



ACUMULAÇÃO DE COMPOSTOS ORGANOCLORADOS (DDT, PCB, HCH, HCB  
E MIREX) EM *Rioraja agassizi* (MULLER & HENLE, 1841) NO LITORAL SUL DO  
ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Beatriz Corrêa

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva, Instituto de Biologia, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Biologia Evolutiva.

Orientadores: Marcelo Vianna e José Lailson-Brito Junior.

Rio de Janeiro  
Agosto de 2013

ACUMULAÇÃO DE COMPOSTOS ORGANOCLORADOS (DDT, PCB, HCH, HCB  
E MIREX) EM *Rioraja agassizi* (MULLER & HENLE, 1841) NO LITORAL SUL DO  
ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Beatriz Corrêa

Orientadores: Marcelo Vianna e José Lailson-Brito Junior

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva, Instituto de Biologia, da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Biologia Evolutiva.

Aprovada por:

---

Presidente, Prof. Blanche Christine Pires de Bitner-Mathé Leal

---

Prof. Alexandre de Freitas Azevedo

---

Prof. João Paulo Torres

---

Prof. Marcelo Vianna

---

Prof. José Lailson-Brito Junior

Rio de Janeiro  
Agosto de 2013

Corrêa, Beatriz.

Acumulação de compostos organoclorados (DDT, PCB, HCH, HCB e Mirex) em *Rioraja agassizi* (Muller & Henle, 1841) no litoral sul do estado do Rio de Janeiro/ Beatriz Corrêa. – Rio de Janeiro: UFRJ/ Instituto de Biologia, 2013.

xii, 95f.: il.; 31 cm.

Orientadores: Marcelo Vianna e José Lailson-Brito Junior

Dissertação (mestrado) – UFRJ/ Instituto de Biologia/ Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva, 2013.

Referências Bibliográficas: f. 77-95.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar aos meus orientadores. Ao professor Marcelo Vianna, por todos esses anos de ensinamentos e convivência. Por ter sido parte fundamental da minha formação profissional até o momento. Pelas conversas pacientes e por toda a confiança e oportunidades. Por ter incentivado esse trabalho desde o início, mostrando a importância dos diferentes olhares sobre um mesmo tema. Ao professor José Lailson, pelos ensinamentos, por ter acolhido esse projeto e por sempre ter acreditado nele. Por ter aberto as portas do Maqua e assim ter me dado a oportunidade de conviver com tantas linhas de pesquisa e profissionais diferentes em um mesmo ambiente.

Além dos meus orientadores, duas pessoas foram essenciais para a elaboração desse trabalho. Pessoas extremamente generosas e que hoje tenho a honra de ter como amigos. Por ordem cronológica devo agradecer primeiro ao Cláudio Eduardo. Pelas loooongas conversas que começavam com os contaminantes e terminavam abordando a vida, o universo e tudo mais. Em segundo, agradeço à Lara. Por acompanhar de perto todos os altos e baixos dessa jornada, que vai muito além do trabalho acadêmico. Aos dois agradeço pelos ensinamentos, pelo tempo e pela amizade.

Esse trabalho foi realizado em um esquema de quase ponte aérea, por isso devo agradecer aos integrantes dos dois laboratórios que proporcionaram o seu desenvolvimento: aos queridos companheiros de longa data do LBTP, no fundão, e aos numerosos Maquas da UERJ.

Àqueles que compõem minha segunda casa há tantos anos... Obrigada Magda, Kiki, Luana, Kaio, Iuri, Rebeca, Grazi (e o pequeno Ulisses!), Morcego e Germano. Pelas dicas, ouvidos e apoio! Agradeço também às formações anteriores da família LBTP, que não acompanharam esse mestrado de perto, mas contribuíram pra que eu chegasse até aqui!

Aos queridos do Maqua, que são parte da minha terceira casa!! É gente pra caramba, então espero não esquecer ninguém! Pelas risadas, apoio e ajuda, obrigada Amanda, Liana, Dayse, Bárbara, Fernanda, Natalia, Luisa, Isabela (as duas!), Críscia, Arthur, Rafael (os dois!), Carlos, Jéssica, Douglas, Lis, Alice, Sara e Nerelle. Foram todos? Obrigada também à Tati Bisi, pelos grandes ensinamentos nas aulas do mestrado e pelo apoio!

Alguns participaram mais de perto desse trabalho. A eles também gostaria de agradecer. Obrigada Alessandra, por ser uma companheira fiel de todas as horas ao longo dos vários anos de faculdade e mestrado. Pela calma e pelas palavras certas nas horas certas, ajudando a manter a minha sanidade! À doce Larissa, por renovar meu fôlego nessa etapa final com sua empolgação em relação às raias e aos clorados. Ao Neto, que eu conheci em primeiro lugar através das lendas contadas no Maqua sobre o baiano que passava as noites analisando amostras!! Obrigada pelas conversas, pela ajuda e pelo apoio!

Agradeço também aos integrantes do Radioisótopos, no fundão, onde foram feitas as primeiras etapas das análises.

Àqueles que contribuíram no início do projeto, quando essa dissertação ainda era uma ideia órfã! Obrigada Demarques, Amanda, Dulce, Luiz, e Aninha, pela coleta e participação na triagem das raias. E por terem feito parte da formação da família do LBTP!!

Agradeço aos amigos Fabiana e Didier, que escutaram por muitas vezes os problemas desse trabalho. Pelas conversas sobre a área acadêmica e os caminhos profissionais. E pela companhia em todas as práticas de yoga, que me trouxeram mais tranquilidade e também renderam muitas conversas ao longo desses dois anos.

Esse trabalho não seria o mesmo sem todo o apoio e amor que recebo da minha família. Pai, Mãe, Nanda e Gui... e Marcelo, que há muito tempo já é parte essencial desse grupo! Agradeço muito a todos vocês. Pelo amor, pelo incentivo e pelo apoio incondicional, sempre. E aos amigos que também compõem a família: Ana, Pedro, João, Fernanda, Thaís, Bia, Diogo, Janjo e Mestre. Obrigada por tudo!

Agradeço à CAPES pelo apoio financeiro.

*“Parece razoável acreditar que quanto mais claramente possamos concentrar nossa atenção nas maravilhas e realidades do universo que nos cerca, menos gosto teremos pela destruição de nossa raça. Admiração e humildade são emoções saudáveis, e não existem lado a lado com o desejo de destruição.”*

Rachel Carson

## RESUMO

### ACUMULAÇÃO DE COMPOSTOS ORGANOCLORADOS (DDT, PCB, HCH, HCB E MIREX) EM *Rioraja agassizi* (MULLER & HENLE, 1841) NO LITORAL SUL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Beatriz Corrêa

Orientadores: Marcelo Vianna e José Lailson-Brito Junior

Resumo da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva, Instituto de Biologia, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Biologia Evolutiva.

A conservação das espécies de elasmobrânquios tem sido o principal tema de discussão relacionado ao grupo nas últimas décadas. Planos de manejo estão sendo elaborados por diversos países e várias espécies passaram a ser consideradas oficialmente ameaçadas de extinção. Apesar disso, estudos sobre a contaminação desses organismos por organoclorados só se tornaram mais frequentes nos últimos anos. Incluídos no grupo dos Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), esses contaminantes são capazes de bioacumular e biomagnificar ao longo da teia trófica, sendo particularmente tóxicos para organismos topo de cadeia, como os elasmobrânquios. Em concentrações elevadas essas substâncias são capazes de provocar alterações nos sistemas endócrino e imune dos organismos marinhos, prejudicando sua reprodução e deixando-os vulneráveis a uma série de doenças. Esse estudo analisou a concentração de compostos organoclorados em fígado da raia-santa (*Rioraja agassizi*), uma espécie explorada comercialmente e classificada como “vulnerável” na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN. A contaminação de *R. agassizi* foi considerada elevada. A concentração média de  $\Sigma$ PCB, o principal grupo de compostos organoclorados, foi de 560,5 ( $\pm$  539,2) ng.g<sup>-1</sup> de lipídio. Esse valor foi semelhante aos encontrados para

algumas espécies de elasmobrânquios capturadas no Mar Mediterrâneo e para a população da raia *Dasyatis sabina*, do Golfo do México, que apresentou alterações nos sistemas endócrino e imune. Apesar da menor contribuição do DDT ( $\sum\text{DDT}/\sum\text{PCB} = 0,08$ ), a análise de seus derivados indica uma entrada recente desse composto na área de estudo ( $\text{DDE}/\sum\text{DDT} = 0,40$ ). Indivíduos adultos apresentaram níveis mais elevados de poluentes em relação aos jovens. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre machos e fêmeas. A existência de dois perfis de contaminação pode indicar a formação de agregações de indivíduos na população estudada.

Palavras-chave: *Rioraja agassizi*, Rajidae, Elasmobrânquios, Poluentes Orgânicos Persistentes, Organoclorados, PCB, DDT, Rio de Janeiro, Brasil

Rio de Janeiro  
Agosto de 2013



## ***ABSTRACT***

### ORGANOCHLORINE COMPOUNDS ACUMULATION (DDT, PCB, HCH, HCB AND MIREX) IN *Rioraja agassizi* (MULLER & HENLE, 1841) FROM SOUTHERN COAST OF RIO DE JANEIRO STATE

Beatriz Corrêa

Orientadores: Marcelo Vianna e José Lailson-Brito Junior

*Abstract* da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biologia Evolutiva, Instituto de Biologia, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Biologia Evolutiva.

The conservation of elasmobranches has been the main topic of discussion related to the group during the last decades. Several countries are preparing management plans and many species are considered officially endangered. Nonetheless, studies on the organochlorine contamination of such organisms have only become more frequent in recent years. Included in the group of Persistent Organic Pollutants (POPs), these contaminants are able to bioaccumulate and biomagnificate along the trophic web, being particularly toxic to top predators as elasmobranch. High concentrations of these substances can affect immune and endocrine systems of marine organisms, impairing reproduction and leaving them vulnerable to a number of diseases. This study investigated the concentration of organochlorine compounds in liver tissue of the Rio Skate (*Rioraja agassizi*), a commercially exploited species classified as "vulnerable" by the IUCN Red List of Threatened Species. The contamination of *R. agassizi* was considered elevated. The mean concentration of  $\Sigma$ PCB, the main group of organochlorine compounds, was  $560.5 (\pm 539.2) \text{ ng.g}^{-1}$  lipid. This value was similar to those found for some elasmobranch caught in the Mediterranean Sea and for a ray population of *Dasyatis sabina*, from Gulf of Mexico, that showed immune and

endocrine systems disorders. Despite the lower contribution of DDT ( $\Sigma\text{DDT}/\Sigma\text{PCB} = 0.08$ ), analysis of its derivatives indicates a recent entry of this compound in the study area ( $\text{DDE}/\Sigma\text{DDT} = 0.40$ ). Adults showed higher levels of pollutants than juveniles. No statistically significant differences between males and females were found. The existence of two contamination patterns may indicate a grouping behavior in the studied population.

Key-words: *Rioraja agassizi*, Rajidae, Elasmobranchs, Persistent Organic Pollutants, Organochlorine, PCB, DDT, Rio de Janeiro, Brazil

Rio de Janeiro  
Agosto de 2013

## SUMÁRIO

1.	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1.	<b>Espécie Estudada: Raia-Santa, <i>Rioraja agassizi</i> (Müller &amp; Henle, 1841)</b> .....	3
1.2.	<b>Compostos Organoclorados</b> .....	6
1.2.1.	<i>Bifenilas Policloradas (PCBs)</i> .....	7
1.2.2.	<i>Diclorodifeniltricloroetano (DDT)</i> .....	9
1.2.3.	<i>Demais Pesticidas Organoclorados (HCHs, HCB e Mirex)</i> .....	11
1.2.4.	<i>Contaminação e Dispersão no Ambiente</i> .....	12
1.3.	<b>Contaminação de Elasmobrânquios por Organoclorados</b> .....	14
1.4.	<b>Conservação de Elasmobrânquios</b> .....	19
2.	<b>OBJETIVOS</b> .....	22
2.1.	<b>Objetivo Geral</b> .....	22
2.2.	<b>Objetivos Específicos</b> .....	22
3.	<b>HIPÓTESES</b> .....	22
4.	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	23
4.1.	<b>Área de Estudo</b> .....	23
4.2.	<b>Amostragem</b> .....	25
4.3.	<b>Cuidados Analíticos</b> .....	27
4.3.1.	<i>Descontaminação do Material</i> .....	27
4.3.2.	<i>Reagentes</i> .....	27
4.3.3.	<i>Soluções Padrão dos Compostos Organoclorados</i> .....	28
4.4.	<b>Procedimentos Analíticos de Organoclorados</b> .....	28
4.4.1.	<i>Extração</i> .....	29
4.4.2.	<i>Purificação</i> .....	29
4.4.3.	<i>Quantificação do Conteúdo Lipídico</i> .....	30
4.5.	<b>Condições Cromatográficas</b> .....	30
4.6.	<b>Curva Analítica</b> .....	31
4.7.	<b>Limite de Detecção do Método</b> .....	31
4.8.	<b>Validação da Metodologia</b> .....	32
4.9.	<b>Análises e Testes Estatísticos</b> .....	34
4.9.1.	<i>Tópico "Conteúdo Lipídico"</i> .....	34

4.9.2.	<i>Tópico "Bioacumulação de Compostos Organoclorados"</i> .....	35
5.	<b>RESULTADOS</b> .....	37
5.1.	<b>Conteúdo Lipídico</b> .....	40
5.2.	<b>Bioacumulação de Compostos Organoclorados</b> .....	42
5.2.1.	<i>Resultados Gerais</i> .....	42
5.2.2.	<i>Variabilidade Intrapopulacional nos Níveis e Perfis de Contaminação</i> ....	46
6.	<b>DISCUSSÃO</b> .....	57
6.1.	<b>Conteúdo Lipídico</b> .....	57
6.2.	<b>Bioacumulação de Compostos Organoclorados em <i>Rioraja agassizi</i></b> ...	59
6.2.1.	<i>Perfil de Contaminação</i> .....	59
6.2.2.	<i>Variabilidade Intrapopulacional nos Níveis e Perfis de Contaminação</i> ....	65
6.2.3.	<i>Status de Contaminação</i> .....	68
7.	<b>CONCLUSÕES</b> .....	73
8.	<b>RECOMENDAÇÕES</b> .....	74
9.	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	77

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas a conservação de elasmobrânquios (grupo que compreende mais de 1.100 espécies de tubarões, raias e quimeras) foi um dos assuntos relacionado ao grupo que mais recebeu destaque. Diversas espécies passaram a ser consideradas ameaçadas de extinção e existe um aumento no esforço da elaboração e da implementação de medidas de conservação de raias e tubarões (FAO, 2011). Até o momento, as pesquisas relacionadas ao impacto antrópico sobre as espécies ameaçadas de elasmobrânquios tratam predominantemente da pressão pesqueira sobre o grupo. Investigações acerca da contaminação desses organismos por substâncias tóxicas persistentes têm aumentado, mas ainda não podem ser consideradas frequentes (e.g. Gelslechter *et al.*, 2008; Azevedo-Silva *et al.*, 2009; Storelli *et al.*, 2011a,b; Rosenfelder *et al.*, 2012). Dentro desse contexto, predominam os estudos com grandes tubarões oceânicos, sendo empregado um esforço menor para tubarões costeiros e ainda menor para as espécies de raia (Gelslechter *et al.*, 2006; Gelslechter *et al.*, 2008). Mesmo assim, os resultados gerados têm mostrado níveis preocupantes de contaminação em tubarões e raias pertencentes a diferentes biomas marinhos (Storelli & Marcotrigiano, 2001; Gelslechter *et al.*, 2005; Azevedo-Silva *et al.*, 2007; Strid *et al.*, 2007; Storelli *et al.*, 2011b; Rosenfelder *et al.*, 2012). Esses dados revelam a existência de mais uma fonte de impacto antrópico sobre os elasmobrânquios, que pode causar consequências graves na manutenção dessas populações ao longo do tempo e trazer grandes desafios para as ações de preservação dessas espécies e da biodiversidade marinha associada a elas.

Fatores como metabolismo lento, grande porte, alta longevidade e posições elevadas na cadeia trófica, transformam os elasmobrânquios em organismos suscetíveis a concentrações elevadas de compostos organoclorados (Gelslechter *et al.*, 2008). Esses poluentes são extremamente resistentes à degradação, podendo ser bioacumulados nas reservas lipídicas dos organismos e biomagnificados ao longo da teia trófica (Storelli *et al.*, 2006). A exposição prolongada a essas substâncias pode provocar respostas de imunotoxicidade, déficits reprodutivos, teratogenia, desregulação endócrina e carcinogenicidade (Ahlborg *et al.*, 1994). O comprometimento do seu sistema imune expõe os organismos a uma série de doenças, aumentando as taxas de mortalidade natural (De Swart *et al.*, 1994; Jones & Voogt, 1999). Além disso, a série de efeitos

tóxicos causados pela contaminação pode comprometer, ao longo do tempo, a reprodução e o recrutamento das espécies, agindo em sinergia aos impactos provocados pela pesca.

As espécies de raia têm sido cada vez mais exploradas pelo setor pesqueiro. Capturadas principalmente por artes de pesca pouco seletivas, elas são utilizadas como uma alternativa à baixa produtividade dos pescados tradicionais, ao mesmo tempo em que o setor acompanha um aumento na demanda mundial pela carne de elasmobrânquios (FAO, 2011). Se antes as raias eram pescadas como captura acessória, sendo muitas vezes descartadas ainda a bordo devido ao baixo valor de mercado, hoje se tornaram alvo de muitas pescarias. No Brasil as estatísticas existentes tratam do desembarque de tubarões e raias como um único grupo. Os dados apontam o crescimento da exploração pesqueira, que segue de uma média de 20.450 toneladas em 2003-2004 para cerca de 83.000 toneladas de elasmobrânquios desembarcados no país em 2009 (FAO, 2006; FAO, 2011). Várias partes das raias são aproveitadas pelas indústrias e mercado consumidor. Além da carne, consumida em diferentes países, a pele e o fígado também são comercializados. Enquanto a primeira é transformada em couro e usado pela indústria têxtil, o segundo é considerado uma matriz de grande valor, aproveitado principalmente pela indústria farmacêutica para a fabricação de lubrificantes e cremes para a pele. O fígado ainda pode ser beneficiado para a fabricação de complementos alimentares ou ser consumido fresco, ou após salgamento, sendo esse um hábito cultivado sobretudo pelos chineses (FAO, 2011).

A raia-santa, *Rioraja agassizi* (Müller & Henle, 1841), é uma espécie demersal endêmica do Atlântico sudoeste, sendo uma das espécies de raia mais abundantes em sua área de ocorrência. Com isso, *R. agassizi* aparece em grande quantidade nos desembarques pesqueiros, apresentando sinais de sobreexploração em algumas regiões (Oddone *et al.*, 2007; Estalles *et al.*, 2008). Esses sinais, associados à grande pressão pesqueira, ao aumento na demanda do mercado pela carne de raia e ao conhecimento escasso sobre a espécie, fizeram com que *R. agassizi* fosse classificada como "vulnerável" na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN (*International Union for Conservation of Nature and Natural Resources*) (Kyne *et al.*, 2007). Apesar do status "vulnerável", esse é o primeiro estudo acerca da contaminação da espécie por substâncias tóxicas persistentes, um provável fator de risco à sua sobrevivência. Foram encontrados relatos anteriores de anomalias morfológicas em exemplares da raia-santa

desembarcados em Santos (São Paulo), sendo sugerida como causa a exposição a poluentes (Casarini *et al.*, 1997), mas nenhuma quantificação ou investigação da possível contaminação foi realizada.

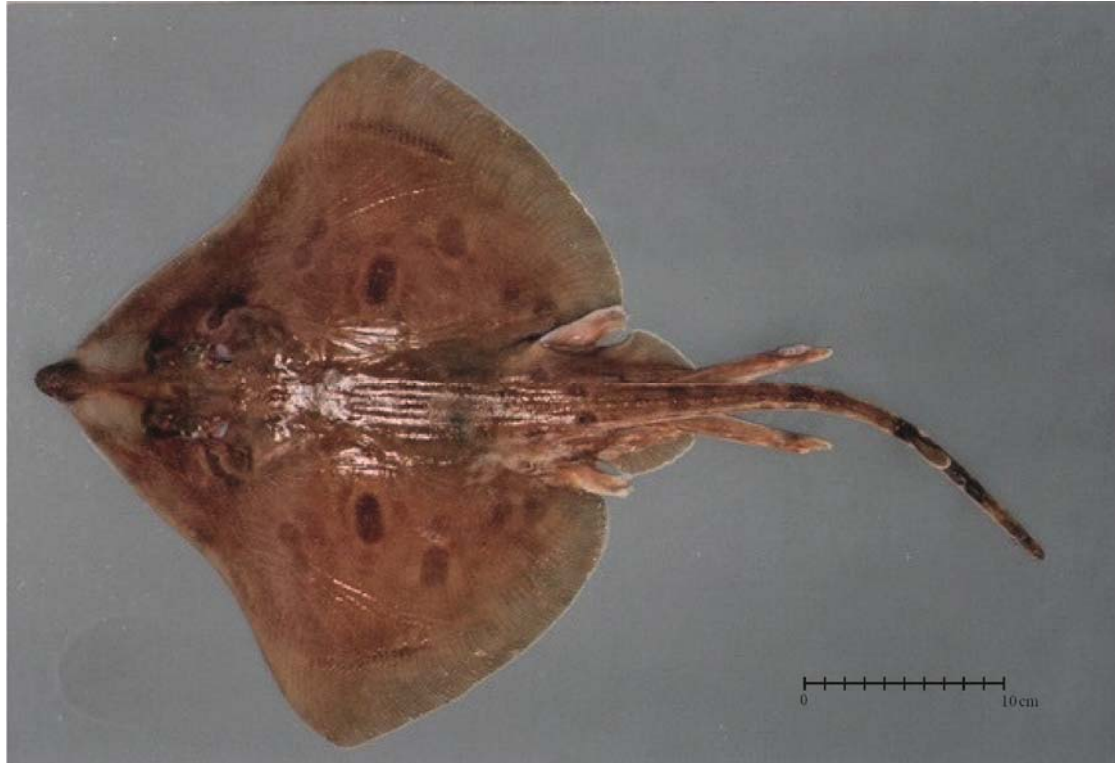
No presente estudo foram analisadas as concentrações, além da influência dos parâmetros biológicos sobre elas, do diclorodifeniltricloroetano (DDT) e seus metabólitos, das bifenilas policloradas (PCBs), do hexaclorociclohexano (HCH) e seus isômeros, do hexaclorobenzeno (HCB) e do Mirex, em fígados de raias-santas, coletadas no litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

### **1.1. Espécie Estudada: Raia-Santa, *Rioraja agassizi* (Müller & Henle, 1841)**

O gênero *Rioraja* é composto unicamente pela espécie *Rioraja agassizi* (Müller & Henle, 1841) (Fig. 1), uma raia demersal e endêmica do Atlântico Sul, ocorrendo apenas entre o Espírito Santo (Brasil) e a Península Valdés (norte da Argentina), em profundidades entre 10 e 130 metros (Figueiredo, 1977; Gomes *et al.*, 2010). Existe o registro, com a identificação confirmada, de um exemplar da espécie para a região de Fernando de Noronha (Pernambuco), mas a procedência é duvidosa. O exemplar encontra-se no Museu de História Natural de Paris (Gomes *et al.*, 2010).

A espécie é caracterizada pela ausência de nadadeira caudal, aba nasal falcada e geralmente um aguilhão interdorsal. A superfície ventral do disco é clara, com uma mancha negra no ápice do focinho. Já a parte dorsal do disco é geralmente castanho-clara, com dois ocelos negros na porção mais interna de cada uma das asas. A parte dorsal é lisa, sem denticulos dérmicos, com uma fileira de aguilhões mediocaudais e um aguilhão interdorsal (Gomes *et al.*, 2010). Os exemplares de *R. agassizi* podem atingir cerca de 70 cm de comprimento total, com um tamanho de primeira maturação variando entre 32 e 48 cm para machos e 40 e 53 cm para fêmeas, sendo os menores valores relatados para o sudeste do Brasil e os maiores para os exemplares capturados entre o Uruguai e a Argentina (Colonello *et al.*, 2007; Oddone *et al.*, 2007). Machos atingem a maturação sexual em tamanhos menores do que as fêmeas, enquanto essas alcançam comprimentos totais muito superiores aos relatados para os indivíduos machos. O tamanho como uma característica de dimorfismo sexual é apontado para a maioria das espécies de elasmobrânquios. No caso de *R. agassizi*, outros atributos também são utilizados para caracterizar os sexos, como a morfologia da cabeça, boca e dentes, assim como a presença de aguilhões alares nos machos. O número de aguilhões caudais

também é superior em fêmeas (Gomes *et al.*, 2010). Além disso, fêmeas são capazes de viver mais do que machos, atingindo até 23 anos de idade contra um máximo de 20 anos para machos (Casarini, 2006).



**Figura 1:** Exemplar de *Rioraja agassizi* capturado durante o presente estudo, no litoral sul do estado do Rio de Janeiro. Exemplar macho adulto (largura do disco: 33,8 cm). Foto: Marcelo Vianna.

Na região sudeste do Brasil foi observado um processo contínuo de vitelogênese, ovulação e postura de ovos, além da presença constante de espermatozoides nas vesículas seminais dos machos ao longo do ano (Oddone *et al.*, 2007). Dessa forma é sugerido um ciclo reprodutivo anual para a espécie, com a ocorrência de pelo menos um pico de atividade reprodutiva durante esse período, sendo esse padrão reportado também para as demais áreas de ocorrência da raia-santa (Oddone *et al.*, 2007; Estalles *et al.*, 2008). O pico reprodutivo é marcado por uma maior intensidade na postura de ovos e esse período pode variar de acordo com a latitude (Estalles *et al.*, 2008). No Brasil, já foram descritos tanto picos únicos de reprodução no verão (Estalles *et al.*, 2008) quanto picos duplos, havendo nesse caso uma divergência: enquanto um grupo de autores descreve os dois picos ocorrendo um na primavera e outro no verão (Oddone *et al.*, 2007), outro grupo de pesquisadores relata os picos de desova ocorrendo um na primavera/verão e



outro no inverno (Colonello *et al.*, 2007). Já na Argentina, dados demonstram que o pico reprodutivo ocorreria apenas uma vez, na primavera (Menni & Stehmann, 2000). Essa falta de sincronia indica diferenças geográficas ao longo da ocorrência de *R. agassizi*, o que pode refletir características particulares de variadas populações. Apesar disso, não existem estudos que demarquem a existência ou os limites geográficos entre diferentes populações da espécie ao longo de sua área de ocorrência. Entre os elasmobrânquios, as raias da família Rajidae costumam apresentar fecundidade elevada, sendo registrado para *R. agassizi* uma produção anual entre 62 e 124 cápsulas ovíferas (Oddone & Capapé, 2011). O tamanho das cápsulas também pode variar de acordo com a latitude (Estalles *et al.*, 2008).

A espécie se alimenta principalmente de crustáceos (camarões, siris e anfípodas) e teleósteos, e em menor proporção de poliquetas e outros pequenos crustáceos (isópodas e cumáceas), sendo observada uma variação ontogenética em sua dieta. Enquanto indivíduos jovens consomem basicamente pequenos crustáceos, como anfípodas e isópodas, na idade adulta as principais presas são camarões, siris e teleósteos, sendo *Raneya fluminensis* uma espécie de peixe ósseo importante em sua dieta. Os itens alimentares consumidos em qualquer fase da vida podem variar regionalmente e sazonalmente, de acordo com a disponibilidade e abundância das presas (Muto *et al.*, 2001; Barbini & Lucifora, 2011). Para o litoral sul do estado do Rio de Janeiro também foi observado o mesmo padrão de consumo, sendo ingeridos principalmente crustáceos e teleósteos (Viana, 2013). Viana (2013) incluiu em sua análise os mesmos exemplares do presente estudo, e a autora observou uma variação ontogenética da dieta, com jovens consumindo nematodas e crustáceos de pequeno porte (Crustacea e Dendrobranchiata) e adultos predando principalmente teleósteos e crustáceos de maior porte (siris). Viana (2013) constatou uma diferença na alimentação entre machos e fêmeas adultos, sendo o consumo de teleósteos bem mais acentuado em fêmeas adultas. Sugere-se que essa diferença esteja mais associada à variação de tamanho entre machos e fêmeas do que ao sexo, uma vez que fêmeas adultas atingem comprimentos superiores aos alcançados pelos machos adultos. A alimentação de *R. agassizi* também apresentou variação sazonal na área de estudo. Viana (2013) admite a variação sazonal na importância dos itens alimentares como um reflexo da mudança na oferta de presas provocada pela dinâmica das massas d'água ao longo do ano.

Em toda a área de ocorrência, a raia-santa é uma das raias mais capturada como espécie acessória pelas pescarias de arrasto de fundo e de emalhe de fundo. No Brasil, a participação dessa espécie na categoria “raias” do desembarque pesqueiro vem aumentando a cada ano. Normalmente os menores indivíduos são descartados ainda a bordo, com uma baixa taxa de sobrevivência, enquanto os exemplares de maior porte são desembarcados e comercializados principalmente para o mercado asiático (Casarini, 2006). De fato, sinais de sobreexploração das espécies de raias vêm surgindo. No caso específico de *R. agassizi* foi observada a redução em 51 mm no valor da média da largura do disco dos exemplares desembarcados na Argentina entre 2001 e 2005 (Estalles *et al.*, 2008). No Brasil, a comparação de dois estudos realizados na mesma área da região sudeste, e com uma diferença de 10 anos entre eles, mostrou uma diminuição de até quatro centímetros no tamanho de primeira maturação dos indivíduos da raia-santa (Oddone *et al.*, 2006). O estoque de *R. agassizi* é apontado como reduzido, mas ainda não existem planos de manejo para a espécie (FAO, 2006). Além da pesca, a contaminação é um provável fator de risco à espécie, tanto por ser um organismo *k*-selecionado quanto por apresentar hábitos bentônicos. A proximidade com o sedimento a torna vulnerável aos poluentes presentes nessa matriz, que é considerada um repositório final para xenobióticos (Solé *et al.*, 2013).

## **1.2. Compostos Organoclorados**

Os compostos organoclorados são hidrocarbonetos clorados, sendo a maioria sintetizada pelo homem, e fazem parte de um grupo de poluentes conhecidos como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs). Os POPs apresentam como características comuns elevada estabilidade e baixa degradação por processos abióticos ou bióticos, acarretando em uma meia-vida elevada, que pode chegar a anos ou décadas. Além disso, também apresentam uma alta toxicidade (LeBlanc, 1997; Jones & de Voogt, 1999). Sendo utilizados principalmente na indústria e na agricultura, a maioria dos organoclorados apresenta capacidade de bioacumulação e biomagnificação. O primeiro termo diz respeito à capacidade do composto em ser absorvido por um organismo diretamente do meio em seu entorno ou pela alimentação, sendo acumulado ao longo de sua vida ou parte dela (Miyamoto, 1996). Já a biomagnificação é o processo pelo qual a concentração de um composto químico bioacumulado cresce ao longo da teia trófica (Miyamoto, 1996).

Por representar um grande risco para a saúde do ser humano e do meio ambiente, 151 países assinaram e aprovaram, em 22 de maio de 2001, a Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs). Segundo esta convenção, que tem força de Lei, as nações signatárias se comprometem a promover a utilização, a comercialização, o manejo e o descarte de POPs de maneira sustentável e ambientalmente correta. Também foi elaborada uma lista contendo o nome de 12 POPs, conhecidos como os “12 sujos”, que devem ser banidos por serem considerados altamente tóxicos. As 12 substâncias são: aldrin, endrin, dieldrin, diclorodifeniltricloroetano (DDT) e seus metabólitos, dioxinas, furanos, heptacloro, hexaclorobenzeno, mirex, bifenilas policloradas (PCBs) e toxafeno (UNEP, 2002). Os POPs mais estudados quanto a sua capacidade de biomagnificação e efeitos sobre os organismos são os DDTs e PCBs.

#### *1.2.1. Bifenilas Policloradas (PCBs)*

As bifenilas policloradas (PCBs) formam uma classe de contaminantes composta por dois anéis de benzeno unidos por uma ligação carbono-carbono, com 1 a 10 átomos de hidrogênio ou cloro nas posições 2-6 e 2'-6' dos anéis, sendo sua fórmula geral  $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$ . Existe um total de 209 estruturas possíveis, que são denominadas congêneres, sendo que as variações na estrutura de PCBs contendo um mesmo número de átomos de cloro são conhecidas como isômeros (Penteado & Vaz, 2001). As regras para a nomenclatura dos PCBs foram estipuladas pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union for Pure and Applied Chemistry - IUPAC*), mas esse método gera nomes extensos e de uso pouco prático. Assim, Ballschmiter & Zell (1980) fizeram adaptações ao método da IUPAC e propuseram uma nova nomenclatura, que é usada atualmente, onde os congêneres seriam numerados de 1 a 209. Os congêneres podem ainda ser classificados de acordo com o número de cloros na molécula, sendo divididos da seguinte maneira: monoclorobifenila (PCBs 1 a 3), diclorobifenila (PCBs 4 a 15), triclorobifenila (PCBs 16 a 39), tetraclorobifenila (PCBs 40 a 81), pentaclorobifenila (PCBs 82 a 127), hexaclorobifenila (PCBs 128 a 169), heptaclorobifenila (PCBs 170 a 193), octaclorobifenila (PCBs 194 a 205), nonaclorobifenila (PCBs 206 a 208) e decaclorobifenila (PCB 209).

Das 209 estruturas existentes, apenas cerca de 130 costumam ser encontradas nas misturas comerciais (WHO, 1990). Essas misturas foram produzidas em diversos

países, com diferentes denominações, como Phenoclor na França, Kanechlor no Japão, Clophen na Alemanha e Fenclor na Itália. Nos Estados Unidos, o principal produtor mundial, a mistura de PCBs era fabricada pela Monsanto e conhecida pelo nome de Aroclor, que era importado para o Brasil e vendido aqui com o nome de Ascarel (Penteado & Vaz, 2001). O grande sucesso comercial das misturas de PCBs se deve principalmente às propriedades físico-químicas desses compostos, sendo as principais a constante dielétrica e a elevada estabilidade térmica e química, resistindo a grandes variações de pH. Essas características permitiram que os produtos contendo PCBs fossem usados em diferentes aplicações comerciais, como por exemplo, em sistemas de transferência de calor, como fluido dielétrico em capacitores e transformadores, fluidos hidráulicos, lubrificantes e óleos de corte, em resinas plastificantes, adesivos, papel carbono e aditivo antichama (ATSDR, 2000).

As bifenilas policloradas foram sintetizadas pela primeira vez em 1864, mas sua produção comercial só teve início na década de 1920, nos Estados Unidos, durando mais de cinco décadas. Estima-se que ao longo de todo esse período a produção mundial tenha atingido 1.200.000 toneladas, sendo 1970 o ano de maior produtividade, com a fabricação de 50.000 toneladas de PCBs (Penteado & Vaz, 2001). Em 1966, durante uma pesquisa para a determinação de resíduos de pesticidas organoclorados no ambiente, foram descobertas concentrações muito elevadas de substâncias mais tarde identificadas como PCBs. Desde então o número de pesquisas para a determinação de resíduos de PCBs no ambiente tem aumentado e casos de intoxicação de seres humanos e outros animais por esses organoclorados foram identificados. Um dos casos mais conhecidos ocorreu em 1968 no Japão, quando mais de 1.600 pessoas apresentaram sintomas de intoxicação após ingerirem óleo de arroz contaminado com PCBs que havia vazado de um trocador de calor. As vítimas apresentaram sintomas como fadiga, dor de cabeça, dores com inchaço, inibição do crescimento da dentição, anemia, problemas sanguíneos, redução da condução nervosa, erupção na pele, despigmentação e dor nos olhos, além de um aumento na incidência de câncer no fígado (ATSDR, 2000; Penteado & Vaz, 2001).

Assim, a partir da década de 1970 e 1980, o uso e a produção de PCBs começaram a ser severamente banidos em diversos países. Nos Estados Unidos a restrição começou em 1978 e no Brasil, a proibição da fabricação, comercialização e uso destes compostos aconteceu em 1981 com a implementação da Portaria

Interministerial nº 19, de janeiro desse ano. Atualmente a produção dos PCBs está proibida em todo o mundo. Seu uso é tolerado apenas em equipamentos já instalados que façam uso de fluidos contendo PCBs, sendo o uso permitido até o término da vida útil dessas máquinas ou até a troca desses fluidos por outros isentos de PCBs (Penteado & Vaz, 2001). As misturas comerciais de PCBs podem provocar uma série de efeitos tóxicos em seres vivos, sendo capazes de causar porfiria, hepatomegalia, atrofia do timo, imunossupressão, neurotoxicidade, toxicidade dérmica, distúrbios hormonais e câncer, além de algumas bifenilas policloradas apresentarem potencial genotóxico (ATSDR, 2000; Penteado & Vaz, 2001).

### 1.2.2. Diclorodifeniltricloroetano (DDT)

O diclorodifeniltricloroetano é talvez o mais conhecido inseticida organoclorado, sendo uma das substâncias mais utilizadas e comercializadas no mundo (D'Amato *et al.*, 2002). Ele foi sintetizado pela primeira vez em 1864 por Othmar Zeidler, na Alemanha, mas suas propriedades inseticidas só foram descobertas mais de sete décadas depois, em 1939, pelo entomologista Paul Müller. A descoberta e aplicação do DDT no combate à malária concederam a Müller o Prêmio Nobel de medicina em 1948 (WHO, 1979).

A mistura comercial do DDT contém não apenas o p,p'-DDT, seu principal componente, mas também outros derivados clorados do difenil etano, como: o,p'-DDT, p,p'-DDD, o,p'-DDD, o,p'-DDE e p,p'-DDE (WHO, 1979). Sua produção comercial em grande escala teve início em 1945, sendo usado principalmente na agricultura e no controle de doenças transmitidas por insetos, como a malária e a leishmaniose visceral. O DDT também foi largamente utilizado durante a Segunda Guerra, quando soldados passavam a mistura dessa substância na pele para a prevenção de tifo, uma doença transmitida por piolhos. Durante muito tempo o DDT foi tido como a grande solução para o controle de doenças tropicais transmitidas por vetores. Sua eficiência na eliminação dos insetos adultos e sua ação residual prolongada, somada ao baixo custo para obtenção do DDT, fez com que esse inseticida fosse utilizado indiscriminadamente, tanto no controle de vetores quanto na agricultura. As misturas comerciais contendo essa substância foram vendidas até a década de 1970, com diferentes nomes, como Anofex, Gyron, Ixodex, Neocid, Neocidol e Zerdane, estimando-se produções altíssimas que chegaram a 81.154 toneladas em 1963 só nos Estados Unidos (D'Amato *et al.*, 2002).

Em 1962 foi lançado nos Estados Unidos o livro "Primavera Silenciosa", pelo qual Rachel Carson denuncia a contaminação de espécies silvestres por DDT, entre elas a águia-calva ("bald eagle", *Haliaeetus leucocephalus*), animal símbolo dos Estados Unidos. O livro de Carson é considerado o primeiro manifesto ecológico contra o uso indiscriminado do DDT. A autora sofreu grande repressão das indústrias fabricantes de inseticidas organoclorados, que tentaram a todo custo desacreditar sua obra, mas as evidências dos estragos causados pelo DDT já não podiam mais ser ignoradas. Assim, em 1970, a Suécia torna-se o primeiro país a banir esse, além de outros inseticidas organoclorados, com base em estudos ecológicos. Quase todos os países desenvolvidos baniram ou restringiram o uso do DDT ao longo da década de 1970, enquanto os países em desenvolvimento só iniciaram esse movimento a partir da década de 1980 (WHO, 1979; D'Amato *et al.*, 2002).

No Brasil, as primeiras legislações em relação ao DDT foram elaboradas em 1971, sendo a Portaria 356 responsável por proibir a fabricação e comercialização do DDT para uso em animais domésticos e a Portaria 357 por proibir a utilização de inseticidas organoclorados em todo território nacional para o controle de pragas em pastagens (Brasil, 1971a; Brasil, 1971b). Em 1985 entrava em vigor a Portaria nº 329/85 proibindo em todo território nacional a comercialização, o uso e a distribuição dos produtos agrotóxicos organoclorados, incluindo DDT (Brasil, 1985). Mesmo assim, o uso de inseticidas organoclorados continuou sendo permitido no Brasil em casos emergenciais na agricultura e nas campanhas de saúde pública para o combate de vetores da malária e de outras doenças como a dengue (Cunha, 2009). Apenas recentemente, em 2009, foi sancionada a Lei nº. 11.936 que proíbe a fabricação, importação, exportação, manutenção em estoque, comercialização e o uso de DDT no país (Brasil, 2009).

Os efeitos tóxicos do DDT em seres vivos são principalmente a neurotoxicidade, a hepatotoxicidade, a interferência no sistema endócrino e o câncer. No sistema nervoso central este composto altera a movimentação de íons através da membrana do neurônio, provocando tremores, convulsões, taquicardia, hipertemia, náusea, vômito, fadiga, entre outros sintomas. Essa substância também é conhecida por ser estrogênica, podendo alterar a reprodução dos organismos contaminados. Apesar de não ser comprovada em seres humanos a sua ação carcinogênica foi verificada em alguns mamíferos (Ecobichon, 1995; ATSDR, 2002b). Além disso, um estudo recente realizado na

Espanha sugere a relação entre elevadas concentrações de DDT e o surgimento de Diabetes Tipo 2 em seres humanos (Arrebola *et al.*, 2013).

### 1.2.3. Demais Pesticidas Organoclorados (HCHs, HCB e Mirex)

O hexaclorociclohexano (HCH) apresenta diversos isômeros que são identificados pelas letras gregas alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), gama ( $\gamma$ ) e delta ( $\delta$ ), sendo o gama-HCH o composto com maior ação inseticida. O produto comercial contendo HCH é composto principalmente pelo isômero gama e é comercializado com o nome de Lindano. O HCH foi amplamente utilizado como inseticida doméstico e na agricultura, durante as décadas de 1960 e 1970. No Brasil ele foi principalmente utilizado nas lavouras de café, soja e algodão, tendo aplicação também no combate à doença de Chagas, enquanto que no restante do mundo o HCH foi utilizado como fumegante na proteção de sementes contra a herbivoria. Por ser altamente volátil, grande parte do produto aplicado é perdido para a atmosfera, sendo transportado para zonas mais frias, onde é então condensado e precipitado. Apesar de não apresentar potencial carcinogênico, o HCH pode provocar alterações no sistema endócrino dos seres vivos (UNEP, 2002; Vidal, 2010). Recentemente, a mesma pesquisa que sugeriu a relação entre o DDT e a Diabetes Tipo 2, demonstra que elevadas concentrações de Lindano em seres humanos também estão associadas ao surgimento dessa doença (Arrebola *et al.*, 2013).

O hexaclorobenzeno (HCB) também é um composto sintético, não ocorrendo de forma natural no meio ambiente. Ele foi utilizado pela primeira vez em 1945, como fungicida para o tratamento de sementes e cereais, sendo largamente utilizado como pesticida até 1965. Posteriormente também foi usado no processo de fabricação de fogos de artifício, de munição e de borracha sintética. Atualmente ele é produzido como subproduto na fabricação de diversos compostos organoclorados, compondo o conjunto de gases de combustão gerados e emitidos para a atmosfera por incineradoras e indústrias de metalurgia. Esse contaminante pode causar insuficiência hepática em seres humanos e acredita-se que ele seja uma substância carcinogênica (ATSDR, 2002a; Vidal, 2010).

O Mirex é considerado um dos pesticidas organoclorados com maior estabilidade e persistência no meio ambiente, devido principalmente à elevada cloração de sua molécula (12 cloros). Ele foi produzido durante um período relativamente curto,

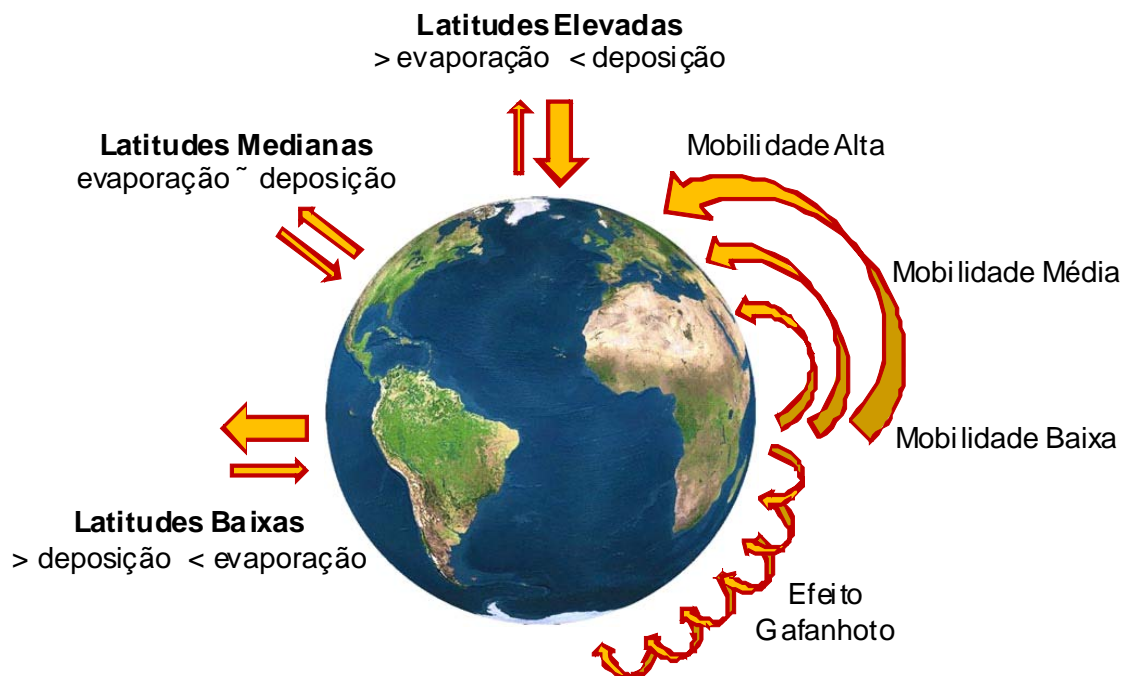
do final da década de 1950 a meados da década de 1970, quando foi banido dos Estados Unidos, seu principal produtor. Por ter grande especificidade no combate a formiga, esse pesticida teve aplicação restrita, sendo usado principalmente para a exterminação da formiga-fogo no sul dos Estados Unidos. Mais tarde o Mirex passou a ser usado também como aditivo retardante de chamas em polímeros. Esse contaminante pode provocar imunossupressão, além de deficiências reprodutivas (ATSDR, 1995; Kennish, 1997). Por ser metabolizado apenas parcialmente e eliminado lentamente, o Mirex ainda pode gerar condições de toxicidade crônica (Blus, 1995).

#### *1.2.4. Contaminação e Dispersão no Ambiente*

Os organoclorados podem entrar no ambiente diretamente durante a sua aplicação, como no caso de pesticidas e agrotóxicos, ou devido a vazamentos e descartes realizados de maneira inadequada. A partir daí essas substâncias podem ser transportadas pela atmosfera, carregadas por *run-off* continental, descargas dos rios e correntes oceânicas ou ainda ser movimentadas enquanto associadas a organismos vivos, sendo que o transporte atmosférico é tido como principal mecanismo para dispersão global desses compostos (Fig.2). A entrada dos organoclorados na atmosfera se dá pela sua volatilização no solo ou em águas superficiais e uma vez na atmosfera esses poluentes podem ser encontrados em fase vapor ou adsorvidos no material particulado (Tanabe *et al.*, 1987; Lang *et al.*, 1992; Pereira, 2004). Assim, através de ciclos de evaporação, condensação e deposição, os poluentes vão sendo transportados de áreas de baixa e média latitude (regiões tropicais e subtropicais) até áreas de maior latitude (polos), sendo esse movimento conhecido como “destilação global” ou “condensação fria” (Wania & Mackay, 1993). O transporte destes poluentes para regiões de alta latitude pode acontecer em uma ou em várias etapas, sendo esta última conhecida como *efeito gafanhoto*. Nesse caso, o processo de evaporação, transporte, condensação e deposição destes compostos acontece repetidas vezes de acordo com as mudanças sazonais de temperatura nas latitudes medianas (Wania & Mackay, 1996). Apesar de haver uma tendência ao transporte atmosférico de regiões de baixa latitude para os polos, nem todos os poluentes têm como destino final o Ártico ou a Antártida. Uma vez que o transporte atmosférico de longa distância leva tempo para ocorrer, parte desses poluentes pode ser degradada durante a migração. Além disso, uma carga dos



contaminantes pode também ficar retida em matrizes como o solo ou a biota, por exemplo (Wania & Mackay, 1996).



**Figura 2:** Transporte atmosférico dos compostos organoclorados (adaptado de Wania & Mackay, 1996).

O transporte atmosférico dos poluentes ocorre de maneira individual, sendo que a velocidade de trânsito de cada composto vai depender de suas características químico-físicas, como, por exemplo, o número e a posição dos átomos de cloro no caso dos PCBs. Assim, compostos mais voláteis tenderiam a permanecer mais tempo em fase vapor na atmosfera e a ser transportados em maior velocidade (Wania & Mackay, 1996). Dessa forma, acredita-se que a composição das misturas de contaminantes varie ao longo dos gradientes de latitude e temperatura, de maneira que compostos mais voláteis sejam encontrados em maior proporção em latitudes mais elevadas. Da mesma maneira, também se acredita que poluentes mais voláteis apresentariam maior concentração em locais afastados da sua fonte poluidora. Porém, uma vez que o transporte atmosférico de longa distância leva um tempo para acontecer, é preciso

ênfatizar que variações nesse padrão podem ocorrer devido a uma entrada recente e/ou constante de contaminantes no ambiente (Wania & Mackay, 1996).

No ambiente marinho a principal entrada de poluentes em áreas costeiras ocorre pela descarga de rios e *run off* continental, enquanto que em áreas oceânicas a principal entrada se dá pela precipitação atmosférica, que pode ocorrer por três processos: deposição úmida, deposição seca e difusão na interface ar-água (Solé *et al.*, 2001; Dachs *et al.*, 2002). Após entrar em ambiente marinho os organoclorados podem ser adsorvidos pelo material particulado e sedimento ou ser bioacumulados pela biota, podendo ser biomagnificados ao longo da teia trófica (ATSDR, 2000; ATSDR, 2002b). No caso dos peixes, os contaminantes dissolvidos na água podem entrar por difusão através da pele e brânquias (bioconcentração), sendo que para espécies bentônicas a bioconcentração pela pele pode se dar também no caso dos contaminantes presentes no sedimento. Porém, a principal via de entrada dos organoclorados em qualquer organismo vivo acontece pela alimentação (Nichols *et al.*, 2004). Após a assimilação essas substâncias são acumuladas nos sítios de armazenamento de lipídios, que no caso dos elasmobrânquios é o fígado, uma vez que esses organismos não apresentam tecido adiposo. Além disso, O fígado dos elasmobrânquios também exerce uma papel importante na flutuabilidade do organismo. Uma vez que peixes cartilaginosos não possuem bexiga natatória, é a quantidade e o tipo de lipídio presente no fígado que será responsável pela maior ou menor flutuabilidade do animal. Com isso, o fígado é um dos maiores órgãos dos elasmobrânquios, além de ser um tecido rico em gordura (Ballantyne, 1997).

Em peixes os principais efeitos tóxicos dos organoclorados estão associados a alterações nos sistemas endócrino, imune e reprodutivo (Duff *et al.*, 2002; Fossi *et al.*, 2002; Ghiselli & Jardim, 2007). Recentemente também foi demonstrado haver relação entre concentrações elevadas de PCBs e DDT e alterações nos níveis das vitaminas A e E em uma espécie de tubarão capturada no Ártico (Molde *et al.*, 2013).

### **1.3. Contaminação de Elasmobrânquios por Organoclorados**

Estudos sobre a contaminação de elasmobrânquios por organoclorados são muito recentes. Pesquisas começaram a ser realizadas com maior regularidade apenas a partir dos anos 2000, existindo pouquíssimos trabalhos que mencionam a concentração de poluentes nesses organismos durante a década de 1990 (*e.g.* Rajendran *et al.*, 1992;

Miskiewicz & Gibbs, 2004; Corsolini *et al.*, 1995; Serrano *et al.*, 1997). Esse é considerado um início bem tardio se compararmos ao histórico existente para mamíferos marinhos, por exemplo, que têm sido alvos de estudos científicos sobre a contaminação por organoclorados desde a segunda metade da década de 1960 (Holden & Marsden, 1967).

Até hoje foram publicados cerca de 29 artigos, em uma busca não exaustiva, sobre a contaminação por organoclorados em elasmobrânquios, sendo a maior parte das pesquisas desenvolvidas no hemisfério norte. Houve um esforço muito maior para as análises envolvendo espécies de tubarão. Dos 29 artigos relacionados apenas oito analisaram tecidos de raia, e desses menos da metade tinha o foco nesses organismos (Gelsleichter *et al.*, 2006; Storelli *et al.*, 2011b; Rosenfelder *et al.*, 2012), sendo a outra parte composta por listas extensas incluindo diversos grupos de animais marinhos (Rajendran *et al.*, 1992; Miskiewicz & Gibbs, 1994; Storelli *et al.*, 2003b; Johnson-Restrepo *et al.*, 2005; Kumar *et al.*, 2009). Ao todo foram analisadas 27 espécies diferentes de tubarões e 14 de raias e os principais tecidos analisados foram o fígado e o músculo. No caso da quantificação em tecido muscular, poucos estudos mostraram uma preocupação em estimar o risco de contaminação para os seres humanos pela ingestão da carne de elasmobrânquios (Storelli *et al.*, 2003b; Azevedo e Silva *et al.*, 2007; Azevedo e Silva *et al.*, 2009). Essa é uma informação extremamente relevante e de interesse geral, uma vez que diversas espécies de raias e tubarões são consumidas. Até agora os estudos que realizaram essa estimativa têm mostrado níveis relativamente seguros, para o consumo humano, de contaminantes presentes no músculo de elasmobrânquios.

No hemisfério sul as principais pesquisas sobre a contaminação de elasmobrânquios são brasileiras (Azevedo e Silva *et al.*, 2007; Azevedo e Silva *et al.*, 2009). Azevedo e Silva e colaboradores (2007) analisaram as concentrações de DDTs e PCBs em exemplares de tubarão-azul (*Prionace glauca*) capturados no *score* central da Zona Econômica Exclusiva do Brasil. Os autores encontraram níveis de contaminação no músculo do tubarão-azul inferiores às concentrações de Ingestão Diária Aceitável recomendada pela OMS, mas acima do limite estipulado pelo Governo da Itália para alimentos de origem animal. Esse dado mostra níveis relativamente altos de poluentes na carne do tubarão-azul, além do pouco conhecimento e da falta de um consenso sobre a quantidade de organoclorados a ser considerada crítica para a saúde humana. Também

no *score* central da Zona Econômica Exclusiva do Brasil, Azevedo e Silva e colaboradores (2009) investigaram a contaminação por organoclorados em amostras de músculo pertencentes a três espécies de tubarão (*Sphyrna zygaena*, *Isurus oxyrinchus* e *Alopias superciliosus*), encontrando concentrações consideradas seguras para o consumo humano. O único trabalho sobre elasmobrânquios realizado no estado do Rio de Janeiro foi publicado por Rosenfelder e colaboradores (2012), sendo este o principal artigo do hemisfério sul que analisou a contaminação por organoclorados em espécies de raia (*Gymnura altavela* e *Zapteryx brevirostris*). Foram analisadas amostras de fígado de exemplares coletados na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, nas quais foram quantificados diferentes compostos halogenados entre eles PCBs e DDTs. Os valores encontrados foram considerados muito altos, variando entre 23,9 a 1.598,6 ng.g<sup>-1</sup> de lipídio para DDTs e 3.368,9 a 19.123,1 ng.g<sup>-1</sup> de lipídio para PCBs.

No hemisfério norte as pesquisas sobre a contaminação em elasmobrânquios são desenvolvidas principalmente por pesquisadores da Universidade de Bari, na Itália, liderados por Maria M. Storelli e Giuseppe O. Marcotrigiano, sendo sua principal área de estudos o Mar Mediterrâneo. Para esse corpo d'água Storelli & Marcotrigiano (2001) encontraram resultados interessantes ao analisar as concentrações de organoclorados em fígado, ovos e músculo dos tubarões *Centrophorus granulosus* e *Squalus blainville*. Os autores mostraram haver uma transferência relevante na carga de contaminantes da mãe para o vitelo contido no ovo, sendo esse o segundo tecido com a maior concentração de poluentes clorados entre aqueles analisados. Essa informação mostra a gravidade do impacto dos POPs nesses organismos, que já estão em contato com cargas altas de contaminação mesmo antes do seu nascimento. Também provenientes do Mar Mediterrâneo, os seguintes tubarões foram analisados quanto à contaminação por organoclorados: tubarão-martelo, *Sphyrna zygaena* (Storelli *et al.*, 2003c), tubarão-leitão-malhado, *Galeus melastomus* (Storelli *et al.*, 2003a), tubarão-azul, *Prionace glauca* (Storelli *et al.*, 2005; Storelli *et al.*, 2011a), tubarão-gata-lixia, *Dalatias licha* (Storelli *et al.*, 2005) e tubarão-pata-rocha, *Scyliorhinus canicula* (Storelli *et al.*, 2006). Os resultados dessas pesquisas mostram que o Mar Mediterrâneo apresenta níveis elevados de contaminação, mas de forma heterogênea, havendo regiões com menor carga de poluentes. Por ser uma região muito industrializada, com entrada de diferentes tipos de contaminantes, existe ainda uma preocupação com os efeitos sinérgicos que a

presença de várias categorias de poluentes pode causar nos elasmobrânquios e demais organismos.

Apenas três artigos relataram a presença de organoclorados em raias do Mar Mediterrâneo (Storelli *et al.*, 2003b; Storelli *et al.*, 2004; Storelli *et al.*, 2011b). Os dois primeiros (Storelli *et al.*, 2003b; Storelli *et al.*, 2004) analisaram, entre outras espécies de organismos marinhos, quatro espécies da família Rajidae pertencentes a um mesmo gênero (*Raja clavata*, *R. oxyrinchus*, *R. asterias* e *R. miratelus*). O objetivo principal de Storelli e colaboradores (2003b) era estimar a contaminação de seres humanos por poluentes clorados através da ingestão de frutos do mar. As concentrações de PCBs, nesse caso, variaram de 499 a 1.377 ng.g<sup>-1</sup> de lipídio do músculo das raias, sendo esses valores considerados seguros para a ingestão humana. Já o segundo, analisou as concentrações de PCBs em tecido hepático encontrando uma amplitude de 88 a 967 ng.g<sup>-1</sup> de peso úmido. O terceiro estudo (Storelli *et al.*, 2011b) é mais detalhado e compara as concentrações dos poluentes orgânicos em duas espécies de raia-elétrica (*Torpedo marmorata* e *T. nobiliana*). Os autores indicam os hábitos alimentares, o tamanho corporal e a profundidade ocupada como fatores de grande influência na acumulação de organoclorados, de maneira que a espécie de maior porte, encontrada em águas mais profundas e com nível trófico superior (*T. nobiliana*) apresenta as maiores concentrações de poluentes. Os níveis de contaminação descritos nesse estudo (médias de 1.041 e 434 ng.g<sup>-1</sup> de lipídio para PCBs e de 234 e 78 ng.g<sup>-1</sup> de lipídio para DDTs do fígado) são considerados elevados e os autores alertam para o risco que essas cargas de poluentes podem representar para o bem estar das populações estudadas.

O estudo mais detalhado sobre a contaminação de uma espécie de raia por organoclorados também foi realizado no hemisfério norte, mas dessa vez na Flórida e em ambientes tanto de água doce quanto salobra. Gelsleichter e colaboradores (2006) é considerado um estudo de grande relevância para a conservação de elasmobrânquios uma vez que, além da quantificação de poluentes em tecido hepático, os autores também analisaram alterações na reprodução e nos sistemas endócrino e imune dos exemplares coletados. Os autores analisaram amostras da raia *Dasyatis sabina* provenientes de quatro lagos e de um estuário com diferentes níveis de contaminação. Apesar de não encontrarem problemas reprodutivos em nenhuma das subpopulações, alterações nos sistemas endócrino e imune dos exemplares capturados no lago mais poluído foram identificadas. Essa subpopulação apresentou uma concentração média de 215 ng.g<sup>-1</sup> de

peso úmido de tecido hepático para o somatório de todos os organoclorados analisados. Apesar dos efeitos deletérios poderem estar associados a outros parâmetros ambientais que não os xenobióticos, o resultado desse estudo contribui para o estabelecimento de investigações mais detalhadas acerca das consequências da poluição por POPs em populações naturais de elasmobrânquios. Molde e colaboradores (2013) também encontraram evidências de alterações fisiológicas correlacionadas a elevadas concentrações de contaminantes em tubarões. Eles demonstram que níveis médios de 5.776 ng.g<sup>-1</sup> e 8.069 ng.g<sup>-1</sup> de lipídio do plasma para PCBs e DDTs, respectivamente, estão associados a alterações nos níveis das vitaminas A e E em exemplares do tubarão-da-groenlândia (*Somniosus microcephalus*). Por serem importantes em diversos circuitos metabólicos, alterações na produção dessas vitaminas podem provocar outros efeitos indiretos como problemas na reprodução, no desenvolvimento embrionário e no sistema imune do organismo afetado. Juntamente com duas das espécies existentes de tubarão-martelo (*Sphyrna tiburo* e *S. zygaena*), o tubarão-da-groenlândia é uma das espécies mais estudadas de elasmobrânquios no que diz respeito aos seus níveis de contaminação por organoclorados (Fisk *et al.*, 2002; Strid *et al.*, 2007; Gelsleichter *et al.*, 2005; Gelsleichter *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2009). Essas espécies têm mostrado nível elevado de contaminação, com indivíduos apresentando até 10.000 ng.g<sup>-1</sup> de lipídio do tecido hepático, no caso do tubarão-da-groenlândia (Strid *et al.*, 2007). Um trabalho interessante que tem essa espécie como alvo do estudo analisa sua concentração de organoclorados, conteúdo estomacal e isótopos estáveis (Fisk *et al.*, 2002). Os autores mostram a importância dos estudos de contaminação na análise de fatores ecológicos como a posição trófica da espécie, sendo essa uma ferramenta não só complementar, mas como no caso, essencial para esse tipo de análise. Além disso, os estudos com tubarões-da-groenlândia mostram que mesmo os organismos de latitudes muito elevadas estão sujeitos a cargas grandes de contaminantes, ainda que habitem zonas com pouca ou nenhuma fonte de poluição.

Outra espécie que apresenta níveis elevados de poluentes orgânicos, por incluir mamíferos marinhos em sua dieta, é o tubarão-branco (*Carcharodon carcharias*). Os trabalhos sobre essa espécie são raros, mas têm mostrado os maiores níveis de contaminação por organoclorados entre as espécies de elasmobrânquios, comparáveis àqueles encontrados para mamíferos marinhos (Schlenk *et al.*, 2005; Mull *et al.*, 2012; Mull *et al.*, 2013). Além disso, um dos estudos com *C. carcharias* também sugeriu a

transferência dos contaminantes lipofílicos da mãe para o filhote durante a gestação (Mull *et al.*, 2013). Essa transferência é a principal fonte de contaminação do filhote em seu primeiro ano de vida e as concentrações encontradas nos indivíduos durante essa fase são comparáveis, e até superiores, às concentrações presentes em exemplares adultos de muitas espécies de elasmobrânquios. Esse dado explicita a magnitude que o processo de remobilização de poluentes mãe-filhote pode alcançar.

#### **1.4. Conservação de Elasmobrânquios**

Elasmobrânquios apresentam uma estratégia de história de vida *k*-selecionada, possuindo parâmetros que resultam em uma taxa intrínseca de crescimento populacional baixa. Assim, diferentemente da maioria dos teleósteos, que tem história de vida *r*-selecionada e cujas populações possuem uma dinâmica denso-dependente, um impacto ambiental maior sobre as populações de tubarões e raias pode significar várias décadas de recuperação (Stevens *et al.*, 2000). Por ocuparem níveis tróficos elevados os elasmobrânquios são considerados espécies-chave em seus ecossistemas e uma queda brusca em suas populações pode provocar uma série de efeitos-cascata negativos em termos de biodiversidade, além de muitas respostas biológicas desconhecidas, nas comunidades das quais eles fazem parte (Stevens *et al.*, 2000). Por isso, a conservação das espécies de elasmobrânquios envolve não somente a sobrevivência de suas populações, mas a manutenção de inúmeras comunidades marinhas. Atualmente, as principais ameaças à conservação do grupo são a destruição de seu habitat, a contaminação e a pesca, sendo a última o tema mais debatido (FAO, 2006).

Até pouco tempo o conhecimento sobre as populações de elasmobrânquios e sua resiliência à pesca eram escassos. Devido ao baixo valor comercial<sup>1</sup>, poucos investimentos eram feitos para gerar conhecimento sobre a biologia e o estado dos estoques pesqueiros dessas espécies. Porém, após a popularização do *finning*<sup>2</sup>, o aumento na demanda do mercado consumidor e o colapso de pescados mais

---

<sup>1</sup> Altas concentrações de ureia no sangue e na carne podem provocar um sabor desagradável na carne, caso ela não seja manipulada da maneira correta. O nível de ureia no organismo varia entre as espécies, sendo os tubarões-martelo aqueles com as maiores concentrações (FAO, 2011).

<sup>2</sup> Prática em que apenas as nadadeiras de tubarões são retiradas, descartando-se ainda a bordo o restante do corpo, conhecido como charuto. As nadadeiras são vendidas a preços altíssimos principalmente para o mercado asiático, que acredita nas propriedades terapêuticas desse produto.

tradicionais, a atenção se voltou aos elasmobrânquios e mais estudos passaram a ser feitos em prol da sua conservação e pesca sustentável (FAO, 2011).

A estatística pesqueira de elasmobrânquios ainda é feita com dificuldade, já que muitas vezes esses organismos são capturados como espécies acessórias ou ainda por pescarias ilegais. Além disso, apenas 20% dos tubarões e raias desembarcados são identificados no nível de espécie, sendo o restante tratado por diferentes agrupamentos generalizados, o que dificulta a avaliação do estoque pesqueiro de cada espécie e a caracterização da sobrepesca para determinada população (FAO, 2011). Mesmo assim, foi estimada em 1990 uma produção mundial de 700.000 toneladas de elasmobrânquios, que cresceu para cerca de 900.000 toneladas em 2003, voltando para a marca inicial de 700.000 toneladas em 2008. Em relação à movimentação financeira, a pesca de raias e tubarões gerou cerca de 400 milhões de dólares em 1990, alcançando o patamar de 1 bilhão de dólares em 2000 e caindo um pouco em 2006, quando foram movimentados 800 milhões de dólares (FAO, 2011). Devido às dificuldades em gerar a estatística pesqueira desse grupo, acredita-se que esses ainda sejam dados subestimados. Os principais países/territórios exploradores desses organismos são a Indonésia, Índia, Taiwan, Espanha e México. Mas países como Estados Unidos, Argentina e Japão também estão entre os dez maiores produtores. Acompanhando a tendência geral da pesca, a captura de elasmobrânquios tem se estendido das plataformas continentais para o talude e mares profundos, o que é preocupante uma vez que os organismos de profundidade apresentam produtividade ainda menor e pouco se conhece sobre sua biologia e resistência à exploração (FAO, 2011).

No Brasil, a captura de elasmobrânquios sempre foi feita de forma incidental, tanto pela frota artesanal, quanto industrial, mas depois dos anos 1980 foram desenvolvidas algumas pescarias orientadas para a captura específica de tubarões, como é o caso da pesca de emalhe dos tubarões-martelo (*Sphyna lewini* e *S. zygaena*) (FAO, 2006). Hoje, as principais artes de pesca que capturam condrictes ainda são aquelas que têm como alvos outros organismos, sendo os petrechos que mais atingem tubarões e raias o espinhel oceânico, as redes de arrasto demersal e as redes de emalhe. As informações sobre as populações e os estoques de elasmobrânquios no Brasil ainda são difusas, sendo geradas principalmente por instituições acadêmicas e de maneira regional (FAO, 2006). Um dos estoques mais conhecidos é o do tubarão-azul (*Prionace glauca*) no nordeste do país, que se encontra sobreexplorado. Essa é, inclusive, uma das espécies



mais pescadas em todo o mundo, sendo a principal espécie capturada para a prática de *finning* (Stevens *et al.*, 2000; FAO, 2011).

A pesca atua principalmente sobre os maiores indivíduos da população. Uma vez que a fecundidade aumenta com o tamanho, populações com poucos indivíduos grandes têm seu potencial reprodutivo diminuído. Dessa maneira, a retirada desses organismos provoca uma grande queda na abundância da população, além de alterações em sua estrutura e parâmetros populacionais, podendo inclusive causar a extinção local da espécie (Stevens *et al.*, 2000). De fato existem alguns exemplos de sérios declínios em populações de elasmobrânquios atribuídos à pesca, como no caso da raia *Dipturus batis* no Mar da Irlanda, do tubarão *Lamna nasus* no Atlântico norte, do tubarão *Galeorhinus galeus* na Califórnia e Austrália, de várias populações dos tubarões *Cetorhinus maximus* e *Squalus acanthias* (Stevens *et al.*, 2000; FAO, 2011). Apesar da dificuldade, a pesca sustentável de elasmobrânquios é possível, principalmente para as espécies de menor porte e com crescimento mais rápido. Porém, até para espécies de crescimento lento têm sido relatadas experiências bem sucedidas. Esse é o caso do tubarão *Squalus acanthias*. Dois estoques dessa espécie (do Pacífico nordeste e do Atlântico noroeste) tinham sido declarados como virtualmente dizimados, mas ações de restrição à sua captura promoveram a recuperação dessas populações e hoje elas são exploradas de forma mais sustentável, mantendo as capturas em níveis bem abaixo dos praticados anteriormente (FAO, 2011).

Enquanto a pesca atinge principalmente os maiores indivíduos da população, a contaminação e a destruição do habitat podem atingir a todos os estratos populacionais. Nesse caso, acredita-se que haja um impacto significativo nos primeiros estágios de vida do organismo, apesar de esse ser um tópico pouco estudado (Storelli & Marcotrigiano, 2001; McKinley *et al.*, 2011). Na verdade, os efeitos *in situ* da poluição nas populações de elasmobrânquios, e de outros grupos, ainda são um desafio. Isso se deve em grande parte à dificuldade em avaliar alterações reprodutivas e fisiológicas dos organismos em seu ambiente natural e também porque na natureza os contaminantes atuam em sinergia, podendo provocar efeitos muito diferentes daqueles conhecidos para cada composto individualmente (Mills & Chichester, 2005). Dessa maneira, é possível que parte dos efeitos deletérios e do declínio populacional, atribuído tradicionalmente à pesca, seja na verdade provocada pela contaminação e suas consequências. Isso deixa

claro a importância de se levar em conta todas as ameaças existentes sobre um grupo para a elaboração de um plano de manejo eficaz.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Identificar e quantificar os compostos organoclorados (DDT, PCB, HCH, HCB e Mirex) presentes no tecido hepático de raias da espécie *Rioraja agassizi*, coletadas no litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Avaliar as concentrações de diferentes compostos organoclorados (DDT, PCB, HCH, HCB e MIREX);
- Comparar as concentrações entre exemplares machos vs fêmeas, jovens vs adultos e fêmeas adultas grávidas vs fêmeas adultas não-frávidas;
- Verificar a relação entre a concentração dos compostos e o tamanho (largura do disco) dos exemplares;
- Comparar as concentrações encontradas no presente estudo com as relatadas para outras espécies de elasmobrânquios de diferentes regiões e assim discutir o status de contaminação da população de *Rioraja agassizi* estudada.

## **3. HIPÓTESES**

- *R. agassizi* deve apresentar concentrações elevadas de organoclorados, por ocupar um nível alto na teia trófica e devido à característica biomagnificadora desses poluentes.
- As concentrações dos pesticidas devem aumentar de acordo com o tamanho (=idade) dos indivíduos, pelo fato de indivíduos mais velhos estarem expostos há mais tempo a um processo de bioacumulação.
- Fêmeas adultas, entretanto, poderão apresentar uma diminuição na concentração dos organoclorados, já que é possível que parte desses poluentes seja transferida da mãe para os filhotes pelo vitelo, devido ao alto teor de gordura dessa matriz e à lipossolubilidade dos organoclorados.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Área de Estudo

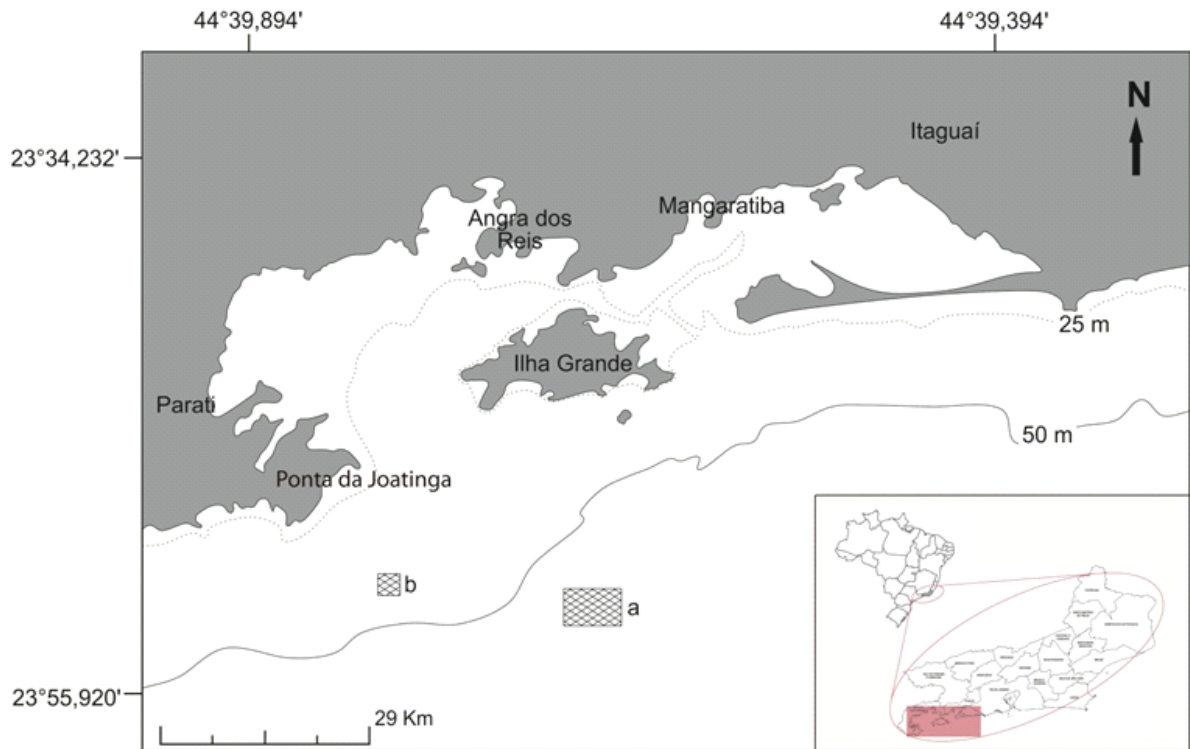
Os pontos de coleta foram localizados no litoral sul do estado do Rio de Janeiro (Fig. 3). Essa costa banha cinco municípios (Paraty, Angra dos Reis, Mangaratiba, Itaguaí e Rio de Janeiro) que juntos somam uma população de mais de 6,5 milhões de pessoas (IBGE, 2010). O litoral dessa parte do estado é formado principalmente por dois corpos d'água de grande importância econômica, turística e ambiental: as baías de Sepetiba (22°50'-23°05'; 43°30'-44°10'W) e Ilha Grande (23°00'-23°40'; 44°00'-44°40'W). Ainda que os pontos de coleta estejam fora do domínio das duas baías, a proximidade desses corpos d'água promove uma grande influência dos mesmos sobre a área de estudo. Dessa maneira, detalharemos as características de cada baía e do seu entorno como forma de compreender o cenário que compõe a área estudada.

O entorno da baía de Ilha Grande permaneceu relativamente isolado do progresso industrial até o início do século XX, funcionando como um importante polo agrícola do estado. Somente a partir da década de 1970, com a construção da rodovia Rio-Santos (BR 101) é que houve um maior desenvolvimento industrial das cidades em seu entorno (Teixeira, 2006). Atualmente a região da baía de Ilha Grande abriga uma série de empreendimentos de grande porte, como o Porto de Angra dos Reis, o Terminal Marítimo da Baía de Ilha Grande (TEBIG), três Usinas Nucleares (sendo uma em construção) e o Estaleiro Brasfels. Além desses empreendimentos, o turismo e a pesca são atividades centrais para a economia da área (MMA/SBF, 2007a). Essa baía é considerada um santuário de biodiversidade singular. Apesar do crescimento demográfico desordenado e das crescentes fontes de ameaça ao meio ambiente na região, a baía ainda conserva uma elevada riqueza de espécies (MMA/SBF, 2007a). Essa é uma área tão importante ecologicamente que recentemente o Ministério do Meio Ambiente emitiu documento oficial (Portaria MMA nº 09, de 23 de janeiro de 2007) incluindo a região da baía de Ilha Grande como área de extrema importância para implantação de unidades de conservação (MMA/SBF, 2007b). Em 2011 foi gerado um documento propondo a criação da Área de Proteção Ambiental Estadual Marinha da Baía da Ilha Grande, com o objetivo de garantir a proteção, gestão e sustentabilidade do espaço marinho dessa baía. A proposta para criação da unidade de conservação ainda está sendo analisada pelo governo do estado e dos municípios envolvidos. Até hoje, os

únicos trabalhos realizados na região sobre a contaminação da biota por organoclorados foram Lailson-Brito *et al.* (2010) e Vidal (2010), ambos relatando a contaminação do boto-cinza (*Sotalia guianensis*) residente na baía.

Enquanto a baía de Ilha Grande é uma área relativamente preservada, a baía de Sepetiba apresenta um entorno extremamente urbanizado. Sua bacia hidrográfica abrange 14 municípios (Barra do Pirai, Engenheiro Paulo de Frontim, Itaguaí, Japeri, Mangaratiba, Miguel Pereira, Nova Iguaçu, Paracambi, Pirai, Queimados, Rio Claro, Rio de Janeiro, Seropédica e Vassouras) e uma área de 2.711 Km<sup>2</sup>, destacando-se o rio Guandú e o rio São Francisco como principais vias de drenagem de água doce continental (SEMADS, 2001). Além de possuir o terceiro mais importante aterro sanitário da região metropolitana do Rio de Janeiro, seus municípios abrigam um parque industrial composto por cerca de 400 empresas de diferentes áreas. Os setores industriais que apresentaram os maiores potenciais de poluição são os setores de alimentos, metalúrgica, papel e papelão, plásticos e borrachas e produtos de metal e química (Costa *et al.*, 2011). O esgotamento sanitário do entorno da baía é precário e existe um uso intenso de agrotóxicos e carrapaticidas (SEMADS, 2001). A contaminação da baía de Sepetiba por metais traços é amplamente conhecida e estudada (Lailson-Brito, 2007; Vidal, 2010). Já as informações sobre a poluição por compostos organoclorados são mais escassas, havendo apenas um estudo sobre a concentração desses compostos no sedimento (Japenga *et al.*, 1988) e as pesquisas relacionadas à contaminação dos botos-cinza residentes na baía (Lailson-Brito *et al.*, 2010; Vidal, 2010).

Os estudos que analisaram a contaminação dos botos-cinza residentes nas baías de Ilha Grande e Sepetiba mostraram a existência de perfis e concentrações de organoclorados distintos, o que reflete a diferença no grau de degradação das duas baías. Mesmo assim, ambos os grupos de botos-cinza apresentam níveis elevados de contaminação por poluentes organoclorados (Lailson-Brito *et al.*, 2010; Vidal, 2010), indicando um cenário de impacto antrópico preocupante para todo o litoral sul do estado do Rio de Janeiro.



**Figura 3:** Mapa da área de estudo, litoral sul do estado do Rio de Janeiro, indicando pontos de coleta. a = Largo de Ilha Grande; b = Ponta da Joatinga.

#### 4.2. Amostragem

A amostragem de material biológico ocorreu ao longo de quatorze campanhas de coleta experimental, realizadas entre janeiro de 2006 e agosto de 2007. As coletas foram feitas em dois pontos do litoral sul do estado do Rio de Janeiro (Fig. 3). O ponto onde foi concentrada a maioria das coletas encontra-se ao Largo de Ilha Grande, em uma área perpendicular à costa da ilha voltada para alto mar (ponto “a” – Fig. 3). Nesse local foram feitos arrastos de fundo próximos à isóbata de 60 metros. O outro ponto está situado mais próximo à costa, em uma isóbata de 30 metros, próximo à Ponta da Joatinga, no continente (ponto “b” – Fig. 3). Nesse local o petrecho utilizado foi o espinhel de fundo. Ambos estão localizados dentro da plataforma continental. A quebra da plataforma no litoral sul do Rio de Janeiro ocorre a uma profundidade entre 120-180 metros (Zembruski, 1979).

Após a captura, todo o material biológico foi congelado e transportado em recipientes isotérmicos para o Laboratório de Biologia e Tecnologia Pesqueira, na Universidade Federal do Rio de Janeiro, onde os exemplares de *Rioraja agassizi* foram identificados, de acordo com Gomes (2010), e processados. Uma vez descongelados, os

exemplares foram medidos (largura do disco – LD, em centímetros) e pesados (peso total – PT, em gramas) utilizando-se trena e uma balança digital com precisão de 0,1 cm e 0,1 g, respectivamente. Os fígados foram pesados (PF, em gramas), embalados em papel alumínio e armazenados em freezer a -20°C para análise posterior dos compostos organoclorados. O sexo e o estágio reprodutivo de cada exemplar foram determinados segundo o aspecto macroscópico do aparelho reprodutivo e das gônadas. No total foram selecionados 29 exemplares de *R. agassizi*, sendo 15 machos e 14 fêmeas. Para cada sexo foram escolhidos indivíduos de diferentes classes de tamanho com o objetivo de incluir jovens e adultos de maneira uniforme e, entre os adultos, selecionando exemplares em diferentes estádios de maturação (Tab. 1).

Os fígados congelados foram levados ao Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca, na Universidade Federal do Rio de Janeiro, onde foram liofilizados, sendo em seguida extraídos e purificados. As etapas seguintes de análise cromatográfica e o tratamento dos dados gerados foram realizadas no Laboratório de Mamíferos Aquáticos e Bioindicadores Professora Izabel Gurgel, na Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

**Tabela 1:** Exemplares de *Rioraja agassizi* (N=29) usados para quantificação de compostos Organoclorados, com seus respectivos códigos de identificação neste trabalho, data de coleta, ponto de coleta, sexo (F=fêmea; M=macho), maturidade (J=jovem; A=adulto; G=grávida), largura do disco (LD, em cm) e peso total (PT, em g).

Código	Data de Coleta	Ponto de Coleta	Sexo	Maturação	LD (cm)	PT (g)
RA #1	20/03/2007	Largo de Ilha Grande	F	J	25,5	248,9
RA #2	13/09/2006	Largo de Ilha Grande	F	J	28	343,0
RA #3	13/09/2006	Largo de Ilha Grande	F	J	29,5	386,2
RA #4	17/12/2006	Largo de Ilha Grande	F	J	30,9	455,2
RA #5	06/02/2007	Largo de Ilha Grande	F	J	31,2	510,6
RA #6	13/07/2006	Ponta da Joatinga	F	J	33,9	701,0
RA #7	24/04/2006	Ponta da Joatinga	F	A	34,6	744,5
RA #8	20/02/2006	Largo de Ilha Grande	F	G	36,4	816,3
RA #9	19/02/2006	Largo de Ilha Grande	F	A	36,5	750,2
RA #10	19/02/2006	Largo de Ilha Grande	F	A	38,6	1070,2
RA #11	19/02/2006	Largo de Ilha Grande	F	A	39,2	1110,2
RA #12	20/03/2007	Largo de Ilha Grande	F	G	40,5	1212,3
RA #13	17/12/2006	Largo de Ilha Grande	F	A	40,7	1226,7

RA #14	17/12/2006	Largo de Ilha Grande	F	G	43,3	1316,1
RA #15	31/05/2006	Largo de Ilha Grande	M	J	20,5	129,4
RA #16	03/08/2007	Largo de Ilha Grande	M	J	20,7	160,6
RA #17	13/09/2006	Largo de Ilha Grande	M	J	20,8	134,3
RA #18	31/05/2006	Largo de Ilha Grande	M	J	24,1	217,1
RA #19	21/06/2007	Largo de Ilha Grande	M	J	24,8	247,9
RA #20	12/09/2006	Largo de Ilha Grande	M	J	25	278,9
RA #21	31/10/2006	Largo de Ilha Grande	M	J	25,4	256,6
RA #22	20/02/2006	Largo de Ilha Grande	M	A	26,4	329,3
RA #23	19/02/2006	Largo de Ilha Grande	M	A	27,7	384,4
RA #24	11/07/2006	Largo de Ilha Grande	M	A	28	358,4
RA #25	19/02/2006	Largo de Ilha Grande	M	A	28,5	392,5
RA #26	11/07/2006	Largo de Ilha Grande	M	A	29,6	476,7
RA #27	19/02/2006	Largo de Ilha Grande	M	A	30,5	433,3
RA #28	17/12/2006	Largo de Ilha Grande	M	A	31,5	477,3
RA #29	16/12/2006	Largo de Ilha Grande	M	A	32,2	574,3

### 4.3. Cuidados Analíticos

#### 4.3.1. Descontaminação do Material

Com o objetivo de eliminar qualquer resíduo orgânico, toda a vidraria utilizada foi previamente lavada com detergente comum e deixada em banho de imersão em solução preparada com água destilada e detergente laboratorial (Extran®) neutro em concentração 5% por pelo menos 12 horas. Após esse tempo, a vidraria foi lavada com água destilada e colocada para secar em estufa a 110°C, com exceção da vidraria com marcação volumétrica, que secou em temperatura ambiente. Antes da utilização toda vidraria ainda foi rinsada com acetona e n-hexano. Os aparelhos de soxhlet, balões de extração e filtros de papel, além de serem rinsados, passaram por processo de extração com 100 mL de solução de diclorometano e n-hexano (1:1), durante quatro horas.

#### 4.3.2. Reagentes

Para minimizar a presença de interferentes nas análises, foram utilizados reagentes e solventes com alto grau de pureza: Acetona P.A. - Tedia® (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O), n-hexano P.A - Tedia® (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), diclorometano P.A - Tedia® (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), isooctano, água deionizada (Milli-Q Water Sistem®) e ácido sulfúrico 95% P.A. – Tedia® (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

#### 4.3.3. Soluções Padrão dos Compostos Organoclorados

Todas as soluções padrão utilizadas foram adquiridas do laboratório internacional AccuStandard®.

A solução padrão dos pesticidas foi a *Pesticide Mix*, que possui 31 compostos: Aldrin,  $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH,  $\delta$ -HCH, a-clordano, g-clordano, o,p'-DDD, p,p'-DDD, o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDT, p,p'-DDT, dieldrin, endosulfan I e II, endrin, heptacloro, heptacloro epóxido A, heptacloro epóxido B, HCB, isodrin, metoxicloro, mirex, oxiclordana, PCB 28, 52, 101, 153, 138, 180, com 95,5 a 100% de pureza e concentrações de  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$  de cada pesticida e  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  de cada PCB em tolueno.

Para os PCBs foram utilizadas duas soluções. A primeira foi a *WHO/NIST/NOAA Congener List*, que possui 28 compostos: PCB 8, 18, 28, 44, 52, 66, 77, 81, 101, 105, 114, 118, 123, 126, 128, 138, 153, 156, 157, 167, 169, 170, 180, 187, 189, 195, 206 e 209, com 99 a 100 % de pureza e concentração de  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$  de cada composto em isooctano. A segunda solução foi a *PCB Congener Mix for West Coast Fish Studies*, que possui 24 compostos: PCB 31, 33, 49, 56, 60, 70, 74, 87, 95, 97, 99, 110, 132, 141, 149, 151, 156, 158, 174, 177, 194, 199, 203, 183, com 99 a 100% de pureza e concentração de  $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$  de cada composto em isooctano.

Como padrões internos foram utilizados o PCB 198 (2,2',3,3',4,5,5',6-Octachlorobiphenyl Individual Congener, com 100% de pureza, 5 mg) e o PCB 103 (2,2',4,5',6-Pentachlorobiphenyl Individual Congener, com 100% de pureza, 10 mg), além do TCMX (*Surrogate Standard Mix*, com 96% de pureza e concentração de  $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ).

A partir desses padrões foram preparadas quatro soluções: a solução dos PCBs, com 51 compostos e a solução dos pesticidas, com 25 compostos, em concentração de  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ; a solução do padrão interno, que continha 2 compostos (o PCB 103 e o PCB 198), e a solução do padrão interno cromatográfico, que continha o TCMX (2,3,5,6-tetracloro-*m*-xileno), em concentração de  $0,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Para os padrões internos PCB 103 e PCB 198, foram aceitas somente recuperações na faixa de 70 a 130%.

#### 4.4. Procedimentos Analíticos de Organoclorados

Os métodos de extração e de purificação usados foram uma adaptação dos métodos propostos por Azevedo e Silva (2004) e Lailson-Brito (2007).



#### *4.4.1. Extração*

Para o processo de extração foram utilizados aparelhos de soxhlet com capacidade de 60 mL e balões volumétricos de 125 mL aquecidos individualmente por mantas térmicas. A mistura de solventes usada foi n-hexano e o diclorometano (1:1) (v:v).

Cerca de 2 g de fígado liofilizado foram utilizados para a extração. Essa alíquota foi colocada no papel filtro, que em seguida foi inserido no soxhlet. No balão volumétrico foram colocados 60 mL da mistura de solventes e no soxhlet foi adicionado o mesmo volume da mistura. O balão e o soxhlet foram acoplados e presos ao condensador. O fundo do balão ficou apoiado à manta térmica, que aqueceu a mistura de solventes até cerca de 40°C. O processo de extração durou cerca de oito horas.

O volume final dos extratos de todas as amostras foi ajustado para 100 mL. Desse total, 40 mL foram separados para o processo de purificação, 20 mL foram destinados à etapa de quantificação do conteúdo lipídico e o restante foi armazenado em geladeira como solução reserva.

#### *4.4.2. Purificação*

O objetivo da etapa de purificação é a eliminação de qualquer interferente que esteja presente no extrato, principalmente a matéria orgânica. A utilização do ácido provoca a alteração de alguns compostos que, portanto, não podem ser quantificados (Dieldrin, Endrin, Sulfato de Endosulfan e Endosulfan I e II). Esse tratamento, porém, demonstra-se adequado para a análise de PCBs, HCB, HCHs, Heptaclor e DDTs, uma vez que esses analitos não são alterados nem degradados durante o processo.

Para essa etapa, o volume inicial de 40 mL foi reduzido a 2 mL em sistema fechado de evaporação rotativa. A esse extrato foram adicionados 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. A solução foi agitada por cerca de 3 minutos e em seguida colocada na centrífuga a 3.000 rpm por cerca de 4 horas. Após essa etapa a fase hexânica foi retirada e separada e ao extrato foi adicionado mais 2 mL de n-hexano. A solução foi novamente agitada e centrifugada até a separação total das fases. As duas fases hexânicas foram unidas e foi adicionado 0,5 mL de isooctano. Essa solução foi então reduzida a 0,5 mL em fluxo de nitrogênio, sendo adicionado 0,5 mL do padrão interno (PCB103+198 a 100 ppb). A solução foi novamente reduzida, desta vez a 0,25 mL e foi adicionado 0,25 mL do padrão interno cromatográfico (TCMX a 200 ppb).

#### 4.4.3. Quantificação do Conteúdo Lipídico

A quantificação de lipídios foi feita por método gravimétrico, baseado em Yogui (2002). Para essa etapa, 20 mL do extrato inicial foram separados. Esse volume foi reduzido a 2 mL em sistema fechado de evaporação rotativa e colocado em um pequeno frasco de vidro (vial) previamente pesado, sendo guardado em dessecador até a total evaporação do solvente. O recipiente foi então pesado novamente e a quantidade de lipídios da alíquota foi obtida. As concentrações finais foram corrigidas a partir do uso da massa de lipídios.

#### 4.5. Condições Cromatográficas

Todas as análises foram realizadas em um cromatógrafo de fase gasosa com detector de captura de elétrons (CG-DCE), da marca *Agilent Technologies*, modelo 7890, com fonte radioativa de  $^{63}\text{Ni}$ , acoplado ao injetor automático da *Agilent Technologies*, modelo 7683B. Foi utilizada a coluna capilar de sílica fundida DB-5 da *Agilent Technologies* (5% de difenil e 95% de dimetilpolisiloxano), com 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 1  $\mu\text{m}$  de espessura de filme.

Foram injetados 2  $\mu\text{L}$  de amostra, de um volume final de 0,5 mL, com o injetor operando sem divisão de fluxo (*splitless*) por 30 segundos, com a temperatura de 280°C. O gás de arraste foi o hidrogênio ultra puro (99,999% de pureza), com pressão constante de 13 psi na coluna. A temperatura do detector foi de 320°C e o nitrogênio ultra puro (99,999% de pureza) foi utilizado como gás auxiliar (*make-up*), com um fluxo de 60 mL.min<sup>-1</sup>. O programa de aquecimento utilizado na separação dos compostos permaneceu a 70°C por 1 minuto, aumentando 40°C por minuto até atingir 170°C. Em seguida foi aumentando 1,5°C por minuto até alcançar 240°C. Por fim elevou-se até 300°C, a uma taxa de 15°C por minuto, mantendo-se estável nessa temperatura por 11 minutos. O tempo total da programação foi, portanto, de 65,167 minutos.

Para integração e quantificação das concentrações dos analitos foi utilizado o programa *Ezchrom 3.2.1*. A identificação dos compostos organoclorados foi baseada em seus respectivos tempos de retenção, obtidos a partir das soluções padrão. A quantificação foi feita com base nas áreas dos picos de cada composto no cromatograma, corrigidos pela recuperação do padrão interno (PCB 103).

#### 4.6. Curva Analítica

As curvas analíticas foram preparadas a partir das soluções padrão. Para construir a curva de cada analito, foram usadas dez alíquotas em diferentes concentrações esperadas da solução padrão: 2, 5, 10, 20, 50, 80, 100, 150, 200 e 250  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Todos os pontos possuíam o padrão interno e o padrão interno cromatográfico na concentração de 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Foi considerado um coeficiente de correlação maior ou igual a 99,5% ( $r=0,995$ ) para todas as curvas.

#### 4.7. Limite de Detecção do Equipamento

O Limite de detecção do equipamento é definido como o menor sinal, acima de um ruído de fundo, que o equipamento possa detectar de maneira confiável (EPA, 2000). O valor recomendado é de três vezes o desvio padrão de pelo menos sete réplicas da injeção contendo a menor concentração, diferente de zero, dos analitos. Dessa maneira haveria 99% de confiança de que o sinal identificado é resultado da presença do analito, e não do ruído do equipamento (EPA, 1992; EPA, 2000).

Neste trabalho o cálculo do limite de detecção do equipamento foi feito a partir da injeção de oito réplicas da diluição na menor concentração (2 ppb) das soluções padrão dos compostos organoclorados. Os valores do limite de detecção estão na Tabela 2.

**Tabela 2:** Limite de Detecção do Equipamento (LDE) para os compostos organoclorados analisados

Compostos	LDE (ppb)	Compostos	LDE (ppb)
HCB	0,33	PCB 118	0,08
Mirex	0,10	PCB 138	0,08
pp'-DDT	0,18	PCB 151	0,11
pp'-DDE	0,29	PCB 153	0,17
pp'-DDD	0,64	PCB 156	0,26
op'-DDE	0,27	PCB 170	0,16
$\alpha$ -HCH	0,24	PCB 180	0,07
$\gamma$ -HCH	0,07	PCB 183	0,07
PCB 28	0,12	PCB 187	0,06
PCB 44	0,13	PCB 194	0,29
PCB 49	0,14	PCB 195	0,14

PCB 52	0,17	PCB 199	1,93
PCB 97	0,18	PCB 206	0,30
PCB 101	0,14	PCB 209	0,19
PCB 105	0,20		

#### 4.8. Validação da Metodologia

A validação da metodologia utilizada é recomendada e é feita através da análise de materiais de referência, ou seja, matrizes analisadas em laboratórios certificados. Essa análise serve para avaliar a exatidão do método empregado, isto é, a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como verdadeiro (INMETRO, 2003).

Para validar o método utilizado, foi feita a análise de dois materiais certificados, o IAEA-435 do *International Atomic Energy Agency – Marine Environment Laboratory* (IAEA-MEL), que consiste em tecido muscular de atum-verdadeiro (*Thunnus thynnus*) liofilizado e homogeneizado, e o NIST 1588a do *National Institute of Standards & Technology*, que consiste em óleo de fígado de bacalhau. A análise foi feita de acordo com a metodologia aplicada as amostras. Os critérios para validação utilizados foram baseados em Wade & Cantillo (1994), em que são aceitas concentrações entre 65 e 135% daquelas fornecidas pelo laboratório de referência. A tabela 3 apresenta os compostos certificados e suas porcentagens de recuperação.

**Tabela 3:** Porcentagem de recuperação dos compostos certificados pelos materiais de referência.

Compostos	Recuperação (%)	Compostos	Recuperação (%)
HCB	83,9	PCB 118	78,1
Mirex	87,5	PCB 138	70,3
pp'-DDT	68,1	PCB 151	84,9
pp'-DDE	70,0	PCB 153	84,8
pp'-DDD	125,9	PCB 156	74,8
op'-DDE	116,4	PCB 170	69,7
$\alpha$ -HCH	79,2	PCB 180	90,8
$\gamma$ -HCH	120,2	PCB 183	90,7
PCB 28	104,4	PCB 187	128,5

PCB 44	77,3	PCB 194	89,8
PCB 49	75,3	PCB 195	158,1
PCB 52	67,3	PCB 199	64,8
PCB 97	96,9	PCB 206	116,8
PCB 101	90,5	PCB 209	134,3
PCB 105	65,0		

Portanto, os compostos determinados pela presente metodologia são: HCB,  $\alpha$ -HCH,  $\gamma$ -HCH, Mirex, pp'-DDT, pp'-DDE, pp'-DDD, op'-DDE, PCB 28, PCB 44, PCB 49, PCB 52, PCB 97, PCB 101, PCB 105, PCB 118, PCB 138, PCB 151, PCB 153, PCB 156, PCB 170, PCB 180, PCB 183, PCB187, PCB 194, PCB 195, PCB 199, PCB 206 e PCB 209.

Assim, sempre que for citado o somatório de DDT ( $\Sigma$ DDT), significa que esse valor se refere à soma dos compostos p,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDE e o,p'-DDE. Apenas para o cálculo da razão DDE/ $\Sigma$ DDT é que são utilizados somente o pp'-DDT e seus metabólitos, pp'-DDE e pp'-DDD. Quanto ao somatório de HCH ( $\Sigma$ HCH), compreende-se a soma dos valores de  $\alpha$ -HCH e  $\gamma$ -HCH. E em relação ao PCB total ( $\Sigma$ PCB), deve-se considerar a soma dos seguintes congêneres e isômeros: 28, 44, 49, 52, 97, 101, 105, 118, 138, 151, 153, 156, 170, 180, 183, 187, 194, 195, 199, 206, 209.

Como um controle de qualidade e para garantirmos que as amostras não estavam sendo contaminadas ao longo do processo, foram analisados brancos em todas as baterias de extração. Os brancos passaram por todas as etapas analíticas, assim como as amostras. As médias dos valores de cada composto obtidos nos brancos analisados (n=6) são apresentadas na tabela 4.

**Tabela 4:** Média dos valores de cada composto obtida a partir dos brancos analisados (n=6).

Compostos	Concentração média (ppb)	Compostos	Concentração Média (ppb)
HCB	0,01	PCB 118	0,00
Mirex	0,00	PCB 138	1,15
pp'-DDT	0,00	PCB 151	0,00
pp'-DDE	0,50	PCB 153	1,24
pp'-DDD	0,00	PCB 156	0,00
op'-DDE	0,56	PCB 170	0,00

$\alpha$ -HCH	0,40	PCB 180	0,00
$\gamma$ -HCH	1,34	PCB 183	0,00
PCB 28	0,00	PCB 187	0,00
PCB 44	0,12	PCB 194	0,00
PCB 49	0,31	PCB 195	0,00
PCB 52	0,00	PCB 199	0,00
PCB 97	0,00	PCB 206	1,74
PCB 101	0,62	PCB 209	0,00
PCB 105	0,00		

#### 4.9. Análises e Testes Estatísticos

O Fator de Condição Relativo ( $K_n$ ) foi calculado a fim de comparar as condições de saúde de cada indivíduo. Esse fator é calculado a partir da equação  $K_n = P/P_E$  ( $P$  = peso observado,  $P_E$  = peso esperado;  $P_E = aLD^b$  onde  $a$  = constante,  $LD$  = largura do disco;  $b$  = coeficiente de alometria) (LeCren, 1951).

Para todas as análises e testes estatísticos, os valores das concentrações dos compostos que estavam abaixo do limite de detecção do equipamento foram substituídos pela metade do valor determinado para esse limite.

Para a determinação dos valores das medidas centrais, assim como do desvio padrão, foi utilizada a estatística descritiva. Para verificar a normalidade dos dados foi aplicado o teste  $W$  de *Shapiro-Wilk* e para verificar a homogeneidade das variâncias foi aplicado o teste de *Hartley* ( $\alpha=0,05$ ). Uma vez que os resultados desses testes indicaram que os dados não apresentavam distribuição normal e eram heterocedásticos, optou-se pela aplicação de testes estatísticos não paramétricos (Zar, 1999).

Os resultados são apresentados em itens e subitens. Para melhor compreensão dos testes realizados em cada uma dessas partes, manteremos a mesma divisão para explicar as análises realizadas.

##### 4.9.1. Tópico "Conteúdo Lipídico"

O objetivo desse tópico foi compreender a variação do conteúdo lipídico nos diferentes estágios de vida da espécie estudada. Uma vez que os contaminantes analisados são lipofílicos, esses dados vão auxiliar na compreensão da dinâmica dos

próprios poluentes ao longo da vida do animal. Foi aplicado o teste não paramétrico de correlação de *Spearman* ( $r_s$ ) com o objetivo de verificar a existência de relação entre o conteúdo lipídico e a largura do disco (LD, em cm) dos exemplares. O teste U não paramétrico de *Mann-Whitney* ( $\alpha=0,05$ ) foi empregado com o objetivo de verificar a influência da maturidade, sexo e período reprodutivo na variação do conteúdo lipídico. Para isso, o teste foi aplicado entre os seguintes agrupamentos biológicos: adultos *vs.* jovens; machos *vs.* fêmeas; fêmeas adultas não grávidas *vs.* fêmeas grávidas.

#### 4.9.2. Tópico "Bioacumulação de Compostos Organoclorados"

Esse tópico foi dividido em duas seções. O objetivo da primeira seção foi mostrar os resultados de contaminação de forma geral, apresentando as principais categorias de organoclorados encontradas e seus perfis. Além disso, investigamos a tendência positiva ou negativa, ou a ausência dela, na variação das concentrações dos organoclorados em relação ao tamanho e ao conteúdo lipídico dos exemplares. Foi calculada a razão  $\sum\text{DDT}/\sum\text{PCB}$  para verificar a dominância entre as diferentes fontes de contaminação na área de estudo, podendo esta ser agrícola/controle de vetores de doenças, representada pelo  $\sum\text{DDT}$ , ou industrial, associada à concentração de  $\sum\text{PCB}$  (Aguilar *et al.*, 1999). Dessa maneira, se a razão calculada for superior a 1 sabemos que a fonte de contaminação agrícola/controle de vetores teve maior impacto na área estudada e se o resultado for inferior a 1, isto significa que a poluição industrial foi superior na região. Especificamente em relação ao DDT foi calculada a razão  $\text{DDE}/\sum\text{DDT}$  para se estabelecer uma cronologia de entrada do DDT no ambiente. Na formulação comercial do DDT existe um predomínio do pp'-DDT, sendo que esse composto, quando lançado no ambiente, se degrada para pp'-DDE e pp'-DDD, mas em organismos marinhos o pp'-DDT é metabolizado principalmente para pp'-DDE (Strandberg *et al.*, 1998). Assim, quanto maior for a razão do pp'-DDE com  $\sum\text{DDT}$ , mais antigo é o lançamento do DDT no ambiente (Aguilar, 1984). O valor calculado pode ser comparado com razões encontradas para outras localidades, ou com o valor de referência calculado por Aguilar (1984), e assim saber se a região estudada teve uma entrada mais ou menos recente desse pesticida.

O teste de correlação de *Spearman* ( $r_s$ ) foi aplicado entre a concentração de poluentes ( $\text{ng.g}^{-1}$  de lipídio) e a largura do disco (LD), e entre a concentração de

poluentes ( $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de lipídio) e o conteúdo lipídico (%). Nesse caso foram usados apenas os somatórios dos congêneres e isômeros nas diferentes categorias de organoclorados.

Na segunda seção o objetivo foi analisar de forma mais detalhada as variações na concentração dos organoclorados entre os diferentes agrupamentos possíveis dentro da população estudada. Primeiro a análise foi realizada entre os agrupamentos biológicos existentes (sexo, maturidade e período reprodutivo). Para isso foi empregado o teste U não paramétrico de *Mann-Whitney* ( $\alpha=0,05$ ) entre os seguintes grupos: machos *vs.* fêmeas, jovens *vs.* adultos, fêmeas adultas não grávidas *vs.* fêmeas grávidas. Para esses testes foram utilizados os dados dos somatórios de cada categoria de organoclorados, sendo utilizado o pacote estatístico *STATISTICA 7.0 (StatSoft)* para rodar a análise. Em seguida foi aplicada uma análise de agrupamento de cluster, método de *Wards*, para verificar a existência de outros possíveis agrupamentos, induzidos por fatores ecológicos ou comportamentais incapazes de serem estabelecidos previamente a partir das informações disponíveis. Como nesses casos a diferença entre os grupos pode estar associada também a uma variação no perfil de contaminação, e não somente às concentrações dos poluentes, a análise foi realizada com os dados de concentração de cada congêneres e isômero. Dessa maneira os somatórios não foram incluídos. Para a análise de agrupamento foi utilizado o programa *PRIMER 6.0*. Uma vez estabelecidos todos os agrupamentos existentes, foi realizada uma análise de variância não paramétrica, teste de *Kruskal-Wallis*, incluindo todos os grupos a fim de verificar as semelhanças entre cada agrupamento. O teste de *Kruskal-Wallis* foi seguido do teste de pós-comparações de *Nemenyi-Dunn*, sempre que fosse indicada uma diferença estatisticamente significativa ( $\alpha=0,05$ ). Para essa análise foram utilizados somente os somatórios de cada tipo de organoclorado. Para indicar os congêneres e isômeros que mais influenciavam a formação de cada grupo, foi aplicada uma análise discriminante (*forward stepwise*) incluindo os dados de concentração de cada poluente individualmente, excluindo-se os somatórios. Para aplicação desses testes foi utilizado o pacote estatístico *STATISTICA 7.0 (StatSoft)*.



## 5. RESULTADOS

Na tabela 5 é apresentado um resumo com o sexo, maturidade e período reprodutivo de cada indivíduo amostrado de raia-santa, assim como as concentrações dos compostos organoclorados ( $\Sigma$ DDT,  $\Sigma$ PCB,  $\Sigma$ HCH, HCB e Mirex) em  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de lipídio e em  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de peso úmido. Também são apresentados o conteúdo lipídico para cada amostra de fígado, o Fator de Condição Relativo (Kn), a largura do disco (LD, em cm) e o peso total (PT, em g) de cada exemplar. As análises foram feitas com base nos valores normalizados para lipídios. Os valores em peso úmido foram apresentados principalmente para que pudessem ser discutidos com os resultados encontrados em outras pesquisas, que apresentaram seus valores baseados somente em peso úmido.

**Tabela 5:** Concentrações de organoclorados ( $\Sigma$ DDT,  $\Sigma$ PCB,  $\Sigma$ HCH, HCB e Mirex) em  $\text{ng.g}^{-1}$  de lipídio (ng/g lip.) e em  $\text{ng.g}^{-1}$  de peso úmido (ng/g p.u.), nos exemplares de raia-santa, *Rioraja agassizi*, do litoral sul do estado do Rio de Janeiro. Também são apresentados o sexo (F = fêmea e M = macho), maturidade sexual e período reprodutivo (J = jovem, A = adulto e G = grávida), conteúdo lipídico no tecido hepático, Fator de Condição Relativo (Kn), largura do disco (LD, em cm) e peso total (PT, em g) de cada exemplar.

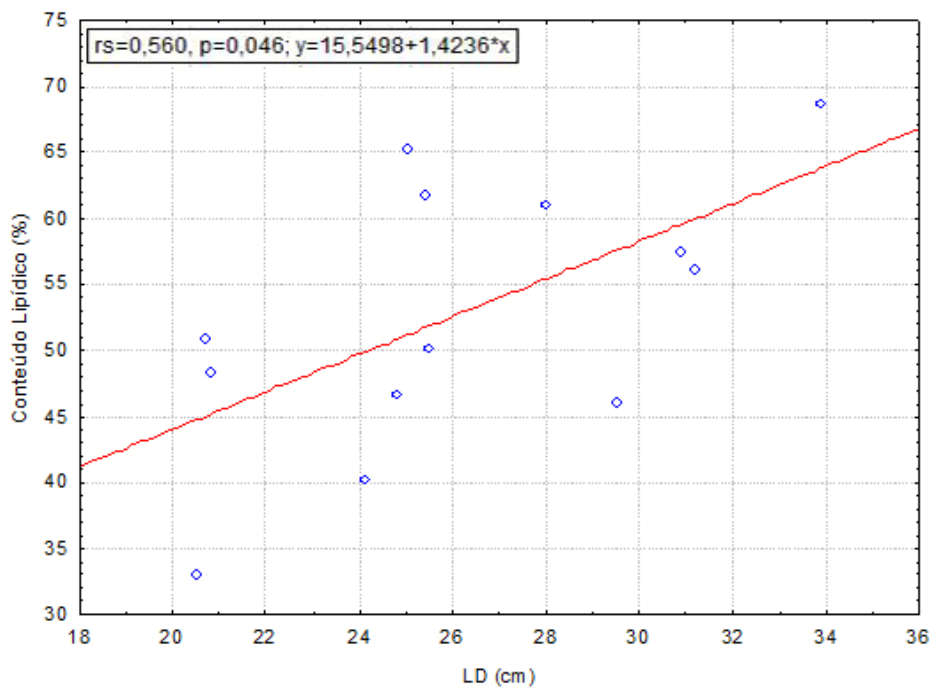
Código	LD (cm)	PT (g)	Sexo	Maturidade	Kn	Lipídios (%)	$\Sigma$ PCB		$\Sigma$ DDT		$\Sigma$ HCH		HCB		Mirex	
							(ng/g lip.)	(ng/g p.u.)	(ng/g lip.)	(ng/g p.u.)	(ng/g lip.)	(ng/g p.u.)	(ng/g lip.)	(ng/g p.u.)	(ng/g lip.)	(ng/g p.u.)
RA #1	25,5	248,9	F	J	0,92	50,2	486,6	53,3	56,9	6,2	10,1	1,1	1,8	0,2	8,2	0,9
RA #2	28	343,0	F	J	0,94	61,0	146,3	39,9	28,1	7,8	2,8	0,8	1,5	0,4	4,5	1,2
RA #3	29,5	386,2	F	J	0,90	46,1	335,8	82,1	48,1	11,8	9,1	2,2	2,0	0,5	5,9	1,4
RA #4	30,9	455,2	F	J	0,92	57,5	150,9	38,2	16,8	4,3	6,7	1,7	2,1	0,5	4,3	1,1
RA #5	31,2	510,6	F	J	1,00	56,2	242,9	78,3	33,9	10,9	4,1	1,3	1,5	0,5	4,3	1,4
RA #6	33,9	701,0	F	J	1,06	68,8	150,9	58,1	26,4	10,2	2,1	0,8	1,0	0,4	3,8	1,5
RA #7	34,6	744,5	F	A	1,05	46,9	235,3	58,3	23,7	5,9	<ld*	<ld*	<ld*	<ld*	4,3	1,1
RA #8	36,4	816,3	F	G	0,99	26,2	1361,9	89,2	130,7	8,6	55,7	3,6	6,6	0,4	12,4	0,8
RA #9	36,5	750,2	F	A	0,90	56,9	470,1	66,8	44,5	6,3	4,1	0,6	1,2	0,2	8,4	1,2
RA #10	38,6	1070,2	F	A	1,07	47,2	720,5	79,8	12,2	1,3	6,6	0,7	<ld*	<ld*	13,8	1,5
RA #11	39,2	1110,2	F	A	1,06	44,5	714,5	67,5	58,0	5,5	34,0	3,2	4,6	0,4	8,1	0,8
RA #12	40,5	1212,3	F	G	1,05	24,0	359,7	27,2	15,2	1,1	1,9	0,1	2,6	0,2	9,0	0,6
RA #13	40,7	1226,7	F	A	1,04	53,7	181,2	37,9	30,0	6,2	6,1	1,3	1,5	0,3	6,9	1,4
RA #14	43,3	1316,1	F	G	0,92	18,7	265,4	14,3	34,5	1,9	5,0	0,3	1,7	0,1	10,3	0,5
RA #15	20,5	129,4	M	J	0,95	33,1	495,5	65,7	72,4	9,6	13,2	1,7	1,3	0,2	8,4	1,1
RA #16	20,7	160,6	M	J	1,14	51,0	171,5	40,7	25,2	6,0	8,9	2,1	2,7	0,7	3,8	0,9
RA #17	20,8	134,3	M	J	0,94	48,4	212,3	36,9	43,9	7,6	8,1	1,4	1,2	0,2	5,5	0,9
RA #18	24,1	217,1	M	J	0,98	40,3	290,7	49,7	15,5	2,7	7,3	1,2	1,9	0,3	5,5	0,9
RA #19	24,8	247,9	M	J	1,00	46,7	292,3	83,1	37,5	10,7	10,5	3,0	3,1	0,9	6,6	1,9
RA #20	25	278,9	M	J	1,10	65,4	116,8	37,3	24,6	7,8	5,5	1,8	1,6	0,5	3,9	1,2
RA #21	25,4	256,6	M	J	0,96	61,9	216,1	69,9	30,2	9,8	4,1	1,3	1,0	0,3	4,5	1,4

RA #22	26,4	329,3	M	A	1,09	58,9	655,3	191,8	24,6	7,1	11,6	3,4	<ld*	<ld*	<ld*	<ld*
RA #23	27,7	384,4	M	A	1,10	19,3	2537,7	250,1	103,7	10,2	51,1	5,0	<ld*	<ld*	5,8	0,6
RA #24	28	358,4	M	A	0,99	48,9	1135,3	294,3	105,8	27,4	26,5	6,9	2,8	0,7	12,1	3,1
RA #25	28,5	392,5	M	A	1,02	34,2	274,5	87,5	22,1	7,0	<ld*	<ld*	<ld*	<ld*	6,1	1,9
RA #26	29,6	476,7	M	A	1,10	59,2	899,0	285,9	61,9	19,7	24,9	7,9	5,1	1,6	10,6	3,4
RA #27	30,5	433,3	M	A	0,91	32,5	1593,4	433,5	25,2	6,7	34,9	9,5	<ld*	<ld*	5,8	1,6
RA #28	31,5	477,3	M	A	0,91	40,4	948,9	186,0	86,5	17,0	6,8	1,3	2,2	0,4	15,6	3,0
RA #29	32,2	574,3	M	A	1,02	44,4	593,3	126,5	65,1	13,9	7,1	1,5	2,3	0,5	11,3	2,4
<b>Mínimo</b>	<b>20,5</b>	<b>129,4</b>			<b>0,90</b>	<b>18,7</b>	<b>116,8</b>	<b>27,2</b>	<b>12,2</b>	<b>1,1</b>	<b>&lt;ld*</b>	<b>&lt;ld*</b>	<b>&lt;ld*</b>	<b>&lt;ld*</b>	<b>&lt;ld*</b>	<b>&lt;ld*</b>
<b>Máximo</b>	<b>43,3</b>	<b>1316,1</b>			<b>1,14</b>	<b>68,8</b>	<b>2537,7</b>	<b>433,5</b>	<b>130,7</b>	<b>27,4</b>	<b>55,7</b>	<b>9,5</b>	<b>6,6</b>	<b>1,6</b>	<b>15,6</b>	<b>3,1</b>
<b>Média</b>	<b>30,5</b>	<b>542,8</b>			<b>1,00</b>	<b>46,3</b>	<b>560,5</b>	<b>104,5</b>	<b>44,9</b>	<b>8,7</b>	<b>12,7</b>	<b>2,3</b>	<b>1,8</b>	<b>0,4</b>	<b>7,2</b>	<b>1,4</b>
<b>Desvio Padrão</b>	<b>6,3</b>	<b>350,2</b>			<b>0,07</b>	<b>13,5</b>	<b>539,2</b>	<b>98,5</b>	<b>30,2</b>	<b>5,5</b>	<b>14,5</b>	<b>2,3</b>	<b>1,6</b>	<b>0,3</b>	<b>3,5</b>	<b>0,8</b>
<b>Mediana</b>	<b>29,6</b>	<b>433,3</b>			<b>1,00</b>	<b>47,2</b>	<b>335,8</b>	<b>67,5</b>	<b>33,9</b>	<b>7,6</b>	<b>7,1</b>	<b>1,4</b>	<b>1,6</b>	<b>0,3</b>	<b>6,1</b>	<b>1,2</b>

\* <ld = valor abaixo do limite de detecção

## 5.1. Conteúdo Lipídico

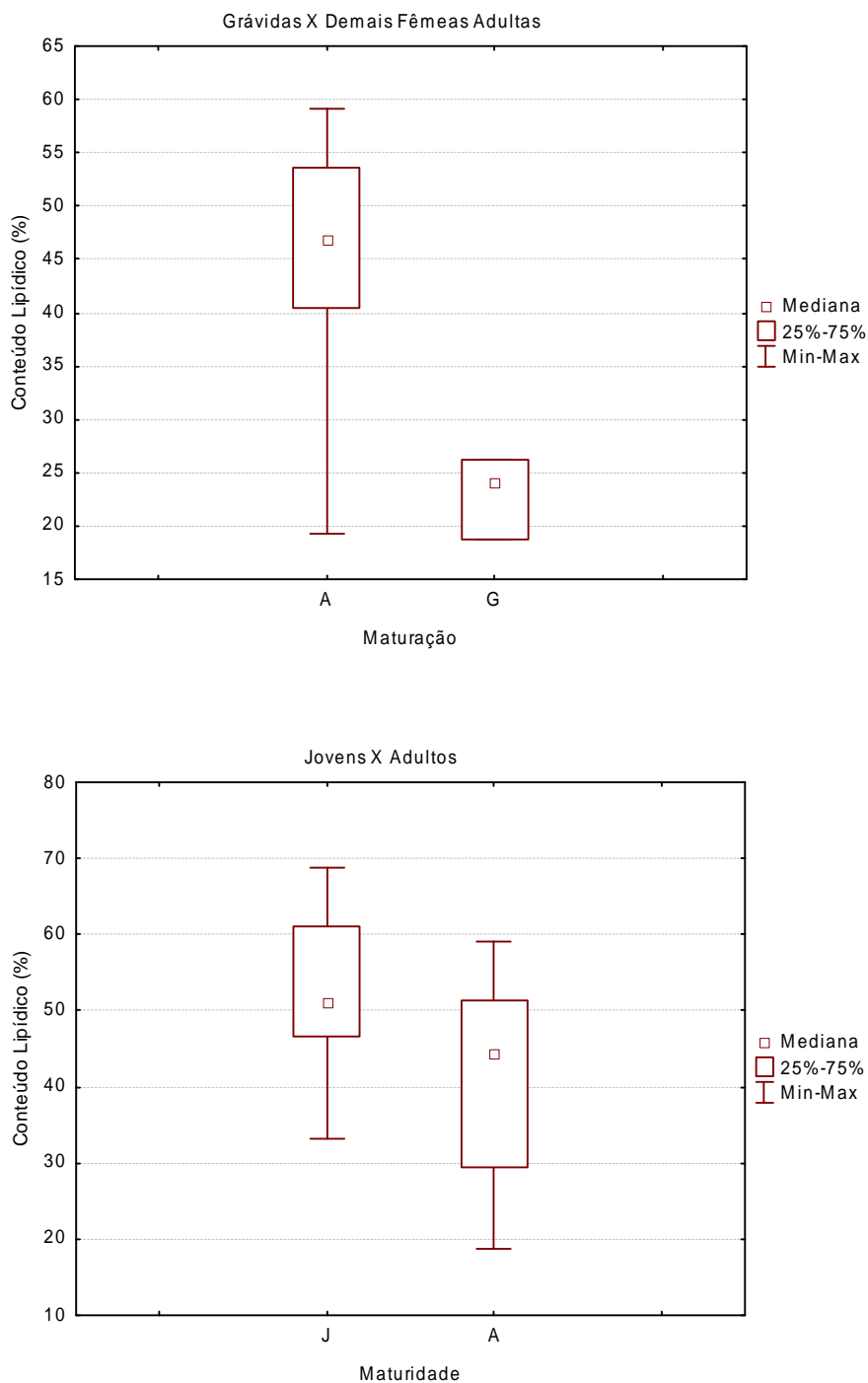
O teste de correlação de *Spearman* foi aplicado para verificar a existência de relação entre o conteúdo lipídico e a largura do disco (LD, em cm) dos exemplares de *R. agassizi*. Quando aplicado para todos os exemplares juntos, não foi constatada correlação ( $r_s = -0,188$ ;  $p = 0,327$ ). Separando-se jovens e adultos, foi verificada correlação apenas para os indivíduos jovens ( $r_s = 0,560$ ;  $p = 0,046$ ) (Fig. 4). Para os adultos, os valores do conteúdo lipídico e do LD não apresentaram correlação ( $r_s = -0,200$ ;  $p = 0,457$ ), mesmo quando os exemplares foram separados em machos ( $r_s = -0,071$ ;  $p = 0,866$ ) e fêmeas ( $r_s = -0,333$ ;  $p = 0,419$ ).



**Figura 4:** Variação do conteúdo lipídico (%) em tecido hepático ao longo das diferentes larguras de disco (LD, cm) para os indivíduos jovens da raia-santa, *Rioraja agassizi* (n=13), do litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

Comparando o valor do conteúdo lipídico entre os sexos dos indivíduos analisados, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre machos e fêmeas (*Mann-Whitney*:  $p > 0,05$ ). Já entre as fêmeas adultas foi encontrada diferença significativa (*Mann-Whitney*:  $U = 0$ ,  $p = 0,025$ ) em relação à maturação, sendo que as grávidas apresentaram menor valor de conteúdo lipídico do que as demais adultas. Jovens e adultos também apresentaram diferença estatisticamente significativa para os

valores de conteúdo lipídico (*Mann-Whitney*:  $U=53$ ,  $p=0,025$ ). Adultos, apesar de apresentarem maior variação desses valores, tiveram mediana inferior a dos indivíduos jovens (Fig. 5).



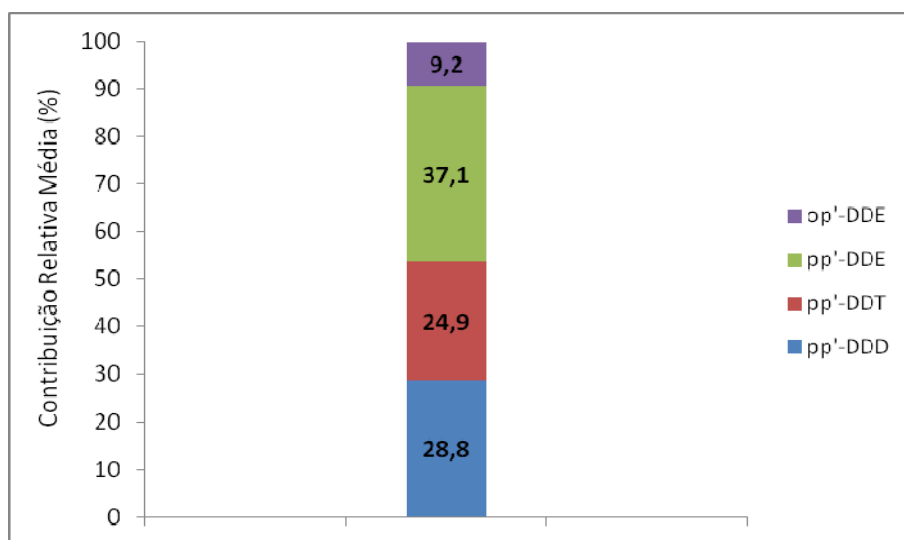
**Figura 5:** Variação do conteúdo lipídico (%) em tecido hepático de fêmeas adultas, comparação entre grávidas (G; n=3) e demais adultas (A; n=5), e de indivíduos jovens (J; n=13) e indivíduos adultos (A; n=16) da raia-santa, *Rioraja agassizi*, do litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

## 5.2. Bioacumulação de Compostos Organoclorados

### 5.2.1. Resultados Gerais

Os compostos que apresentaram maior contribuição na concentração total de organoclorados encontrados na raia-santa foram os PCBs, com 89,4%. Em seguida vieram o  $\sum$ DDTs (7,1%), o  $\sum$ HCH (2,0%), o Mirex (1,2%) e o HCB (0,3%).

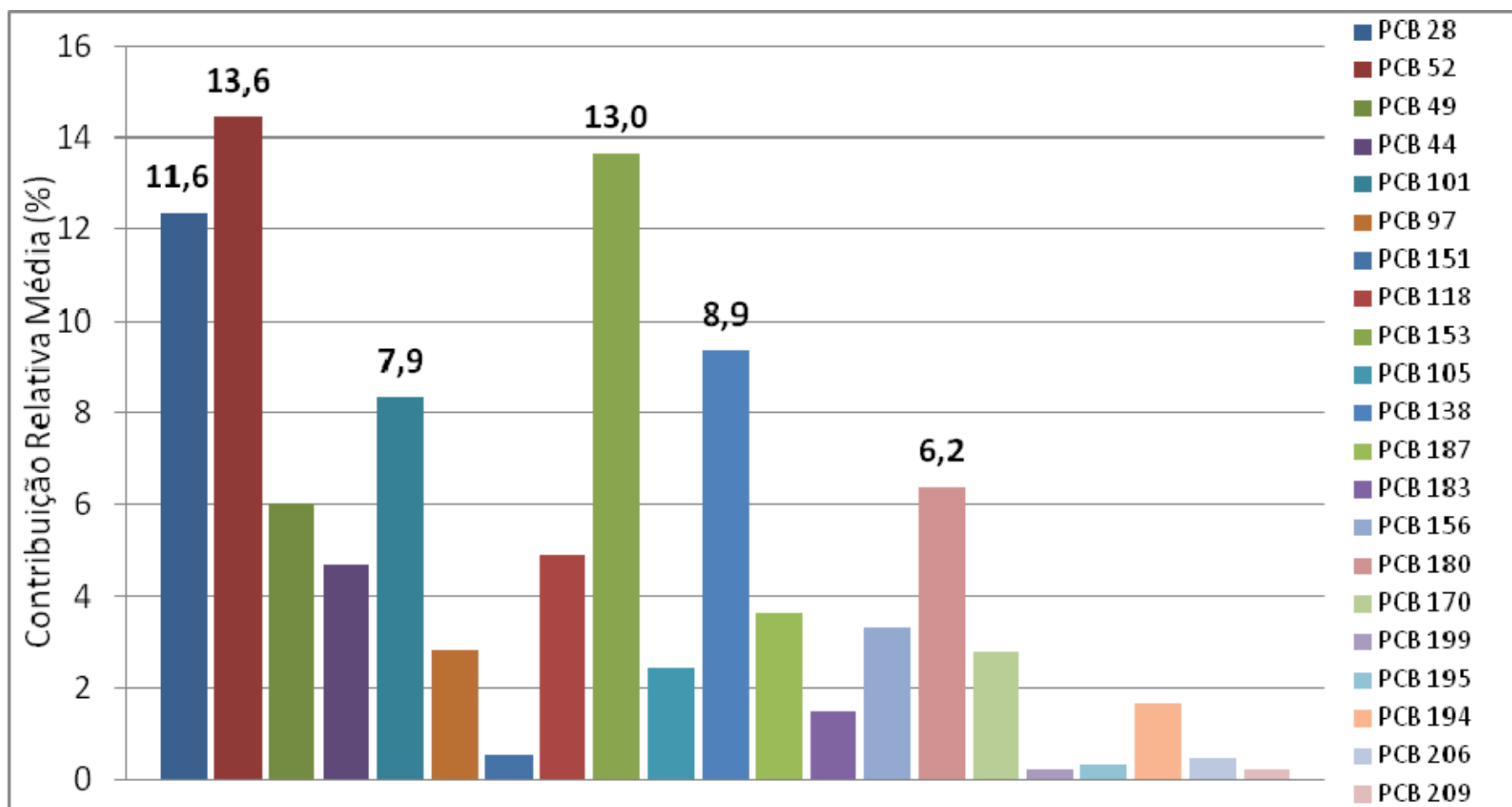
Especificamente em relação ao  $\sum$ DDT, o principal composto presente no somatório foi o pp'-DDE, sendo seguido pelo pp'-DDD > pp'-DDT > op'-DDE (Fig. 6). A análise do pp'-DDT e seus metabólitos (pp'-DDE e pp'-DDD), através do cálculo da razão entre a concentração de pp'-DDE e o valor do somatório de pp'-DDD, pp'-DDT e pp'-DDE, é usada para se estabelecer uma cronologia de entrada do DDT no ambiente. No presente trabalho a razão encontrada foi de 0,40.



**Figura 6:** Contribuição relativa média (%) do pp'-DDE, pp'-DDT, pp'-DDD e op'-DDE em tecido hepático da raia-santa, *Rioraja agassizi* (n=29), do litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

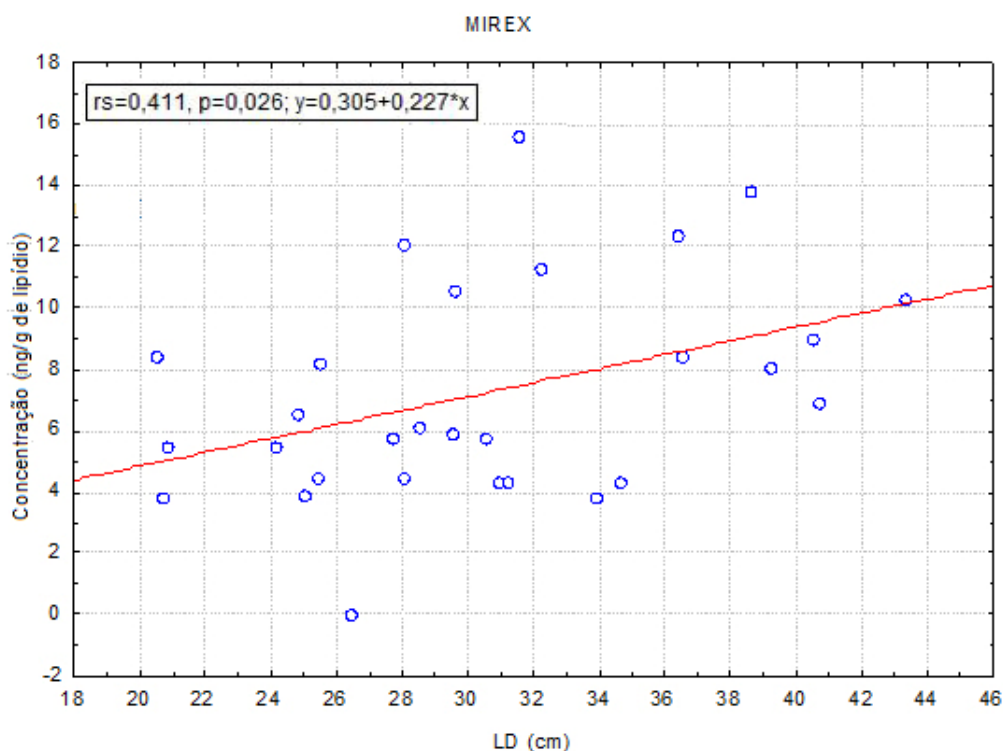
A razão entre as concentrações de  $\sum$ DDT e  $\sum$ PCB tem sido utilizada para caracterizar a magnitude da contribuição das fontes de origem agrícola sobre as fontes de origem industrial nos organismos marinhos. No presente estudo essa razão foi de 0,08, mostrando uma influência muito superior dos organoclorados de origem industrial (PCBs) em relação aos de origem agrícola nos exemplares de raia-santa.

Os diferentes congêneres e isômeros de PCBs apresentaram contribuições relativas distintas para o somatório das bifenilas policloradas (Fig. 7). Os principais PCBs encontrados foram o PCB 52 > PCB 153 > PCB 28 > PCB 138 > PCB 101 > PCB 180 (Fig. 7).



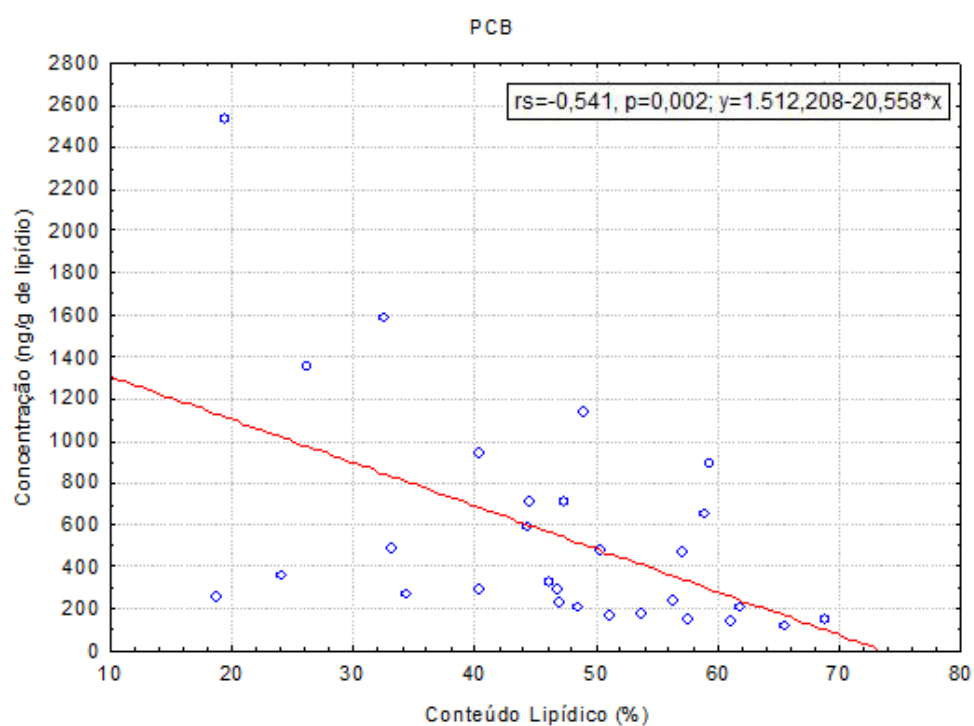
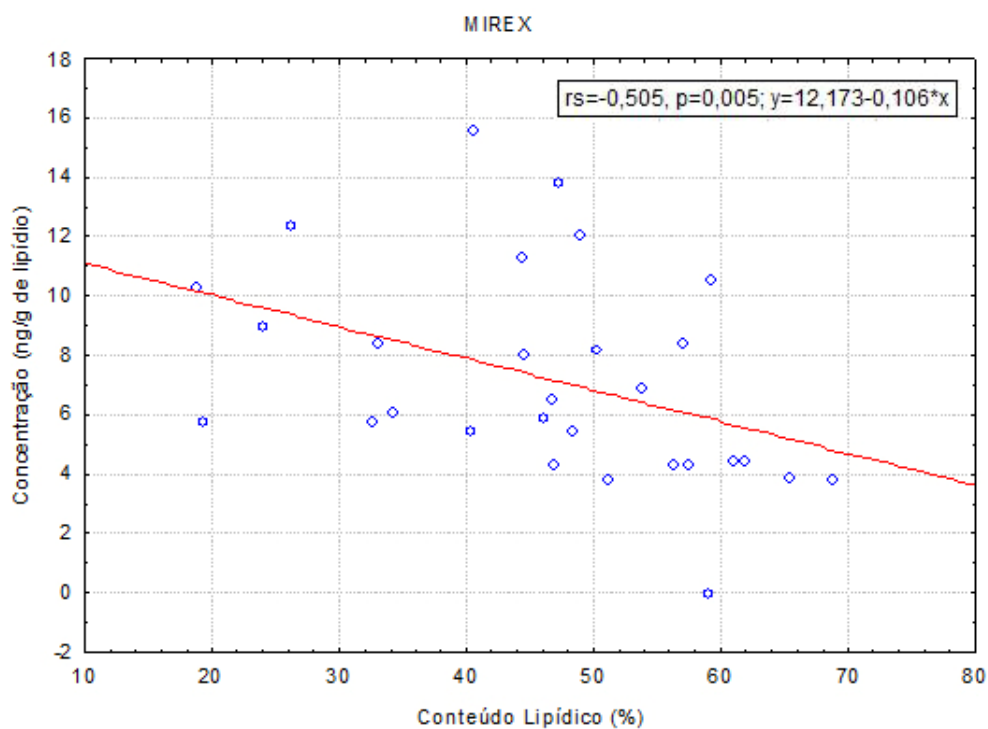
**Figura 7:** Contribuição relativa média (%) dos diferentes congêneres e isômeros para o  $\sum$ PCB no tecido hepático da raia-santa, *Rioraja agassizi* (n=29), do litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

Para verificar se os níveis de contaminação variavam, de maneira geral, com o tamanho ou o conteúdo lipídico da raia-santa, foram realizadas correlações de *Spearman* entre a concentração de cada grupo de poluentes e esses fatores. Para a largura do disco foi encontrada correlação significativa apenas com as concentrações de Mirex ( $r_s=0,411$ ;  $p=0,026$ ) (Fig. 8). Para os demais compostos (HCB,  $\Sigma$ HCH,  $\Sigma$ DDT e  $\Sigma$ PCB) foram encontrados valores de correlações positivos, mas sem resultados estatisticamente significativos ( $p>0,05$ ). Quando as concentrações de contaminantes foram comparadas aos valores de conteúdo lipídico (%), foram encontradas, para todos os compostos, tendências negativas. Porém, a correlação só foi estatisticamente significativa entre o conteúdo lipídico e as concentrações de Mirex ( $r_s=-0,505$ ;  $p=0,005$ ) e entre o conteúdo lipídico e as concentrações de  $\Sigma$ PCB ( $r_s=-0,541$ ;  $p=0,002$ ) (Fig. 9).



**Figura 8:** Variação da concentração de Mirex ( $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de lipídio) ao longo de diferentes valores de largura de disco (LD, cm) em tecido hepático da raia-santa, *Rioraja agassizi* ( $n=29$ ), do litoral sul do estado do Rio de Janeiro.



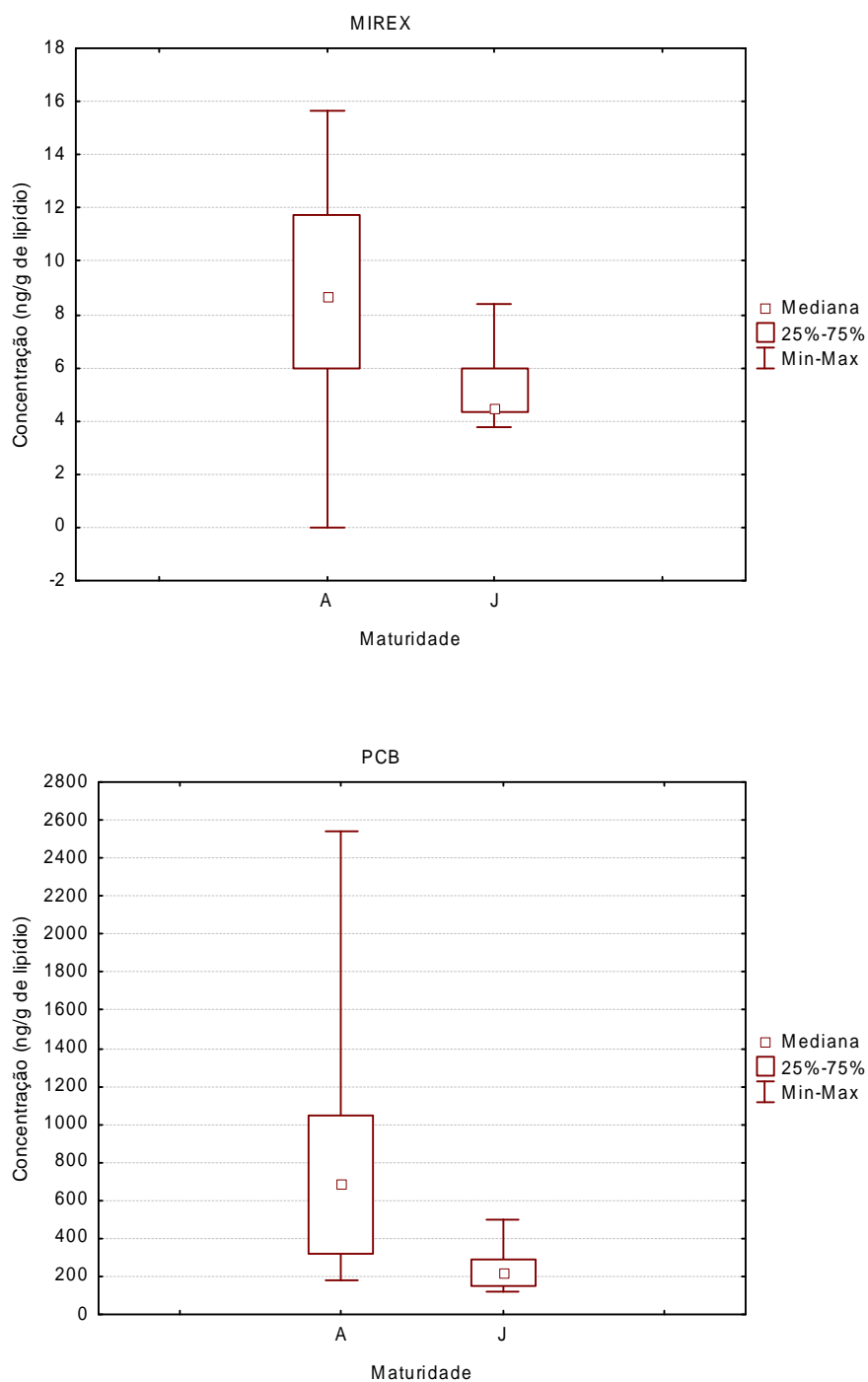


**Figura 9:** Variação da concentração de compostos organoclorados (Mirex e  $\Sigma$ PCB em  $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$  de lipídio) para diferentes valores de conteúdo lipídico (%) em tecido hepático da raia-santa, *Rioraja agassizi* (n=29), do litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

### 5.2.2. Variabilidade Intrapopulacional nos Níveis e Perfis de Contaminação

Existem alguns fatores capazes de influenciar os níveis de contaminação de organoclorados em indivíduos de uma mesma população. Já testamos na seção anterior a influência do tamanho e do conteúdo lipídico na concentração dos contaminantes. Além desses, outros fatores podem influenciar a bioacumulação dos organoclorados, formando agrupamentos dentro da mesma população, como a maturidade sexual (jovem/adulto), o gênero sexual (macho/fêmea) e o estágio reprodutivo, no caso das fêmeas adultas (grávidas/não grávidas). A fim de verificar a influência desses fatores nos níveis de contaminação dos poluentes, foi aplicado o teste *U de Mann-Whitney* entre os pares de cada fator biológico.

Comparando a contaminação entre adultos e jovens, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para os compostos organoclorados Mirex ( $U=38; p=0,003$ ) e o  $\sum$ PCB ( $U=28; p<0,001$ ). Em ambos os casos adultos apresentaram valores superiores aos encontrados para indivíduos jovens (Fig. 10).

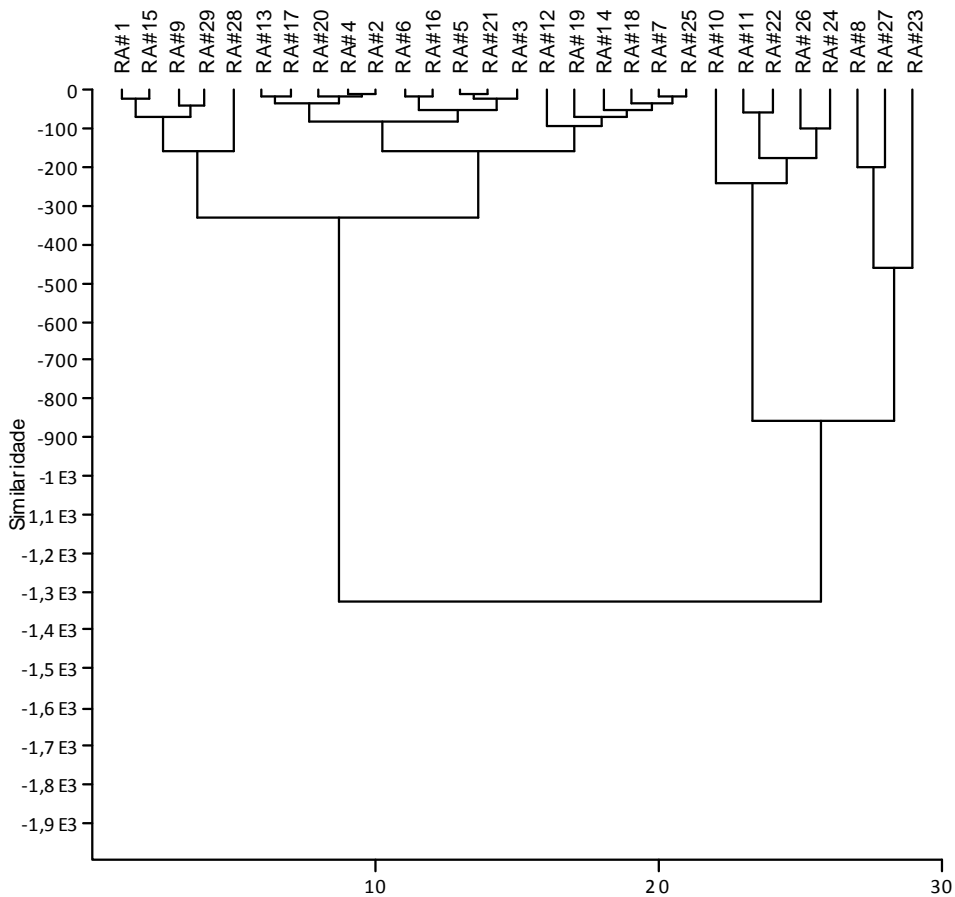


**Figura 10:** Variação da concentração dos compostos organoclorados Mirex e  $\Sigma$ PCB em tecido hepático de indivíduos adultos (A; n=16) e jovens (J; n=13) da raia-santa, *Rioraja agassizi*, do litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

Quando comparamos indivíduos machos e fêmeas de maneira geral, o teste *U de Mann-Whitney* não acusou diferença significativa para nenhum dos compostos organoclorados ( $p > 0,05$ ). O resultado se mantém o mesmo ao aplicar o teste separadamente, entre machos e fêmeas jovens ( $p > 0,05$ ) e entre machos e fêmeas adultas

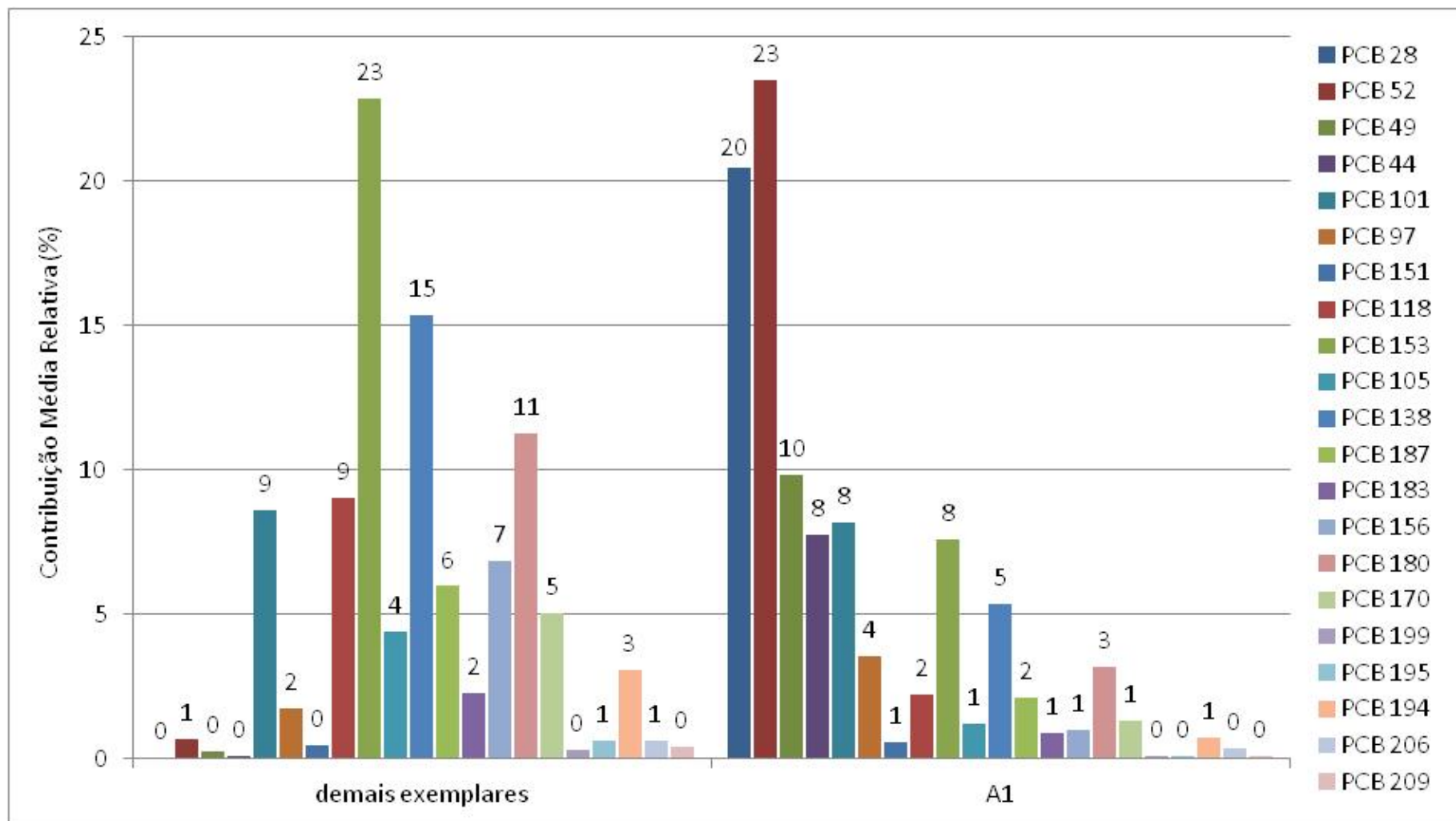
( $p > 0,05$ ). Entre as fêmeas adultas também não foram encontradas diferenças significativas na concentração de nenhum dos organoclorados quanto ao estágio reprodutivo, classificado como grávidas ou simplesmente adultas ( $p > 0,05$ ).

Além do sexo, maturidade e estágio reprodutivo, outros fatores menos evidentes podem influenciar os níveis e os padrões de contaminação e assim provocar tendências de agrupamento entre os indivíduos analisados. Com o objetivo de investigar essas tendências e verificar a possível existência de mais padrões de agrupamento, foi aplicada uma análise de agrupamento (análise de cluster, método de *Wards*) nos exemplares amostrados, utilizando as concentrações de cada poluente organoclorado, com exceção dos somatórios, em cada indivíduo (Fig. 11).

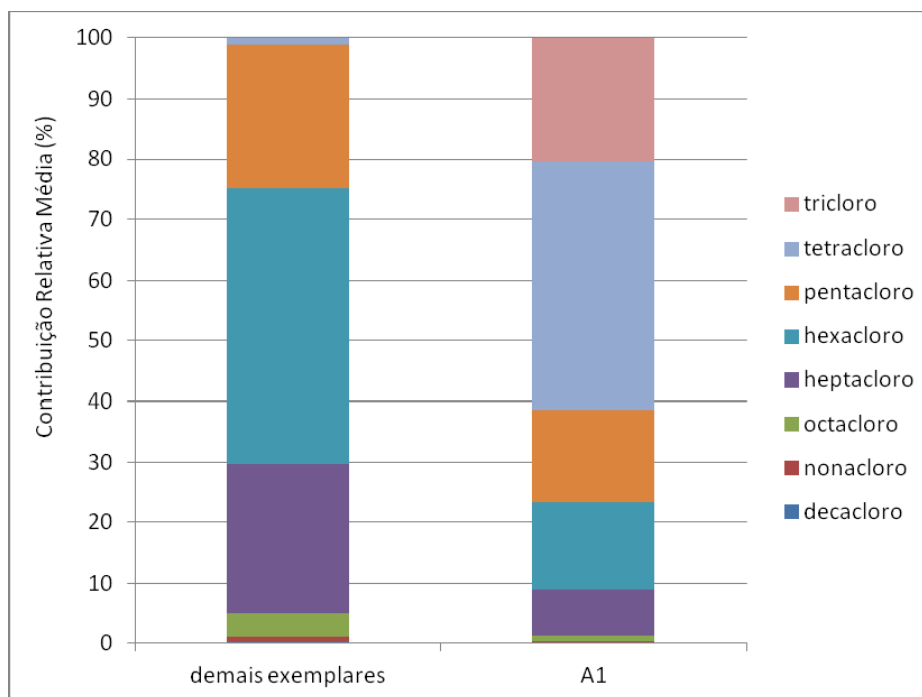


**Figura 11:** Análise de Cluster, método de *Wards*, utilizando as concentrações de cada poluente organoclorado, com exceção dos somatórios, encontrados para os indivíduos de raia-santa, *Rioraja agassizi* (n=29), do litoral sul do estado do Rio de Janeiro (coeficiente de correlação cofenético = 0,66).

A análise de agrupamento (coeficiente de correlação cofenético = 0,66) sugere a formação de dois grandes grupos: um composto pelos indivíduos RA#8, RA#10, RA#11, RA#22, RA#23, RA#24, RA#26 e RA#27, que chamaremos de grupo A1, e o outro formado pelos demais. O grupo A1 é formado somente por indivíduos adultos. Seu perfil de contaminação é diferente daquele encontrado para os demais, apresentando concentrações elevadas de poluentes leves, principalmente de bifenilas policloradas (Fig. 12; Fig. 13). A presença desses poluentes no grupo A1 deve ser a causa para a sua separação em relação aos demais indivíduos.



**Figura 12:** Contribuição relativa média (%) dos diferentes congêneres e isômeros para o  $\sum$ PCB no tecido hepático de indivíduos do grupo A1 (n=8) e demais exemplares (n=21) da raia-santa, *Rioraja agassizi*, do litoral sul do estado do Rio de Janeiro.



**Figura 13:** Contribuição relativa média (%) dos diferentes congêneres e isômeros, agrupados pelo número de cloros presentes na molécula, para o  $\Sigma$ PCB no tecido hepático de indivíduos do grupo A1 (n=8) e demais exemplares (n=21) da raia-santa, *Rioraja agassizi*, do litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

Para verificar se a diferença no perfil de contaminação do grupo A1 poderia estar associada a algum dos fatores biológicos analisados, comparamos o sexo, o tamanho, o conteúdo lipídico (%) e o fator de condição relativo (Kn) (teste *U de Mann-Whitney*) desses indivíduos com os demais adultos (grupo A2). A análise foi feita somente entre adultos, uma vez que se esperava encontrar uma maior homogeneidade, tanto de fatores bióticos quanto do padrão de contaminação, entre esses indivíduos. O Kn foi usado como uma maneira de verificar se todos os indivíduos se encontravam em condições de saúde semelhantes. Os dois agrupamentos, porém, foram formados tanto por machos quanto por fêmeas e não apresentaram diferença estatisticamente significativa quanto ao conteúdo lipídico ( $p > 0,05$ ). O teste *U de Mann-Whitney* também não revelou diferenças quanto ao Kn ( $p > 0,05$ ). Quanto à largura do disco essa diferença foi estatisticamente significativa (*Mann-Whitney*:  $U=11$ ,  $p=0,049$ ), mas esse resultado deve ser analisado com cautela, uma vez que o  $p$  obtido ficou bem próximo ao valor limítrofe de 0,05 e que as distribuições de tamanho são sobrepostas (Tab. 6). Também não foram encontradas diferenças em relação ao local e data de coleta dos dois agrupamentos.

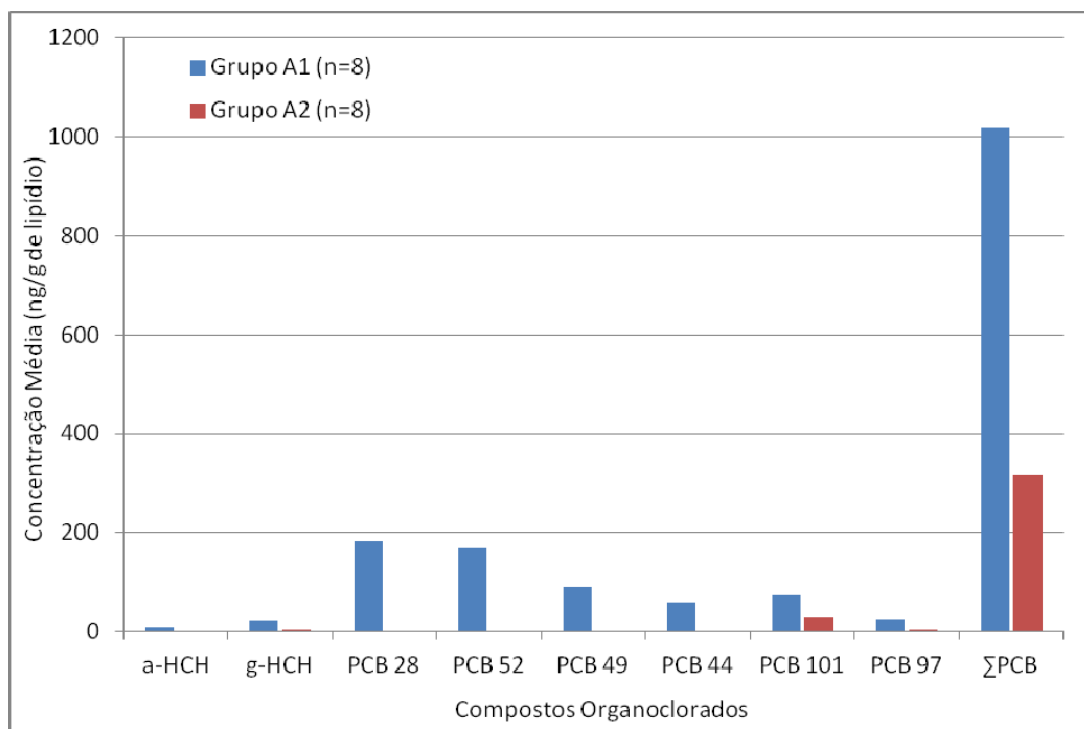
**Tabela 6:** Sexo (F = fêmea e M = macho), maturidade (A = adulto, G = grávida) e largura do disco (LD, cm), de indivíduos pertencentes ao grupo A1 (perfil de contaminantes apresentando elevada concentração de PCBs leves) e os demais exemplares adultos (grupo A2) de raia-santa, *Rioraja agassizi*, do litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

Grupo	Código	Sexo e Maturidade	Conteúdo Lipídico (%)	LD (cm)	Fator de Condição (Kn)
Grupo A1 (n = 8)	RA#8	F G	26,2	36,4	0,99
	RA#10	F A	47,2	38,6	1,07
	RA#11	F A	44,5	39,2	1,06
	RA#22	M A	58,9	26,4	1,09
	RA#23	M A	19,3	27,7	1,10
	RA#24	M A	48,9	28	0,99
	RA#26	M A	59,2	29,6	1,10
	RA#27	M A	32,5	30,5	0,91
<b>Média ± DP</b>			<b>41,3 ± 15,7</b>	<b>31,1 ± 4,8</b>	<b>1,04 ± 0,07</b>
<b>Mediana</b>			<b>44,5</b>	<b>29,6</b>	<b>1,06</b>
Grupo A2 (n = 8)	RA#7	F A	46,9	34,6	1,05
	RA#9	F A	56,9	36,5	0,90
	RA#12	F G	24	40,5	1,05
	RA#13	F A	53,7	40,7	1,04
	RA#14	F G	18,7	43,3	0,92
	RA#25	M A	34,2	28,5	1,02
	RA#28	M A	40,4	31,5	0,91
	RA#29	M A	44,4	32,2	1,02
<b>Média ± DP</b>			<b>39,9 ± 13,5</b>	<b>36 ± 5,2</b>	<b>0,99 ± 0,07</b>
<b>Mediana</b>			<b>42,4</b>	<b>35,5</b>	<b>1,02</b>

Quando comparamos os níveis de contaminação entre os grupos A1 e A2 (teste U de *Mann Whitney*), observamos que as diferenças estatisticamente significativas estão de fato relacionadas, principalmente, aos poluentes mais leves. As diferenças foram encontradas para:  $\alpha$ -HCH (U=0;  $p<0,001$ ),  $\gamma$ -HCH (U=4;  $p=0,003$ ), op'-DDE (U=11,5;  $p=0,031$ ), PCB 28 (U=0;  $p=0,000$ ), PCB 44 (U=0;  $p<0,001$ ), PCB 49 (U=0;  $p<0,001$ ), PCB 52 (U=0;  $p<0,001$ ), PCB 97 (U=12,5;  $p=0,040$ ), PCB 101 (U=1;  $p=0,001$ ) e  $\Sigma$ PCB (U=4;  $p=0,003$ ). Para todos esses compostos o grupo A1 teve valores mais altos do que o relatado para o grupo A2 (Fig. 14). Dentro de cada grupo não houve diferenças significativas na concentração de poluentes entre os machos e fêmeas ( $p>0,05$ ). Não foi



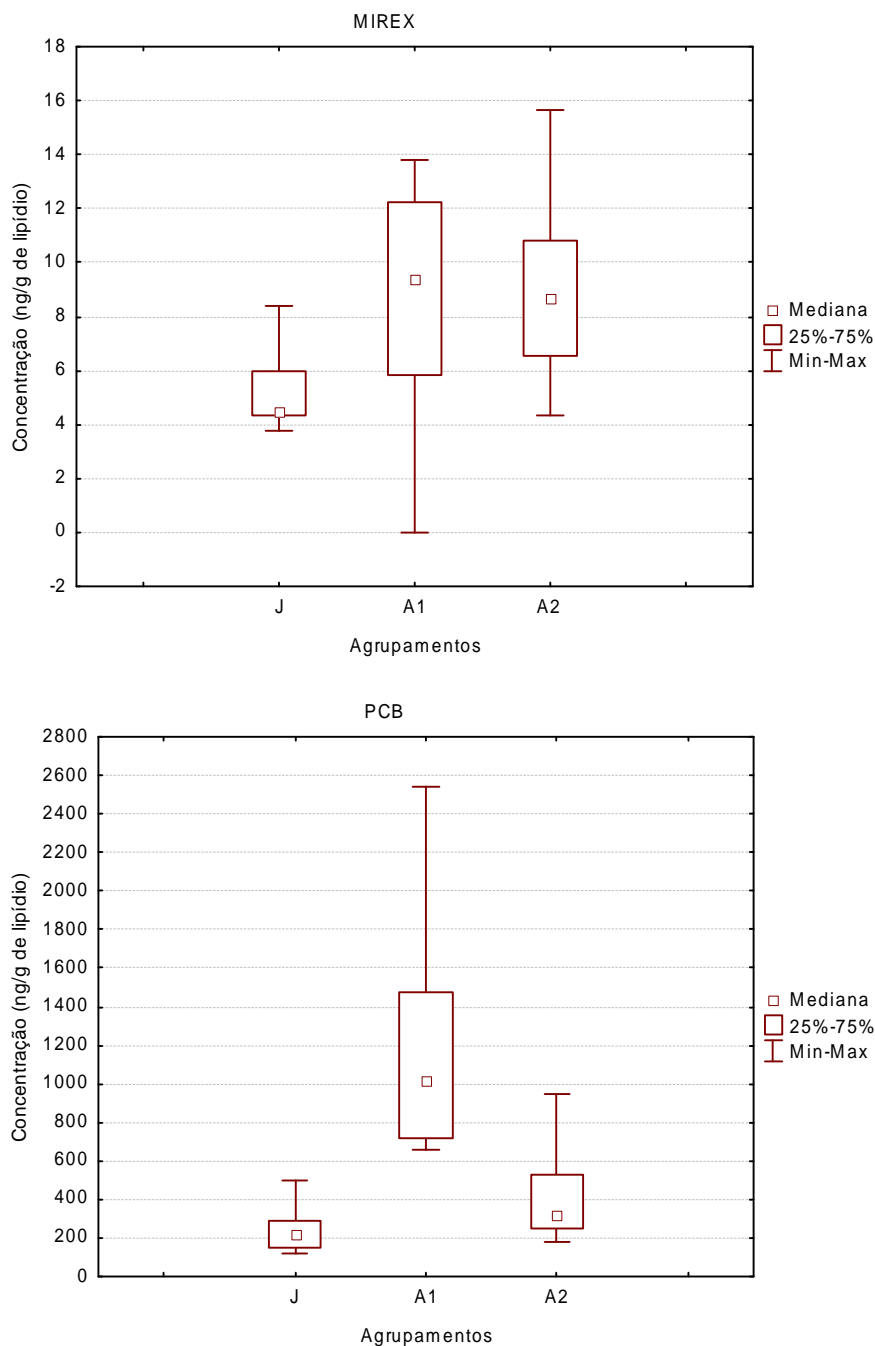
possível verificar a diferença entre fêmeas adultas grávidas e não grávidas dentro de cada grupo devido ao número baixo de fêmeas adultas em diferentes períodos reprodutivos.



**Figura 14:** Comparação entre as medianas das concentrações dos organoclorados que apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$  no teste *U de Mann-Whitney*) para indivíduos do grupo A1 (adultos com contribuição elevada de poluentes leves;  $n=8$ ) e grupo A2 (adultos com presença baixa contribuição de poluentes leves;  $n=8$ ) da raia-santa, *Rioraja agassizi*, do litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

Assim, vemos que a maturidade sexual é um fator de forte influência nos níveis de contaminação dos exemplares de raia-santa capturados neste estudo. Além disso, existe, entre os indivíduos adultos, uma separação quanto ao perfil de contaminação (presença ou não de poluentes leves). Dessa maneira, para testar de forma simultânea a diferença na contaminação entre todos os agrupamentos possíveis presentes na amostra de *R. agassizi*, foi aplicado o teste de *Kruskal-Wallis*. Os agrupamentos considerados foram então: Jovens (J), Adultos 1 (A1, com presença de poluentes leves) e Adultos 2 (A2, com presença rara ou ausência de poluentes leves). O sexo parece não ter influência na variação da concentração dos poluentes, por isso não foi incluído como fator de agrupamento nessa análise. O teste de *Kruskal-Wallis* acusou haver diferença entre os grupos no caso dos compostos organoclorados Mirex ( $H=8,4$ ,  $p=0,014$ ) e

$\Sigma$ PCB ( $H=17,1$ ,  $p<0,001$ ). No caso do Mirex o teste de pós-comparações revelou diferenças significativas entre A2 e J ( $p=0,033$ ) e no caso do  $\Sigma$ PCB as diferenças foram encontradas entre A1 e J ( $p<0,001$ ) e entre A1 e A2 ( $p=0,040$ ) (Fig. 15).



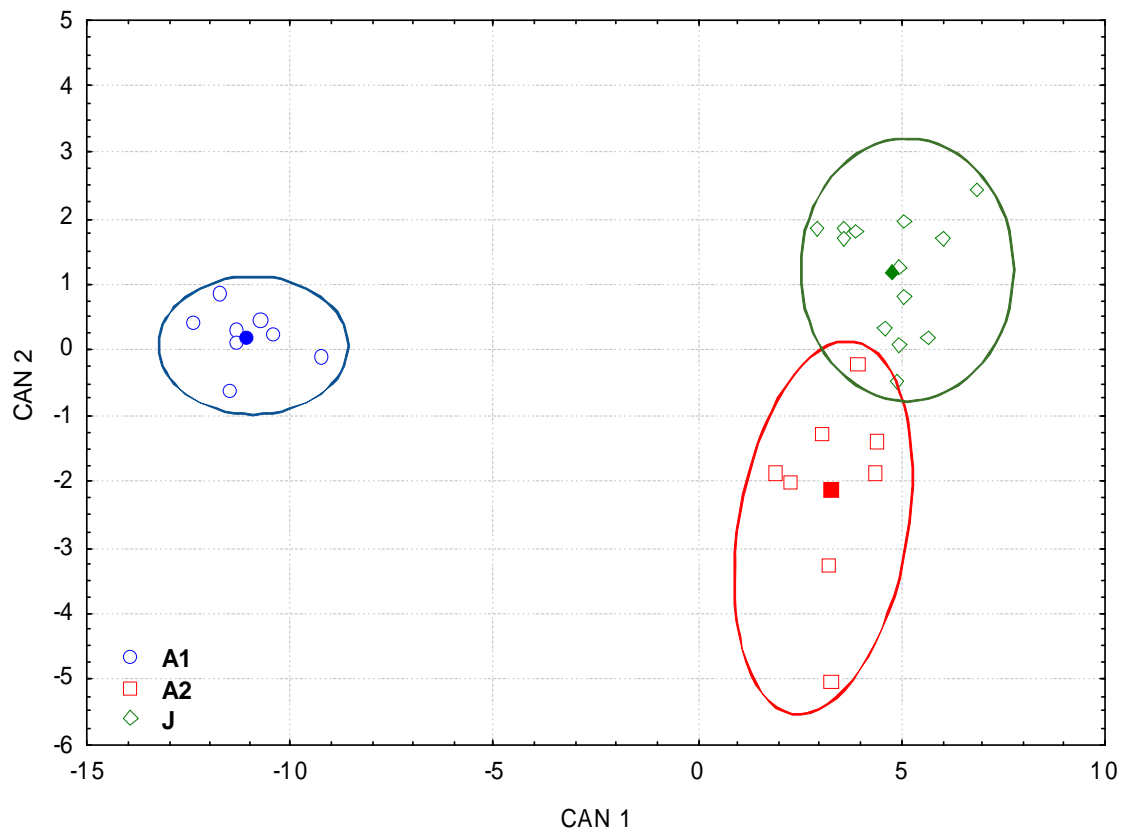
**Figura 15:** Variação da concentração dos compostos organoclorados Mirex e  $\Sigma$ PCB em tecido hepático dos diferentes agrupamentos dos indivíduos da raia-santa, *Rioraja agassizi*, do litoral sul do estado do Rio de Janeiro. Mostra resultado do teste de pós-comparações de *Nemenyi-Dunn*, aplicado após resultado significativo para o teste de *Kruskal-Wallis* ( $p<0,05$ ). J=jovens ( $n=13$ ), A1=adultos contribuição elevada de poluentes leves ( $n=8$ ), A2=adultos com baixa contribuição de poluentes leves ( $n=8$ ).

Uma vez que foi feita a separação em grupos, indicados tanto pelo teste *U de Mann Whitney* quanto pela análise de agrupamento, uma análise discriminante foi aplicada para verificar quais poluentes teriam maior influência na separação desses agrupamentos (J, A1 e A2). A função discriminante reforça o resultado das análises anteriores, indicando que a separação dos três grupos é estatisticamente significativa (Wilks Lambda= 0,006; F (24,3) = 14,88; p<0,001). Os dois eixos canônicos foram significativos (p<0,05), sendo o primeiro (CAN 1) o mais adequado para explicar o modelo (*eigenvalues*: CAN1 – 52,6; CAN 2 – 2,1). Do total de 29 compostos, entre o HCB, os isômeros e congêneres de PCB, os derivados do DDT e os isômeros do HCH, 12 deles entraram no modelo ( $\gamma$ -HCH, pp-DDT, Mirex, PCB 28, PCB 49, PCB 52, PCB 97, PCB 151, PCB 194, PCB 199, PCB 206 e PCB 209). Os compostos que mais forçaram a separação dos grupos no eixo 1 foram: positivamente – PCB 194 e negativamente – Mirex, pp-DDT,  $\gamma$ -HCH, PCB 28, PCB 49, PCB 52, PCB 151 e PCB 206. Já no eixo 2 foram: positivamente – pp-DDT,  $\gamma$ -HCH, PCB 28, PCB 49 e PCB 52; e negativamente – Mirex, PCB 151, PCB 194 e PCB 206.

A menor distância ( $D^2$  – *Mahalanobis*) foi encontrada entre os indivíduos jovens (J) e o agrupamento de indivíduos adultos com baixa contribuição de poluentes leves (A2), e a maior distância foi entre os jovens (J) e o agrupamento de indivíduos adultos com contribuição elevada de poluentes leves (A1) (Tab.7). Através da representação gráfica das duas primeiras variáveis canônicas (Fig.16) podemos notar os três agrupamentos em posições distintas.

**Tabela 7:** Valor de F, Distância de *Mahalanobis* ( $D^2$ ) e valor de *p* entre diferentes agrupamentos da raia-santa, *Rioraja agassizi*, do litoral sul do estado do Rio de Janeiro. Dados a partir da análise de discriminante. J=jovens (n=13); A1= adultos com contribuição elevada de poluentes leves (n=8); A2= adultos com baixa contribuição de poluentes leves (n=8).

Agrupamentos	Valor de F	Distância de <i>Mahalanobis</i> ( $D^2$ )	Valor de <i>p</i>
J X A2	3,1202	13,1049	0,0202
A1 X A2	40,9624	213,0046	0,0000
J X A1	60,1870	252,7854	0,0000



**Figura 16:** Representação gráfica das variáveis canônicas para os diferentes agrupamentos da raia-santa, *Rioraja agassizi*, do litoral sul do estado do Rio de Janeiro. J=jovens (n=13); A1= adultos com contribuição elevada de poluentes leves (n=8); A2= adultos com baixa contribuição de poluentes leves (n=8). As formas geométricas cheias representam as coordenadas centrais de cada grupo.

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1. Conteúdo Lipídico

Uma vez que os contaminantes analisados são lipofílicos, entender a variação do conteúdo lipídico nos diferentes estágios de vida da espécie estudada é essencial para a compreensão da dinâmica dos próprios contaminantes ao longo da vida do animal. De maneira geral, as principais fontes de energia para peixes são os lipídios e as proteínas, sendo que as proteínas costumam ser usadas para o crescimento do indivíduo enquanto que a metabolização da gordura, por ocorrer mais rapidamente, é o caminho mais utilizado em situações onde grandes quantidades de energia são requeridas em um curto espaço de tempo, como durante o período reprodutivo (Bittar *et al.*, 2012). Dietas ricas em lipídios contribuem pouco para o desenvolvimento do organismo, mas aumentam consideravelmente o estoque de gordura nos peixes (Wang *et al.*, 2005).

Em *Rioraja agassizi* observamos um aumento progressivo do conteúdo lipídico no fígado durante a fase juvenil, acompanhando o seu crescimento, e uma falta de relação entre tamanho do indivíduo e a reserva lipídica após a chegada da maturidade. Esse cenário pode indicar que indivíduos jovens da raia-santa invistam em uma alimentação mais rica em proteínas, utilizadas como matriz para seu crescimento, e que aos poucos incorporem itens alimentares com maior teor lipídico, iniciando a formação de uma reserva que será extremamente necessária durante a fase adulta. Ao atingir a maturidade, o consumo de presas com alto teor lipídico seria maior, de forma a suprir a demanda intensa e constante do processo reprodutivo. Presas como siris, camarões e teleósteos, consumidas nesse caso pelos adultos, costumam apresentar cargas mais elevadas de lipídios em relação aos pequenos crustáceos ingeridos pelos jovens (Spitz *et al.*, 2010). Uma diversidade maior de itens alimentares observada na fase adulta da raia-santa garantiria também uma dieta equilibrada, contendo fontes tanto de proteína quanto de lipídios (Muto *et al.*, 2001; Barbini & Lucifora, 2011; Viana, 2013).

A dinâmica entre a demanda energética nos diferentes estágios de vida e a razão entre proteínas e lipídios das presas consumidas pode ser bem interessante. Mesmo dentro de um único grupo alimentar, como teleósteos, a qualidade e a composição energética de cada espécie como alimento pode variar enormemente (Spitz *et al.*, 2010). Infelizmente o número de trabalhos que analisa a dieta a partir de uma abordagem energética e nutricional dos itens alimentares, quantificando seus teores de lipídios, proteínas e valores calóricos ainda é pequeno (Bittar *et al.*, 2012). Esse tipo de

ferramenta, aliado a uma análise detalhada do conteúdo estomacal, ajudaria ainda mais a compreensão da dinâmica de lipídios e contaminantes nos predadores.

A falta de correlação entre o tamanho do indivíduo e o conteúdo lipídico durante a fase adulta está diretamente ligada à dinâmica entre intensidade da alimentação, estoque de lipídios e gasto energético (Abdel-Aziz & El-Nady, 1993). Tanto machos quanto fêmeas intensificam a ingestão de presas antes do período reprodutivo, provocando um aumento no estoque de lipídios. Essa reserva é utilizada para atender ao gasto energético proporcionado pela cópula e pela gravidez, no caso das fêmeas, além de ser remobilizada para as gônadas e ovos (Elskus *et al.*, 2005). Durante esse período acontece uma diminuição no estoque de lipídios do fígado. Em seguida, machos e fêmeas voltam a aumentar a ingestão de alimento para formar uma nova reserva de energia (Abdel-Aziz & El-Nady, 1993). Devido a esse ciclo contínuo de perda e estocagem de lipídios no fígado, que não depende do tamanho do indivíduo adulto e sim da sua condição reprodutiva, não foi encontrada correlação entre largura do disco e conteúdo lipídico para indivíduos maduros.

Por outro lado, a partir do conteúdo lipídico conseguimos separar estatisticamente fêmeas grávidas e fêmeas adultas não grávidas. Fêmeas grávidas apresentam valores medianos de conteúdo lipídico bem menores do que os demais indivíduos. Isso acontece porque parte do seu estoque de gordura foi degradado para atender à demanda de energia necessária na fase reprodutiva e outra parte foi remobilizada para a produção de vitelogenina, a proteína precursora do vitelo (Abdel-Aziz & El-Nady, 1993; Ballantyne, 1997). Em elasmobrânquios ovíparos a produção do ovo e do seu conteúdo representa a maior parte do esforço reprodutivo (Mellinger & Wrissez, 1989; Oddone & Velasco, 2006). No caso da raia-santa, assim como na maioria das espécies de Rajidae, a demanda de energia pode ser ainda maior, se levarmos em conta que a cada ciclo são produzidos normalmente dois ovos, um em cada útero (Musick & Ellis, 2005).

Uma vez atingida a maturidade, indivíduos adultos de *R. agassizi* entram em ciclos sucessivos de reprodução. Como acontece com a maioria dos elasmobrânquios ovíparos, as espécies da família Rajidae se reproduzem ao longo de todo o ano (Estalles *et al.*, 2008). O intervalo entre a formação de um par de cápsulas ovígeras e a fabricação do seguinte é curto. Para *Raja eglanteria*, por exemplo, esse intervalo pode ser de um até 13 dias apenas (Luer & Gilbert, 1985). Essa dinâmica explicaria o fato de

encontrarmos fêmeas adultas não grávidas com um baixo conteúdo lipídico. A intensidade reprodutiva elevada em determinadas épocas do ano impediria que sua reserva de gordura fosse restabelecida por completo. A existência de um ciclo reprodutivo contínuo e sucessivo também explicaria o fato de encontrarmos adultos com valores médios de conteúdo lipídico inferior aqueles calculados para os jovens. Por mais que a intensidade e a qualidade de alimentação dos adultos permita a formação de uma maior reserva lipídica, o esforço reprodutivo elevado e contínuo, associado à alta taxa de remobilização de lipídios para outros tecidos, manteria esse estoque em níveis mais baixos.

## **6.2. Bioacumulação de Compostos Organoclorados em *Rioraja agassizi***

### **6.2.1. Perfil de Contaminação**

Analisando a concentração de cada composto organoclorado na contaminação total das raias coletadas para o presente estudo, vemos uma proporção muito maior de bifenilas policloradas em relação aos pesticidas organoclorados (DDTs, Mirex, HCB e HCHs), e dentre estes, uma contribuição muito superior do DDT e seus metabólitos. A mesma ordem na contribuição da contaminação total dos exemplares analisados (PCB > DDT > HCH > Mirex > HCB) foi encontrada em amostras de diferentes espécies de delphinídeos coletados no litoral do Rio de Janeiro (Vidal, 2010; Lailson-Brito *et al.*, 2010; Lailson-Brito *et al.*, 2012). Apesar de manter a mesma ordem de contribuição, as proporções dos poluentes encontradas para cada grupo não foram iguais, podendo esta diferença estar associada a variações entre os cetáceos e elasmobrânquios no que diz respeito à alimentação e à capacidade de metabolização dos diferentes grupos de contaminantes.

A baixa contribuição do HCH, Mirex e HCB nas amostras analisadas está relacionada ao menor uso desses pesticidas no Brasil e/ou a características físico-químicas do composto que os tornam menos biodisponíveis na área de estudo. Os isômeros de HCH apresentam alta pressão de vapor, comparada a de outros organoclorados, o que favoreceria sua volatilização em regiões tropicais, diminuindo assim sua entrada nesses ecossistemas (UNEP, 2002). Iwata e colaboradores (1993) de fato encontraram maiores concentrações de HCH na atmosfera em regiões de baixa latitude, em comparação aos locais de média e alta latitude. Já para a superfície do mar, esses autores encontraram o padrão inverso: maiores concentrações nas regiões de

média e alta latitude, em comparação às áreas de baixa latitude. Essa informação sugere um padrão de volatilização do HCH em latitude baixa, seguida de transporte atmosférico e deposição do composto no oceano nas regiões de temperatura mais baixa (alta e média latitude).

No caso do Mirex, apesar de este ser considerado um dos pesticidas mais estáveis e persistentes no ambiente, devido à sua cloração elevada, a concentração encontrada no presente estudo foi baixa. Existe pouca informação sobre o uso desse pesticida no Brasil, mas devido a sua especificidade no combate a formigas, acredita-se que esse inseticida tenha tido uma aplicação mais restrita no país (UNEP, 2002; Yogui, 2002). O uso limitado do Mirex teria então contribuído para os níveis baixos desse pesticida na raia-santa.

Apesar de ser usado como fungicida, o HCB também pode ser formado como subproduto de processos industriais. Assim, seria esperado encontrar uma carga mais elevada desse poluente na costa sul do estado do Rio de Janeiro, devido ao alto grau de industrialização dessa região. Porém, tanto o presente estudo quanto outros que analisaram a contaminação de cetáceos na mesma região (Vidal, 2010; Lailson-Brito, 2010), mostram concentrações muito baixas desse poluente, estando em alguns casos abaixo do limite de detecção. Esse padrão estaria relacionado à maior degradabilidade e menor persistência do HCB em relação ao DDT e PCBs, fazendo com que esse poluente não represente uma fonte de poluição severa em ambientes marinhos tropicais (Calamari *et al.*, 1991; Tanabe *et al.*, 1993).

Entre os pesticidas organoclorados analisados, o de maior contribuição foi o DDT. A análise dos metabólitos do DDT nos traz uma informação importante sobre a cronologia de entrada desse poluente no ambiente estudado. A formulação comercial do DDT não é pura, havendo um predomínio do pp'-DDT, que pode representar até 80% dos compostos presentes na solução (Aguilar, 1984). Após ser lançado no ambiente, o pp'-DDT se degrada para pp'-DDE e pp'-DDD, sendo que em organismos marinhos o DDT é metabolizado principalmente para DDE (Strandberg *et al.*, 1998). Assim, e somando-se o fato do DDE ser um composto de difícil excreção, é esperado que a relação do DDE com o  $\Sigma$ DDT no organismo aumente ao longo do tempo. Esse cenário só seria diferente caso houvesse uma entrada recente da mistura comercial de DDT no ambiente, aumentando a contribuição de pp'-DDT no organismo e diminuindo a razão DDE/ $\Sigma$ DDT (Aguilar, 1984). Nos Estados Unidos a proibição no uso do DDT



aconteceu em 1972 (ATSDR, 2002b). Baseando-se no pressuposto de que após essa data não houve mais entradas significativas de DDT nos ecossistemas marinhos do Atlântico norte, Aguilar (1984) selecionou diversos artigos científicos sobre a contaminação de mamíferos marinhos por DDT nessa região, datando de 1964 até o início da década de 1980. O autor calculou então as razões DDE/ $\Sigma$ DDT de cada publicação e montou uma curva de regressão entre esses valores e os anos, chegando à conclusão de que a assíntota seria alcançada quando a curva atingisse o valor de 0,6, o que corresponderia ao início da década de 2000. Esse valor passou então a ser usado como número de corte, de maneira que razões superiores a 0,6 significariam uma entrada antiga de DDT no ambiente, em comparação às últimas entradas registradas para o Atlântico norte.

O valor da razão DDE/ $\Sigma$ DDT calculado por Aguilar (1984) tornou-se um referencial. Mas, além disso, podemos ainda comparar os valores encontrados com aqueles relatados por outros autores. No caso do presente estudo, encontramos o valor de 0,4, que em comparação com o valor de Aguilar (1984) representa uma entrada recente de DDT na área de estudo. Outros locais que também apresentaram valores abaixo de 0,6 para a razão DDE/ $\Sigma$ DDT foram a Baía de Bengal na Índia, com 0,21 e 0,32 para o tubarão *Carcharhinus sp.* e a raia *Dasyatis sp.*, respectivamente, e a costa oeste da África do Sul, com o valor de 0,53 para juvenis do tubarão-branco (*Carcharodon carcharias*) (Rajendran, 1992; Schlenk, 2005). Os valores baixos representam bem o banimento tardio do uso de DDT para combate a doenças tropicais na Índia, no Brasil e na África (UNEP, 2010). Quando comparamos esses valores com aqueles encontrados para locais onde esse pesticida não é usado há muitas décadas, como a costa da Flórida, nos Estados Unidos (0,87-0,91), ou o Mar Mediterrâneo (0,85-0,93), essa diferença fica mais nítida (Gelsleichter *et al.*, 2008; Storelli *et al.*, 2011b). Esse dado mostra que, apesar do banimento do DDT na maior parte do mundo, ainda existem entradas recentes do composto em ambiente marinho.

Algumas misturas químicas ainda contêm o DDT como subproduto ou impureza em suas fórmulas. Esse é o caso do pesticida Dicofol, fabricado a partir do DDT e que apresenta concentrações elevadas desse contaminante como impureza em sua formulação técnica (Qiu *et al.*, 2005). O DDT também pode ser encontrado como aditivo em tintas anti-incrustantes em determinados países (Guo *et al.*, 2009). Na China, país asiático que também apresenta indícios de uso recente do DDT, essas são

consideradas as principais fontes ativas desse organoclorado (Qiu *et al.*, 2005; Guo *et al.*, 2009; Qiu & Zhu, 2010). No Brasil, o uso do Dicofol é controlado desde 1985 (Brasil, 1985) e a partir de 2009, foi decretado no país a eliminação de todos os produtos contendo DDT (Brasil, 2009). Nesse caso, entende-se que a proibição se estenderia tanto ao Dicofol quanto à produção de tintas anti-incrustantes contendo o DDT. Porém, isso não impede que embarcações estrangeiras tratadas com essa substância naveguem em águas nacionais, nem que sejam arrendadas para compor a frota brasileira. Dessa maneira, observamos que fontes indiretas de DDT ainda contribuem para a entrada contínua desse contaminante no ambiente. Esse movimento, aliado à elevada persistência ambiental do DDE, provocará a circulação dessa substância ainda por muitas décadas no oceano, chegando mesmo àqueles locais em que o controle desse pesticida é mais rígido.

Já a razão  $\Sigma\text{DDT}/\Sigma\text{PCB}$  tem sido utilizada para se caracterizar a fonte de contaminação de maior importância na região estudada, podendo esta ser agrícola/controle de vetores de doenças, representada pelo  $\Sigma\text{DDT}$ , ou industrial, associada à concentração de  $\Sigma\text{PCB}$  (Aguilar *et al.*, 1999). Neste estudo a razão foi extremamente baixa (0,08), mostrando que a concentração de  $\Sigma\text{PCB}$  foi muito superior à concentração dos pesticidas. A predominância dos contaminantes de origem industrial ao longo de toda a costa do estado do Rio de Janeiro também foi relatada em uma série de trabalhos que analisaram a concentração de organoclorados em cetáceos e elasmobrânquios ao longo da costa fluminense (Vidal, 2010; Lailson-Brito *et al.*, 2010; Lailson-Brito *et al.*, 2012; Rosenfelder *et al.*, 2012). Esses dados refletem a intensa ocupação urbana de toda a costa do estado, que abriga inúmeras plantas industriais, fontes de uma série de rejeitos químicos incluindo as bifenilas policloradas. Uma fonte importante de PCBs são as companhias elétricas, que utilizam Ascarel em seus transformadores e hoje estocam esse passivo ambiental até que ele seja descartado de maneira segura, estando sujeitas a vazamentos e acidentes (Penteado & Vaz, 2001). Essa informação mostra que grandes aglomerações urbanas, mesmo aquelas que apresentam menor grau de industrialização, já podem representar *hot spots* da contaminação por PCBs. Outras localidades intensamente industrializadas, como a costa leste dos Estados Unidos e o Mar Mediterrâneo, também apresentam predominância de PCBs no perfil de contaminação em elasmobrânquios (Gelsleichter, 2008; Storelli *et al.*, 2011b). Porém, em países como a China observamos uma relação alta de  $\Sigma\text{DDT}/\Sigma\text{PCB}$

em uma espécie de golfinho costeiro (6,3), indicando a importância das fontes agrícolas (e/ou controle de vetores) na carga de contaminação na região (Borrel & Aguilar, 2007).

No caso específico dos PCBs, verificamos a existência de um perfil de bifenilas policloradas composto pelos seguintes congêneres: PCB 52 > PCB 153 > PCB 28 > PCB 138 > PCB 101 > PCB 180. O Comitê Internacional para a Exploração do Mar (*International Committee for the Exploration of the Sea*) recomenda a quantificação dos congêneres 28, 52, 101, 118, 138, 153 e 180, por serem relativamente abundantes em peixes e representarem PCBs de diferentes clorações presentes nas misturas comerciais (Storelli *et al.*, 2003d; Azevedo e Silva, 2007; Solé *et al.*, 2013). Destes, apenas o PCB 118 foi encontrado em menores proporções nas raias do presente estudo. A forte contribuição dos PCBs 138, 153 e 180 na contaminação de organismos marinhos tem sido relatada para diferentes grupos marinhos de localidades distintas (Storelli *et al.*, 2003d; Stefanelli *et al.*, 2004; Noël *et al.*, 2009; Lailson-Brito *et al.*, 2010). A concentração elevada desses congêneres em espécies marinhas está relacionada a uma associação de dois fatores: a predominância desses compostos nas misturas comerciais e a sua elevada resistência à degradação, e conseqüentemente, alta persistência na natureza (Aguilar, 1987; Borrel *et al.*, 2006). Assim, essas três bifenilas policloradas são frequentemente encontradas como as mais abundantes na maioria dos organismos marinhos.

Para a região mais costeira à área de estudo (baías de Sepetiba e Ilha Grande), Lailson-Brito e colaboradores (2010) e Vidal (2010) encontraram um perfil de PCBs em que os congêneres dominantes foram os PCBs 153 > 138 > 180, para o tecido adiposo de botos-cinza. É possível que a maior contribuição de PCBs leves no presente estudo esteja associada ao padrão de dispersão individual desses poluentes entre costa e oceano. Por serem mais leves e voláteis, os PCBs menos clorados são transportados pela atmosfera por uma distância maior, sendo encontrados em maior proporção longe da fonte poluidora (Wania & Mackay, 1996). Uma vez que as coletas do presente estudo foram realizadas em uma região mais distante da costa (isóbatas de 30 e 60 metros), é possível que esse padrão de dispersão dos contaminantes justifique a maior contribuição dos PCBs leves em *R. agassizi* em comparação aos botos-cinza, que são residentes dessas baías costeiras. Outros fatores também podem provocar essa diferença. Segundo alguns autores, locais muito eutrofizados apresentariam uma maior disponibilidade relativa de contaminantes menos hidrofóbicos (contaminantes leves) na coluna d'água.

Isso aconteceria porque os compostos mais hidrofóbicos apresentam maior afinidade com o material particulado, se associando a ele e decantando, ficando biodisponíveis na coluna d'água por um tempo mais curto (Dachs *et al.*, 1996; Jonker & Koelmans, 2002). Esse padrão foi demonstrado para cetáceos da baía de Guanabara (Lailson-Brito *et al.*, 2010). Os autores analisaram amostras de boto-cinza (*Sotalia guianensis*) residentes nos três principais estuários do Rio de Janeiro (baías de Guanabara, de Ilha Grande e de Sepetiba) e encontraram maior contribuição de PCBs menos hidrofóbicos (di-, tri- e tetra clorobifenilas) na população de botos da baía de Guanabara (Lailson-Brito *et al.*, 2010). No caso da raia-santa, parte da população poderia estar se alimentando em uma área de influência da própria Baía de Guanabara, ou de uma região com dinâmica semelhante. Mas por se tratar de uma espécie demersal, é possível que esse padrão diferenciado da coluna d'água tenha influência mais restrita nas raias do que nos cetáceos.

Ao investigar se a concentração dos diferentes grupos de organoclorados variava de acordo com o crescimento em tamanho dos indivíduos da raia-santa ou com seus valores de conteúdo lipídico, obtivemos resultado estatisticamente significativo e positivo apenas para o Mirex, no caso da primeira correlação, e significativo e negativo para o Mirex e o  $\Sigma$ PCB no caso da segunda. A variação da concentração de poluentes lipofílicos costuma estar muito mais relacionada ao conteúdo lipídico do que ao tamanho do indivíduo (Landrum & Fisher, 1999; Elskus *et al.*, 2005). Outros trabalhos realizados com elasmobrânquios também não encontraram correlação entre o tamanho do indivíduo e a concentração de organoclorados (Miskiewicz & Gibbs, 1994; Fisk *et al.*, 2002; Gelsleichter *et al.*, 2005; Strid *et al.*, 2007).

Segundo alguns autores, a remobilização dos lipídios para outros tecidos promoveria um aumento na concentração de xenobióticos no fígado, uma vez que os poluentes e lipídios seriam remobilizados a taxas distintas, provocando uma correlação negativa entre as duas variáveis (Aguilar, 1987; Aguilar *et al.*, 1999). Esse aumento na concentração de contaminantes em relação à gordura só não seria mais acentuado porque uma maior disponibilidade de POPs no fígado provocaria também um aumento da capacidade desse tecido em metabolizar e excretar esses elementos (Aguilar, 1987). Porém, essa tendência varia, podendo também ser positiva. Esse padrão pode ser observado em situações de aumento na ingestão de lipídios, quando ocorre também aumento na concentração de contaminantes, e quando o organismo apresenta

capacidade de metabolização muito distinta para cada categoria de contaminante (Jørgensen *et al.*, 1997; Polischuk *et al.*, 2002). Um exemplo desse último caso é o estudo de Polischuk e colaboradores (2002), que analisaram ursos polares durante o período de jejum. Para várias categorias de organoclorados foi demonstrada uma tendência negativa entre conteúdo lipídico e concentração de contaminantes, mas para o DDT essa tendência foi positiva. Os autores alegam que esses organismos apresentam grande capacidade de metabolizar o DDT, em relação aos demais xenobióticos. A tendência negativa entre lipídios e contaminantes parece estar mais associada a eventos de remobilização acelerada de lipídios, como no caso da reprodução (Polischuk *et al.*, 2002; Lailson-Brito, 2007). A raia-santa também segue esse padrão, mas o aumento da carga de poluentes ocorrendo em reflexo ao aumento da ingestão de lipídios também deve acontecer, o que explicaria os valores baixos do coeficiente de correlação. A falta de correlação com os demais grupos de organoclorados pode indicar uma maior capacidade das raias para a metabolização desses poluentes.

#### 6.2.2. Variabilidade Intrapopulacional nos Níveis e Perfis de Contaminação

Um dos principais padrões de variabilidade intrapopulacional observados esteve relacionado com a maturidade (jovem/adulto) dos indivíduos. Para todos os compostos analisados, a concentração encontrada em adultos foi maior do que em jovens, apesar dessa diferença só ter sido estatisticamente significativa para dois grupos de organoclorados (Mirex e  $\Sigma$ PCB). Além de estarem sujeitos ao processo de bioacumulação dos contaminantes a mais tempo do que os indivíduos jovens, o que proporciona um aumento na carga de xenobióticos em seus organismos, adultos apresentam hábito alimentar diferenciado. Ao longo de toda a sua área de ocorrência é relatada a variação ontogenética da dieta da raia-santa, havendo uma contribuição maior de presas de nível trófico superior na dieta de adultos (Muto *et al.*, 2001; Barbini & Lucifora, 2011; Viana, 2013). O consumo de organismos de nível trófico mais elevado sujeita os indivíduos adultos a uma concentração maior de contaminantes, devido ao processo de biomagnificação (Gobas *et al.*, 1999).

Apesar dos valores medianos superiores, adultos de *R. agassizi* apresentam um grande desvio padrão para as concentrações de organoclorados, o que pode estar relacionado à dinâmica de lipídios durante o período reprodutivo. Mesmo a uma taxa diferente da matriz adiposa, parte da carga de organoclorados também é transferida do

figado para outros tecidos, principalmente no caso das fêmeas, que utilizam grande parte da sua reserva lipídica para a produção de vitelogenina, a proteína precursora do vitelo (Polischuk *et al.*, 2002; Ballantyne, 1997). Nesse caso, ainda seria esperado encontrar uma diferença relevante entre as concentrações de contaminantes em machos e fêmeas adultos. No entanto, o que encontramos foi uma mediana de poluentes menor em fêmeas, mas não estatisticamente significativa. Viana (2013) identificou uma variação entre a alimentação de machos e fêmeas adultos da raia-santa na área de estudo, apontando que fêmeas apresentavam uma contribuição muito superior de teleósteos em sua alimentação em relação aos machos. Essa variação é atribuída não diretamente ao gênero, mas sim à diferença de tamanho. Por possuírem porte maior, fêmeas de *R. agassizi* teriam mais facilidade na captura de teleósteos. Esse tipo de presa, por ocupar nível trófico superior, contribuiria com uma carga maior de contaminantes para seu predador (Gobas *et al.*, 1999). Essa entrada de poluentes em níveis mais elevados atenuaria a diferença em relação às concentrações encontradas nos machos, mesmo havendo para fêmeas adultas uma remobilização mais intensa de poluentes no período reprodutivo.

Uma diferença no perfil de contaminantes, principalmente relacionado aos congêneres e isômeros de bifenilas policloradas, também foi observada. Um grupo formado apenas por indivíduos adultos (A1) apresentou uma contribuição expressiva de PCBs menos hidrofóbicos (tri e tetra-bifenil). Para os demais adultos e jovens o perfil de bifenilas foi semelhante, sendo os PCBs 153, 138 e 180 os congêneres com maior concentração relativa. A importância das bifenilas policloradas menos hidrofóbicas (PCBs 28, 52 e 49) na separação dos dois perfis de contaminação é observada claramente a partir do resultado da análise discriminante.

A diferença no perfil de contaminação poderia estar associada basicamente a quatro fatores: sazonalidade, local de coleta, capacidade diferenciada para a metabolização e excreção dos poluentes ou exposição a fontes distintas de contaminação (Aguilar, 1987). Uma vez que não existe um padrão relacionado à época do ano ou ao local de coleta entre os indivíduos que apresentaram perfis distintos, os dois primeiros fatores não parecem ter tido influência nos resultados. Variações na capacidade de metabolização dos poluentes costumam ser espécie-específicas, mas em alguns casos elas podem ocorrer dentro da mesma população, como em situações de saúde muito fragilizada, com o crescimento do indivíduo ou como consequência de

atividade reprodutiva (Aguilar, 1987). O crescimento estaria associado a um aumento da capacidade de metabolização nos adultos, devido ao desenvolvimento de uma série de sistemas fisiológicos utilizados para isso. Porém, a maior presença de poluentes leves foi observada justamente entre indivíduos maduros, sendo esse padrão incompatível com a hipótese do crescimento. Os grupos que apresentaram diferença no perfil de contaminação também não tiveram diferença em relação ao fator de condição ou conteúdo lipídico, o que poderia indicar problemas de saúde, e não houve tendência de agregação de um sexo ou período reprodutivo específico. Dessa maneira a diferença entre os grupos parece estar associada a fontes distintas de contaminação. Isso indicaria a formação de diferentes grupos de forrageamento, dentro da mesma população, que estariam explorando áreas com perfis de contaminação distintos. De fato a formação de agregações ou grupos sociais em populações de elasmobrânquios é frequentemente documentada, apesar das causas para a ocorrência desses padrões serem pouco conhecidas (Jacoby *et al.*, 2012). Para raias, o número de trabalhos que relatam a formação de agregações é bem menor, mas já foi documentada para algumas espécies, sendo inclusive relatada a formação de grupos de cinco até 50 indivíduos para a raia *Aetobatus narinari*, conhecida no Brasil por diferentes nomes populares como raia-pintada, narinari e raia-leopardo (Silliman & Gruber, 1999; Semeniuk & Dill, 2006; Dewar *et al.*, 2008; Semeniuk & Rothley, 2008). Tanto para raias quanto para tubarões, os grupos podem ser compostos por um sexo apenas ou serem grupos mistos, que seria o caso do presente estudo. Em jovens a formação parece estar relacionada com a vantagem que os cardumes representam em relação à ameaça de predadores, mas entre adultos essa formação pode ocorrer pelos motivos mais diversos, desde a exploração de presas e o acasalamento até devido a interações sociais bem mais complexas, mas ainda pouco estudadas para as espécies de elasmobrânquios (Jacoby *et al.*, 2012). Independentemente do motivo, o fato é que o perfil de contaminantes organoclorados em *R. agassizi* indica a existência de dois agrupamentos entre os exemplares adultos, que podem estar se alimentando em locais separados.

Como mencionado anteriormente, PCBs mais leves são transportados pela atmosfera por uma distância maior em relação à fonte poluidora, o que pode provocar maior proporção desses contaminantes em áreas mais oceânicas (Wania & Mackay, 1996). Como a distribuição da raia-santa se dá ao longo de toda a plataforma continental, grupos distintos de adultos podem explorar áreas de diferentes

profundidades. Nesse caso, o grupo A1 estaria forrageando em regiões mais afastadas da costa. Além dessa, ainda existe a possibilidade de uma influência de presas provenientes de uma zona mais eutrofizada, como a baía de Guanabara, na alimentação desse grupo de adultos. O fato de termos capturados todos os indivíduos em uma mesma isóbata pode estar relacionado ao deslocamento dos indivíduos maduros para desova. Segundo Ponz Louro (1995), a desova de *R. agassizi* ocorreria até os 50 metros de profundidade, servindo também como área de berçário e crescimento. A permanência de um dos grupos de adultos (A2) em águas menos profundas explicaria a semelhança desse grupo com os juvenis, que também teriam como preferência águas mais rasas. A falta de pesquisas relacionadas ao tamanho da área de vida e ao comportamento social da raia-santa, ou de espécies semelhantes, dificulta a análise mais detalhada dessas hipóteses.

A existência de dois perfis de contaminação também interfere na carga total de xenobióticos. Os adultos com presença de poluentes leves tiveram concentração de  $\Sigma$ PCB bem superior aos demais indivíduos maduros. De maneira geral, adultos permanecem com uma concentração maior de contaminantes em relação aos jovens, mas o grupo de adultos com baixa contribuição de poluentes leves passa a ter uma carga total de contaminação mais parecida com aquela encontrada para os juvenis, mostrando que talvez a grande diferença observada anteriormente entre jovens e adultos esteja associada à incorporação de PCBs leves no perfil de organoclorados de parte dos indivíduos maduros.

### 6.2.3. Status de Contaminação

Comparar a contaminação encontrada em diferentes estudos requer alguns cuidados. Em primeiro lugar, tecidos diferentes apresentam características bem particulares, como o tipo de lipídio estocado, que influenciarão diretamente o acúmulo e o perfil dos poluentes (Ballantyne, 1997). Dessa maneira, se o objetivo é comparar a diferença de contaminação entre duas localidades, é recomendado analisar apenas os resultados obtidos para um mesmo tecido. Além disso, grupos distintos de animais marinhos apresentam variações na capacidade de metabolização dos contaminantes, e níveis tróficos distintos estão expostos a cargas diferentes de xenobióticos (Ballantyne, 1997; Jones & Voogt, 1999). Assim, os resultados selecionados para comparação nessa seção, serão referentes somente às concentrações em tecido hepático e os hábitos



alimentares das espécies serão mencionados como forma de indicar relativamente sua posição trófica. Alguns trabalhos apresentaram seus resultados baseados somente na concentração por peso úmido dos compostos. Nesses casos, compararemos com nossos valores calculados a partir do peso úmido.

Os resultados encontrados no presente estudo (médias:  $\sum\text{PCB} = 560,5 \text{ ng.g}^{-1} \text{ lip.}$  ou  $104,5 \text{ ng.g}$  de p.u. e  $\sum\text{DDT} = 44,9 \text{ ng.g}^{-1} \text{ lip.}$  ou  $8,7 \text{ ng.g}$  de p.u.) são comparáveis, e até superiores, às concentrações encontradas para alguns elasmobrânquios capturados no Mar Mediterrâneo, um corpo d'água semi-fechado e extremamente impactado (Storelli *et al.*, 2005). As médias de  $\sum\text{PCB}$  e  $\sum\text{DDT}$  encontradas em tecido hepático da raia-elétrica *Torpedo marmorata* ( $434$  e  $78 \text{ ng.g}^{-1} \text{ lip.}$ ) e do tubarão-azul *Prionace glauca* ( $679 \text{ ng.g}^{-1} \text{ lip.}$  para  $\sum\text{PCB}$ ) são próximas àquelas encontradas no presente estudo (Storelli *et al.*, 2011a,b). No caso do tubarão-azul é preciso ressaltar que os exemplares utilizados eram juvenis, e que portanto é possível que na fase adulta essa espécie possa alcançar cargas de contaminação mais elevadas. Em comparação à quimera *Chimaera monstrosa* ( $387 \text{ ng.g}^{-1} \text{ lip.}$  para  $\sum\text{PCB}$ ), nossos resultados apontam maior contaminação na raia-santa (Storelli *et al.*, 2004). Já para o tubarão pata-rocha, *Scyliorhinus canicula*, o valor médio de  $\sum\text{PCB}$  no fígado é superior ( $1.292 \text{ ng.g}^{-1} \text{ lip.}$ ), mas o maior valor entre suas amostras ( $2.351 \text{ ng.g}^{-1} \text{ lip.}$ ) é semelhante ao máximo encontrado para a raia-santa ( $2531,3 \text{ ng.g}^{-1} \text{ lip.}$ ) (Storelli *et al.*, 2006). Todas essas espécies apresentam uma dieta similar a de *R. agassizi*, baseada em crustáceos e teleósteos. Porém, outras espécies capturadas também no Mar Mediterrâneo e com o mesmo hábito alimentar, tiveram concentrações hepáticas médias de  $\sum\text{PCB}$  e de  $\sum\text{DDT}$  muito superiores às relatadas no presente estudo. Esse foi o caso do tubarão gata-licha (*Dalatias licha*) ( $1.827$  e  $4.554 \text{ ng.g}^{-1} \text{ lip.}$ ), de três espécies de raia do gênero *Raja*, analisadas conjuntamente ( $889 \text{ ng.g}^{-1}$  de lip. para  $\sum\text{PCB}$ ) e dos tubarões barroso (*Centrophorus granulosus*) ( $1.741 \text{ ng.g}^{-1}$  de p.u. para  $\sum\text{PCB}$ ) e galhudo (*Squalus blainville*) ( $958 \text{ ng.g}^{-1}$  de p.u. para  $\sum\text{PCB}$ ) (Storelli *et al.*, 2001; Storelli *et al.*, 2004; Storelli *et al.*, 2005). Apesar de ser considerado um corpo d'água impactado de maneira geral, o Mar Mediterrâneo apresenta graduações em seu nível de contaminação. Podemos inclusive encontrar diferenças no perfil de poluentes, havendo dominância dos rejeitos industriais na porção norte e uma contribuição maior de compostos de origem agrícola ao sul (Storelli *et al.*, 2005). Esse pode ser um dos motivos que leva

elasmobrânquios de hábitos alimentares tão semelhantes apresentarem tamanha variação na concentração de organoclorados.

A costa leste dos Estados Unidos também apresenta um histórico de impacto antrópico intenso, principalmente na região banhada pelo Golfo do México, onde populações de tubarão-martelo (*Sphyrna tiburo*) têm apresentado sinais de infertilidade (Gelsleichter *et al.*, 2005). A concentração média de  $\Sigma$ PCB na raia-santa do presente estudo se assemelha à concentração encontrada no fígado de *S. tiburo* da Carolina do Sul (609 ng.g<sup>-1</sup> lip.) e é maior do que a de *Long Key*, no Golfo do México (214 ng.g<sup>-1</sup> lip.). Porém, esse valor ainda é inferior às concentrações do litoral da Georgia (3.537 ng.g<sup>-1</sup> lip.) e de *Anclote Key*, também no Golfo do México (1.650 ng.g<sup>-1</sup> lip.), onde foram relatados os casos mais preocupantes de infertilidade do tubarão-martelo (Gelsleichter *et al.*, 2005; Gelsleichter *et al.*, 2008). Em toda a costa leste dos EUA os níveis de  $\Sigma$ DDT relatados (médias variando de 100 a 317 ng.g<sup>-1</sup> lip.) foram superiores aos encontrados para o litoral sul do estado do Rio de Janeiro.

Também na Flórida, foram calculadas as concentrações médias de organoclorados para a raia-do-Atlântico (*Dasyatis sabina*) proveniente de quatro lagos de água doce e de um estuário localizado no litoral do Golfo do México (Gelsleichter *et al.*, 2006). As médias dessas concentrações variaram de 50 a 120 ng.g<sup>-1</sup> de p.u. do fígado para  $\Sigma$ PCB e de 20 a 80 ng.g<sup>-1</sup> de p.u. para  $\Sigma$ DDT. Em algumas subpopulações foram encontradas alterações nos sistemas endócrino e imune. Apesar de assumirem que esses efeitos deletérios possam estar associados a outros fatores ambientais, os autores não descartam a possibilidade de que a contaminação por organoclorados seja a causa dessas anomalias. Nesse estudo, foram analisados apenas indivíduos adultos. Se compararmos as concentrações encontradas pelos autores com aquelas calculadas apenas para a parcela madura dos exemplares de raia-santa, vemos que a concentração de  $\Sigma$ PCB esteve acima das médias mencionadas (143 ng.g<sup>-1</sup> de p.u.), enquanto que o valor para  $\Sigma$ DDT foi inferior no presente estudo (9 ng.g<sup>-1</sup> de p.u.).

Para o litoral brasileiro, os resultados encontrados para o  $\Sigma$ PCB na raia-borboleta (*Gymnura altavela*) (12.469 ng.g<sup>-1</sup> de lip.) e na raia-viola (*Zapteryx brevirostris*) (4.463 ng.g<sup>-1</sup> de lip.), provenientes da baía de Guanabara, mostraram concentrações muito acima daquelas calculadas no presente estudo (Rosenfelder *et al.*, 2012). Das três baías existentes na costa do Rio de Janeiro, a baía de Guanabara é aquela que abriga o entorno mais industrializado, sendo considerado um dos ambientes

mais eutrofizados do país. O sistema de esgoto da região é deficitário e a circulação de água dentro da baía é prejudicada pela série de aterros realizados desde a década de 1920 (Borges *et al.*, 2009). Esses fatores contribuem para um cenário de grande degradação ambiental, justificando as concentrações elevadas de organoclorados encontradas nas raiais da baía de Guanabara.

Observamos que as concentrações encontradas para a raia-santa se assemelham à carga de poluentes verificadas para diversas espécies de elasmobrânquios ocupando níveis tróficos semelhantes ao de *R. agassizi*, em locais tão impactados como o Golfo do México e o Mar Mediterrâneo. Esse é um dado preocupante, principalmente se levarmos em conta que se acredita que o Hemisfério Norte tenha apresentado um uso mais intenso de organoclorados de origem industrial, como as bifenilas policloradas, em relação aos países do Hemisfério Sul (Fowler, 1990; Connell, 1999). Apesar da presença da baía de Ilha Grande em frente à área de estudo, um corpo d'água relativamente bem preservado e com o entorno menos industrializado, a proximidade da baía de Sepetiba e sua maior carga de contaminação deve estar influenciando as concentrações mais elevadas de organoclorados em *R. agassizi*. Estudos anteriores realizados com cetáceos residentes na baía de Sepetiba mostraram o grau elevado da contaminação por organoclorados nesse corpo d'água (Vidal, 2010; Lailson-Brito *et al.*, 2010). Ressaltando ainda que existe a possibilidade de que parte da população frequente uma área sobre influência da contaminação da Baía de Guanabara, apresentando perfil de contaminação distinto e maior concentração de poluentes. Outro fator que poderia contribuir com os níveis altos de contaminação da raia-santa é seu hábito bentônico, uma vez que o sedimento é tido como um dos repositórios finais para POPs. Porém, nem sempre os níveis de poluentes dessa matriz estarão associados a uma ameaça direta às populações bentônicas, devendo haver a biodisponibilidade desses compostos para os organismos demersais (Solé *et al.*, 2013).

Outro dado preocupante em relação à contaminação dos exemplares de raia-santa é o fato das concentrações encontradas nessa população serem comparáveis aos níveis verificados para *D. sabina*, no litoral da Flórida (Gelslechter *et al.*, 2006). Mesmo não sendo confirmado, é possível que as alterações nos sistemas endócrino e imune desse grupo de batóideos estejam associadas à contaminação por organoclorados. Isso significaria que as cargas de poluentes encontradas para *R. agassizi* já poderiam representar um risco à saúde dessa população, lembrando que as duas espécies podem

apresentar diferenças em relação à sensibilidade aos contaminantes e que a gama de outros poluentes presentes em cada espécie atua em sinergia, podendo provocar reações tóxicas distintas. Valores muito baixos de conteúdo lipídico ou do fator de condição (Kn) poderiam indicar uma situação de saúde debilitada dos organismos, com exceção às variações naturais ocorridas durante o período reprodutivo, funcionando como um indício da ação de fatores ambientais estressantes na população, como a contaminação por xenobióticos. Para a raia-santa, porém, não foram observadas grandes variações desses parâmetros, com exceção ao conteúdo lipídico de alguns indivíduos provavelmente associado ao período reprodutivo. Mesmo assim, os efeitos da contaminação por organoclorados podem estar sendo sentidos pela população de *R. agassizi*. Não podemos deixar de ressaltar que alguns desses efeitos podem ocorrer ainda mesmo antes do indivíduo nascer. Para os tubarões barroso e galhudo (*C. granulatus* e *S. blainvillei*), a carga de organoclorados encontrada nos ovos representou até 23% do total contido no fígado das mães (Storelli & Marcotrigiano, 2001), o que pode indicar uma grande transferência desses compostos para os filhotes. Porém, para esses organismos, ainda não existem estudos demonstrando a toxicidade dos POPs em embriões. No caso dos teleósteos, pesquisas com embriões e larvas mostram que durante essa fase determinadas enzimas podem responder à presença de organoclorados no organismo, provocando anomalias cardíacas (Nacci *et al.*, 1998). Segundo alguns autores, a fase embrionária/larval poderia ser a mais sensível aos POPs ao longo do ciclo de vida do organismo (Elskus *et al.*, 2005). Para que o impacto dos POPs em tubarões e raias seja demonstrado e possa ser atribuído à contaminação, é necessário o desenvolvimento de estudos mais detalhados que investiguem alterações morfológicas, fisiológicas e reprodutivas nas espécies, além das cargas de poluentes. Esse, na verdade, seria o próximo passo para incluir os dados de contaminação de elasmobrânquios em planos de manejo para o grupo.

Sabemos que em relação a outros peixes, elasmobrânquios apresentam uma capacidade maior para eliminar substâncias tóxicas orgânicas (Ballantyne, 1997). E que, além do processo de destoxificação, existem características fisiológicas ainda pouco compreendidas que promovem uma baixa incidência de tumores nos peixes cartilagosos, sendo esse um dos efeitos dos POPs em peixes ósseos (Ballantyne, 1997; Speers-Roesch & Treberg, 2010). Nesse sentido, poderíamos esperar que o grupo estivesse mais protegido em relação aos efeitos deletérios dos contaminantes orgânicos.

Mesmo assim, o que observamos é que as concentrações de organoclorados descritas para espécies de teleósteos de diferentes partes do mundo são semelhantes aos dados apresentados anteriormente para elasmobrânquios, e excedem pouco em relação aos valores descritos para a raia-santa (Berg *et al.*, 1997; Quinete *et al.*, 2011). Além disso, as cargas encontradas para as espécies de maior porte e que incluem mamíferos marinhos em sua dieta, são extremamente altas, sendo comparáveis àquelas descritas para os cetáceos (Schlenk *et al.*, 2005; Strid *et al.*, 2007; Mull *et al.*, 2012; Mull *et al.*, 2013; Molde *et al.*, 2013). As principais alterações observadas até agora, e associadas à contaminação por organoclorados, em elasmobrânquios são relativas aos sistemas endócrino e imune desses organismos (Gelsleichter *et al.*, 2005; Gelsleichter *et al.*, 2006). Alterações na imunidade de qualquer organismo promovem uma maior exposição a doenças oportunistas, podendo provocar um aumento da taxa de mortalidade natural na população (De Swart *et al.*, 1994; Jones & Voogt, 1999). As perturbações do sistema endócrino também podem vir a significar prejuízos reprodutivos para a espécie e quedas no recrutamento dos estoques pesqueiros (Ahlborg *et al.*, 1994; De Swart *et al.*, 1994; Jones & Voogt, 1999). Para espécies com as características de história de vida dos elasmobrânquios e que já sofrem com a pressão pesqueira intensa, esses efeitos podem ser ainda mais prejudiciais.

## 7. CONCLUSÕES

- A contaminação da raia-santa por organoclorados é provocada principalmente por fontes poluidoras de origem industrial na área de estudo, sendo os PCBs os principais compostos organoclorados encontrados na espécie;
- O perfil dos derivados do DDT aponta uma entrada recente desse pesticida na área de estudos, compatível com a proibição tardia no uso dessa substância no Brasil;
- Foi encontrada diferença significativa entre jovens e adultos, de maneira que indivíduos maduros apresentaram maior concentração de poluentes. Para machos e fêmeas a diferença encontrada não foi significativa;

- A existência de dois perfis de contaminação indica haver diferentes agrupamentos de indivíduos adultos dentro da população de raia-santa estudada, que estariam sujeitos a fontes distintas de poluição;

- A raia-santa do litoral sul do estado do Rio de Janeiro apresenta concentrações relativamente altas de contaminantes organoclorados, como resultado da contaminação ambiental e do fluxo trófico nas cadeias alimentares marinhas. Essa contaminação é comparável, em determinadas situações, com que aquelas observadas para locais industrializados do Hemisfério Norte. Porém, ainda é menor do que muitos exemplos apresentados para o Mar Mediterrâneo e para a baía de Guanabara, corpos d'água extremamente impactado do Hemisfério Norte e Hemisfério Sul, respectivamente;

- Baseado em informações geradas para outras espécies de elasmobrânquios, mas ressaltando que existe uma variação interespecífica em relação aos efeitos tóxicos provocados por POPs e que a carga de outros xenobióticos age em sinergia podendo provocar efeitos diversos em cada organismo, é possível que a população de *R. agassizi* esteja sofrendo efeitos deletérios provocados pela contaminação por organoclorados.

## **8. RECOMENDAÇÕES**

- Visto a existência de mais fatores do que o esperado capazes de influenciar a dinâmica de organoclorados em elasmobrânquios, recomenda-se o uso de um número maior de exemplares para as análises, de modo a aumentar a robustez dos testes estatísticos;

- Recomenda-se maior investigação sobre o comportamento social dos elasmobrânquios, uma vez que esse fator pode influenciar a dinâmica dos organoclorados no organismo. No caso do presente estudo, como a formação de grupos estaria refletindo uma provável diferença na fonte de alimentação, uma ferramenta interessante para essa investigação seria a análise de isótopos estáveis;

- É recomendado o monitoramento da contaminação de elasmobrânquios, principalmente das espécies que já sofrem pressão pesqueira, não só por

organoclorados, mas também por outros contaminantes que representem fonte de ameaça à sobrevivência dessas populações;

- A análise da contaminação de outros tecidos, além do fígado, também é recomendada. A quantificação em ovos e embriões é uma análise importante para a compreensão da dinâmica de remobilização dos contaminantes da mãe para o filhote, gerando resultados que indicarão a intensidade da contaminação a que os embriões e neonatos estão sujeitos. Dada a diferença na sensibilidade à contaminação em cada estágio de vida, mesmo doses menores de contaminantes podem ser extremamente nocivas aos embriões, provocando grandes danos à população. Análises no músculo das espécies comercializadas também são escassas, mas importantes do ponto de vista da saúde humana;

- Como forma de complementar o monitoramento da contaminação, recomenda-se estudos mais detalhados sobre as alterações fisiológicas e reprodutivas nas populações de elasmobrânquios que possam estar associadas à contaminação por poluentes orgânicos persistentes, com o objetivo principal de compreender o grau de impacto desses compostos no bem-estar e na manutenção das populações, além de calcular a severidade da contaminação como fonte de ameaça à sobrevivência das espécies.

- As ações de conservação e planos de manejo de elasmobrânquios estão aumentando, mas a maioria está relacionada à pesca, não incluindo informações da contaminação dos organismos. Para parte das espécies de elasmobrânquios sobrepescadas existem pesquisas sobre os níveis de xenobióticos, como é o caso do tubarão-azul (*Prionace glauca*), de alguns tubarões de profundidade (*Squalus spp.*, *Dalatias licha*, entre outros) e agora da raia-santa. Por ainda não relacionarem diretamente os níveis de contaminação aos efeitos deletérios, essas pesquisas não podem ser usadas como fator determinante para gerar uma maior restrição às capturas das espécies de elasmobrânquios. Mas partindo do princípio da precaução, informações sobre os níveis de poluentes nos organismos deveriam ser incluídas nos planos de manejo, podendo haver uma comparação entre os *status* de contaminação das diferentes espécies, e como forma de incentivar a pesquisa acerca dos efeitos dessa contaminação

na população. Dessa maneira seria construído um quadro mais completo sobre a situação dos estoques pesqueiros e suas ameaças reais, contribuindo para a elaboração de um plano de manejo eficaz. Uma vez que a contaminação é um fator difícil de ser contornado, espécies com níveis mais altos de poluentes poderiam ter um controle maior da sua captura, aliviando assim a pressão global sofrida pela espécie.



## 9. REFERÊNCIAS

- Abdel-Aziz, S. H. & El-Nady, F. S. 1993. Lipid dynamics in the common torpedo, *Torpedo torpedo*, from the south eastern Mediterranean. *Journal of Fish Biology*, 43: 155-162.
- Aguilar, A. 1984. Relationship of DDE/ $\Sigma$ DDT in marine mammals to the chronology of DDT input into the ecosystem. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41: 840-844.
- Aguilar, A. 1987. Using organochlorine pollutants to discriminate marine mammal populations: a review and critique of the methods. *Marine Mammal Science, Lawrence*, 3: 242-262.
- Aguilar, A.; Borrel, A.; Pastor, T. 1999. Biological factors affecting variability of persistent pollutant levels in cetaceans. *In*: Reijnders, P. J. H.; Aguilar, A.; Donovan, G. P. (Eds.). Chemical pollutants and cetaceans. *Journal of Cetacean Research and Management (Special Issue)*, 1: 83-116.
- Ahlborg, U. G.; Becking, G. C.; Birnbaum, L. S.; Brouwer, A.; Derks, H. J. G. M.; Feeley, M.; Golor, G.; Hanberg, A.; Larsen, J. C.; Liem, A. K. D.; Safe, S. H.; Schlatter, C.; Waern, F.; Younes, M.; Yrjanheikki, E.; 1994. Toxic equivalency factors for dioxin-like PCBs. *Chemosphere*, 28: 1049–1067.
- Arrebola, J. P.; Pumarega, J.; Gasull, M.; Fernandez, M. F.; Martin-Olmedo, P; Molina-Molina, J. M.; Fernández-Rodríguez, M.; Porta, M.; Olea, N. 2013. Adipose tissue concentrations of persistent organic pollutants and prevalence of type 2 diabetes in adults from Southern Spain. *Environmental Research*, 122: 31-37.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 1995. *Toxicological Profile for Mirex and Chlordane*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 362 p.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2000. *Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls (PCBs)*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 948 p.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2002a. *Toxicological profile for Hexachlorobenzene*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public health service. 403 p.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2002b. *Toxicological profile for DDT, DDE, and DDD*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 403 p.

Azevedo e Silva, C. E. 2004. *Diclorodifeniltricloroetano (DDT) e Bifenilas Policloradas (PCB) em duas espécies pelágicas da costa do Brasil: Prionace glauca (Linnaeus, 1758) e Xiphias gladius Linnaeus, 1758*. Dissertação de Mestrado em Ciências, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 100 p.

Azevedo-Silva, C. E.; Azeredo, A.; Lailson-Brito, J.; Torres, J. P. M.; Malm, O. 2007. Polychlorinated biphenyls and DDT in swordfish (*Xiphias gladius*) and blue shark (*Prionace glauca*) from Brazilian coast. *Chemosphere*, 67: S48–S53.

Azevedo e Silva, C. E.; Azeredo, A.; Dias, A. C. L.; Costa, P.; Lailson-Brito, J.; Malm, O.; Guimarães, J. R. D.; Torres, J. P. M.. 2009. Organochlorine compounds in sharks from the Brazilian coast. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 290–311.

Ballantyne, J. S. 1997. Jaws: the inside story. The metabolism of elasmobranch fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 118B (4): 703-742.

Ballschmitter, K. & Zell, M. 1980. Analysis of polychlorinated biphenyls (PCBs) by glass chromatography. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 302: 20-31.

Barbini, S. A. & Lucifora, L. O. 2011. Feeding habits of the Rio skate, *Rioraja agassizi* (Chondrichthyes: Rajidae), from off Uruguay and north Argentina. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 91 (6): 1175-1184.

Berg, V.; Ugland, K. I.; Hareide, N. R.; Aspholm, P. E.; Polder, A.; Skaare, J. U. 1997. Organochlorine contamination in deep-sea fish from the Davis Strait. *Marine Environmental Research*, 44 (2): 135-148.

Bittar, V. T.; Awabdi, D. R.; Tonini, W. C. T.; Vidal Junior, M. V.; Di Benedetto, A. P. M. 2012. Feeding preference of adult females of ribbonfish *Trichiurus lepturus* through prey proximate-composition and caloric values. *Neotropical Ichthyology*, 10 (1): 197-203.

Blus, L. J. 1995. Organochlorine pesticides. pp: 275-300. *In*: Hoffman, D. J.; Rattner, B. A.; Burton Jr., G. A.; Cairns Jr., J. (Eds.) *Handbook of Ecotoxicology*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, USA, 1.315 p.

Borges, A. C.; Sanders, C. J.; Santos, H. L. R.; Araripe, D. R.; Machado, W.; Patchineelam, S. R. 2009. Eutrophication history of Guanabara Bay (SE Brazil) recorded by phosphorus flux to sediments from a degraded mangrove area. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 1739-1765.

Borrel, A.; Aguilar, A.; Tornero, V.; Sequeira, M.; Fernandez, G.; Alis, S. 2006. Organochlorine compounds and stable isotopes indicate bottlenose dolphin subpopulation structure around the Iberian Peninsula. *Environment International*, 32 (4): 516-523.

Borrel, A. & Aguilar, A. 2007. Organochlorine Concentrations declined during 1987–2002 in western Mediterranean bottlenose dolphins, a coastal top predator. *Chemosphere*, 66: 347–352.

Brasil. 1971a. Ministério da Agricultura. Portaria nº 356. *Diário Oficial da União*, Brasília, 15 de Outubro de 1971, Seção 1, página 8318.

Brasil, 1971b. Ministério da Agricultura. Portaria nº 357. *Diário Oficial da União*, Brasília, 15 de Outubro de 1971, Seção 1, página 8318.

Brasil. 1985. Ministério da Agricultura. Portaria nº 329. *Diário Oficial da União*, Brasília, 3 de Setembro de 1985, Seção 1, página 12941.

Brasil. 2009. Presidência da República. Lei nº 11.936. *Diário Oficial da União*, Brasília, 15 de Maio de 2009, Seção 1, página 1.

Calamari, D.; Bacci, E.; Focardi, S.; Gaggi, S.; Morosini, M.; Vighl, M. 1991. Role of plant biomass in the global environmental partitioning of chlorinated hydrocarbons. *Environmental Science and Technology*, 25: 1489–1495.

Casarini, L. M.; Gomes, U. L.; Tomás, A. R. G. 1997. Would be Santos Harbour dredged material dumping a reason of teratogeny on *Raja agassizi*? *VII COLACMAR, Santos, Resumos expandidos*, 1: 152-153.

Casarini, L. M. 2006. *Dinâmica populacional de raias demersais do gênero Atlantoraja e Rioraja (Elasmobranchii, Rajidae) da costa sudeste e sul do Brasil*. Tese de Doutorado em Ciências, área Oceanografia Biológica, Universidade de São Paulo, 235 p.

Colonello, J. H.; García, M. L.; Lasta, C. A. 2007. Reproductive biology of *Rioraja agassizi* from the coastal southwestern Atlantic ecosystem between northern Uruguay (34°S) and northern Argentina (42°S). *Environmental Biology of Fishes*, 80: 277-284.

Connell, D. W. 1999. Biomagnification by aquatic organisms - A proposal. *Chemosphere*, 19 (10-11): 1573-1584.

Corsolini, S.; Focardi, S.; Kannan, K.; Tanabe, S.; Borrel, A.; Tatsukawa, R. 1995. Congener profile and toxicity assessment of Polychlorinated Biphenyls in dolphins,

sharks and tuna collected from Italian coastal waters. *Marine Environmental Research*, 40 (1): 33-53.

Costa, L. C.; Ferreira, A. P.; Neves, E. B. 2011. Aplicação do Sistema de Projeção de Poluição Industrial (Modelo IPPS) na bacia hidrográfica da baía de Sepetiba (Rio de Janeiro, Brasil): Estudo de caso. *Cadernos Saúde Coletiva*, 19: 66-73.

Cunha, L. S. T. 2009. *Concentração de Poluentes Orgânicos Persistentes em ovos do atobá-marrom (Sula leucogaster, Aves: Sulidae) e sua possível influência na estrutura da casca do ovo*. Dissertação de Mestrado em Ecologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 63 p.

Dachs, J., Bayona, J.M., Fowler, S.W., Miquel, J.C., Albaige' s, J., 1996. Vertical fluxes of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine compounds in the western Alboran Sea (southwestern Mediterranean). *Marine Chemistry*, 52: 75–86.

Dachs, J.; Lohmann, R.; Ockenden, W. A.; Mejanelle, L.; Eisenreich, S. J.; Jones, K. C. 2002. Oceanic biogeochemical controls on global dynamics of persistent organic pollutants. *Environmental Science and Technology*, 36 (20): 4229-4237.

D'Amato, C.; Torres, J. P. M.; Malm, O. 2002. DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano): Toxicidade e contaminação ambiental: uma revisão. *Química Nova*, 25 (6): 995-1002.

Davis, W. J. 1993. Contamination of coastal versus open ocean surface waters - A brief meta-analysis. *Marine Pollution Bulletin*, 26 (3): 128-134.

De Swart, R. L.; Ross, P. S.; Vedder, L. J.; Timmerman, H. H.; Heisterkamp, S. H.; Van Loveren, H.; Vos, J. G.; Reijnders, P. J. H.; Osterhaus, A. D. M. E. 1994. Impairment of immune function in harbor seals feeding on fish from polluted water. *Ambio*, 23: 155-159.

Dewar, H.; Mous, P.; Domeier, M.; Muljadi, A.; Pet, J.; Whitty, J. 2008 Movements and site fidelity of the giant manta ray, *Manta birostris*, in the Komodo Marine Park, Indonesia. *Marine Biology*, 155: 121–133.

Duffy, J. E.; Carlson, E.; Li, Y.; Prophete, C.; Zelikoff, J. T. 2002. Impact of polychlorinated byphenyls (PCBs) on the immune function of fish: age as a variable in determining adverse outcome. *Marine Environmental Research*, 54: 559–563.

Ecobichon, D. J. 1995. Toxic effects of pesticides. pp. 643-689. *In*: Cassarett & Doull's (Eds.) *Toxicology: the basic science of poisons*. Fifth Edition. Nova York, EUA.

Elskus, A. A.; Collier, T. K.; Monosson, E. 2005. Interactions between lipids and persistent organic pollutants in fish. pp. 119-152. *In*: Mommsen, T. P. & Moon, T. W. (Eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*. Sixth Edition. 562 p.

EPA (Environmental Protection Agency). 1992. Guidance for data useability in risk assessment (Part A). **EPA publication No. EPA 9285.7-09A, EPA. 292 p.**

EPA (Environmental Protection Agency). 2000. *Guidance for assessing chemical contaminant data for use in fish advisories: fish sampling and analysis*. **EPA publication No. EPA 823-R-95-007, Volume 1, Third edition, EPA. 485 p.**

Estalles, M.; Comesaña, J. E. P.; Tamini, L. L.; Chiaramonte, G. E. 2008. Reproductive biology of the skate, *Rioraja agassizii* (Müller and Henle, 1841), off Puerto Quequén, Argentina. *Journal of Applied Ichthyology*, 85: 60-65.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2006. *Informe Del taller sobre evaluación y manejo de elasmobranquios en América del Sur y bases regionales para los planes de acción (DINARA/FAO)*. Montevideo, Uruguay, 7-9 de noviembre de 2005. **FAO, Informe de Pesca n° 798. Roma, FAO. 55 p.**

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2011. *Review of the state of world marine fishery resources*. **FAO, Fisheries and Aquaculture Technical Paper n° 569. Rome, FAO. 334 p.**

Figueiredo, J. L. 1977. *Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil I. Introdução, Cações, Raias e Quimeras*. **São Paulo: Museu de Zoologia Universidade de São Paulo. 104 p.**

Fisk, A. T.; Tittlemier, S. A.; Pranschke, J. L.; Norstrom, R. J. 2002. Using anthropogenic contaminants and stable isotopes to assess the feeding ecology of greenland sharks. *Ecology*, 83 (8): 2162–2172.

Fossi, M. C.; Casini, S.; Marsili, L.; Neri, G.; Mori, G.; Ancora, S.; Moscatelli, A.; Ausili, A.; Notarbartolo-di-Sciara, G. 2002. Biomarkers for endocrine disruptors in three species of Mediterranean large pelagic fish. *Marine Environmental Research*, 54 (3-5): 667-671.

Fowler, S. W. 1990. Critical Review of selected heavy metal and chlorinated hydrocarbon concentrations in the marine environment. *Marine Environmental Research*, 29 (1): 1-64.

Gelsleichter, J.; Manire, C. A.; Szabo, N. J.; Cort's, E.; Carlson, J.; Lombardi-Carlson, L. 2005. Organochlorine concentrations in bonnethead sharks (*Sphyrna tiburo*) from four Florida estuaries. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48: 474–483.

Gelsleichter, J.; Walsh, C. J.; Szabo, N. J.; Rasmussen, L. E. L. 2006. Organochlorine concentrations, reproductive physiology, and immune function in unique populations of freshwater Atlantic stingrays (*Dasyatis sabina*) from Florida's St. Johns River. *Chemosphere*, 63: 1506–1522.

Gelsleichter, J.; Szabo, N. J.; Belcher, C. N.; Ulrich, G. F. 2008. Organochlorine contaminants in bonnethead sharks (*Sphyrna tiburo*) from Atlantic and Gulf estuaries on the US east coast. *Marine Pollution Bulletin (Baseline)*, 56: 348–379.

Ghiselli, G. & Jardim, W. F. 2007. Interferentes endócrinos no ambiente. *Química Nova*, 30 (3): 695-706.

Gobas, F. A. P. C.; Wilcockson, J. B.; Russel, R. W.; Haffner, G. D. 1999. Mechanism of biomagnifications in fish under laboratory and field conditions. *Environmental and Science Technology*, 33: 133-141.

Gomes, U. L.; Signori, C. N.; Gadig, O. B. F.; Santos, H. R. S. 2010. *Guia para identificação de tubarões e raias do Rio de Janeiro*. Editora **Technical Books, Rio de Janeiro, 234 p.**

Holden, A. V. & Marsden, K. 1967. Organochlorine pesticides in seals and porpoises. *Nature*, 216: 1274-1276.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2010. *Censo 2010*. <http://censo2010.ibge.gov.br/> Visualizado em: 02 de Junho de 2013.

INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). 2003. *Orientações Sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos*. **DOQ-CGCRE-008 – Revisão 01, 35 p.**

Iwata, H.; Tanabe, S.; Sakai, N.; Tatsukawa, R. 1993. Distribution of persistent organochlorines in the oceanic air and surface seawater and the role of ocean on their global transport and fate. *Environmental Science and Technology*, 27: 1080-1098.

Jacoby, D. M. P.; Croft, D. P.; Sims, D. W. 2012. Social behaviour in sharks and rays: analysis, patterns and implications for conservation. *Fish and Fisheries*, 13 (4): 399-417.



Japenga, J.; Wagenaar, W. J.; Salomons, W.; Lacerda, L. D.; Patchineelam, S. R.; Fiho, C. M. 1988. Organic micropollutants in the Rio de Janeiro coastal region, Brazil. *Science of the Total Environment*, 75: 249-259.

Johnson-Restrepo, B.; Kannan, K.; Addink, R.; Adams, D. H. 2005. Polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in a marine foodweb of coastal Florida. *Environmental Science and Technology*, 39: 8243-8250.

Jones, K. C. & de Voogt, P. 1999. Persistent organic pollutants (POPs): State of the science. *Environmental Pollution*, 100: 209-221.

Jonker, M. O.; Koelmans, A. 2002. Sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls to soot and soot-like materials in the aqueous environment: mechanistic considerations. *Environmental Science and Technology*, 36: 3725–3734.

Jørgensen, E. H.; Burkow, I. C.; Foshaug, H.; Killie, B.; Ingebrigtsen, K. 1997. Influence of lipid status on tissue distribution of the persistent organic pollutant octachlorostyrene in arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 118C (3): 311-318.

Kennish, M J. 1997. *Practical Handbook of Estuarine and Marine Pollution*. **Boca Raton, Florida. CRC Press Inc. 524 p.**

Kyne, P. M., San Martín, J.; Stehmann, M. F. W. 2007. *Rioraja agassizii*. *In*: IUCN 2012. *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2012.2. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Downloaded on 07 January 2013.

Kumar, K. S.; Zushi, Y.; Masunaga, S.; Gilligan, M.; Pride, C.; Sajwan, K. S. 2009. Perfluorinated organic contaminants in sediment and aquatic wildlife, including sharks, from Georgia, USA. *Marine Pollution Bulletin (Baseline)*, 58: 601–634.

Lang, V. 1992. Polychlorinated biphenyls in the environment - Review. *Journal of Chromatography*, 595: 1-43.

Lailson-Brito, J. 2007. *Bioacumulação de mercúrio, selênio e organoclorados (DDT, PCB E HCB) em cetáceos (Mammalia, Cetacea) da costa Sudeste e Sul do Brasil*. Tese de Doutorado em Ciências, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 253 p.

Lailson-Brito, J.; Dorneles, P. R.; Azevedo-Silva, C. E.; Azevedo, A. F.; Vidal, L. G.; Lozinski, C. P. C.; Azeredo, A.; Fragoso, A. B. L.; Cunha, H. A.; Torres, J. P. M.; Malm, O. 2010. High organochlorine accumulation in blubber of Guiana Dolphin, *Sotalia Guianensis*, from Brazilian coast and its use to establish geographical differences among populations. *Environmental Pollution*, 158: 1800–1808.

Lailson-Brito, J.; Dorneles, P. R.; Azevedo-Silva, C. E.; Bisi, T. L.; Vidal, L. G.; Legat, L. N.; Azevedo, A. F.; Torres, J. P. M.; Malm, O. 2012. Organochlorine compound accumulation in delphinids from Rio de Janeiro state, southeastern Brazilian coast. *Science of the Total Environment*, 433: 123–131.

LeBlanc, G. A. 1997. Basics of environmental toxicology. pp.389-405. *In*: Hodgson, E.; Levi, P. E. (Eds.). *A textbook of modern toxicology*. Appleton & Lange, Samford, Connecticut, USA, second edition, 582 p.

LeCren, E. D. 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in perch *Perca fluviatilis*. *Journal of Animal Ecology*, 20: 201-219.

Luer, C. A. & Gilbert, P. W. 1985. Mating behaviour, egg deposition, incubation period, and hatching in the clearnose skate, *Raja eglanteria*. *Environmental Biology of Fishes*, 13 (3): 161-171.

McKinley, A. C.; Miskiewicz, A.; Taylor, M. D.; Johnston, E. L. 2011. Strong links between metal contamination, habitat modification and estuarine larval fish distributions. *Environmental Pollution*, 159: 1499-1509.

Mellinger, J. & Wrissez, F. 1989. Biologie et physiologie comparées du développement de deux Sélaciens ovipares, les roussettes *Scyliorhinus canicula* et *Scyliorhinus*

*stellaris*. Evolution de la matière sèche, de l'eau et des ions (Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>) dans le vitellus de *S. canicula* au cours du développement. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 114(1):51-62.

Menni, R. C. & Stehmann, M. F. W. 2000. Distribution, environment and biology of batoid fishes off Argentina, Uruguay and Brazil, a review. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales (Nueva Serie)*, 2 (1): 69-109.

Miyamoto J. 1996. Environmental and Health Issues. *Pure and Applied Chemistry*, 68 (9): 1737-1748.

Mills, L. J. & Chichester, C. 2005. Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? *Science of the Total Environment*, 343: 1-34.

Miskiewicz, A. G. & Gibbs, P. J. 1994. Organochlorine pesticides and hexachlorobenzene in tissues of fish and invertebrates caught near a sewage outfall. *Environmental Pollution*, 84: 269-277.

MMA/SBF (Ministério do Meio Ambiente / Secretaria de Biodiversidade e Florestas), 2007a. *Biodiversidade Marinha da Baía da Ilha Grande*. Creed, J. C.; Pires, D. O.; Figueiredo, M. A. O. (Orgs.). **Brasília: Ministério do Meio Ambiente / Secretaria de Biodiversidade e Florestas, Brasília. 417 p.**

MMA/SBF (Ministério do Meio Ambiente / Secretaria de Biodiversidade e Florestas), 2007b. *Áreas Prioritárias para a Conservação, Uso Sustentável e Repartição de Benefícios da Biodiversidade Brasileira: Atualização - Portaria MMA No 09, de 23 de janeiro de 2007*. **Ministério do Meio Ambiente / Secretaria de Biodiversidade e Florestas, Brasília. 300 p.**

Molde, K.; Ciesielski, T. M.; Fisk, A. T.; Lydersen, C.; Kovacs, K. M.; Sørmo, E. G.; Jensen, B. M. 2013. Associations between vitamins A and E and legacy POP levels in

highly contaminated Greenland sharks (*Somniosus microcephalus*). *Science of the Total Environment*, 442: 445-454.

Mull, C. G.; Blasius, M. E.; O'Sullivan, J. B.; Lowe, C. G. 2012. Heavy metals, trace elements, and organochlorine contaminants in muscle and liver tissue of juvenile white sharks (*Carcharodon carcharias*) from the southern California bight. pp. 59-75. *In*: Domeier, M. (Ed.). *Global Perspectives on the Biology and Life History of Great White Sharks*. Boca Raton, FL: CRC Press. 567 p.

Mull, C. G.; Lyons, K., Blasius, M. E.; Winkler, C.; O'Sullivan, J. B.; et al. 2013. Evidence of maternal offloading of organic contaminants in white sharks (*Carcharodon carcharias*). *PLoS ONE*, 8(4): 1-8 (e62886. doi:10.1371/journal.pone.0062886).

Musick, J. A. & Ellis, J. K. 2005. Reproductive evolution of chondrichthyans, pp. 45-71. *In*: W. C. Hamlett (Ed.). *Reproductive biology and phylogeny of chondrichthyes, sharks, batoids and chimaeras*. Science Publishers, Inc. Enfield , 562 p.

Muto, E. Y.; Soares, L. S. H.; Goitein, R. 2001. Food resource utilization of the skates *Rioraja agassizii* (Müller & Henle, 1841) and *Psammobatis extenta* (Garman, 1913) on the continental shelf off Ubatuba, south-eastern Brazil. *Revista Brasileira de Biologia*, 61 (2): 217-238.

Nacci, D.; Coiro, L.; Kuhn, A.; Champlin, D.; Munns, W.; Specker, J.; Cooper, K. 1998. Nondestructive indicator of ethoxyresorufin-*O*-deethylase activity in embryonic fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17: 2481-2486.

Nichols, J. W.; Fitzsimmons, P. N.; Whiteman, F. W.; Dawson, T. D.; Babeu, L.; Juenemann, J. A. 2004. Physiologically based toxicokinetic model for dietary uptake of hydrophobic organic compounds by fish I. Feeding studies with 2,2',5,5'-Tetrachlorobiphenyl. *Toxicological Sciences*, 77 (2): 206–218.

Noël, M.; Barrett-Lennard, L.; Guinet, C.; Dangerfield, N.; Ross, P. S. 2009. Persistent organic pollutants (POPs) in killer whales (*Orcinus orca*) from the Crozet Archipelago, southern Indian Ocean. *Marine Environmental Research*, 68:196–202.

Oddone, M. C. & Velasco, G. 2006. Relationship between liver weight, body size and reproductive activity in *Atlantoraja cyclophora* (Elasmobranchii: Rajidae: Arhynchobatidae) in oceanic waters off Rio Grande do Sul, Brazil. *Neotropical Biology and Conservation*, 1 (1): 12-16.

Oddone, M. C.; Amorim, A. F.; Mancini, P. L.; Norbis, W.; Velasco, G. 2006. The reproductive biology and cycle of *Rioraja agassizi* (Müller and Henle, 1841) (Chondrichthyes: Rajidae) in southeastern Brazil, SW Atlantic Ocean. *Scientia Marina*, 71 (3): 593-604.

Oddone, M. C.; Amorim, A. F.; Mancini, P. L.; Norbis, W. 2007. Size composition, monthly condition factor and morphometrics for fishery-dependent samples of *Rioraja agassizi* (Chondrichthyes: Rajidae), off Santos, Southeast Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 5 (3): 415-424.

Oddone, M. C. & Capapé, C. 2011. Annual fecundity assessment for the Rio skate *Rioraja agassizi* (Chondrichthyes: Arhynchobatidae) endemic to a Neotropical area (Southeastern Brazil). *Brazilian Journal of Oceanography*, 59 (3): 277-279.

Penteado, J. C. P. & Vaz, J. M. 2001. O Legado das Bifenilas Policloradas (PCBs). *Química Nova*, 24 (3): 390-398.

Pereira, M. S. 2004. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD), dibenzofurans (PCDF) and polychlorinated biphenyls (PCB): Main sources, environmental behaviour and risk to man and biota. *Química Nova*, 27 (6): 934-943.

Polischuk, S. C.; Norstrom, R. J.; Ramsay, M. A. 2002. Body burdens and tissue concentrations of organochlorines in polar bears (*Ursus maritimus*) vary during seasonal fasts. *Environmental Pollution*, 118: 29-39.

Ponz-Louro, M. 1995. *Estratégias e táticas reprodutivas de elasmobrânquios no ecossistema de Ubatuba, SP, Brasil*. Dissertação de Mestrado em Oceanografia, área Oceanografia Biológica, Universidade de São Paulo-SP. 2 vols

Qiu, X.; Zhu, T.; Yao, B.; Hu, J.; Hu, S. 2005. Contribution of dicofol to the current DDT pollution in China. *Environmental Science and Technology*, 39: 4385-4390.

Qiu, X. & Zhu, T. 2010. Using the o,p'-DDT/p,p'-DDT ratio to identify DDT sources in China. *Chemosphere*, 81: 1033-1038.

Quinete, N.; Lavandier, R.; Dias, P.; Taniguchi, S.; Montone, R. 2011. Specific profiles of polybrominated diphenylethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in fish and tucuxi dolphins from the estuary of Paraíba do Sul River, Southeastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin (Baseline)*, 62: 440–446.

Rajendren, R. B.; Karunagaran, V. M.; Babu, S.; Subramanian, A. N. 1992. Leves of chlorinated insecticides in fishes from the bay of Bengal. *Marine Pollution Bulletin*, 24 (11): 567-570.

Rosenfelder, N.; Lehnert, K.; Kaffarnik, S.; Torres, J. P. M.; Vianna, M.; Vetter, W. 2012. Thorough analysis of polyhalogenated compounds in ray liver samples off the coast of Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 19: 379-389.

Schlenk, D.; Sapozhnikova, Y.; Cliff, G. 2005. Incidence of organochlorine pesticides in muscle and liver tissues of South African great white sharks *Carcharodon carcharias*. *Marine Pollution Bulletin (Baseline)*, 50: 208–236.

SEMADS (Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável), 2001. *Bacias Hidrográficas e Recursos Hídricos da Macrorregião 2 – Bacia da Baía de Sepetiba*. SEMADS, 79 p.

Semeniuk, C. A. D. & Dill, L. M. 2006. Anti-predator benefits of mixed-species groups of cowtail stingrays (*Pastinachus sephen*) and whiprays (*Himantura uarnak*) at rest. *Ethology*, 112: 33–43.

Semeniuk, C. A. D. & Rothley, K. D. 2008. Costs of groupliving for a normally solitary forager: effects of provisioning tourism on southern stingrays *Dasyatis americana*. *Marine Ecology Progress Series*, 357: 271–282.

Serrano, R.; Fernández, M. A.; Hernández, L. M.; Hernández, M.; Pascual, P.; Rabanal, R. M.; González, M. J. 1997. Coplanar Polychlorinated Biphenyl Congeners in Shark Livers from the North-Western African Atlantic Ocean. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 58: 150-157.

Silliman, W. R. and Gruber, S. H. 1999. Behavioral biology of the spotted eagle ray, *Aetobatus narinari* (Euphrasen, 1790), in Bimini, Bahamas; an interim report. *Bahamas Journal of Science*, 7: 13–20.

Solé, M.; Porte, C.; Albaiges, J. 2001. Hydrocarbons, PCBs and DDT in the NW Mediterranean deep-sea fish *Mora moro*. *Deep-Sea Research (Part I)*, 48: 495-513.

Solé, M.; Manzanera, M.; Bartolomé, A.; Caixach, J. 2013. Persistent organic pollutants (POPs) in sediments from fishing grounds in the NW Mediterranean: Ecotoxicological implications for the benthic fish *Solea sp.* *Marine Pollution Bulletin*, 67: 158-165.

Speers-Roesch, B. & Treberg, J. R. 2010. The unusual energy metabolism of elasmobranch fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology (Part A)*, 155: 417-434.

Spitz, J.; Mourocq, E.; Choen, V.; Ridoux, V. 2010. Proximate composition and energy content of forage species from the Bay of Biscay: high- or low-quality food? *ICES Journal of Marine Science*, 67: 909-915.

Stefanelli, P.; Ausili, A.; Di Muccio, A.; Fossi, C.; Di Muccio, S.; Rossi, S.; Colasanti, A. 2004. Organochlorine compounds in tissues of swordfish (*Xiphias gladius*) from Mediterranean Sea and Azores islands. *Marine Pollution Bulletin*, 49 (11-12): 938-950.

Stevens, J. D.; Bonfil, R.; Dulvy, N. K.; Walker, P. A. 2000. The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (Chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57: 476-494.

Storelli, M. M. & Marcotrigiano, G. O. 2001. Persistent organochlorine residues and toxic evaluation of polychlorinated biphenyls in sharks from the Mediterranean Sea (Italy). *Marine Pollution Bulletin*, 42: 1323–1329.

Storelli, M. M.; Giacomini-Stuffler, R.; Storelli, A.; Marcotrigiano, G. O. 2003a. Polychlorinated biphenyls in seafood: contamination levels and human dietary exposure. *Food Chemistry*, 82: 491–496.

Storelli, M. M.; Ceci, E.; Storelli, A.; Marcotrigiano, G. O. 2003b. Polychlorinated biphenyl, heavy metal and methylmercury residues in hammerhead sharks: contaminant status and assessment. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 1035–1048.

Storelli, M. M.; Giacomini-Stuffler, R.; D'Addabbo, R.; Marcotrigiano, G. O. 2003c. Health risk of coplanar polychlorinated biphenyl congeners in edible fish from the Mediterranean Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71: 276-282.

Storelli, M. M.; Giacomini-Stuffler, R.; D'Addabbo, R.; Marcotrigiano, G. O. 2003d. Health risk of coplanar polychlorinated biphenyl congeners in edible fish from the Mediterranean Sea. *Journal of Food Protection*, 66 (11): 2176-2179.

Storelli, M. M.; Storelli, A.; D'Addabbo, R.; Barone, G.; Marcotrigiano, G. O. 2004. Polychlorinated biphenyl residues in deep-sea fish from Mediterranean Sea. *Environment International*, 30: 343–349.



Storelli, M. M.; Storelli, A.; Marcotrigiano, G. O. 2005. Concentrations and hazard assessment of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in shark liver from the Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 850–855.

Storelli, M. M.; Barone, G.; Santamaria, N.; Marcotrigiano, G. O. 2006. Residue levels of DDTs and toxic evaluation of polychlorinated biphenyls (PCBs) in *Scyliorhinus canicula* liver from the Mediterranean Sea (Italy). *Marine Pollution Bulletin*, 52: 696–718.

Storelli, M. M.; Barone, G.; Storelli, A.; Marcotrigiano, G. O. 2011a. Levels and congener profiles of PCBs and PCDD/Fs in blue shark (*Prionace glauca*) liver from the South-Eastern Mediterranean Sea (Italy). *Chemosphere*, 82: 37-42.

Storelli, M. M.; Perrone, V. G.; Barone, G. 2011b. Organochlorine residues (PCBs and DDTs) in two Torpedinid species liver from the Southeastern Mediterranean Sea. *Environmental Science and Pollution Research*, 18:1160–1165

Strandberg, B.; Bandh, C.; van Bavel, B.; Bergqvist, P. A.; Broman, D.; Naf, C.; Pettersen, H.; Rappe, C. 1998. Concentrations, biomagnification and spatial variation of organochlorine compounds in a pelagic food web in the northern part of the Baltic Sea. *Science of the Total Environment*, 217 (1-2): 143-54.

Strid, A.; Jörundsdóttir, H.; Pöpke, O.; Svavarsson, J.; Bergman, A. 2007. Dioxins and PCBs in Greenland shark (*Somniosus microcephalus*) from the North-East Atlantic. *Marine Pollution Bulletin*, 54: 1514–1522.

Tanabe, S.; Kannan, N.; Subramanian, A.; Watanabe, S.; Ono, M.; Tatsukawa, R. Occurrence and distribution of toxic coplanar PCBs in the biota. *Chemosphere*, 16 (8-9): 1965-1970.

Tanabe, S.; Subramanian, A. N.; Ramesh, A.; Kumaran, P.; Miyazaki, N.; Tatsukawa, R. 1993. Persistent organochlorine residues in dolphins from the bay of Bengal, South India. *Marine Pollution Bulletin*, 26 (6): 311-316.

Teixeira, C. R. 2006. As transformações na Baía de Ilha Grande. *Revista de Ciências Humanas, Taubaté*, 12 (2): 41-51.

UNEP (United Nations Environment Programme). 2002. *Regionally Based Assessment of Persistent Toxic Substances. Eastern and Western South America Regional Report. UNEP Chemicals 11-13, Switzerland, 102 p.*

UNEP (United Nations Environment Programme). 2010. *Report of the Expert Group on the Assessment of the Production and Use of DDT and its Alternatives for Disease Vecto Control. Third Meeting of the Expert Group on the Assessment of the Production and Use of DDT and its Alternatives for Disease Vecto Control. Geneva, 10-12 November 2010, 23 p.*

Viana, A. F. 2013. *Hábitos alimentares e análise de sobreposição trófica de elasmobrânquios, no litoral sul do Rio de Janeiro, Brasil.* Dissertação de Mestrado em Oceanografia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 91 p.

Vidal, L. G. 2010. *O uso do boto-cinza (Sotalia guianensis) como sentinela da poluição ambiental por compostos organoclorados (DDT, PCB, HCH, HCB e Mirex) em baías costeiras do Estado do Rio de Janeiro.* Dissertação de Mestrado em Oceanografia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 87 p.

Wade, T. L. & Cantillo, A. Y. 1994. *Use of standards and reference materials in the measurement of chlorinated hydrocarbon residues. Chemistry Workbook. NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 77, Silver Spring, Maryland, 59 p.*

Wang, J.; Liu, Y.; Tian, L.; Mai, K.; Du, Z.; Wang, Y.; Yang, H. 2005. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 249: 439-447.

Wania, F. & Mackay, D. 1993. Global fractionation and cold condensation of low volatility organochlorine compounds in polar regions. *Ambio*, 22 (1): 10-18.

Wania, F. & Mackay, D. 1996. Tracking the distribution of persistent organic pollutants. *Environmental Science & Technology*, 30 (9): 390-396.

WHO (World Health Organization). 1979. *DDT and its Derivatives*. **Environmental Health Criteria, Geneva, volume 9.**

WHO (World Health Organization). 1990. *Environmental Health Criteria for PCBs and PCTs*. **International Register of Toxic Chemicals; Switzerland.**

Yogui, G. T. 2002. *Ocorrência de compostos organoclorados (pesticidas e PCBs) em mamíferos marinhos da costa de São Paulo (Brasil) e da Ilha Rei George (Antártica)*. Dissertação de Mestrado em Ciências, área de Oceanografia Química e Geológica, Universidade de São Paulo. 139 p.

Zar, J. H. 1999. *Biostatistical analysis*. **Prentice Hall, Upper Sadle River, 929 p.**

Zembruski, S. 1979. Geomorfologia da margem continental sul brasileira e das bacias oceânicas adjacentes. pp. 129-177. *In*: PROJETO REMAC. *Geomorfologia da margem continental brasileira e das demais regiões oceânicas adjacentes*. PETROBRAS. CENPES. DINTEP (Série REMAC n°7), Rio de Janeiro.