do sal $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ PA Merck, solução igual a 10% (m/v).

A curva de calibração para análise de mercúrio foi feita com as seguintes concentrações: 0,458 1,374 2,290 3,205 4,579 ng mL^{-1} .

2.5.2.3. Procedimento experimental para a determinação dos elementos-traços por Espectrometria de Absorção Atômica

A preparação das amostras de músculo de *C. spixii* para as determinações pelas duas técnicas de Espectrometria de Absorção Atômica foi realizada de mesma maneira, e está descrito a seguir.

2.5.2.3.1. Materiais de referência certificados

Para verificar a qualidade dos procedimentos analíticos foram utilizados materiais de referência certificados marinhos: *Mussel Tissue* 2976, preparado pelo *National Institute of Standard & Technology* – NIST e o músculo de peixe *dogfish* preparado pela *National Research Council of Canada* – NRCC (Tab. 2).

Tabela 2. Valores dos materiais de referência certificados *Mussel Tissue* (NIST 2976) e Dorm-2 (NRCC), e dos valores obtidos pela técnica de Espectrometria de Absorção Atômica para os elementos os elementos Pb, Hg e Cd.

Elemento	Material de Referência			
	Mussel Tissue (NIST 2976)		Dorm-2 (NRC-Canadá)	
	Valor certificado	Valor encontrado	Valor certificado	Valor encontrado
Pb (ng g ⁻¹)	1190 ± 180	1442 ± 90	65 ± 7	82 ± 3
Hg (ng g ⁻¹)	61 ± 3,6	40 ± 0,6	4640 ± 260	3832 ± 21
Cd (ng g ⁻¹)	820 ± 160	1189 ± 1	43 ± 8	49,6 ± 0,2

Os materiais foram analisados simultaneamente com as amostras em ambos os métodos de Absorção Atômica, a fim de se obter a exatidão e precisão em análises. Os resultados das análises dos materiais de referência certificados pela técnica de Espectrometria Absorção Atômica indicaram boa precisão do método, porém os valores dos erros relativos (ER) foram altos (<20%), pois correspondem a somente uma determinação e podem ser considerados como aceitáveis.

2.5.2.3.2. Pesagem das amostras e materiais de referência certificados para análise

Cerca de 350 a 400 mg de amostras (na base seca) e de cada material de referência certificado foram utilizados para a análise.

2.5.2.3.3. Digestão das amostras e materiais de referência certificados

A digestão das amostras e dos padrões foram realizadas da mesma maneira para as análises de Pb, Cd e Hg, e foram realizadas da seguinte forma:

As amostras e padrões foram pesados (de 350 a 400 mg) em recipientes de polipropileno e em seguida foi adicionados em cada um 4mL de HNO₃ PA Merck, e depois 1mL de água oxigenada e em seguida deixado de repouso por uma noite. No dia seguinte cada amostra/padrão foi colocado em bloco digestor a 70 °C, por 3 horas, para que a digestão fosse completada.

Em seguida as amostras foram injetadas no equipamento (Analyst 800 – Perkin-Elmer) para análises de Pb e Cd.

2.6. Coleta de sangue para observação de micronúcleos em eritrócitos de *C. Spixii*

A bordo da embarcação, cada peixe vivo foi retirado da caixa plástica contendo água (Fig. 11) e uma pequena quantidade de sangue foi retirada de cada indivíduo, através de punção caudal (Fig.13), com auxílio de seringa hipodérmica de 1 mL de volume, contendo 0,1 mL de anti-coagulante (Heparina®), como mostra a figura 14. Uma gota foi depositada sobre a lâmina de vidro e com uma lamínula limpa foi feito o espalhamento do sangue sobre a lâmina (extensão sanguínea). Em seguida a lâmina foi repousada ao ar livre para secar o material. Foram preparadas duas lâminas por indivíduo.

Foto: Braga, E. S.

Figura 13. Retirada de sangue a bordo.

Logo após a coleta, em laboratório, as lâminas contendo as extensões sanguíneas foram fixadas, através de banho em metanol 80%, por cerca de 20 minutos, e em seguida foram repousadas ao ar livre para secar (Fig.14).

Foto: Braga, E. S.

Figura 14. Lâminas contendo as extensões sanguíneas secando ao ar livre.

Dias depois, o material fixado foi submetido à coloração com Giemsa 10%, por 30 minutos, para posterior observação das lâminas, a fim de observar a presença de micronúcleo nos eritrócitos. As leituras das lâminas foram examinadas com o uso de Microscópio Nikon® com aumento de 1000 vezes. O critério da análise foi observar células com as membranas nucleares e citoplasmáticas intactas, micronúcleos que não apresentavam conexão com o núcleo principal e um tamanho menor que $1/10 - 1/30$ do núcleo, ter mesma coloração e estar no mesmo plano óptico do núcleo principal (Al-Sabti & Metcalfe, 1995; Russo *et al.*, 2004; Bolognesi *et al.*, 2006).

Foram preparadas duas lâminas por indivíduo sendo escolhida para observação a que estava em melhores condições de análise de micronúcleos nos eritrócitos. Em cada lâmina, 1000 células foram observadas com intuito de

verificar a presença de micronúcleos. O resultado está expresso em % de células contendo micronúcleos.

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Dados Hidrológicos

1.1 Maré

A curva de maré no momento em que os peixes da espécie *C. spixii* foram capturados está ilustrada nas figuras 15, 16, 17 e 18 construídas com base nos dados do modelo de previsões de Harari & Mesquita (2008).

Dos quatro momentos de coleta, apenas um foi realizado em maré vazante (Cananéia-verão), sendo as demais, realizadas em maré enchente. A maré de sizígia predominou tanto nos momentos de coleta de verão como nas coletas de inverno.

Figura 15. Curva de maré no dia 10/02/2009, em Cananéia.

Figura 16. Curva de Maré no dia 12/02/2009, em Iguape.

Figura 17. Curva de maré no dia 20/08/2009, em Cananéia.

Figura 18. Curva de maré no dia 21/08/2009, em Iguape.

1.2. Condições da água

Os parâmetros hidrológicos e hidroquímicos foram obtidos em dois pontos localizados no complexo estuarino-lagunar, sendo um ao sul (Cananéia) e outro ao norte (Iguape), próximos aos pontos de coleta dos peixes, no mesmo dia dos arrastos (verão: dia 10/02 em Cananéia e dia 12/02 em Iguape; inverno: dia 20/08 em Cananéia e dia 21/08 em Iguape, todas no ano de 2009). Os dados de transparência, temperatura, salinidade, pH, oxigênio dissolvido (OD), silicato dissolvido e material particulado em suspensão na coluna d' água obtidos estão na tabela 3. Nestes locais, a profundidade local não passou dos 7 m.

Tabela 3. Dados hidrológicos e hidroquímicos obtidos em pontos próximos aos locais de coleta dos peixes.

LOCAL/ PERÍODO	Profundidade (m)	Disco de Secchi (m)	Temperatura (°C)	Salinidade (UPS)	pH	OD (mL.L ⁻¹)	Silicato (μM. L ⁻¹)	MPS (mg.L ⁻¹)
CANANÉIA VERÃO	0	1,0	28,60	19,59	8,13	3,68	35,69	372,20
	5		28,05	24,37	8,18	3,81	26,40	1026,40
IGUAPE VERÃO	0	0,6	27,58	0,07	7,04	4,40	179,29	59,43
	5		27,50	0,06	6,96	4,45	193,52	165,33
CANANÉIA INVERNO	0	1,0	20,75	29,88	8,42	5,12	25,40	84,67
	5		21,70	28,98	8,43	5,11	29,41	85,33
IGUAPE INVERNO	0	0,6	20,65	0,67	7,35	5,57	168,38	31,11
	5		20,85	0,65	7,28	5,57	170,00	49,33

De um modo geral, os valores de temperatura da água (Tab. 3) estiveram entre 20 e 22 °C no inverno e acima de 27 °C no verão, em ambos os setores. No caso do verão, há uma ligeira estratificação térmica observada em Cananéia, com valores de água mais fria no fundo enquanto que no inverno, em ambos os setores, a água de fundo mostrou-se ligeiramente mais aquecida. A figura 19 mostra as temperaturas médias para cada local/época do ano, de acordo com os valores obtidos entre a superfície e 5 m. Ao observar esta figura, nota-se a influência da sazonalidade sobre os dois setores em estudo, com temperaturas da água maiores no verão do que no inverno.

Outros autores encontraram valores parecidos para temperatura da água na região do Mar de Cananéia. Braga (1995) encontrou temperatura média de 27,64 °C no verão de 1992, com variação de 25,15 a 28,11 °C, e no inverno de 1992 uma média, um pouco menor que os valores encontrados neste estudo, de 18,35 °C com variação entre 17,20 e 19,32 °C. Aguiar (2005) encontrou valores ligeiramente mais baixos dos que no presente estudo no Mar de Cananéia, variando de 19,10 °C a 20,60 °C no inverno de 2003 e de 25,39 a 26,80 °C no verão de 2004. Ainda no Mar de Cananéia, Berbel (2008) encontrou valores de temperatura da água de fundo, com uma média de 27,29 °C no verão de 2006, e uma média de 21,90 °C no inverno de 2006. De toda a forma, é possível observar que os dois setores apresentam similaridades quanto à influência sazonal na temperatura da água, com algumas diferenças na estratificação térmica no momento da amostragem.

Figura 19. Temperatura média das águas próximas aos locais de coleta dos peixes.

Estudos na região de Cananéia realizados por Mishima *et al.* (1985) e Silva (1996) mostraram a influência sazonal sobre os locais de estudo, sobretudo revelados pelos valores de salinidade e de temperatura. No verão, a temperatura e a precipitação são maiores em ambos locais de estudo, resultando em um maior aporte de água doce para o complexo estuarino, que se reflete em menores valores de salinidade mostrado pelos autores *op cit.*

Além disso, independentemente da época do ano, observa-se uma nítida diferença de salinidade entre os dois setores de estudo (Fig. 20). Na região de Iguape, no Mar Pequeno, a média da salinidade entre o fundo e a superfície no verão foi de 0,07, enquanto que no inverno foi de 0,66. Próximo à Cananéia, a salinidade foi bem superior a de Iguape, com valores médios entre superfície e fundo de 21,98 no verão e 29,43 no inverno, demonstrando ser este um setor que recebe influência marinha regida pela maré, enquanto que o setor norte apresenta valores muito baixos de salinidade revelando a forte influência do aporte de água doce pelo Rio Ribeira de Iguape, através do Canal do Valo Grande. De acordo com a Resolução CONAMA nº 357/05, a água do Mar Pequeno, em sua porção mais ao norte pode ser classificada como do tipo doce (Salinidade < 5 UPS) e a água do Mar de Cananéia está dentro da classificação salobra ($5 \geq \text{salinidade} \leq 30$ UPS).

Figura 20. Salinidade média próxima aos locais de coleta de peixes.

Em um estuário, a variação temporal da salinidade é um fenômeno natural, mas as variações ocorridas no complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape foram fortemente influenciadas pela ação humana neste ecossistema. Essas variações foram registradas por diversos autores.

No ano de 1958, Kato (1966) observou valores de salinidade que variavam entre 14,00 e 29,39 na região do Mar de Cananéia, quando o Valo Grande estava aberto. Mishima *et al.* (1983) registraram valores de salinidade na região de Cananéia antes e depois da construção da barragem do Valo Grande. Estes autores apontam um aumento da salinidade após a construção da barragem, devido à diminuição do aporte fluvial através do canal artificial.

Miyao *et al.* (1986) observaram valores de salinidade no Mar de Cananéia superiores a 23 no verão de 1982 e, no inverno de 1979 superiores a 26, enquanto que no Mar Pequeno eles encontraram valores de salinidade em torno de 18. Estes autores observaram diferenças de salinidade entre o verão e o inverno no Mar de Cananéia como observado no presente estudo, que provavelmente podem estar relacionadas aos maiores índices de precipitação e, conseqüentemente, ao volume de água doce trazido pelos rios da região em cada época do ano. Assim como no presente estudo, os autores *op.cit.* também encontraram diferenças entre a salinidade no Mar de Cananéia e no Mar Pequeno, entretanto o valor encontrado neste último local foi bem superior ao encontrado pelo estudo atual, provavelmente devido ao volume de água doce trazido através do Valo Grande nos dias de hoje, após o rompimento de sua barragem, demonstrando uma mudança do ambiente na região de Iguape ao longo dos anos. Ainda com o Valo Grande fechado, Braga (1995) obteve valores médios de salinidade na região do Mar de Cananéia de 31,94 no verão de 1992 e de 28,82 no inverno do mesmo ano, mostrando que com o canal fechado, o estuário preserva suas condições halinas.

No estudo atual, os maiores valores de salinidade (~29) foram observados em Cananéia no inverno, valores superiores aos observados por Berbel (2008), que encontrou uma média de 20,31 no verão e 23,54 no inverno no Mar de Cananéia. Aguiar (2005) encontrou valores de salinidade de 8,05 a 32,10, sendo que estes valores correspondem a amostragens realizadas desde a região mais interna do Mar de Cananéia até a Baía de Trapandé.

Observado as condições termohalinas nos dois setores de estudo, nota-se que os valores de salinidade observados no setor norte não permitem a identificação de estratificação enquanto, no setor sul, a influência sazonal e da maré permitem a observação de pequena estratificação termohalina, principalmente no período de verão em Cananéia (setor sul).

Os valores de pH próximos a 8 (Tab. 3) na região de Cananéia revelam a maior a influência marinha, e apenas no período de verão estão associados a baixos valores de oxigênio, os quais estão abaixo de 4 mL L^{-1} , podendo estar associado a intensos processos de oxidação da matéria orgânica. Os valores de pH abaixo de 8 foram observados no setor norte, tanto no verão como no inverno, confirmando que as águas estão mais distantes da composição marinha apresentando menor capacidade de tamponamento neste setor.

Aguiar (2005) encontrou valores de pH no Mar de Cananéia, que variaram de 7,35 a 7,86 no inverno de 2003, e no verão de 2004 variaram de 7,39 a 7,72. Já Berbel (2008), encontrou valores médios de pH no Mar de Cananéia de 7,83 no verão de 2006 e 8,22 no inverno de 2006. No outono de 2007, Maluf (2009) observou valores de pH entre 8,24 e 8,30 na região do Mar de Cananéia e entre 7,29 e 8,08 no Mar Pequeno, corroborando com as diferenças de pH dos dois locais de estudo.

Em relação ao OD, no verão em Cananéia, ocorreram os menores valores (inferiores a $3,9 \text{ mL L}^{-1}$) e Iguape apresentou média de $4,43 \text{ mL L}^{-1}$ no verão (Tab. 3) enquanto que no inverno, os valores de OD em Cananéia e em Iguape foram maiores, passando de $5,11 \text{ mL L}^{-1}$ em ambos locais, uma vez que os gases se dissolvem mais na água em temperaturas mais baixas. Outros autores encontraram concentrações de OD um pouco menores no verão do que no inverno no Mar de Cananéia, como Berbel (2008) que obteve valores médios de OD no Mar de Cananéia de $3,82 \text{ mL L}^{-1}$ no verão de 2006 e $5,05 \text{ mL L}^{-1}$ no inverno de 2006; já Aguiar (2005) encontrou valores próximos de OD nas duas estações, com concentrações entre $4,22$ e $5,64 \text{ mL L}^{-1}$ no inverno de 2003 e $4,15$ a $5,40 \text{ mL L}^{-1}$ no verão de 2004. Braga (1995) encontrou valores médios de OD para a região do Mar de Cananéia de $4,29 \text{ mL L}^{-1}$ no verão de 1992 e $5,70 \text{ mL L}^{-1}$ no inverno de 1992 e Miyao *et al.* (1986) encontraram concentrações de OD acima de $4,0 \text{ mL L}^{-1}$ no verão de 1982, no Mar de Cananéia e concentrações acima de $5,0 \text{ mL L}^{-1}$, no verão de 1979 no Mar Pequeno. As condições de abertura e fechamento do Valo Grande também corroboraram para as diferenças de valores observadas pelos diversos autores.

De um modo geral, nenhuma situação de hipoxia ($<2,0 \text{ mL L}^{-1}$) foi verificada, mas os baixos valores observados no verão mostram a forte

condição de oxidação de matéria orgânica no período, sobretudo no sistema sul.

Os nutrientes, de um modo geral, são reportados em diversas pesquisas na região como não limitantes para a produção primária marinha (Braga 1995). No caso deste estudo, o silicato foi tomado como auxiliar na observação dos processos de entrada de água doce e de aportes terrestres diferenciados nos dois setores de estudo.

As concentrações de silicato dissolvido foram mais altas no norte do que no sul, devido às águas fluviais e aos aportes por drenagem e erosão continental. Esses valores estiveram entre 168 e 193 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de silicato dissolvido na água da região de Iguape, considerando os dois períodos sazonais amostrados, enquanto que os valores no sistema sul estiveram entre 25,40 e 35,69 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de silicato dissolvido.

Braga (1995) encontrou concentrações médias de silicato dissolvido no Mar de Cananéia superiores aos observados neste trabalho, 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com variação entre 0,0 e 314,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ no verão de 1992, quando o Valo Grande esteve fechado. Durante o inverno de 1992, a autora encontrou o valor médio de 8,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e os valores mínimo e máximo foram 3,7 e 13,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

No outono de 2007, Maluf (2009) realizou coletas em diferentes pontos no Mar de Cananéia e no Mar Pequeno e apontou concentrações de silicato dissolvido nitidamente menores em Cananéia do que em Iguape, assim como verificado neste estudo, com valores variando entre 6,06 e 11,94 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 320,74 e 614,08 $\mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente. Em Cananéia, o presente estudo encontrou concentrações de silicato dissolvido superiores aos observados por Maluf (2009); enquanto que em Iguape, os valores do referido autor foram superiores aos encontrados neste estudo. Embora tenham ocorrido flutuações temporais, a tendência se manteve, com maiores concentrações de silicato dissolvido no setor norte do sistema em relação ao sul. Concentrações estas que são uma ordem de grandeza superior no Mar Pequeno. Torna-se assim evidente os *inputs* terrestres associados à entrada de água doce no sistema norte, mostrado também pela baixa salinidade.

Os valores de MPS foram maiores em Cananéia do que em Iguape, em ambos os períodos (Tab. 3), o que corrobora com uma curiosidade já apontada nos estudos do LABNUT/IOUSP e destacada pela Prof^a Elisabete Braga, em *comunicação pessoal*, que existem valores de material em suspensão maiores referentes ao sistema Sul, embora o sistema norte apresente águas turvas e amarronzadas devido à maior carga de material fino transportado pelos rios, o que interfere na transparência como pode ser observado pelos valores de profundidade revelados pela penetração do Disco de Secchi (Tab. 3). A tabela 3 mostra que os valores de MPS foram maiores no período de verão do que de inverno, em ambos os locais de estudo, assim como verificado por Braga (1995). No entanto, a autora obteve valores bem inferiores aos encontrados neste estudo com variações entre 19,8 e 160,9 mg L⁻¹ no verão de 1992, enquanto que no inverno os valores estavam entre 19,8 e 33,8 mg L⁻¹.

Aguiar (2005) obteve valores de MPS no Mar de Cananéia entre 18,40 a 98,20 mg L⁻¹ no inverno de 2003, e entre 21,50 a 48,67 mg L⁻¹ no verão de 2004. Berbel (2008) encontrou valores médios de MPS na água de fundo do Mar de Cananéia maiores no inverno de 2006, com média de 41,89 mg L⁻¹, do que no verão do mesmo ano, que apresentou média de 24,13 mg L⁻¹.

Observando cada setor do sistema em estudo, comparando a época do ano, é possível notar uma variação sazonal dos parâmetros ambientais, sobretudo nos valores de salinidade e temperatura da água. Durante o verão, as temperaturas das águas registradas foram maiores do que no inverno, em ambos os setores, sendo que em Iguape as temperaturas estiveram sempre ligeiramente menores do que em Cananéia. Quanto à salinidade, foi observado que durante o verão, os valores foram menores que no inverno, tanto no Mar de Cananéia quanto no Mar Pequeno, pois a quantidade de chuva nessa época do ano, na região sudeste do país é bem maior do que no inverno. Os valores de OD foram maiores durante o inverno nas duas áreas de estudo, uma vez que os gases apresentam maior facilidade de se dissolverem na água com temperaturas mais baixas. Os valores de silicato mostram valores mais altos associados à maior contribuição terrestre e o material em suspensão mostra diferença de qualidade nos dois setores. Em suma, o setor sul mostra condições hídricas similares a um sistema estuarino preservado, embora exposto as influências e modificações humanas, enquanto que as águas do

setor norte sofrem forte influência antrópica realizada por meio da construção do canal do Valo Grande e de sua barragem, influenciando fortemente as características aquáticas dessa região. Assim, as condições hidrológicas e hidroquímicas em que os peixes estão expostos ao norte e ao sul do sistema são diferentes e revelam diferentes graus de interferência humana.

2. Parâmetros bióticos

2.1. Dados biométricos gerais

Para a realização deste estudo foi capturado um total de 75 bagres da espécie *Cathorops spixii*, sendo que durante o verão, 12 indivíduos foram obtidos em Cananéia e 20 em Iguape, enquanto que no inverno 16 indivíduos em Cananéia e 27 em Iguape (Tab. 4). A diferença no número de indivíduos capturados em Iguape e em Cananéia, tanto no verão como no inverno, se deve à diversidade de abundância nos diversos períodos e localidades. Nos arrastos realizados em Cananéia, em ambos os períodos de estudo, sempre foi coletado um número menor de indivíduos quando comparado ao número capturado em Iguape.

Tabela 4. Dados biométricos de todos os peixes (*C. spixii*) analisados neste estudo.

Local/Época	Nº de Peixes	Comprimento Total (mm) Média ± Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Peso Total (g) Média ± Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)
Cananéia Verão	12	172,6 ± 27,5 (141 - 225)	49,51 ± 26,73 (19,19 - 102,24)
Iguape Verão	20	177,3 ± 11,5 (156 - 210)	55,97 ± 12,28 (36,08 - 94,30)
Cananéia Inverno	16	171,3 ± 21,2 (152 - 231)	50,34 ± 22,76 (30,80 - 123,10)
Iguape Inverno	27	160,5 ± 10,1 (145 - 185)	37,37 ± 7,16 (27,42 - 59,47)

Camargo e Isaac (1998) observaram que os indivíduos da espécie *C. spixii* apresentaram maior biomassa em locais mais próximos ao rio Caetê, no Pará, do que da região marinha adjacente, o que de certa forma, corrobora com a maior facilidade de captura dos peixes na região de Iguape, a qual apresentou características mais próximas a um rio, enquanto que Cananéia mostrou características estuarinas com uma variação de salinidade mais ampla, como mostraram os dados abióticos descritos anteriormente. A presença de peixes desta espécie em águas com grande variação de salinidade é reportada por diversos trabalhos (Camargo & Isaac, 1998 Azevedo *et al.*, 1999; Rueda, 2001; Azevedo (2008); Absolon & Andreatta, 2009), o que assegurou sua presença ao longo de todo o complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape, requisito importante na utilização desta espécie em programas de monitoramento ambiental.

De um modo geral, os valores médios do comprimento total (CT) e do peso total (PT) (Tab. 4 e Fig. 21) apresentaram pouca variação, uma vez que os exemplares maiores foram escolhidos para compor esta pesquisa. No entanto, os peixes amostrados em Iguape, no verão, apresentaram tamanhos ligeiramente menores que os peixes coletados nas outras campanhas.

Figura 21. Valores médios de CT e PT dos bagres utilizados neste estudo.

A figura 22 mostra o intervalo de comprimento em que a maioria dos peixes capturados em cada setor, nas duas épocas do ano, esteve inserida. No verão, a maioria dos bagres de Cananéia apresentou comprimento total entre

153,75 e 182,00 mm e em Iguape eles estiveram entre 169,50 e 180,75 mm. Já no inverno de 2009, a maioria dos bagres de Cananéia esteve entre 157,5 e 183,5 mm, enquanto que os de Iguape estiveram entre 152,5 e 168 mm. Assim, todos os bagres coletados apresentaram CT acima dos valores estimados por Silva (1996) (124,5 mm para fêmeas e 139 mm para machos) para CT médio de primeira maturação gonadal. Porém, observa-se que os espécimes coletados em ambas as regiões e períodos sazonais apresentaram uma faixa de comprimento bem próxima, aumentando a possibilidade de similaridade de estágio de desenvolvimento fisiológico.

Figura 22. Valores de comprimento total de *C. spixii* em cada período de coleta apresentado com recurso do *boxplot*. Números entre parênteses representam a quantidade de peixes.

2.2. Elementos-traço em músculo de *C. spixii*

As concentrações de vários elementos químicos foram determinadas em tecido muscular de *C. spixii* capturados nos períodos de inverno e verão. Em Cananéia e Iguape, destaca-se que há uma variação no número de peixes analisados para determinação de cada elemento, uma vez que alguns indivíduos não forneceram material analítico suficiente para realizar todas as determinações analíticas. Desta forma, em cada análise química será sinalizada a quantidade de peixes (N) utilizada.

2.2.1. Chumbo (Pb)

As concentrações de Pb em músculo de algumas amostras estiveram abaixo do limite de detecção (LD) determinado neste trabalho como sendo $0,011 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido (Semmler, 2007). A figura 23 mostra que 50% dos peixes analisados do verão de Cananéia apresentaram concentrações abaixo do LD, enquanto que no mesmo período em Iguape este índice foi de 11,8%. No inverno, 25% dos bagres capturados em Cananéia e 63% dos capturados em Iguape estiveram com os teores abaixo do LD.

Figura 23. Porcentagem de indivíduos analisados que apresentaram concentrações de chumbo menor que o limite de detecção do método adotado no trabalho ($0,011 \mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido).

Quando acima do LD, os valores médios encontrados nos músculos dos peixes coletados (Tab. 5) mostraram-se baixos quando comparados ao limite máximo tolerado para peixes pela ANVISA (1998), que é de $2,0 \mu\text{g g}^{-1}$, sendo que, nem os maiores valores individuais encontrados chegaram próximos ao limite proposto pela legislação, não apresentando risco ao consumo humano, não isentando da exposição aos processos de bioconcentração.

Nota-se que os peixes analisados para Pb em Iguape, no período de inverno, de um modo geral, foram ligeiramente menores em comprimento e peso que os demais.

Tabela 5. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de Pb em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro sendo N = quantidade de bagres analisados; LD = 0,011 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido).

Local/Época	N	Comprimento Total (mm) Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Peso Total (g) Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Concentração de Pb no músculo ($\mu\text{g g}^{-1}$) Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	
				Peso Úmido	Peso Seco
Cananéia Verão/09	12	172,6 $\pm$ 27,5 (141 - 225)	49,51 $\pm$ 26,73 (19,19-102,24)	0,032 $\pm$ 0,036 (<0,011-0,106)	0,165 $\pm$ 0,190 (<0,058-0,550)
Iguape Verão/09	17	177,0 $\pm$ 11,4 (156 - 210)	55,90 $\pm$ 12,43 (36,08 - 94,30)	0,079 $\pm$ 0,101 (<0,011-0,405)	0,422 $\pm$ 0,532 (<0,058-2,133)
Cananéia Inverno/09	16	171,3 $\pm$ 21,2 (152 - 231)	50,34 $\pm$ 22,76 (30,80-123,10)	0,023 $\pm$ 0,013 (<0,011-0,043)	0,110 $\pm$ 0,060 (<0,058-0,212)
Iguape Inverno/09	27	160,5 $\pm$ 10,1 (145 - 185)	37,37 $\pm$ 7,16 (27,42-59,47)	0,028 $\pm$ 0,035 (<0,011-0,118)	0,151 $\pm$ 0,194 (<0,058-0,642)

É possível observar ainda que em Iguape, os valores médios em chumbo foram maiores do que em Cananéia. Também foram obtidos os maiores valores individuais em ambos os períodos em estudo, nos peixes coletados no Mar Pequeno. Os valores médios registrados em peso úmido e, sobretudo em peso seco, no verão em Iguape merecem atenção por estarem bem acima dos demais valores médios registrados, sem falar no alto valor máximo registrado no mesmo local e período (Tab. 5). Estes valores podem estar relacionados ao fato de que parte do Rio Ribeira deságua no Mar Pequeno através do Valo Grande, expondo os peixes ao chumbo que é lixiviado ao longo do trajeto do rio, no alto Ribeira, e trazido até a região estuarina. Durante o outono de 2007, Maluf (2009) mediu as concentrações de Pb dissolvido na água do complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape e verificou maiores concentrações deste elemento na região de Iguape, que

apresentou valor médio de $0,135 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que a região de Cananéia apresentou concentração média de $0,068 \mu\text{g L}^{-1}$. Além disso, os bagres do setor norte estão mais expostos ao chumbo presente no sedimento, que provavelmente foi trazido pelo Rio Ribeira através do Canal do Valo Grande (Guimarães, 2007). O teor de Pb nos sedimentos da região do Mar de Pequeno, próximo a Iguape é de $124,00 \mu\text{g g}^{-1}$ (Guimarães, *op. cit.*), enquanto que Aguiar *et al.* (2008) apontaram concentrações de Pb no sedimento da região do Mar de Cananéia mais baixas, variando de 20 a $35 \mu\text{g g}^{-1}$.

Em outubro de 1986, quando o Valo ainda estava barrado, os teores de Pb estiveram altos na desembocadura do Rio Ribeira, tanto na água como no sedimento, quando comparados ao restante do complexo estuarino segundo dado de Eysink *et al.* (1990). Estes autores também avaliaram a concentração de metais no músculo de organismos do Rio Ribeira e também da região estuarina de Cananéia-Iguape. Em relação ao chumbo, os teores nas espécies coletadas no Rio Ribeira variaram de $<0,27$ a $172,0 \mu\text{g g}^{-1}$, enquanto que as espécies capturadas na região estuarina apresentaram concentrações entre $<0,27$ e $2,23 \mu\text{g g}^{-1}$. Em uma espécie de bagre (*Genidens genidens*) capturada na região de Iguape, os autores encontraram valores de $0,52 \mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido.

Os valores médios encontrados do presente estudo (Tab. 5), também mostram uma menor concentração de Pb no músculo dos bagres em ambos os setores em estudo, do verão de 2009 para o inverno do mesmo ano, talvez devido ao menor aporte do Rio Ribeira, ou a fatores ambientais (temperatura, salinidade, pH, OD, etc.), ou biológicos (mudança de dieta, metabolismo, etc.). Joyeux *et al.* (2004) também encontraram concentrações médias de Pb no músculo de tainhas e robalos capturados na Baía de Vitória, ES, maiores no verão ($0,29 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido) do que no inverno ($0,21 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido).

Considerando os valores das medianas de Pb em músculo (peso úmido) (Figura 24) observa-se uma proximidade entre os valores de verão e inverno em Cananéia, enquanto que em Iguape a diferença se mantém. A figura 24 também mostra que as faixas de valores encontrados em Iguape em ambos os períodos, foram mais heterogêneas, com maiores intervalos;

enquanto que em Cananéia as concentrações de chumbo no músculo foram mais homogêneas. No entanto, observa-se que no inverno, em Cananéia, os peixes apresentaram maior variação da concentração de Pb no músculo, apesar dos valores próximos das medianas, $0,018 \mu\text{g g}^{-1}$ no verão e $0,021 \mu\text{g g}^{-1}$ no inverno (ambos em peso úmido).

Figura 24. Concentração de Pb no músculo dos indivíduos da espécie *C. spixii*, coletados em cada local e época do ano, apresentados em *boxplot*. Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.

Kirschbaum (2010) também realizou estudo com *C. spixii* do Mar de Cananéia no inverno de 2008 e verão de 2009. A autora encontrou os seguintes teores de Pb no músculo de *C. spixii*: $0,041$ e $0,040 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido), nos respectivos períodos de seu estudo. Estes valores foram superiores aos encontrados nos bagres do presente estudo na região de Cananéia (Mar de Cananéia), tanto verão como no inverno (Fig. 25). Tal diferença pode residir no fato da autora ter realizado análise de um *pool* de amostra de bagres deste local. Estes valores só não foram maiores do que aquele observado em Iguape/Inverno (Tab. 5). A autora *op. cit.* também obteve valores em outras duas regiões, Paranaguá e Santos, onde compara a bioconcentração de Pb observando que dentre os três locais, os bagres de Cananéia apresentaram os maiores teores desse elemento no músculo. Isto pode estar associado às atividades de mineração de Pb realizadas no passado,

na região do Alto Ribeira. Ao observar ainda os dados da autora *op. cit.* e os do presente trabalho (Fig. 25) nota-se menores valores de Pb no músculo de bagre-amarelo da região de Cananéia com o passar do tempo, podendo indicar um processo de recuperação do ambiente.

Figura 25. Concentração de Pb no músculo de *C. spixii* coletados na região de Cananéia.

* Kirschbaum (2010)

** Presente estudo

Ao comparar as concentrações de Pb no músculo do bagre com as biometrias tomadas (CT e PT) nota-se baixas correlações (Figs. 26 e 27). Em outubro de 1986, Eysink *et al.* (1990) coletaram bagres no Rio Ribeira, na região do Alto Ribeira, e observaram correlação entre o tamanho/peso e concentrações de Pb no músculo, onde os indivíduos maiores apresentaram concentrações maiores deste elemento no músculo.

A região do Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape é considerada de baixo impacto antrópico, quando comparada a outras regiões costeiras. Porém nota-se que a influência das águas do rio Ribeira, aportadas à região estuarina pelo Valo grande, atuam no sistema abaixando a salinidade a zero mostrando a forte relação destes valores baixos de salinidade com os maiores valores de Pb encontrados nos exemplares de *C. spixii* capturados no verão em Iguape (Fig. 28).

Figura 26. Relação entre o Comprimento Total e a concentração de Pb no músculo de *C. spixii*.

Figura 27. Relação entre Peso Total (PT) e concentração de Pb no músculo de *C. spixii*.

Em uma região costeira brasileira considerada contaminada por esgotos domésticos e industriais, na Baía de Vitória, ES, Joyeux *et al.* (2004) realizaram um estudo com robalos e tainhas. Estes autores encontraram concentrações médias de Pb em músculos de tainha e robalo uma ordem de grandeza superior aos valores obtidos no atual estudo, 0,27 µg g⁻¹ no verão e 0,23 µg g⁻¹ no inverno, ambos em peso úmido.

Figura 28. Medianas das concentrações de Pb no músculo de *C. spixii* e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.

Algumas regiões costeiras apresentaram faixas de concentrações de Pb no músculo parecidas ou menores que os teores encontrados no presente trabalho. Em estudo realizado na França, ao comparar a concentração de Pb no músculo de peixes capturados em regiões com diferentes graus de impactos foi observado que as maiores concentrações foram detectadas naqueles indivíduos dos locais mais expostos aos poluentes. No entanto, a faixa de concentração encontrada para todos os locais foi similar à observada no presente estudo, variando entre 0,01 e 0,12 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco (Henry *et al.*, 2004). Na Rússia, em uma região de exploração de óleo e gás, Latkovskaya (2000) encontrou concentrações médias de Pb no músculo de uma espécie de peixe demersal de 0,009 $\mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido, estando abaixo dos valores obtidos no presente trabalho.

No entanto, diversos outros trabalhos realizados em regiões costeiras do mundo expostos a diversos tipos de poluentes têm demonstrado maior acumulação de Pb nos peixes do que os valores apresentados nesta dissertação e os valores estão apresentados na tabela 6.

No Vietnã, um estudo comparando a concentração de Pb em músculo de uma espécie de bagre de água doce (*Clarias fucus*) em um local poluído com outro não poluído, mostrou concentrações abaixo de 0,25 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco) em ambos locais (Wagner & Boman, 2003). No entanto, as

concentrações no fígado revelaram a diferença de influência antrópica entre os locais estudados por estes autores, em que o local mais poluído apresentou concentração média de Pb no fígado de $1,6 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco), com valores entre $0,35\text{--}1,4 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco); enquanto que no local considerado controle, a média de Pb no fígado foi de $0,73 \pm 0,36 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco), com concentrações entre $0,35\text{--}1,4 \mu\text{g g}^{-1}$, em peso seco. Isso demonstra a maior capacidade de bioconcentração do Pb pelo fígado, como também foi observado por Latkovskaya (2000).

Em um estuário com histórico de contaminação por metais na Espanha, Vicente-Martorell *et al.* (2009) encontraram concentrações médias de Pb no músculo de *Sparus aurata* e de *Solea senegalensis* de $0,32$ e $0,40 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco, respectivamente. Cui *et al.* (2011) também encontraram concentração de Pb no músculo de $0,32 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco em uma espécie de bagre de água doce da região do Delta do Rio Amarelo, na China. Estes teores são maiores do que os teores médios encontrados no presente trabalho, com exceção de Iguape/Verão (Tab. 6).

Abdallah (2008) realizou um estudo das concentrações de cinco elementos traços em músculos de diversas espécies de peixes de duas regiões costeiras impactadas por atividades industriais, agrícolas e portuárias do Mar Mediterrâneo. Em uma das regiões, foi encontrado variação de $0,94$ a $6,49 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco, enquanto que na outra localidade as concentrações de Pb variaram entre $<0,02$ e $3,27 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco. Outro local que apresentou grande variação de concentração de Pb no músculo de peixes foi na costa do Kwait, onde os teores médios entre as espécies variaram entre $0,008$ a $14,6 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco (Bu-Olayan & Subrahmanyam, 1996). Os autores consideram os altos teores de Pb associados ao uso de gasolina contendo Pb.

Estudo em uma baía localizado no sul do Mar Báltico com a espécie de peixe demersal *Perca fluviatilis* mostrou concentrações individuais de Pb no músculo semelhantes ao atual estudo, variando de $0,003\text{--}0,073 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido) (Szefer *et al.*, 2003).

Nos Estados Unidos, seis espécies de peixes capturados em três estuários da Califórnia foram analisadas em relação a concentrações de metais

em músculo. O Pb apresentou concentrações médias variando de valores $<0,5$ até $2,2 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco (Cohen *et al.*, 2001).

Estes estudos pelo mundo apontam o maior grau de bioconcentração de Pb nos peixes das regiões abordadas em cada trabalho do que a região do complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape, refletindo o maior impacto humano nessas regiões, porém não elimina a preocupação de monitoramento do setor norte do Complexo Estuarino-Lagunar em estudo.

Tabela 6. Concentrações de Pb no músculo obtidos por diverso autores em diverso locais do mundo (* valor em peso úmido).

Local	Organismo	Valores encontrados de Pb $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco)	Referência
Kwait	Peixes costeiros	0,008 - 14,6	Bu-Olayan & Subrahmanyam (1996)
Rússia	Peixe demersal	0,009 *	Latkovskaya (2000)
Califórnia, Estados Unidos	6 espécies de peixes	< 0,5 - 2,2	Cohen <i>et al.</i> (2001)
Sul do Mar Báltico	<i>Perca fluviatilis</i>	0,003 - 0,073	Szefer <i>et al.</i> (2003)
Vietnã	Bagre de água doce (<i>Clarias fucus</i>)	<0,25	Wagner & Boman (2003)
França	4 espécies de peixe estuarino-demersais	0,01 - 0,12	Henry <i>et al.</i> (2004)
Mar Mediterrâneo	Diversas espécies de peixes	<0,02 - 6,49	Abdallah (2008)
Hueva, Espanha	<i>Sparus aurata</i> (peixe pelágico)	0,32	Vicente-Martorell <i>et al.</i> (2009)
	<i>Solea senegalensis</i> (peixe demersal)	0,40	
Delta do Rio Amarelo, China	Catfish (<i>Chaeturichthys stigmatias</i>)	0,32 $\pm$ 0,04	Cui <i>et al.</i> , (2011)
Complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape	Bagre amarelo (<i>Cathorops spixii</i>)	0,165 $\pm$ 0,190 (Cananéia/Verão) (<0,058-0,550)	Este estudo
		0,422 $\pm$ 0,532 (Iguape/Verão) (<0,058-2,133)	Este estudo
		0,110 $\pm$ 0,060 (Cananéia/Inverno) (<0,058-0,212)	Este estudo
		0,151 $\pm$ 0,194 (Iguape/Inverno) (<0,058-0,642)	Este estudo

2.2.2. Mercúrio (Hg)

As concentrações médias dos parâmetros biométricos e da concentração de Hg no músculo dos bagres amarelos estão apresentadas na tabela 7.

Apenas um peixe apresentou teor de Hg abaixo do limite de detecção do método ($1,0 \text{ ng g}^{-1}$), em Iguape, no período de inverno.

Nenhum indivíduo analisado apresentou concentrações de Hg acima do limite máximo estabelecido pela ANVISA (1998), de 1.000 ng g^{-1} em peso úmido (para peixes predadores), não apresentando níveis de contaminação do peixe por este elemento. Estudo realizado em 1986 na mesma região (Eysink *et al.*, 1990) também encontrou teores abaixo deste limite, com concentrações de Hg no músculo variando entre $<0,02$ e $0,72 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido, mostrando um intervalo maior que os valores da tabela 7. Os dados destes autores mostram que metade das espécies de peixes estudada apresentou concentrações menores que $0,02 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido, enquanto que em uma espécie de bagre (*Genidens genidens*) capturada no Mar Pequeno, próxima a Iguape, apresentou teor médio de Hg no músculo de $0,21 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido, valor próximo do encontrado em Iguape-Inverno/09.

Tabela 7. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de Hg em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro sendo N = quantidade de bagres analisados; LD = $1,0 \text{ ng g}^{-1}$ (peso úmido).

Local/ Época	N	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Concentração de Hg no músculo (ng g^{-1})	
		Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo – Máximo) Peso Úmido	Peso Seco
Cananéia Verão/09	12	$172,6 \pm 27,5$ (141 - 225)	$49,51 \pm 26,73$ (19,19-102,24)	$16,33 \pm 6,83$ (7,09 - 32,31)	$83,01 \pm 37,09$ (33,63 - 170,90)
Iguape Verão/09	17	$177,0 \pm 11,4$ (156 - 210)	$56,90 \pm 12,43$ (36,08 - 94,30)	$20,15 \pm 6,67$ (6,76 -35,17)	$107,77 \pm 34,99$ (38,18 - 185,20)
Cananéia Inverno/09	16	$171,3 \pm 21,2$ (152 - 231)	$50,34 \pm 22,76$ (30,80 - 123,10)	$10,31 \pm 4,12$ (1,59 - 17,98)	$49,39 \pm 20,03$ (7,40 - 88,44)
Iguape Inverno/09	27	$160,5 \pm 10,1$ (145 - 185)	$37,37 \pm 7,16$ (27,42 - 59,47)	$12,62 \pm 4,12$ ($<\text{LD}$ - 23,47)	$67,71 \pm 23,23$ ($<\text{LD}$ - 127,80)

Outros locais do mundo apresentam teores superiores aos encontrados no presente estudo. Um exemplo é a região da Flórida, nos Estados Unidos, onde Adams & Onorato (2005) coletaram peixes de uma espécie demersal, *Sciaenops ocellatus*, em nove regiões estuarinas e da costa adjacente da Flórida, de abril de 1990 a abril de 2002. O menor valor de Hg encontrado no músculo de todos os peixes coletados foi $0,020 \mu\text{g g}^{-1}$, enquanto que o maior foi $3,6 \mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido. Entre os valores médios descritos pelos autores de cada local houve variação de $0,17$ e $1,7 \mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido.

Entretanto, trabalhos realizados com outras espécies de peixes na costa brasileira apresentaram concentrações variadas de Hg no músculo dos indivíduos. Em estudo realizado com diversas espécies de peixes da costa fluminense, RJ, capturados entre fevereiro e outubro de 1998, apresentaram valores médios de Hg $0,005$ a $0,061 \mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido (Sellanes *et al.*, 2002), com mesma ordem de grandeza, mas com variação maior que o presente estudo. Almeida *et al.* (2008) encontraram concentrações de Hg no músculo de peixes demersais das regiões de Vitória, Atafona, Macaé, Arraial do Cabo e São Sebastião (região sudeste do Brasil) abaixo de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido).

Os valores medianos de Hg no músculo de *C. spixii* comparados a algumas variáveis abióticas (Fig. 29), mostram que este elemento apresentou maiores concentrações no verão, tanto em Cananéia quanto em Iguape, quando os valores de temperatura foram maiores e os de OD e pH menores, em ambos locais. Além disso, ao comparar as duas áreas de estudo em cada período de coleta, nota-se que as concentrações encontradas em Iguape foram sempre maiores do que em Cananéia (Fig. 30). No entanto, ao observar cada região em separado, comparando inverno e verão, nota-se que as concentrações de Hg no músculo foram maiores quando a concentração de OD e a salinidade foram menores (verão), para ambos os setores (Fig. 29).

Em outras regiões do mundo, também foram observadas variações sazonais da concentração de mercúrio no músculo de peixes. No Golfo Pérsico, as concentrações de Hg em músculo de peixes demersais foram maiores no inverno (Janeiro a Março de 2010, estação chuvosa) do que no verão (Julho a Setembro de 2009, que é a estação seca), assim como foi

observado no presente estudo (Saei-Dehkordi *et al.*, 2010). Os valores médios de Hg no músculo das diferentes espécies de peixes demersais do Golfo Pérsico estiveram entre 0,178 e 0,380 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido) no verão; enquanto que no inverno, variaram entre 0,130 e 0,532 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido). No Mar Báltico, Szefer *et al.* (2003) também encontraram maiores concentrações de Hg no músculo da espécie de peixe demersal, *Perca fluviatilis*, no período de inverno. Os autores encontraram concentrações de Hg no músculo variando de 0,025 – 0,215 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido).

Figura 29. Medianas das concentrações de Hg no músculo de *C. spixii* e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.

A relação entre a concentração de Hg no músculo dos bagres com as variáveis biométricas está apresentada nas figuras 31 e 32, e não se observou correlação entre estes parâmetros. Entretanto, Azevedo (2008) ao analisar a relação entre o comprimento dos indivíduos de *C. spixii* da região de Santos/São Vicente e de Cananéia observou uma correlação positiva e significativa, tanto para o inverno quanto para o verão, em ambos os estuários, sugerindo a influência do tamanho dos indivíduos sobre os teores individuais de mercúrio total. Em outro estudo com *C. spixii* no estuário do Rio Goiana, localizado entre Pernambuco e a Paraíba, mostrou correlação fraca entre o comprimento padrão e a concentração de Hg no músculo, provavelmente

devido ao fato da autora ter analisado indivíduos de uma mesma classe de tamanho e fase de vida (adultos) (Barbosa, 2010), como também ocorrera no presente trabalho. Peixes marinhos coletados na costa fluminense, RJ, não apresentaram correlação significativa entre tamanho e a concentração de Hg no músculo, exceto os indivíduos menores que 40 cm (Sellanes *et al.*, 2002).

Figura 30. Concentração de Hg no músculo dos indivíduos da espécie *C. spixii*, coletados em cada local e época do ano, apresentados em *boxplot*. Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.

Estudos com outras espécies de peixes realizados em outros locais do mundo apontaram relações positivas entre os tamanhos dos peixes e a concentração de Hg no músculo, em que os maiores indivíduos apresentaram maiores concentrações deste elemento (Stronkhorst, 1992; Szefer *et al.*, 2003). Esta correlação se deve, provavelmente, à bioafinidade específica da matéria orgânica ao metil-mercúrio, que constitui o *pool* dominante de mercúrio total no músculo de peixe (Szefer *et al.*, 2003).

Figura 31. Relação entre Comprimento Total (CT) e Concentração de Hg no músculo de *C. spixii*.

Figura 32. Relação entre Peso Total (PT) e Concentração de Hg no músculo *C. spixii*.

Recentemente, a recomendação da espécie *C. spixii* na avaliação de bioconcentração de Hg no músculo tem sido utilizada em diferentes locais do Brasil. No estudo realizado no estuário do Rio Goiana (PE/PB) foi encontrada concentração média de Hg total no músculo de 454,5 ng g⁻¹ (peso seco), acima

dos valores encontrados na região de Cananéia-Iguape, com teores variando entre 94,7 e 1560,8 ng g⁻¹ (peso seco) (Barbosa, 2010). A concentração média de Hg (31,8 ng g⁻¹ em peso úmido) encontrada em espécimes coletados no Rio Jaguaribe (CE) esteve na mesma faixa do atual estudo, com teores variando entre 9,7 e 66,1 ng g⁻¹ (peso úmido) (Costa, 2009 *apud* Barbosa, 2010).

Azevedo *et al.* (2009) coletaram indivíduos de *C. spixii* na região estuarina de Cananéia e na Baía de Santos, litoral paulista em janeiro de 2005, e avaliaram os teores de mercúrio nos músculos. Os autores encontraram concentrações médias de Hg no músculo de 0,07 µg g⁻¹, em peso úmido para a região de Cananéia e de 0,06 µg g⁻¹ (peso úmido) para Santos. Em outro estudo realizado com *C. spixii* na região de Santos (Farias *et al.*, 2005), também em janeiro de 2005, revelou o mesmo valor obtido por Azevedo *et al.* (2009). Estes valores apresentam a mesma ordem de grandeza obtida no atual trabalho, porém eles foram maiores daqueles aqui encontrados.

Kirschbaum (2010) realizou análises de Hg total em amostras compostas de músculos de *C. spixii*, sendo uma amostra para cada local coletado (estuários de Cananéia, Paranaguá e Santos). A autora encontrou concentrações de 22, 22 e 18 ng g⁻¹ (peso úmido) respectivamente, em cada local, no inverno de 2008. No verão as concentrações foram (ng g⁻¹ em peso úmido) 11,9 18,8 e 16,0 em Cananéia, Paranaguá e Santos, respectivamente. Ao observar os dados de Hg no músculo de *C. spixii* coletados na região de Cananéia obtidos por Kirschbaum (2010) e aqueles do presente estudo (Fig. 33) nota-se uma diferença nos valores entre o período comum dos trabalhos, verão/09. A autora citada encontrou concentrações maiores no período de inverno, enquanto que os dados apresentados nesta dissertação mostram o contrário.

Figura 33. Concentrações de Hg no músculo de *C. spixii* coletados na região do Mar de Cananéia.

* Kirschbaum (2010)

** Presente estudo

2.2.3. Cádmio (Cd)

As concentrações médias de Cd no músculo dos bagres capturados em cada setor e período desse estudo estão apresentadas na tabela 8.

Ao comparar as médias obtidas com o limite máximo tolerado para Cd em peixes (1.000 ng g^{-1} em peso úmido) de acordo com a legislação brasileira (ANVISA, 1998), observa-se que os bagres capturados em ambos locais e períodos do estudo apresentaram concentrações baixas desse elemento no músculo, não apresentando risco ao consumo pela população.

No verão de 2009, todos os peixes analisados apresentaram concentração de Cd no músculo maior que o LD (1 ng g^{-1} , em peso úmido), enquanto que no inverno de 2009, diversos peixes apresentaram concentrações abaixo do LD, sendo 56,25 % em Cananéia e 51,90 % em Iguape. Além disso, no verão observou-se que as concentrações médias de Cd nos peixes capturados em Cananéia foram ligeiramente maiores do que aquelas obtidas em Iguape, com 2,88 e $2,80 \text{ ng g}^{-1}$, respectivamente em peso úmido. No inverno de 2009, ocorreu uma diminuição da concentração de Cd no músculo dos bagres capturados em ambos os locais, sendo que em Iguape apresentou mediana maior do que em Cananéia, 1,88 e $1,77 \text{ ng g}^{-1}$,

respectivamente (Fig. 34). Este fato também foi observado em peixes estuarinos (robalos e tainhas) da Baía de Vitória, ES, que apresentaram concentrações ligeiramente maiores no verão ($0,031 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido) que no inverno ($0,024 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido) (Joyeux *et al.*, 2004).

Tabela 8. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de Cd em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro sendo N = quantidade de bagres analisados; LD = $1,0 \text{ ng g}^{-1}$ (peso úmido).

Local/ Época	N	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Concentração de Cd no músculo (ng g^{-1})	
		Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo – Máximo) Peso Úmido	Peso Seco
Cananéia Verão/09	12	$172,6 \pm 27,5$ (141 - 225)	$49,51 \pm 26,73$ (19,19-102,24)	$2,88 \pm 0,70$ (2,14 - 4,68)	$14,56 \pm 3,90$ (9,93-24,75)
Iguape Verão/09	17	$177,0 \pm 11,4$ (156 - 210)	$55,90 \pm 12,43$ (36,08 - 94,30)	$2,80 \pm 0,84$ (1,62 - 4,01)	$15,03 \pm 4,57$ (9,14-22,13)
Cananéia Inverno/09	16	$171,3 \pm 21,2$ (152 - 231)	$50,34 \pm 22,76$ (30,80-123,10)	$1,77 \pm 0,57$ (<LD - 2,86)	$8,52 \pm 2,89$ (<LD-13,95)
Iguape Inverno/09	27	$160,5 \pm 10,1$ (145 - 185)	$37,37 \pm 7,16$ (27,42 - 59,47)	$1,88 \pm 1,51$ (<LD - 6,77)	$9,41 \pm 7,83$ (<LD - 36,88)

Os valores próximos de Cd no músculo de *C. spixii*, tanto no verão quanto no inverno, entre Cananéia e Iguape, podem ser corroborados com os dados de Cd dissolvidos nas águas amostradas na região do Mar de Cananéia ($0,011 \mu\text{g L}^{-1}$) e do Mar Pequeno ($0,014 \mu\text{g L}^{-1}$), obtidos por Maluf (2009) no outono de 2007. As concentrações de Cd nos sedimentos do Mar de Cananéia foram determinados por Aguiar *et al.* (2008) e variaram de 4 a $5,3 \mu\text{g g}^{-1}$. A diferença sazonal encontrada, tanto em Cananéia quanto em Iguape, pode estar associada a fatores ambientais, como a temperatura da água, OD e o pH (Fig. 35), ou até mesmo pode estar associada a variáveis biológicas (estágio de vida, mudança de dieta, sexo, etc.).

Figura 34. Concentração de Cd no músculo dos indivíduos da espécie *C. spixii*, coletados em cada local e época do ano, apresentados em *boxplot*. Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.

Figura 35. Medianas das concentrações de Cd no músculo de *C. spixii* e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.

Não foi verificada correlação significativa entre o tamanho/peso do peixe com a concentração de Cd no músculo (Figs. 36 e 37), porém outros autores observaram correlações positivas entre a concentração Cd no músculo e o tamanho/peso dos robalos (*Centropomus sp*) (Joyeux *et al.*, 2004).

Figura 36. Relação entre o Comprimento Total (CT) e a concentração de Cd no músculo de *C. spixii*.

Figura 37. Relação entre o Peso Total (PT) e a concentração de Cd no músculo de *C. spixii*.

Em estudo recente com *C. spixii* na região de Cananéia, também realizado no verão de 2009, mostrou que a concentração de Cd no músculo esteve abaixo de 1 ng g^{-1} (LD), e no inverno de 2008 $1,68 \text{ ng g}^{-1}$, ambos em peso úmido (Kirschbaum, 2010). O valor obtido no inverno por esta autora está próximo do valor obtido no inverno do atual estudo. No entanto, o presente trabalho registrou maiores concentrações no verão do que no inverno na região

de Cananéia, o contrário do encontrado por (Kirschbaum, 2010), como apresenta a figura 38. Outras duas regiões estudadas pela autora, Paranaguá e Santos, apresentaram concentrações de 1,77 e 2,9 ng g^{-1} (peso úmido), respectivamente, no inverno de 2008; enquanto que no verão de 2009 as concentrações foram menores do que 1 ng g^{-1} (peso úmido), em ambos locais.

Figura 38. Concentração de Cd no músculo de *C. spixii* coletados na região de Cananéia.

* Kirschbaum (2010)

** Presente estudo

Os estudos em outros locais da região sudeste do Brasil também apresentaram concentrações baixas de Cd no músculo de peixes. Almeida *et al.* (2008) encontraram concentrações de Cd no músculo de peixes demersais das regiões de Vitória, Atafona, Macaé, Arraial do Cabo e São Sebastião, abaixo de 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido. Na Baía de Vitória (local que apresenta diversas fontes de poluição), os teores de Cd encontrados foram uma ordem de grandeza maior que os dados aqui apresentados. A concentração média de Cd nos músculos dos robalos foi de 0,026 com variação entre 0,010 e 0,039 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido, enquanto que as tainhas apresentaram concentração média de 0,030 com teores entre 0,020 e 0,040 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido. Estas concentrações foram semelhantes ao reportado em duas espécies de peixes demersais de um estuário contaminado da Espanha e encontrou média de 0,01

$\mu\text{g g}^{-1}$, em peso seco para cada espécie de peixes (Vicente-Martorell *et al.*, 2009). Teores com a mesma ordem de grandeza de Cd no músculo foram verificados em peixes capturados em um local considerado poluído por indústria de carvão ($0,02 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco) e também em local considerado controle ($0,01 \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco), ambos no Vietnã (Wagner & Boman, 2003)

Estudo em uma baía localizada no sul do Mar Báltico com a espécie de peixe demersal *Perca fluviatilis* mostrou concentrações individuais de Cd no músculo variando de $0,002$ – $0,043 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido) (Szefer *et al.*, 2003). Na Rússia, em uma região de exploração de óleo e gás, Latkovskaya (2000) encontrou concentrações médias de Cd no músculo de uma espécie demersal de $0,007 \mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido, estando abaixo dos valores obtidos no presente trabalho.

Entretanto, peixes de determinados locais do mundo apresentaram teores de Cd no músculo bem superiores aos observados no presente estudo. Em três estuários da Califórnia, Estados Unidos, seis espécies de peixes foram analisadas em relação a concentrações de Cd no músculo, que apresentaram concentrações médias variando de valores abaixo de $0,2$ até $0,90 \mu\text{g g}^{-1}$, em peso seco (Cohen *et al.*, 2001); enquanto que Alquezar *et al.* (2006) observaram valor médio de $1,5 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco em peixes coletados no Lake Macquarie, uma região industrial da Austrália. Asante *et al.* (2008) avaliaram as concentrações de diversos elementos traço em músculos de peixes oceânicos coletados em novembro de 2001 e 2002, de águas rasas (até 200 m de profundidade) e profundas (acima de 200 m de profundidade), no Mar do Leste da China. O menor valor apresentado para Cd foi $0,037 \mu\text{g g}^{-1}$ e o maior $5,52 \mu\text{g g}^{-1}$, ambos em peso seco.

2.2.4. Arsênio (As)

A tabela 9 mostra os resultados das concentrações médias de As no músculo de *C. spixii* e também das variáveis biométricas em ambos os locais de estudo, nos dois períodos de coleta.

Tabela 9. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de As em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro sendo: N = quantidade de bagres analisados. Valores em negrito indicam que estão acima do limite ($1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido) tolerado em peixes pela ANVISA (1998).

Local/ Época	N	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Concentração de As no músculo ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
		Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo – Máximo) Peso Úmido	Peso Seco
Cananéia Verão/09	11	173,5 $\pm$ 28,6 (141 - 225)	49,94 $\pm$ 27,99 (19,19-102,24)	6,75 $\pm$ 4,06 (2,43-15,60)	33,90 $\pm$ 20,12 (11,62-78,63)
Iguape Verão/09	20	177,3 $\pm$ 11,5 (156 - 210)	55,97 $\pm$ 12,28 (36,08 - 94,30)	0,44 $\pm$ 0,27 (0,07 - 1,12)	2,39 $\pm$ 1,46 (0,37 - 5,92)
Cananéia Inverno/09	16	171,3 $\pm$ 21,2 (152 - 231)	50,34 $\pm$ 22,76 (30,80-123,10)	7,70 $\pm$ 3,25 (1,23-12,62)	36,55 $\pm$ 15,19 (6,78 - 60,45)
Iguape Inverno/09	27	160,5 $\pm$ 10,1 (145 - 185)	37,37 $\pm$ 7,16 (27,42 - 59,47)	0,84 $\pm$ 0,77 (0,38 - 4,42)	4,46 $\pm$ 4,01 (2,08 - 23,14)

Os bagres capturados no Mar de Cananéia apresentaram concentrações médias de As total no músculo maiores que o limite estipulado pela legislação brasileira (ANVISA, 1998), $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido, tanto no verão quanto no inverno de 2009. Enquanto que em Iguape, apenas alguns indivíduos apresentaram valores acima do limite permitido e o valor médio encontrado em ambos os períodos de estudo estão abaixo do valor estabelecido pela ANVISA (1998). Os valores em Cananéia chegaram a mais do que dez vezes o valor estipulado pela lei, apresentando risco ao consumo humano. Porém, pode ser que estes valores não sejam tão preocupantes, uma vez que a maior parte dos compostos arsênicos presentes em peixes marinhos são orgânicos (Klump & Peterson, 1979), principalmente na forma de arsenobetaina, e não são tóxicos ao homem (Li *et al.*, 2003; Borak & Hosgood, 2007; Peshut *et al.*, 2008), porém é preciso ficar atento a estes elevados níveis, uma vez que o arsênio é considerado uma substância altamente perigosa (ATSDR, 2007).

Assim, observa-se que as maiores concentrações de As no músculo foram encontradas em peixes obtidos no local com maior grau de preservação

(Fig. 39), e com características de um estuário, com maiores valores de salinidade e em ambos os períodos (Cananéia) (Fig. 40). Tal fato corrobora com o estudo de Clowes e Francesconi (2004), que mostrou uma relação direta entre a salinidade e a acumulação de arsenobetaína em mexilhão, sendo este um componente bioativo positivo encontrado em organismos marinhos o que não ocorre em organismos de água doce. O principal efeito fisiológico da betaína é atuar como um osmólito protegendo as células, proteínas e enzimas de estresse ambiental (como alta salinidade ou temperatura extrema) (Craig, 2004).

Figura 39. Concentração de As total no músculo dos indivíduos da espécie *C. spixii*, coletados em cada local e época do ano, apresentados em *boxplot*. Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.

Figura 40. Medianas das concentrações de As total no músculo de *C. spixii* e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.

Em um estuário mundialmente conhecido pela contaminação por metais pesados na Espanha foram encontradas concentrações médias de As no músculo de peixes (*Sparus aurata* e *Solea senegalensis*) menores que o reportado neste trabalho, porém elevados, de 4,57 e 3,29 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido), em cada espécie respectivamente, sendo que estes peixes habitavam águas com salinidades superiores a 30 (Vicente-Martorell *et al.*, 2009). Estes autores encontraram concentrações variando de 1,15 a 7,46 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido) em *S. aurata* e de 0,47 a 14,04 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido) em *S. senegalensis*.

Em estudo realizado na região de Santos (Kuniyoshi, 2008), duas espécies de peixes coletadas em ambientes com salinidades distintas mostraram que os peixes provenientes do local em que a água tinha maior salinidade apresentavam maiores concentrações de As no músculo, como observado no presente estudo, sendo que na espécie *Micropogonias furnieri*, foram encontrados concentrações de As no músculo variando de 4,11 a 12,22 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido), com média de 6,82 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido), enquanto que na espécie *Chaetodipterus faber* foi encontrado teores variando entre 0,56 e 1,45, com média de 0,93 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido). Entretanto, em outra espécie coletada nas mesmas águas marinhas da região santista, *Steliffer rastriifer*, os teores de As no músculo foram menores variando de 0,25 a 0,80 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido) com média de 0,45 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido). No local com água salobra, foram encontradas nos músculos de *M. furnieri* concentrações variando entre 0,35 e 1,83, com média de 0,89 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido), enquanto que em *C. faber* apresentou concentrações entre 0,56 e 0,57 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido).

Como já observado, a espécie *C. spixii* suporta ampla variação de salinidade, sendo escolhida nesta pesquisa, pois pôde ser encontrada nos dois setores em estudo que apresentaram características hidroquímicas distintas. O processo de acumulação de As nos indivíduos expostos a diferentes condições halinas revelam diferenças no processo de bioconcentração de As, como observado em outros trabalhos (Kuniyoshi *op cit.*; Clowes e Francesconi, *op cit.*) que devem estar associadas a diferentes requisições metabólicas do indivíduo e merecem mais estudos aprofundados.

Quanto à sazonalidade, foi observado que os valores medianos de As no músculo foram maiores no período de inverno tanto nos peixes coletados na

região de Iguape como naqueles coletados na região de Cananéia. Entretanto, no trabalho de Kirschbaum (2010) com bagres-amarelos coletados na região do Mar de Cananéia foi observado o contrário (Fig. 41), concentrações médias de arsênio no músculo maiores no verão ($7,00 \pm 0,30 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido) do que no inverno ($4,5 \pm 0,2 \mu\text{g g}^{-1}$ peso úmido). O presente trabalho também realizou coleta no verão de 2009 e registrou uma média um pouco menor, de $6,75 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido). No entanto, a média da autora foi realizada a partir de réplicas de um *pool* de peixes, enquanto que o presente trabalho realizou o cálculo da média/mediana das concentrações individuais. A concentração média encontrada neste estudo, no inverno de 2009, é maior que o encontrado pela autora em 2008. Desta maneira, ao observar os dados de Kirshbaum (2009) e os atuais na sequência cronológica (Fig. 41), observa-se aumento da concentração de As no músculo de bagre-amarelo da região de Cananéia.

Figura 41. Concentração de As no músculo de *C. spixii* coletados na região de Cananéia.

* Kirschbaum (2010)

** Presente estudo

Em um estudo na região do Golfo Pérsico foi observado que 60 % das espécies de peixes demersais estudadas apresentaram concentrações de As no músculo maior no período de inverno (Janeiro a Março de 2010, estação chuvosa) do que no de verão (Julho a Setembro de 2009, estação seca), uma

vez que no período chuvoso o processo de lixiviação do solo aumenta a disponibilidade de resíduos para o ambiente (Saei-Dehkordi *et al.*, 2010). As médias destas espécies apresentaram concentrações variando entre 0,139 a 0,801 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido) no verão de 2009 (estação seca); enquanto que no inverno de 2010 (estação chuvosa) as concentrações variaram entre 0,284 e 1,011 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido) (Saei-Dehkordi *et al.*, *op. cit.*). Estes teores são baixos quando comparados àqueles observados no presente estudo em Cananéia e estão dentro dos intervalos observados na região de Iguape.

Em diferentes regiões do mundo foram observadas concentrações variadas de As em músculo de peixes. Espécies oceânicas coletados no Mar do Leste da China apresentaram concentrações de As no músculo variando de 1,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ e o maior 100 $\mu\text{g g}^{-1}$, ambos em peso seco (Asante *et al.*, 2008). Estados Unidos, seis espécies de peixes capturados em três estuários da Califórnia foram analisados em relação a concentrações de metais em músculo. O As apresentou concentrações médias variando de <1,0 até 8,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco (Cohen *et al.*, 2001).

A concentração de As em produtos marinhos deve ser avaliada com cautela diante das referências da legislação (Kuniyoshi *et al.*, 2011), pois outras características ecossistêmicas devem ser levadas em consideração, pois podem interferir fortemente nos valores acumulados pelos indivíduos. Valores de As total no músculo acima do tolerado pela legislação nem sempre correspondem a valores tóxicos à espécie e ao consumo humano. Devido a isso, mais estudos devem ser realizados para verificar a relação da salinidade com o acúmulo de As nos tecidos de peixes e também é necessário um melhor entendimento a respeito da especiação deste elemento nos diversos compartimentos do meio ambiente e as respectivas toxicidades e interações.

Entretanto os teores obtidos no presente trabalho, para a região de Cananéia, mostram uma bioconcentração maior do As neste ambiente, com concentrações individuais em músculo de até 15 vezes o limite proposto pela legislação nacional. Características geológicas da região, ou atividades de mineração em cursos afluentes próximos, juntamente com o fato de ser um ambiente com maior salinidade podem ter contribuído com os teores elevados de exposição dos organismos.

2.2.5. Cromo (Cr)

As concentrações médias de Cr no músculo de bagre-amarelo e os valores biométricos médios estão apresentados na tabela 10.

As concentrações de cromo no músculo de *C. spixii* estiveram abaixo do limite de detecção ($0,012 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido) em diversas amostras obtidas no verão, sendo 50 % dos peixes de Cananéia e 36,8 % indivíduos de Iguape. Quando acima do limite de detecção, as concentrações encontradas estavam pouco acima do limite estabelecido pelo Ministério da Saúde (1977), que é de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido, com exceção de Iguape no verão (Tabela 10). Assim, o consumo de bagre-amarelo deveria ser realizado com acompanhamento dos órgãos de vigilância sanitária, uma vez que diversos indivíduos apresentaram níveis abaixo do limite de detecção, enquanto que outros apresentaram níveis acima do tolerado na legislação.

Tabela 10. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de Cr em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro sendo: N = quantidade de bagres analisados; LD = $0,012 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido). Valores em negrito indicam que estão acima do limite tolerado em peixes ($0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido) pelo Ministério da Saúde (1977).

Local/ Época	N	Comprimento Total (mm) Média ± Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Peso Total (g) Média ± Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Concentração de Cr no músculo ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
				Média ± Desvio Padrão (Mínimo – Máximo) Peso Úmido	Peso Seco
Cananéia Verão/09	11	173,5 ± 28,6 (141 - 225)	49,94 ± 27,99 (19,19 - 102,24)	0,11 ± 0,12 (<LD - 0,32)	0,53 ± 0,56 (0,10-1,46)
Iguape Verão/09	19	177,2 ± 11,8 (156 - 210)	56,06 ± 12,62 (36,08 - 94,30)	0,05 ± 0,03 (<LD - 0,10)	0,25 ± 0,17 (<LD - 0,55)
Cananéia Inverno/09	16	171,3 ± 21,2 (152 - 231)	50,34 ± 22,76 (30,80 - 123,10)	0,16 ± 0,13 (0,04 - 0,60)	0,76 ± 0,65 (0,21-2,90)
Iguape Inverno/09	27	160,5 ± 10,1 (145 - 185)	37,37 ± 7,16 (27,42 - 59,47)	0,11 ± 0,11 (0,01 - 0,62)	0,57 ± 0,58 (0,07-3,16)

Comparações sazonais mostram que tanto em Cananéia quanto em Iguape, as concentrações médias de Cr no músculo dos bagres que

apresentaram níveis detectáveis foram maiores durante o inverno (Fig. 42), período em que as águas das regiões de Cananéia e de Iguape apresentaram temperaturas mais baixas, maior concentração de OD e pH mais básico (Fig. 43). Peixes estuarinos da região da Baía de Vitória, ES, também mostraram maior concentração de Cr no músculo no período de inverno do que no verão, com concentrações médias de 0,168 e 0,143 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido), respectivamente (Joyeux *et al.*, 2004).

A figura 42 ilustra que as concentrações medianas em Cananéia estiveram acima das de Iguape, independentemente da época do ano, o que coincide com o fato das águas do Mar de Cananéia apresentar maiores valores de salinidade e menor pH quando comparados às águas do Mar Pequeno.

Figura 42. Concentração de Cr no músculo dos indivíduos da espécie *C. spixii*, coletados em cada local e época do ano, apresentados em *boxplot*. Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.

Kirschbaum (2010) realizou análise de Cr no músculo em uma amostra composta por cerca de 20 indivíduos de *C. spixii* nos estuários de Cananéia, Paranaguá e Santos. A autora encontrou concentrações de Cr menores que 0,016 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido, nos três estuários estudados tanto no inverno de 2008 como no verão de 2009. Os dados desta autora foram menores que os encontrados no presente estudo, apesar de que muitos dos bagres coletados

no verão aqui analisados apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção do método ($0,012 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido).

Figura 43. Medianas das concentrações de Cr no músculo de *C. spixii* e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.

Peixes estuarinos coletados nas regiões de Vitória, Atafona, Macaé, Arraial do Cabo e São Sebastião apresentaram concentrações médias de cromo com a mesma ordem de grandeza, entretanto um pouco maiores que os teores encontrados nos bagres do presente trabalho, de $<0,1$ até $0,19 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido, sendo que a concentração individual chegou a $0,44 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido (Almeida *et al.*, 2008). Na Baía de Vitória, o robalo apresentou concentração média de $0,160$ variando entre $0,097$ e $0,410 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido, e a tainha apresentou concentração média de $0,151$ com intervalo entre $0,106$ e $0,210 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido (Joyeux *et al.*, 2004).

Quando comparado os dados obtidos no presente trabalho com dados de outras localidades do mundo observa-se que, de maneira geral, os outros locais apresentam concentrações superiores. Em um estudo realizado com 29 diferentes espécies de peixes na costa do Kwait revelou concentrações de Cr médias de cada espécie variando entre $6,2$ a $68,5 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco (Bu-Olayan & Subrahmanyam, 1996). Na Califórnia (Estados Unidos), seis espécies de peixes foram capturadas em três estuários e analisadas em relação a concentrações de metais em músculo. O Cr apresentou concentrações médias

variando de valores abaixo de 1,0 até 55 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco (Cohen *et al.*, 2001). Este elemento esteve entre os que apresentaram elevadas concentrações nos três locais estudados por estes autores. No Vietnã, não foi observada diferença entre a concentração de cromo no músculo de bagre de um ambiente fluvial poluído e de outro considerado controle, com valor de 0,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco) em ambos locais (Wagner & Boman, 2003). Estudo com peixes oceânicos no Mar do Leste da China apresentou concentrações de Cr no músculo variando de 0,33 a 3,6 $\mu\text{g g}^{-1}$, ambos em peso seco (Asante *et al.*, 2008).

Ao verificar relação entre o tamanho/peso dos peixes com a concentração de Cr no músculo não foi possível verificar correlação entre os parâmetros (Figs. 44 e 45). Joyeux *et al.* (2004) observou que, em tainhas o cromo diminuiu com o aumento do comprimento, enquanto que em robalos as concentrações de cromo aumentaram com o tamanho ou peso.

Figura 44. Relação entre o Comprimento Total (CT) e a concentração de Cr no músculo de *C. spixii*.

Figura 45. Relação entre o Peso Total (PT) e a concentração de Cr no músculo de *C. spixii*.

2.2.6. Zinco (Zn)

As concentrações médias de Zn e biométricos, para cada local e período estão apresentados na tabela 11.

Tabela 11. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de Zn em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro (N = quantidade de bagres analisados).

Local/ Época	N	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Concentração de Zn no músculo ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
		Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Média $\pm$ Desvio Padrão (Mínimo – Máximo)	
				Peso Úmido	Peso Seco
Cananéia Verão/09	11	173,5 $\pm$ 28,6 (141 - 225)	49,94 $\pm$ 27,99 (19,19 - 102,24)	7,83 $\pm$ 2,64 (4,68 - 13,47)	39,75 $\pm$ 13,91 (23,02 - 66,09)
Iguape Verão/09	20	177,3 $\pm$ 11,5 (156 - 210)	55,97 $\pm$ 12,28 (36,08 - 94,30)	4,90 $\pm$ 1,40 (3,23 - 9,74)	26,45 $\pm$ 7,30 (17,84 - 51,11)
Cananéia Inverno/09	16	171,3 $\pm$ 21,2 (152 - 231)	50,34 $\pm$ 22,76 (30,80 - 123,10)	5,82 $\pm$ 1,88 (3,38 - 10,51)	28,07 $\pm$ 10,05 (15,83 - 51,24)
Iguape Inverno/09	27	160,5 $\pm$ 10,1 (145 - 185)	37,37 $\pm$ 7,16 (27,42 - 59,47)	6,65 $\pm$ 1,57 (4,25 - 9,44)	35,83 $\pm$ 8,97 (22,12 - 52,55)

Ao observar a tabela 11, as figuras 46 e 47 não se verifica uma tendência definida quanto ao padrão de bioconcentração de Zn no músculo de bagres-amarelos em relação ao local ou ao período de estudo. No período de verão, os bagres coletados em Cananéia apresentaram maiores concentrações de Zn no músculo do que aqueles coletados em Iguape, enquanto que no inverno ocorreu o inverso. Ao analisar cada região separadamente, é possível notar que os valores de Zn foram maiores no verão em Cananéia enquanto que em Iguape os teores foram maiores no inverno. Robalos e tainhas da Baía de Vitória apresentaram concentrações médias de Zn no músculo no verão de 4,37 enquanto que no inverno 5,04 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido), não havendo variação sazonal estatisticamente (Joyeux *et al.*, 2004).

No estudo de Eysink *et al.* (1990) observaram concentrações médias de zinco no músculo de diversas espécies de peixes do complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape variando entre 3,29 e 19,5 $\mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido. Este estudo foi realizado durante o período de Valo Grande fechado, sendo que uma espécie de bagre (*Genidens genidens*) capturada na região do Mar Pequeno, próximo a Iguape, apresentou concentração média de Zn no músculo de 18,2 $\mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido, bem acima dos teores encontrados em *C. spixii* no presente trabalho. Estes autores encontraram concentrações maiores em organismos coletados em diferentes pontos do Rio Ribeira e aponta um decréscimo dos teores de Zn na água e no sedimento de montante a jusante do rio. Guimarães (2007) encontrou teor médio de Zn no sedimento da região do Mar Pequeno, próximo a Iguape, de 133 $\mu\text{g g}^{-1}$. Na região sul, foi reportado por Aguiar *et al.* (2008) concentrações de Zn nos sedimentos do Mar de Cananéia variando de 53 a 74 $\mu\text{g g}^{-1}$, enquanto que Amorim *et al.* (2008) encontraram variação de 14 a 96 $\mu\text{g g}^{-1}$. Na água, Maluf (2009) observou concentrações médias maiores na região do Mar de Cananéia (0,230 $\mu\text{g L}^{-1}$) do que no Mar Pequeno (0,211 $\mu\text{g L}^{-1}$), sendo que, ao comparar superfície e fundo, este autor encontrou concentrações maiores no fundo, onde é o hábitat do *C. spixii*.

Figura 46. Concentração de Zn no músculo dos indivíduos da espécie *C. spixii*, coletados em cada local e época do ano, apresentados em *boxplot*. Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.

Figura 47. Medianas das concentrações de Zn no músculo de *C. spixii* e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.

Espécies de peixes demersais da costa sudeste do Brasil apresentaram concentrações médias com a mesma ordem de grandeza do atual trabalho, variando de 3,91 até 9,66 $\mu\text{g g}^{-1}$, em peso úmido, sendo que os

autores encontraram concentrações individuais entre 2,99 e 12,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido (Almeida *et al.*, 2008). Peixes (robalo e tainha) da Baía da Vitória, ES, apresentaram concentrações médias de 6,14 $\mu\text{g g}^{-1}$ para robalo e 3,26 $\mu\text{g g}^{-1}$ para tainha, ambos em peso úmido (Joyeux *et al.*, 2004).

No estudo realizado nos estuários de Cananéia, Paranaguá e Santos, Kirschbaum (2010) encontrou concentrações de Zn em músculo de *C. spixii* de 12,3 $\mu\text{g g}^{-1}$, 13,8 e 17,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido, respectivamente, no inverno de 2008. No verão de 2009, a autora encontrou concentrações de 5,30, 16,7 e 13,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente, em peso úmido. Ao comparar os dados obtidos para a região de Cananéia por Kirschbaum (2010) e pelo presente estudo foram observados comportamentos diferentes quanto à sazonalidade (Fig. 48).

Figura 48. Concentração de Zn no músculo de *C. spixii* coletados na região de Cananéia.

* Kirschbaum (2010)

** Presente estudo

As relações lineares entre as concentrações de Zn e o tamanho/peso do peixe (Figs. 49 e 50) não mostraram correlações entre o tamanho/peso do peixe com a concentração de Zn no músculo. Entretanto, foi verificado que as concentrações de Zn no músculo de robalo foram maiores em indivíduos com maior peso ou comprimento como observado por Joyeux *et al.* (2004).

Figura 49. Relação entre o Comprimento Total (CT) e a concentração de Zn no músculo de *C. spixii*.

Figura 50. Relação entre o Peso Total (PT) e a concentração de Zn no músculo de *C. spixii*.

A concentração de Zn no músculo de peixes costeiros de várias partes do mundo varia bastante de acordo com o local. Em um estudo realizado com 29 diferentes espécies de peixes na costa do Kwait revelou concentrações de Zn médias de cada espécie variando entre 7,8 a 81,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco (Bu-Olayan & Subrahmanyam, 1996). Em três estuários da Califórnia, Estados

Unidos, seis espécies de peixes foram analisados e o Zn apresentou concentrações médias variando de valores abaixo de 12 até 290 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco (Cohen *et al.*, 2001).

Estudo em uma baía localizado no sul do Mar Báltico com a espécie de peixe demersal *Perca fluviatilis* mostrou concentrações individuais de Zn no músculo variando de 2,38–10,68 $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido) (Szefer *et al.*, 2003). Este elemento, ao contrário dos outros analisados pelos autores, apresentou variações insignificantes, refletindo fortes habilidades do peixe na regulação do zinco. O fato do Zn ter importante papel no metabolismo dos peixes, sendo componente de diversas enzimas, reflete nas altas concentrações (em relação aos outros metais) no músculo dos peixes em geral (Watanabe *et al.*, 1997).

No Vietnã, foram encontradas concentrações médias de Zn no músculo de uma espécie de bagre de água doce próximos dos valores encontrados no presente trabalho, sendo o local considerado controle com média de $29 \pm 6 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco e o local poluído por uma indústria de carvão com $31 \pm 8 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco, com intervalos de 23-43 e 21-46 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco, respectivamente (Wagner & Boman, 2003). Os autores não encontraram grandes diferenças entre os locais estudados, enquanto que o presente estudo também não apresentou um comportamento definido deste elemento.

Vicente-Martorell *et al.* (2009) verificaram a concentração média de Zn no músculo de duas espécies de peixes de um estuário contaminado da Espanha e observaram concentrações médias de Zn no músculo de *Sparus aurata* (44,86 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco) acima dos valores encontrados no presente estudo; e em *Solea senegalensis* valores abaixo do atual trabalho, com média de 23,68 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco.

2.2.7. Cobalto (Co)

As concentrações médias de Co no músculo de *C. spixii* e das variáveis biométricas estão apresentadas na tabela 12.

Tabela 12. Dados biométricos (CT e PT) e concentração de Co em músculo considerando peso úmido e peso seco. Dados apresentados em valor médio, desvio padrão, mínimo e máximo para cada parâmetro sendo: N = quantidade de bagres analisados.

Local/ Época	N	Comprimento Total (mm)	Peso Total (g)	Concentração de Co no músculo (ng g ⁻¹)	
		Média ± Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Média ± Desvio Padrão (Mínimo - Máximo)	Média ± Desvio Padrão (Mínimo – Máximo) Peso Úmido	Peso Seco
Cananéia Verão/09	10	170,2 ± 27,9 (141 - 225)	47,16 ± 27,86 (19,19 - 102,24)	21,61±7,52 (12,84-37,61)	108,50±36,73 (61,34-184,57)
Iguape Verão/09	19	177,2 ± 11,8 (156 - 210)	56,06 ± 12,62 (36,08 - 94,30)	23,77±6,43 (16,50-42,89)	128,55±35,91 (88,47-225,16)
Cananéia Inverno/09	16	171,3 ± 21,2 (152 - 231)	50,34 ± 22,76 (30,80 - 123,10)	17,47±4,00 (9,29-23,73)	83,34±17,93 (43,83-108,86)
Iguape Inverno/09	27	160,5 ± 10,1 (145 - 185)	37,37 ± 7,16 (27,42 - 59,47)	20,76±5,90 (10,68-31,92)	111,78±33,20 (52,19-175,75)

Nota-se que as concentrações foram um pouco maiores na região de Iguape (Fig. 51), tanto no verão quanto no inverno de 2009, onde a salinidade apresentou características de uma água fluvial e com pH mais ácido (Fig. 52).

Observando cada local em separado e comparando a época em que foi realizada a coleta, nota-se que os teores médios deste elemento foram maiores no verão do que no inverno, tanto em Iguape quanto em Cananéia, o que pode estar relacionado às condições ambientais, como temperatura, precipitação, variações de salinidade, etc.

Figura 51. Concentração de Co no músculo dos indivíduos da espécie *C. spixii*, coletados em cada local e época do ano, apresentados em *boxplot*. Números em parênteses representam a quantidade de peixes que foram analisados.

Figura 52. Medianas das concentrações de Co no músculo de *C. spixii* e médias de alguns parâmetros ambientais, em cada local e período de coleta.

No estudo realizado com *C. spixii* coletados nos estuários de Cananéia, Paranaguá e Santos, Kirschbaum (2010) encontrou concentrações de Co em músculo, a partir de um pool de amostras de cada local de 0,020, 0,025 e 0,028 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido, respectivamente, no inverno de 2008. No verão de 2009, a autora encontrou concentrações de <0,002, 0,025 e 0,022 $\mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente, em peso úmido. Todos estes valores estão na mesma faixa de concentração apresentados no atual estudo, exceto em Cananéia – Verão. Ao comparar os dados obtidos pela autora e pelo presente estudo na região de Cananéia (Fig. 53), nota-se que ela encontrou concentrações de Co maiores no período de inverno, enquanto que o presente estudo foi observado maiores valores no verão.

Peixes de outras regiões do mundo apresentaram concentrações com a mesma ordem de grandeza dos reportados no presente estudo. Asante *et al.* (2008) encontrou concentrações de Co em músculos de peixes oceânicos de diversas espécies coletados em novembro de 2001 e 2002, no Mar do Leste da China. O menor valor apresentado para Co foi 0,034 $\mu\text{g g}^{-1}$ e o maior 0,24 $\mu\text{g g}^{-1}$, ambos em peso seco. Em espécie de peixe estuarino-demersal, *Paraplagusia bilineata*, foi observado concentração variando entre 0,010 e 0,016 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco (Agusa *et al.*, 2005). Peixes coletados a partir de mercados da

região de Cochin, Índia, mostraram concentrações de Co variando de níveis não detectáveis a $0,67 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido) (Sivaperumal *et al.*, 2007).

Figura 53. Concentração de Co no músculo de *C. spixii* coletados na região de Cananéia.

* Kirschbaum (2010)

** Presente estudo

A correlação entre o comprimento total / peso total com a concentração de Co no músculo foi avaliada através das regressões lineares (Figs. 54 e 55).

Figura 54. Relação entre o Comprimento Total (CT) e a concentração de Co no músculo de *C. spixii*.

A importância do Co no desenvolvimento de peixes é conhecida e diversos estudos apontam efeitos benéficos do Co na dieta de diversas espécies de peixes, resultando em um melhor crescimento e aumento da sobrevivência delas (Watanabe *et al.*, 1997). Em seres humanos este elemento é essencial e faz parte da composição da vitamina B12, porém a ingestão excessiva pode ser perigosa (Sivaperumal *et al.*, 2007).

Figura 55. Relação entre o Peso Total (PT) e a concentração de Co no músculo de *C. spixii*.

De um modo geral, de todos os valores obtidos, o As e o Cr apresentaram valores acima dos recomendados pela legislação e merecem atenção nos estudos futuros.

2.3. Micronúcleos em eritrócitos de *C. spixii*

A determinação de micronúcleos em células sanguíneas de *C. spixii* (Fig. 56) foi realizada em apenas uma parte dos peixes amostrados, devido a problemas na qualidade das lâminas preparadas a bordo. Nota-se que os eritrócitos desta espécie apresentam núcleos bem definidos.

Figura 56. Células sanguíneas de *C. spixii* observadas no presente estudo:
a) célula normal; b) e c) célula com micronúcleo.

Os resultados das observações de micronúcleos na contagem de 1000 células por indivíduo estão apresentados por frequência na figura 57, agrupados por região e período.

Figura 57. Frequências médias de micronúcleos nos eritrócitos de *C. spixii*.
Números entre parênteses representam a quantidade de bagres que tiveram seus respectivos sangues analisados.

Comparando os resultados obtidos nos bagres coletados em Cananéia com aqueles coletados em Iguape, no período de verão, nota-se que os peixes de Iguape apresentaram maior frequência de micronúcleos nos eritrócitos sendo as médias de $2,09 \pm 1,70$ e $1,75 \pm 2,06$ %, respectivamente.

A influência da sazonalidade na expressão de micronúcleos foi observada comparando as frequências obtidas na região de Iguape em ambos os períodos. A figura 57 mostra que as amostras provenientes dos peixes

coletados no inverno apresentaram valores menores que os observados no verão, fato que pode estar relacionado com a maior descarga fluvial no sistema que trás consigo contaminantes lixiviados ao longo do rio Ribeira, como já reportado por outros trabalhos (Wirzinger *et al.*, 2007).

Ao comparar a variação das frequências de micronúcleos com a variação das concentrações medianas dos elementos traços do presente estudo, observa-se variação similar dos micronúcleos com a variação de alguns metais, como o Pb, Hg, Cd e Co, em que todos estes parâmetros, inclusive a frequência de micronúcleos, apresentaram maiores valores em Iguape do que em Cananéia durante o período de verão, quando compara-se os períodos na região de Iguape. Os efeitos de íons metálicos na formação de micronúcleo e outras anomalias nucleares são conhecidos e apontados por diversos trabalhos, mas o mecanismo da formação como resultado a exposição a diferentes metais ainda não é totalmente compreendido (Costa *et al.*, 2008). Porém, já foi observado que há um aumento no número de micronúcleos quando peixes foram expostos a selênio, cromo, mercúrio (orgânico e inorgânico) e cézio (Al-Sabti, 1994). Çavaş (2008) estudou os efeitos genotóxicos de cloreto de mercúrio e de acetato de chumbo em uma espécie de peixe comum na Turquia e observou um aumento na frequência de micronúcleos nos indivíduos expostos a maiores concentrações destes metais. Yadav & Trivedi (2009) estudaram os efeitos genotóxicos de três compostos, sendo um deles contendo arsênio, outro mercúrio e por fim o cobre, em uma espécie de peixe. Quanto ao mercúrio, os autores observaram um aumento do número de micronúcleos com o aumento do período de exposição e, em relação ao arsênio, após 96 horas começou a diminuir a frequência dos mesmos.

Em condições normais, a frequência de eritrócitos contendo micronúcleos é baixa, geralmente menor que 10 ‰ (Gauthier *et al.*, 1991). Bolognesi *et al.*, (2006) observaram a frequência espontânea de micronúcleos em eritrócitos de 10 diferentes espécies de peixes de locais considerados referência e observaram valores entre 0,0 e 1,75 ‰, próximo ao encontrado no presente trabalho para Iguape no inverno.

Recentemente, estudos têm sido realizados utilizando a frequência de micronúcleos nos eritrócitos de *C. spixii* como parâmetro da avaliação da contaminação ambiental como os citados a seguir.

Valdez-Domingos *et al.*(2009) realizaram estudo da frequência de micronúcleos nos eritrócitos de exemplares de *C. spixii* coletados em locais próximo e distante da fonte de contaminantes do estuário de Paranaguá, litoral paranaense, observando frequências entre 2 e 3 em 2000 células analisadas e, em torno de 10 em 2000 eritrócitos, respectivamente. As frequências observadas no atual estudo estiveram mais próximas da frequência do local considerado referência por estes autores, com mesma ordem de grandeza, mas eles encontraram maiores valores no verão do que no inverno.

Outros trabalhos com análise de micronúcleos em *C. spixii* têm mostrado frequências em uma ordem de grandeza abaixo dos valores encontrados no presente estudo. Azevedo (2008) avaliou a frequência de micronúcleo em bagres-amarelo de estuários paulistas sob diferentes pressões antrópicas (Cananéia e Santos), o estudo revelou maiores frequências na região de Santos (mais impactada) do que em Cananéia (mais preservada). No período de inverno, os peixes capturados na região de Cananéia não apresentaram nenhuma presença de micronúcleo, enquanto que nos três locais amostrados em Santos foram observadas frequências médias (‰) de 0,10; 0,06 e 0,14, sendo que, as ocorrências mínimas e máximas nas três regiões santistas foram 0 e 1, respectivamente. Enquanto que Kirschbaum (2010) analisou a frequência de micronúcleo em indivíduos de *C. spixii* coletados nos estuários de Cananéia, Paranaguá e Santos, observando micronúcleos em relação a 2000 células por peixe. O intervalo de ocorrência desta anomalia para cada local foi 0-1, 0-1 e 0-4 respectivamente; e a frequência foi de 0,15 0,25 e 0,30 respectivamente.

Em outro estudo realizado com diversas espécies de peixes coletados nas regiões de Santos e Cananéia no inverno de 2006 mostrou frequências médias de micronúcleo de 0,2 e 0 ‰, respectivamente para cada região (Kuniyoshi & Braga, 2010), valores inferiores aos reportados no presente estudo.

Diversos estudos realizados em peixes capturados em diversos locais do mundo com um gradiente de contaminação por diversos poluentes como o

mercúrio (Guilherme *et al.*, 2008), efluentes de várias naturezas (Wirzinger *et al.*, 2007), hidrocarbonetos e metais (Bombail *et al.*, 2001) mostram que os peixes dos locais mais próximos da fonte de poluição apresentaram uma maior frequência de micronúcleos nos eritrócitos. Tais observações são corroboradas com os estudos conduzidos em laboratório com peixes capturados do ambiente natural e submetidos à exposição de poluentes dissolvidos na água (Al-Sabti, 1994; Bolognesi *et al.*, 2006) ou expostos a sedimentos amostrados em locais contaminados (Costa *et al.*, 2008) mostram o aumento da frequência de micronúcleos desses peixes.

É comum o uso da identificação de outras anomalias nucleares como um complemento ao teste de micronúcleo como biomarcadores de genotoxicidade (Bombail *et al.*, 2001), no entanto, o uso dessas outras anomalias podem não ser uma ferramenta confiável para a avaliação da genotoxicidade em estudos de campo (Galindo e Moreira, 2009), e também a falta de uma padronização na identificação dessas anomalias dificulta as comparações entre laboratórios (Guilherme *et al.*, 2008), por isto neste trabalho foi abordado apenas o micronúcleo.

Portanto, o teste de micronúcleo é uma ferramenta complementar em estudos de contaminação ambiental, que demonstra uma resposta fisiológica do peixe aos componentes presentes no meio em que vive. Os valores encontrados no presente estudo revelam frequências relativamente baixas quando comparados a locais contaminados de outras regiões do mundo, mas quando comparados aos dados existentes para a região de Cananéia, os valores obtidos no presente trabalho estão acima dos citados em bibliografia. Estes valores certamente estão sendo influenciados pela ação de contaminantes sendo que os metais pesados atuam fortemente sobre a desestruturação de proteínas e, portanto de sistemas membranosos, sendo assim, fortes candidatos que contribuem ao aparecimento de fragmentos de DNA perdidos no citoplasma celular. De toda forma, a frequência de micronúcleos observada em células sanguíneas de uma espécie de animal que se distribui ao longo do complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape um forte indicador dos efeitos bioquímicos e genotóxicos que podem estar ocorrendo na biota, em função de efeitos de contaminantes, cujas expressões

podem ser diferenciadas nos períodos sazonais (inverno-verão) em função da ecologia do animal acoplado às variações ambientais naturais.

Os valores observados em Iguape no verão merecem atenção, indicando a necessidade da continuidade destes e de outros estudos com biomarcadores na região.

2.4. Discussão integrada

Com a análise da matriz de correlação obtida através da Correlação de Pearson ($p < 0,05$), a partir dos dados de 5 m de profundidade dos parâmetros ambientais e médias dos dados bióticos de Cananéia-Verão, Iguape-Verão, Cananéia-Inverno e Iguape-Inverno (Tab. 13), é possível observar algumas correlações entre os parâmetros analisados.

Tabela 13. Matriz de correlação de Pearson ($p < 0,05$) dos dados de 5m de profundidade dos parâmetros ambientais e dados bióticos médios de Cananéia-Iguape considerando os períodos de verão e inverno 2009.

	Temp.	Sal.	pH	OD	CT	PT	Pb	Hg	Cd	As	Cr	Zn	Co	MN
Temp.	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Sal.	0.01	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
pH	-0.13	0.99	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
OD	-0.95	-0.32	-0.19	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
CT	0.77	0.22	0.05	-0.73	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---
PT	0.69	0.23	0.06	-0.65	0.99	1	---	---	---	---	---	---	---	---
Pb	0.39	-0.85	-0.93	-0.07	0.32	0.32	1	---	---	---	---	---	---	---
Hg	0.82	-0.55	-0.67	-0.60	0.57	0.51	0.83	1	---	---	---	---	---	---
Cd	0.99	-0.10	-0.23	-0.91	0.74	0.66	0.48	0.88	1	---	---	---	---	---
As	0.01	1.00	0.99	-0.32	0.20	0.20	-0.86	-0.56	-0.10	1	---	---	---	---
Cr	-0.63	0.76	0.85	0.35	-0.41	-0.36	-0.94	-0.96	-0.71	0.76	1	---	---	---
Zn	0.09	0.41	0.48	-0.31	-0.38	-0.47	-0.63	-0.24	0.06	0.44	0.37	1	---	---
Co	0.71	-0.68	-0.75	-0.48	0.31	0.23	0.81	0.95	0.78	-0.67	-0.95	-0.07	1	---
MN	0.49	-0.76	-0.77	-0.28	-0.04	-0.12	0.70	0.79	0.58	-0.74	-0.84	0.12	0.94	1

Ao compararmos os teores de metais no músculo de *C. spixii* associados aos locais de coleta deles é possível notar que os elementos As e Cr apresentaram maior correlação com o ambiente que apresentara salinidade mais alta, típicos de um ambiente salobro (Cananéia), enquanto que o Pb e o Co estiveram em maiores concentrações no músculo de bagres coletados na região do Mar Pequeno (Iguape), onde a água apresentou características de água doce de acordo com a Resolução CONAMA 357/2005, independentemente da época do ano.

As diferenças de salinidade em ambientes estuarinos podem interferir na maior absorção de metais pelos organismos como descrito por Bryan, (1971), e nitidamente observado em relação ao arsênio na tabela 13 e na figura 58. A tabela 13 também aponta correlações diretas entre os elementos Pb e Hg, Hg e Cd, Cr e As, Co e Pb, Co e Hg, Co e Cd; enquanto que outros elementos apresentaram correlações inversas entre si, como o Pb e As, Cr e Pb, Cr e Hg, Cr e Cd, Cr e Co.

A Tabela 13 e a Figura 58 também apontam correlação direta entre a frequência de micronúcleos e as concentrações de Pb, Hg e Co; enquanto que os elementos As e Cr apresentaram correlação inversa com a frequência de micronúcleos, e conseqüentemente, também foi apontada uma correlação inversa entre a salinidade e a presença de micronúcleos, o que mostra que a região norte está mais sujeita ao aparecimento desta anomalia, provavelmente devido ao aporte do Rio Ribeira nesta região.

Os metais Cd e Zn não apresentaram comportamento definido em nenhum dos ambientes e também em nenhum dos períodos estudados. Porém, ao observá-los separadamente em cada região, verifica-se o Hg, Cd e Co estiveram em maiores concentrações no músculo de *C. spixii* no período de verão, tanto nos peixes coletados em Cananéia, como naqueles coletados em Iguape. Já o As e o Cr apresentaram comportamento oposto, tendo maiores valores no período de inverno em ambos os setores.

Os metais não apresentaram correlações importantes entre o tamanho do peixe e a concentração de elementos traço no músculo, exceto o Cd. Tal fato pode ter ocorrido devido à escolha dos maiores exemplares durante a coleta dos peixes, a fim de obter peixes com maiores massas musculares para que fosse possível a realização de todas as análises, como também ocorreu

com Barbosa (2010). Desta forma, houve certa homogeneidade nos tamanhos, o que também implica em fases de desenvolvimento similares entre os indivíduos o que pode ter atenuado a expressão diferenciada da bioconcentração.

Figura 58. Tratamento MDS considerando todos os parâmetros analisados no estudo em Cananéia e em Iguape, no verão e inverno de 2009.

De maneira geral, os peixes da espécie *C. spixii* coletados em Cananéia e Iguape, no verão e inverno de 2009, indicaram níveis de metais dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira para consumo de peixes. A única exceção foi observada para o elemento As, que apresentou concentrações nos peixes coletados na região de Cananéia acima dos valores estabelecidos pela ANVISA, em ambos os períodos de estudo.

Observando a figura 59, conclui-se que as diferenças entre as duas regiões e os dois períodos em estudo foram bem marcadas pelos parâmetros analisados, mostrando setores com características distintas, apesar de estarem interligadas pelo mesmo canal.

Figura 59. Dendrograma mostrando o agrupamento entre as regiões em estudo, em ambos os períodos.

Finalmente, pode-se considerar que *C. spixii* é uma espécie que possui alta capacidade de adaptação a grandes variações halinas o que permite o seu acompanhamento como espécie monitora em ambientes estuarinos e dulcícolas, variação esta que ocorreu no corpo de água estudado, e não houve limitação para a sua distribuição. Desta maneira, a espécie mostra adaptação às variações hidrogeoquímicas locais e sazonais apresentadas durante o estudo no complexo estuarino-lagunar Cananéia-Iguape. Quanto à bioconcentração, foi observada a melhor condição de preservação ambiental no setor sul, enquanto que o setor norte, os indivíduos apresentaram concentrações relativamente mais intensas, sobretudo no período de verão e em relação a Pb, Hg e Cd. O As se mostrou um elemento diferenciado, com concentrações altas na região de Cananéia, que apresentou maior salinidade no corpo hídrico e, portanto, maiores valores de As disponível, que deve ter contribuído aos valores observados nos músculos dos peixes. Há uma explicação para os altos valores de As em produtos marinhos, com base em uma relação positiva entre o teor de As em organismos marinhos devido à

presença da arsenobetaina (molécula envolvida nos processos osmóticos) relatada por diversos autores, tais como: Borak & Hosgood (2007); Klump & Peterson, (1979); Li *et al.*, 2003; Peshut *et al.*, (2008). Porém, as concentrações elevadas também podem estar sinalizando a biodisponibilidade elevada deste elemento no ambiente, devido tanto às condições geológicas da região, como resultantes das atividades antrópicas na região do Vale do Rio Ribeira de Iguape.

A indicação de estudos com *C. spixii* como espécie biomonitora é confirmada também para sistemas que apresentem uma ampla variação halina como é o caso de sistemas estuarino-lagunares, ecossistemas de constituição única, que se localizam nas zonas de forte ação antrópica. Além disso, a espécie mostrou que é sensível aos processos de bioconcentração de metais pesados e também, mostrou-se sensível a expressão de micronúcleos quando expostas a ambientes sob maior impacto antrópico.

VI. CONCLUSÕES

De acordo com os dados e as informações analisadas neste estudo, pode-se concluir que:

A metodologia utilizando tecnologia nuclear (Análise por Ativação Neutrônica) mostrou ser bastante adequada, por não ser destrutiva e capaz de detectar concentrações em nível de ng g^{-1} de uma série de elementos, sendo indicado o seu uso para aplicação em estudos ambientais. Entretanto, a possibilidade de aplicação desta técnica é restrita, tanto em relação à disponibilidade de equipamento como de assessoria experiente. A metodologia utilizando Espectrometria de Absorção Atômica também mostrou ser adequada para determinação dos metais analisados.

Os peixes da espécie *C. spixii* apresentaram níveis seguros para consumo humano considerando os elementos analisados quando confrontados com os níveis recomendados pela legislação nacional que controla a qualidade do pescado, exceção feita para o As, sobretudo naqueles peixes coletados em Cananéia. Recomenda-se a revisão dos índices de As na legislação no que tange a produtos marinhos.

Observando os dois setores em estudo, os teores de Pb e Hg foram maiores nos peixes coletados em Iguape, durante ambos os períodos de estudo; enquanto que em Cananéia os teores de As e Cr foram mais elevados tanto no verão quanto no inverno.

Considerando a influência das variações sazonais, em cada região de estudo em separado, observa-se que o Hg, Cd e Co apresentaram maiores concentrações durante o período de verão em ambas as regiões de estudo, o que pode refletir tanto o maior grau de exposição dos organismos a esses metais no período de verão, como também, uma maior bioacumulação neste período do ano, quando a atividade metabólica é mais intensa. Os elementos As e Cr apresentaram maiores concentrações durante o período de inverno nos peixes coletados tanto em Iguape quanto em Cananéia e, este fato pode estar relacionado às variações de salinidade que ocorrem devido à sazonalidade marcada nas regiões de estudo quando, no período de inverno, a salinidade é maior devido à menor precipitação e, como já descrito anteriormente, os peixes

acumulam mais As nos músculos em condições de maior salinidade como forma de adaptação osmótica.

A avaliação do teste de micronúcleo mostrou baixas frequências nos peixes capturados em ambos os locais em estudo, porém acima do reportado por outros autores que trabalharam na região de Cananéia, o que mostra a existência de anomalias na divisão do material nucléico, que contribuem ao aparecimento de micronúcleos de forma diferenciada nas duas regiões, evidenciando a necessidade de continuidade deste tipo de estudo.

Embora o corpo hídrico seja contínuo, os parâmetros analisados revelaram uma distinção entre os dois setores de estudo, mostrando uma interferência antrópica mais acentuada atuando na região norte do sistema (Iguape) com contribuição do Alto Ribeira.

A espécie biomonitora utilizada neste estudo mostrou ser adequada para avaliar a biodisponibilidade de elementos-traço. O fato de estar presente em diferentes regiões costeiras do Brasil, sob diferentes pressões antrópicas e estar adaptada a diferentes salinidades, além de apresentar capacidade de bioconcentração de elementos-traço e de expressão de anomalias nucleares eritrocitárias, fazem de *C. spixii* um forte candidato para protagonizar programas de monitoramento ambiental em ambientes estuarinos e costeiros, em nível nacional.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLAH, M. 2008. Trace element levels in some commercially valuable fish species from coastal waters of Mediterranean Sea, Egypt. **J. mar. syst.**, v. 73, n. 1-2, p. 114-122.
- ABSOLON, B. A.; ANDREATA, J. V. 2009. Variação espacial dos bagres (Siluriformes, Ariidae) coletados na Baía da Ribeira, Angra dos Reis, Rio de Janeiro e prováveis influências da temperatura e da salinidade. **Rev. Agroneg. Meio Amb.**, v. 2, n. 2, p. 155-165.
- ADAMS, D. H.; ONORATO, G. V. 2005. Mercury concentrations in red drum, *Sciaenops ocellatus*, from estuarine and offshore waters of Florida. **Mar. poll. bull.**, v. 50, n. 3, p. 291-300.
- AGUIAR, V. M. C. 2005. **Variação especial e temporal das características biogeoquímicas do fósforo e do chumbo e transporte de propriedades no sistema estuarino de Santos/São Vicente e na porção Sul do complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape (São Paulo)**. Tese (Doutorado) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 243 p.
- AGUIAR, V. M. C.; BRAGA, E. S.; BAPTISTA-NETO, J. A. 2008. Heavy metal assessment in two subtropical estuarine systems in the state of São Paulo, Brazil. In: HOFER, T. N (Ed.). **Marine pollution: new research**. New York: Nova Science, 2008.
- AGUSA, T.; KUNITO, T.; YASUNAGA, G.; IWATA, H.; SUBRAMANIAN, A.; ISMAIL, A.; TANABE, S. 2005. Concentrations of trace elements in marine fish and its risk assessment in Malaysia. **Mar. poll. bull.**, v. 51, n. 8-12, p. 896-911.
- ALI, D.; NAGPURE, N. S.; KUMAR, S.; KUMAR, R.; KUSHWAHA, B.; LAKRA, W. S. 2009. Assessment of genotoxic and mutagenic effects of chlorpyrifos in freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch) using micronucleus assay and alkaline single-cell gel electrophoresis. **Food chem. toxicol.**, v. 47, n. 3, p. 650-656.

- ALMEIDA, M. G.; COSTA, J. R.; GAELZER, L. R.; REZENDE, C. E. 2008. Metais pesados em peixes costeiros demersais originários do litoral sudeste do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OCEANOGRAFIA, 3. Fortaleza. **Anais...** – Balneário Camboriú: Associação Brasileira de Oceanografia, 2008. 1 CD- ROM.
- ALQUEZAR, R.; MARKICH, S. J.; BOOTH, D. J. 2006. Metal accumulation in the smooth toadfish, *Tetractenos glaber*, in estuaries around Sydney, Australia. **Environ. pollut.**, v. 142, n. 1, p. 123-131.
- AL-SABTI, K. 1994. Micronuclei induced by selenium, mercury, methylmercury and their mixtures in binucleated blocked fish erythrocytes cells. **Mutat. res.**, v. 320, n. 1/2, p. 157-163.
- AL-SABTI, K.; HARDIG, J. 1990. Micronucleus test in fish for monitoring the genotoxic effects of industrial waste products in the Baltic Sea, Sweden. **Comp. biochem. physiol. Part C, Comp. pharmacol. toxicol.**, v. 97, n. 1, p. 179-182.
- AL-SABTI, K.; METCALFE, C. D. 1995. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. **Mutat. res.**, 343: 121–135.
- ALVES, A. N. L.; DELL ROSSA, H. V. 2003. Exposição ocupacional ao cobalto: aspectos toxicológicos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 39, n. 2, p. 129–139.
- AMADO, L.; ROSA, C. E.; LEITE, A. M.; MORAES, L.; PIRES, W. V.; PINHO, G. L. L.; MARTINS, C. M. G.; ROBALDO, R. B.; NERY, L. E. M.; MONSERRAT, J. M.; BIANCHINI, A.; MARTINEZ, P. E.; GERACITANO, L. A. 2006. Biomarkers in croakers *Micropogonias furnieri* (Teleostei: Sciaenidae) from polluted and non-polluted áreas from the Patos Lagoon estuary (Southern Brazil): Evidences of genotoxic and immunological effects. **Mar. poll. bull.**, v. 52, n. 2, p. 199-206.
- AMINOT, A. ; CHAUSSEPIED, M. 1983. **Manuel des analyses chimiques en milieu marin**. França: CNEXO.

- AMORIM, E. P.; FÁVARO, D. I. T.; BERBEL, G. B. B.; BRAGA, E. S. 2008. Assessment of metal and trace element concentrations in the Cananéia estuary, Brazil, by neutron activation and atomic absorption techniques. **J. radioanal. nucl. chem.**, v. 278, n. 2, p. 485-489.
- ANSARI, T. M.; MARR I. L.; TARIQ, N. 2004. Heavy metals in marine pollution perspective:a mini review. **J. Appl. Sci.**, v. 4, n. 1, p. 1–20.
- APOSTOLI, P.; RIIHIMÄKI, V. ; AITIO A.; CORNELIS R.; DUFFUS, J.; HOET, P.; LISON, D.; TEMPLETON, D. M.; HAHN, S.; KIELHORN, J.; NORDBERG, M. **Elemental speciation in human health risk assessment**. Geneva: WHO, 2006. (Environmental health criteria, n. 234).
- ASANTE, K. A.; AGUSA, T.; MOCHIZUKI, H.; RAMU, K.; INOUE, S.; KUBODERA, T.; TAKAHASHI, S.; SUBRAMANIAN, A.; TANABE, S. 2008. Trace elements and stable isotopes (delta C-13 and delta N-15) in shallow and deep-water organisms from the East China Sea. **Environ. pollut.**, v. 156, n. 3, p. 862-873.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2007. **Toxicological Profile for Zinc**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2007b. **CERCLA Priority list of hazardous substances that will be the subject of toxicological profiles and support document**. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/supportdocs/text.pdf>> Acesso em: 11 jun. 2011.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 1999. **Toxicological profile for mercury**. Atlanta,GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2007a. **Toxicological profile for lead**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp13.pdf>>. Acesso em 1 abr. 2010.

- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2008a. **Toxicological Profile for Chromium**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2008b. **Toxicological Profile for Cadmium** :draft for public comment. Atlanta, GA: U.S. Department of Public Health and Human Services, Public Health Service.
- ATSDR. (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2005. **Public health statement – arsenic**. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp2-c1-b.pdf>> Acesso em: 31 out. 2008.
- AZEVEDO, J. S. 2008. **Biomarcadores de contaminação ambiental em *Cathorops spixii* nos estuários de Santos/São Vicente e Cananéia, São Paulo, Brasil**. Tese (Doutorado) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 219 p.
- AZEVEDO, J. S.; FERNANDEZ, W. S.; FARIAS, L. A.; FAVARO, D. T. I.; BRAGA, E. S. 2009. Use of Use of *Cathorops spixii* as bioindicator of pollution of trace metals in the Santos Bay, Brazil. **Ecotoxicology**, v. 18, n. 5, p. 577-586.
- AZEVEDO, M. C. C.; ARAÚJO, F. G.; CRUZ-FILHO, A. G.; GOMES, I. D. E; PESSANHA, A. L. M. 1999. Variação espacial e temporal de bagres marinhos (Siluriformes, Ariidae) na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. **Rev. Bras. biol.**, v. 59, n. 3, p. 443-454.
- BARBIERI, E. 2009. Concentration of heavy metals in tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) sampled in the Cananéia estuary, Brazil. **Braz. j. oceanogr.**, v. 57, n. 3, p. 243-248.
- BARBOSA, S. C. T. 2010. **Mercúrio total em *Cathorops spixii* Agassiz, 1829 (Actinopterygii-Ariidae) no estuário do Rio Goiana: variações espaciais e sazonais**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. 35 p.

- BARCELLOS, R. L.; CAMARGO, P. B.; GALVÃO, A.; WEBER, R. R. 2009. Sedimentary organic matter in cores of the Cananéia-Iguape Lagoonal-Estuarine System, São Paulo State, Brazil. **J. coast. res.**, n. 56, p. 1335-1339. Special issue.
- BARRA, C.M.; SANTELLI, R.E.; ABRÃO, J.J. & GUARDIA, M. 2000. Especiação do arsênio: uma revisão. **Quim. nova**, v. 23, n. 1, p. 58-70.
- BARŠIENĖ, J.; DEDONYTĖ, V.; RYBAKOVAS, A.; ANDREIKĖNAITĖ, L.; ANDERSEN, O. K. 2006. Investigation of micronuclei and other nuclear abnormalities in peripheral blood and kidney of marine fish treated with crude oil. **Aquat. toxicol.**, v. 78, p. 99-104. Supplement.
- BERBEL, G. B. B. 2008. **Estudo do fósforo sedimentar e de suas especiações químicas em dois sistemas costeiros e Plataforma Continental Sudeste (Brasil) e Baía do Almirantado (região antártica) considerando suas relações biogeoquímicas**. Tese (Doutorado). - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 283 p.
- BÉRGAMO, A. L. 2000. **Características da hidrografia, circulação e transporte de sal: Barra de Cananéia, Sul do Mar de Cananéia e Baía do Trapandé**. Dissertação (Mestrado) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 254 p.
- BEYERSMANN, D.; HARTWIG, A. 1992. The genetic toxicology of cobalt. **Toxicol. appl. pharmacol.**, v. 115, n. 1, p. 137-145.
- BOLOGNESI, C.; PERRONE, E.; ROGGIERI, P.; PAMPANIN, D. M.; SCIUTTO, A. 2006. Assessment of micronuclei induction in peripheral erythrocytes of fish exposed to xenobiotics under controlled conditions. **Aquat. toxicol.**, v. 78, p. 93-98. Supplement.
- BOMBAIL, V.; AW, D.; GORDON, E.; BATTY, J. 2001. Application of the comet and micronucleus assays to butterflyfish (*Pholis gunnellus*) erythrocytes from the Firth of Forth, Scotland. **Chemosphere**, v. 44, n. 3, p. 383-392.
- BORAK, J.; HOSGOOD, H. D. 2007. Seafood arsenic: Implications for human

risk assessment. **Regul. toxicol. pharmacol.**, v. 47, n. 2, p. 204-212.

BRAGA, E. S. 2002. **Bioquímica marinha e efeitos da poluição nos processos bioquímicos**. 2. ed. São Paulo: FUNDESPA.

BRAGA, E. S. 1995. **Nutrientes dissolvidos e produção primária do fitoplâncton em dois sistemas costeiros do estado de São Paulo**. Tese (Doutorado) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 2 v.

BRASIL, LEIS, DECRETOS, etc. 1998, Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de alimentos DINAL – Portaria nº 685 de 27 de agosto de 1998. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília. Seção 1, pt 1, p. 1415-1437, 24 set. 1998.

BRYAN, G. W. 1971. The effects of heavy metals (other than mercury) on marine and estuarine organisms. **Proc. Biol. Soc. Wash. B.**, v. 177, p. 389-410.

BU-OLAYAN, A. H.; SUBRAHMANYAM, M. N. V. 1996. Trace metals in fish from the Kuwait coast using the microwave acid digestion technique. **Environ. int.**, v. 22, n. 6, p. 753-758.

CARVALHO, C. E. V.; LACERDA, L. D.; GOMES, M. P. 1993. Metais pesados na biota bêntica da Baía de Sepetiba e Angra dos Reis, RJ. **Acta limnol. bras.**, v. 6, p.222–229.

ÇAVAŞ, T. 2008. In vivo genotoxicity of mercury chloride and lead acetate: Micronucleus test on acridine orange stained fish cells. **Food chem. toxicol.**, v. 46, n. 1, p. 352-358.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEMANETO AMBIENTAL. **Relatório de Qualidade das Águas Litorâneas do Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2003. Disponível em: <<http://www.cetesb.gov.br>> Acesso em 31 maio 2011.

- CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEMANETO AMBIENTAL.
Tensões Antrópicas sobre o Sistema Lagunar de Iguape-Cananéia.
São Paulo: CETESB, 1984.
- .CHAGAS, L. P. 2005. **Aspectos zoogeográficos da ictiofauna estuarina na costa leste das américas (Oceano Atlântico Centro-Sul).** Monografia (Graduação em Oceanografia). Universidade Federal do Espírito Santo. 44 p.
- CHALOM, A.; MUTO, E. Y. ; SOARES, L. S. H. 2005. Alimentação do bagre amarelo *Cathorops spixii* no litoral do estado de São Paulo: resultados preliminares. In: II CONGRESSO BRASILEIRO DE OCEANOGRAFIA, 2. Vitória. **Resumos...** Vitória: AOCEANO; Universidade Federal do Espírito Santo, 2005. 1 CD-ROM.
- CLOWES, L. A.; FRANCESCONI, K. A. 2004. Uptake and elimination of arsenobetaine by the mussel *Mytilus edulis* is related to salinity. **Comp. biochem. physiol. Part C, Comp. pharmacol. toxicol.**, v. 137, n. 1, p. 35-42.
- COELHO, J. P.; SANTOS, H.; REIS, A. T.; FALCÃO, J.; RODRIGUES, E. T.; PEREIRA, M. E.; DUARTE, A. C.; PARDAL, M. A. 2005. Mercury bioaccumulation in the spotted dogfish (*Scyliorhinus canicula*) from the Atlantic Ocean. **Mar. poll. bull.**, v. 60, n. 8, p. 1372-1375.
- COHEN, T.; HEE, S.; AMBROSE, R. 2001. Trace metals in fish and invertebrates of three California coastal wetlands. **Mar. poll. bull.**, v. 42, n. 3, p. 224-232.
- COSTA, P. M.; LOBO, J.; CAEIRO, S.; MARTINS, M.; FERREIRA, A. M.; CAETANO, M.; VALE, C.; DELVALLS, T. A.; COSTA, M. H. 2008. Genotoxic damage in *Solea senegalensis* exposed to sediments from the Sado Estuary (Portugal): Effects of metallic and organic contaminants. **Mutat. res.**, v. 654, n. 1, p. 29-37.
- CRAIG, S. A. S. 2004. Betaine in human nutrition. **Am. j. clin. nutr.**, v. 80, n. 3, p. 539-549.

- CUI, B.; ZHANG, Q.; ZHANG, K.; LIU, X.; ZHANG, H. 2011. Analyzing trophic transfer of heavy metals for food webs in the newly-formed wetlands of the Yellow River Delta, China. **Environ. pollut.**, v. 159, n. 5, p. 1297-1306.
- DIAS, J. F.; SCHMIDT, T. C. S. 2008. Aspectos reprodutivos de *Cathorops spixii* (Agassiz, 1829) (Ariidae: Siluriformes) na Baía de Santos, SP. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE OCEANOGRAFIA, 4. São Paulo. **Mudanças ambientais**. São Paulo: IOUSP, 2008. 1 CD-ROM.
- EPA. **Ecological Risk Assessment**: glossary of terms. Disponível em: <<http://www.epa.gov/region5superfund/ecology/html/glossary.html>>. Acesso em 25 abr. 2011.
- EYSINK, G. G. J.; COIMBRA-MARTINS, M.; VARGAS-BOLDRINI, C.; NAVAS-PEREIRA, D. 1990. Metais pesados em organismos aquáticos do rio Ribeira de Iguape e do complexo estuarino-lagunar de Iguape-Cananéia: avaliação preliminar. In: SIMPÓSIO DE ECOSSISTEMAS DA COSTA SUL E SUDESTE BRASILEIRA, 2., 1990, Águas de Lindóia. **Anais...** São Paulo: ACIESP, 1990. v. 2, p. 417–443.
- FARIAS, L. A.; AZEVEDO, J. S.; FÁVARO, D. I. T.; BRAGA, E. S. 2005. Evaluation of Mercury, selenium and methylmercury in fish consumed by Santos Bay communities, São Paulo, Brazil. In: INTERNATIONAL NUCLEAR ATLANTIC CONFERENCE, Santos. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Energia Nuclear. p. 9.
- FÁVARO, L. F., FREHSE, F. A., OLIVEIRA, R. N.; Schwartz Júnior, R. 2005. Reprodução do bagre amarelo, *Cathorops spixii* (Agassiz) (Siluriformes, Ariidae), da Baía de Pinheiros, região estuarina do litoral do Paraná, Brasil. **Rev. Bras. Zool.**, v. 22, n. 4, p. 1022–1029.
- FIGUEIREDO, J. L.; MENEZES, N. A. 1978. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. II. Teleósteos (1)**. São Paulo: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo.
- FISHBASE. 2010. <www.fishbase.org>

- FREIRE, M. M.; SANTOS, V. G.; GINUINO, I. S. F.; ARIAS, A. R. L. 2008. Biomarcadores na avaliação da saúde ambiental dos ecossistemas aquáticos. **Oecol. bras.**, v. 12, n. 3, p. 347–354.
- FURNESS, R. W.; RAINBOW, P. S. (Ed.). 1990. **Heavy metals in the marine environment**. Florida: CRC.
- GALINDO, T. P.; MOREIRA, L. M. 2009. Evaluation of genotoxicity using the micronucleus assay and nuclear abnormalities in the tropical sea fish *Bathygobius soporator* (Valenciennes, 1837) (Teleostei, Gobiidae). **Genet. mol. biol.**, v. 32, n. 2, p. 394-398.
- GAUTHIER, L.; VAN DER GAAG, M. A.; L'HARIDON, J.; FERRIER, V.; FERNANDEZ, M. 1993. In vivo detection of waste water and industrial effluent genotoxicity: use of the Newt Micronucleus Test (Jaylet Test). **Sci. total environ.**, v. 138, n. 1-3, p. 249-269.
- GEOBRÁS. 1966. **Complexo Valo Grande – Mar Pequeno – Rio Ribeira de Iguape**. Relatório para o Serviço do Vale do Ribeira. São Paulo: DAEE.
- GOMES, I. D., ARAÚJO, F. G., AZEVÊDO, M. C. C.; PESSANHA, A. L. M. 1999. Biologia reprodutiva dos bagres marinhos *Genidens genidens* (Valenciennes) e *Cathorops spixii* (Agassiz) (Siluriformes, Ariidae), na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil. **Revta bras. Zool.**, v. 16, n. 2, p. 171–180.
- GRASSHOFF, K.; EHRARDT, M.; KREMLING, K. **Methods of seawater analysis**. 2nd rev. and extended ed. Weinheim: Verlag Chemie, 1983.
- GUILHERME, S.; VÁLEGA, M.; PEREIRA, M. E.; SANTOS, M. A.; PACHECO, M. 2008. Erythrocytic nuclear abnormalities in wild and caged fish (*Liza aurata*) along an environmental mercury contamination gradient. **Ecotoxicol. environ. saf.**, v. 70, n. 3, p. 411-421.
- GUIMARÃES, V. 2007. **Resíduos de mineração e metalurgia: efeitos poluidores em sedimentos e em espécie biomonitora Rio Ribeira de**

Iguape – SP. Tese (Doutorado) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo. 160 p.

HANAZAKI, N.; BEGOSSI, A. 2006. Catfish and mullets: the food preferences and taboos of Caicaras (Southern Atlantic Forest Coast, Brazil). **Interciencia**, v. 31, n. 2, p. 123-129.

HARARI, J; MESQUITA, A. R. 2008. Tábuas das marés de Ubatuba, Santos e Cananéia para os anos de 2008 e 2009. **Relat. tec. Inst. Oceanogr.**, n. 54, 1-27.

HEATH, A. G. 1987. **Water pollution and fish physiology**. Boca Raton: CRC.

HENRY, F.; AMARA, R.; COURCOT, L.; LACOUTURE, D.; BERTHO, M.-L. B. Heavy metals in four fish species from the French coast of the Eastern English and Southern Bight of the North Sea. **Environ. int.**, v. 30, n. 5, p. 675-683, 2004.

HIGDON, J., DRAKE, V.J.; ANDERSON, R.A. 2007. **Micronutrient Information Center:** chromium. Disponível em: <<http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/minerals/chromium/>> Acesso em 1 abr. 2008.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Sinopse do Censo Demográfico 2010**. Disponível em: <<http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?uf=35&dados=0>>. Acesso em: 02 jun. 2011.

JARDIM, A. N. O.; CALDAS, E. D. 2009. Exposição humana a substâncias químicas potencialmente tóxicas na dieta e os riscos para saúde. **Quim. nova**, v. 32, n. 7, p. 1898-1909.

JÄRUP, L. 2003. Hazards of heavy metal contamination. **Br. med. bull.**, v. 68, p. 167-182.

- JESUS, T. B.; CARVALHO, C. E. V. 2008. Utilização de biomarcadores em peixes como ferramenta para avaliação de contaminação ambiental por mercúrio (Hg). **Oecol. Bras.**, v. 12, n. 4, p. 680–693.
- JHA, A. N. 2004. Genotoxicological studies in aquatic organisms: an overview. **Mutat. res.**, v. 552, n. 1-2, p. 1-17.
- JOYEUX, J. C. FILHO, E. A. C.; JESUS, H. C. 2004. Trace Metal Contamination in Estuarine Fishes from Vitória Bay, ES, Brazil. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v. 47, n. 5, p. 765–774.
- KAREZ, C. S.; AMADO-FILHO, G. M.; MOLL, D. M.; PFEIFFER, W. C. 1994. Concentração de metais em algas marinhas bentônicas de três regiões do estado do Rio de Janeiro. **An. Acad. Bras. Cienc.**, v. 66, n. 2, p. 205–211.
- KATO, K. 1966. Chemical investigations on the hydrographical system of Cananéia lagoon. **Bol. Inst. Oceanogr.**, v. 15, n1, p. 1-12.
- KENNISH, M. J. 1997. **Practical handbook of estuarine and marine pollution**. Boca Raton: CRC.
- KIRSCHBAUM, A. A. 2010. **Citogenotoxicidade e determinação de metais, PAHs e organoclorados em tecidos de *Cathorops spixii* e *Centropomus parallelus* provenientes de três complexos estuarinos da costa brasileira**. Dissertação (Mestrado) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 269 p.
- KLUMPP, D. W.; PETERSON, P. J. 1979. Arsenic and other trace elements in the waters and organisms of an estuary in SW England. **Environ. pollut.**, v. 19, n. 1, p. 11-20.
- KOUKOUZIKA, N.; DIMITRIADIS, V. K. 2008. Aspects of the usefulness of five marine pollution biomarkers, with emphasis on MN and lipid content. **Mar. poll. bull.**, v. 56, n. 5, p. 941-949.
- KUNIYOSHI L. S.; FÁVARO, D. I. T.; BRAGA, E. S. 2009. Avaliação da concentração de metais traço (Zn, Co, Cr e As) em músculos de peixes de

- dois sistemas estuarinos (São Paulo, Brasil): Uma proposta para biomonitor de cromo. In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE CIENCIAS DEL MAR, 13., 2009, Havana. **Anais**Cuba 2009. 1 CD-ROM.
- KUNIYOSHI, L. S. ; BRAGA, E. S. 2010. Cytogenetic disruption in fishes as bioindicator of the environmental quality in two estuarine systems under different exposition to anthropogenic influences. In: SAFETY, HEALTH AND ENVIRONMENTAL WORLD CONGRESS, 10., **Abstracts** São Paulo: SHEWC. São Paulo. p. 93-6.
- KUNIYOSHI, L. S. 2008. **Avaliação da concentração de zinco (Zn), cobalto (Co), cromo (Cr) e arsênio (As) em tecidos da ictiofauna do sistema estuarino de Santos e São Vicente (São Paulo, Brasil) no período de inverno**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 56 p.
- KUNIYOSHI, L. S.; BRAGA, E. S.; FÁVARO, D. I. T. Uso do arsênio na avaliação da qualidade do pescado: necessidade de adequação da legislação ambiental. In: V SIMPÓSIO BRASILEIRO DE OCEANOGRAFIA, 5., 2011, Santos. **Resumos**... São Paulo: IOUSP, 2011. 1 CD-ROM.
- LACERDA, L.D.; TEIXEIRA, V.I. & GUIMARÃES, V.R.D. 1985. Seasonal variation of heavy metals in seaweeds from Conceição de Jacaré, Brasil. **Bot. mar.**, v. 49, n. 3, p. 847–849.
- LATKOVSKAYA, E. M. 2000. Metals in the tissues of the Starry Flounder *Pleuronectes stellatus* from Nyiskii Bay (Southeastern Sakhalin). **Russ. j. mar. biol.**, v. 26, n. 4, p. 292–295.
- LI, W.; WEI, C.; ZHANG, C.; VAN HULLE, M.; CORNELIS, R.; ZHANG, X. 2003. A survey of arsenic species in chinese seafood. **Food chem. toxicol.**, v. 41, n. 8, p. 1103-1110.
- MACHADO, I. C.; MAIO, F. D.; KIRA, C. S.; CARVALHO, M. F. 2002. Estudo da ocorrência dos metais pesados Pb, Cd, Hg, Cu e Zn na ostra de mangue *Crassostrea brasiliiana* do estuário de Cananéia – SP, Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 61, n. 1, p. 13–18.

- MALUF, J. C. C. 2009. **Estudo dos metais traço (zinco, cádmio e chumbo) em duas regiões do complexo estuarino-lagunar de Cananéia-Iguape (SP) sob diferentes pressões antrópicas**. Dissertação (Mestrado) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo. 126 p.
- MINISSI, S.; CICCOTTI, E.; RIZZONI, M. 1996. Micronucleus test in erythrocytes of *Barbus plebejus* (Teleostei, Pisces) from two natural environments: A bioassay for the in situ detection of mutagens in freshwater. **Mutat. res.**, v. 367, n. 4, p. 245-251.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. 1977. Decreto nº 55871 de 26 de março de 1965. Legislação Federal do Setor de Saúde, Editora Brasília, Consultoria Jurídica, Vol. 2, 498–545.
- MISHIMA, M.; YAMANAKA, N.; PEREIRA, O. M.; SOARES, F. C.; SINQUE, C.; AKABOSHI, S.; JACOBSEN, O. 1985. Hidrografia do complexo estuarino-lagunar de Cananéia (25° S, 048° W), São Paulo, Brasil. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 109–121.
- MIYAO, S. Y.; NISHIHARA, L.; SARTI, C. C. 1986. Características físicas e químicas do Sistema Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape. **Bol. Inst. Oceanogr.**, São Paulo, v. 34, p. 23-86.
- NECHEV, J.; STEFANOV, K.; POPOV, S. 2006. Effect of cobalt ions on lipid and sterol metabolism in the marine invertebrates *Mytilus galloprovincialis* and *Actinia equina*. **Comp. biochem. physiol., A. Comp. physiol.**, v. 144, n. 1, p. 112-118.
- NGAN, P. V.; GOMES, V.; PASSOS, M. J. A. C. R.; USSAMI, K. A.; CAMPOS, D. Y. F.; ROCHA, A. J. S.; PEREIRA, B. A. 2007. Biomonitoring of the genotoxic potential (micronucleus and erythrocyte nuclear abnormalities assay) of the Admiralty Bay water surrounding the Brazilian Antarctic Research Station "Comandante Ferraz," King George Island. **Polar biol.**, v. 30, n. 2, p. 209-217.

- NIENCHESKI, L. F.; MILANI, M. R.; MILANI, I. 2008. Metais traço na água. In: BAPTISTA NETO, J. A.; WALLNER-KERSANACH, M.; PATCHINEELAM, S. M. **Poluição marinha**. Rio de Janeiro: Interciência. p.179–196.
- ONTARIO - Ministry of the Environment. **Cobalt in the environment**. 2001. Disponível em: <<http://www.ene.gov.on.ca/cons/3793e.pdf>> Acesso em: 1 maio 2008.
- PESHUT, P. J.; MORRISON, R. J.; BROOKS, B. A. 2008. Arsenic speciation in marine fish and shellfish from American Samoa. **Chemosphere**, v. 71, n. 3, p. 484-492.
- REZENDE, C. E.; LACERDA, L. D. 1986. Metais pesados em mexilhões *Perna perna* no litoral do estado do Rio de Janeiro. **Rev. Bras. biol.**, v. 46, n. 1, p. 239–247.
- RUEDA, M. 2001. Spatial distribution of fish species in a tropical estuarine lagoon: a geostatistical appraisal. **Mar. ecol. Prog. ser.**, v. 222, p. 217-226.
- RUSSO, C.; ROCCO, L.; MORESCALCHI, M. A.; STINGO, V. 2004. Assessment of environmental stress by the micronucleus test and the Comet assay on the genome of teleost populations from two natural environments. **Ecotoxicol. environ. saf.**, v. 57, n. 2, p. 168-174.
- SAEI-DEHKORDI, S. S.; FALLAH, A. A.; NEMATOLLAHI, A. 2010. Arsenic and mercury in commercially valuable fish species from the Persian Gulf: influence of season and habitat. **Food chem. toxicol.**, v. 48, n. 10, p. 2945-2950.
- SANTOS, A. F. 2004. **Ecologia alimentar do bagre-amarelo, *Arius spixii* (Agassiz, 1829) (Siluriformes: Ariidae), na Enseada de Caraguatatuba, São Paulo**. Monografia (Estágio supervisionado em Ciências Biológicas) - Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos. São João da Boa Vista, SP. 39 p.
- SANTOS, A. R. 2007. **Valo Grande: uma ferida aberta de enorme carga didática**. Disponível em:

<<http://noticias.ambientebrasil.com.br/artigos/2007/06/19/31786-valo-grande-uma-ferida-aberta-de-enorme-carga-didatica.html>> Acesso em: 11 maio 2011.

- SELLANES, A. G.; MÁRSICO, E. T.; SANTOS, N. N.; CLEMENTE, S. C. S.; OLIVEIRA, G. A.; MONTEIRO, A. B. S. 2002. Mercúrio em peixes marinhos. **Acta sci. vet.**, v. 30, n. 2, p. 107–112.
- SEMMLER, M. G. M. C. 2007. **Biomonitoração de Hg, Cd, Pb e outros elementos em áreas costeiras do estado de São Paulo por meio do mexilhão transplantado *Perna perna* (Linnaeus, 1758)**. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. 139 p.
- SHARMA, V. K.; SOHN, M. 2009. Aquatic arsenic: toxicity, speciation, transformations, and remediation. **Environ. int.**, v. 35, n. 4, p. 743-759.
- SILVA, J. P. 1996. **Aspectos da biologia reprodutiva de *Cathorops spixii* (Agassiz, 1829) das Ilhas Pai Matos (25'graus'S 47'graus'54' W) – região estuarino-lagunar de Cananéia**. Dissertação (Mestrado) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo. 90 p.
- SIVAPERUMAL, P.; SANKAR, T. V.; NAIR, P. G. V. 2007. Heavy metal concentrations in fish, shellfish and fish products from internal markets of India vis-a-vis international standards. **Food chem.**, v. 102, n. 3, p. 612-620.
- STRONKHORST, J. Trends in pollutants in blue mussel *Mytilus-edulis* and flounder *Platichthys-flesus* from 2 dutch estuaries, 1985-1990. 1992. **Mar. poll. bull.**, v. 24, n. 5, p. 250-258.
- SZEFER, P.; DOMAGALA-WIELOSZEWSKA, M.; WARZUCHA, J.; GARBACIK-WESOŁOWSKA, A.; CIESIELSKI, T. 2003. Distribution and relationships of mercury, lead, cadmium, copper and zinc in perch (*Perca fluviatilis*) from the Pomeranian Bay and Szczecin Lagoon, southern Baltic. **Food chem.**, v. 81, n. 1, p. 73-83.
- TORRES, M. A.; BARROS, M. P.; CAMPOS, S. C. G.; PINTO, E.; RAJAMANI, S.; SAYRE, R. T.; COLEPICCOLO, P. 2008. Biochemical biomarkers in algae

and marine pollution: a review. **Ecotoxicol. environ. saf.**, v. 71, n. 1, p. 1-15.

UDROIU, I. 2006. The micronucleus test in piscine erythrocytes. **Aquat. toxicol.**, v. 79, n. 2, p. 201-204.

UNEP/RAMOGÉ. **Manual on the biomarkers recommended for the MED POL Biomonitoring Programme**. Athens: UNEP, 1999.

VALDEZ DOMINGOS, F. X.; ASSIS, H. C. S.; SILVA, M. D.; DAMIAN, R. C.; ALMEIDA, A. I. M.; CESTARI, M. M.; RANDI, M. A. F.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A. 2009. Anthropogenic impact evaluation of two Brazilian estuaries through biomarkers in fish. **J. Braz. Ecotoxicol.**, v. 4, n. 1-3, p. 21-30.

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

VICENTE-MARTORELL, J. J.; GALINDO-RIÑO, M. D.; GACÍA-VARGAS, M.; GRANADO-CASTRO, M. D. 2009. Bioavailability of heavy metals monitoring water, sediments and fish species from a polluted estuary. **J. hazard. mater.**, v. 162, n. 2/3, p. 823-836.

VIRGA, R. H. P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F. H. 2007. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. **Cienc. tecnol. aliment.**, v. 27, n. 4, p. 779-785.

WAGNER, A.; BOMAN, J. 2003. Biomonitoring of trace elements in the muscle and liver tissue of freshwater fish. **Spectrochim. acta, Part B: At. spectrosc.**, v. 58, n. 12, p. 2215-2226.

WAINER, I. E. K. C.; COLOMBO, P. M. 1996. Boletim de monitoramento climatológico para as bases: norte e "Dr João Paiva de Carvalho" do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. **Relat. tec. Inst. Oceanogr.**, n. 38, 1-13.

- WAKASA, Y. S. 2003. **Contaminação mercurial em siris e caranguejos da Baía de Guanabara, Rio de Janeiro**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Fluminense. 97 p.
- WALDICHUK, M. 1974. Coastal marine pollution and fish. **Ocean manage.**, v. 2, n. 1, p. 1–60.
- WALLNER-KERSANACH, M.; BIANCHINI, A. 2008. Metais traço em organismos: monitoramento químico e de efeitos biológicos. In: BAPTISTA NETO, J. A.; WALLNER-KERSANACH, M.; PATCHINEELAM, S. M. **Poluição marinha**. Rio de Janeiro: Interciência,. p. 237–286.
- WATANABE, T.; KIRON, V.; SATOH, S. 1997. Trace minerals in fish nutrition. **Aquaculture**, v. 151, n. 1-4, p. 185-207.
- WIRZINGER, G.; WELTJE, L.; GERCKEN, J.; SORDYL, H. 2007. Genotoxic damage in field-collected three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L.): a suitable biomonitoring tool?. **Mutat. res.**, v. 628, n. 1, p. 19-30.
- YADAV, K. K.; TRIVEDI, S. P. 2009. Sublethal exposure of heavy metals induces micronuclei in fish, *Channa punctata*. **Chemosphere**, v. 77, n. 11, p. 1495-1500.