

4

Parte experimental

4.1.

Coleta dos peixes

Os peixes dos diferentes locais de coleta foram capturados por diferentes tipos de pesca, tanto por rede de arrasto quanto por captura em curral. Ao serem coletados, os peixes foram imediatamente colocados em recipientes de isopor contendo gelo e transportados ao laboratório, para análise. As coletas de Magé – Praia de Ipiranga foram acompanhadas por membros do LEATOX, onde os peixes foram coletados diretamente dos currais. Já nos outros locais de coleta, este acompanhamento não foi possível, porém os peixes estavam frescos ao serem coletados, e alguns ainda vivos.

4.2.

Espécies estudadas

As espécies estudadas foram escolhidas para este trabalho por serem de importância econômica e de consumo em grande quantidade pela população em geral, além de ser facilmente manipuláveis em laboratório, para exame, visualização e retirada dos órgãos e das secreções utilizadas neste estudo. Também foi levada em conta a facilidade de obtenção das três espécies em cada local de coleta.

As espécies foram identificadas de acordo com literatura especializada (Carvalho-Filho, 1999; Figueiredo & Menezes, 1978; Nelson, 1994). Os dados relativos às espécies também foram correlacionados ao sítio Fishbase (www.fishbase.org), que contém informações completas e acuradas de textos científicos, permitindo maior confiabilidade das identificações taxonômicas realizadas.

As espécies estudadas foram Tainhas (*Mugil liza*), Acarás (*Geophagus brasiliensis*) e Tilápias (*Tilapia rendalli*).

a) *Mugil liza* (Valenciennes, 1836) – Tainha

Os peixes da família Mugilidae têm ampla distribuição, ocorrendo em águas tropicais e subtropicais de todo o mundo, principalmente nas regiões costeiras estuarinas (Fishbase, 2008). No sudeste do Brasil ocorre apenas o gênero *Mugil*, representado por sete espécies (Menezes, 1983).

Os mugilídeos são peixes encontrados e capturados com grande facilidade nas lagunas e costa do Rio de Janeiro, são bastante utilizados para consumo e sua ova tem grande valor econômico (Bastos, 2006).

A tainha é considerada um peixe de nicho ecológico baixo na cadeia trófica, fazendo parte da família Mugilidae. Possui corpo normal ou um pouco alongado, coberto por escamas ciclóides de coloração olivácea escura no dorso, flancos prateados e ventre branco. Apresenta duas nadadeiras dorsais, a primeira com raios espinhosos que podem ser dorsais anais ou ventrais. Esses raios podem ser moles e segmentados. É um teleósteo, com bexiga natatória geralmente sem ligação com o estômago por meio de canal aéreo (Suzuki, 1986). A tainha mede normalmente de 30 – 40 cm e os indivíduos desta espécie atingem a maturidade sexual quando alcançam os 40 cm (Suzuki, 1986; Menezes, 1983). Esta é uma espécie fitófaga e planctívora, que se alimenta próximo ao sedimento de limos, algas e matéria orgânica minúscula (Suzuki, 1986, Kehrig *et al.*, 2002).

É um peixe comum no litoral brasileiro, com uma população equilibrada ao longo do ano aparecendo em grandes cardumes sendo, portanto, consumida frequentemente pela população. A tainha possui uma particularidade interessante, que é a de viver em diversas salinidades se dividindo, portanto, entre água do mar e as águas doces ou salobras de lagoas litorâneas e estuários (Suzuki, 1986).

A espécie é pelágica, vivendo na coluna d'água ou na superfície. Os jovens permanecem no estuário, ambiente calmo, abrigado e rico em alimentos, até que suas gônadas iniciem a maturação. Sua desova acontece em alto mar, porém uma fase estuarial é obrigatória para os juvenis, à qual se segue o período de migração reprodutiva para o mar (Bizerril & Costa, 2001).

Devido a estas características, a espécie *Mugil liza* foi uma das escolhidos como biomonitor para este estudo.

Sua classificação taxonômica é dada por:

Reino Animalia

Filo Chordata

Classe Osteichthyes

Subclasse Actinopterygii

Subdivisão Teleostei

Ordem Perciformes

Família Mugilidae

Gênero *Mugil* Linnaeus, 1758

Espécie *Mugil liza* Valenciennes, 1836

Nome científico *Mugil liza* Valenciennes, 1836

b) *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) - Acará

Esta espécie pertence à família Cichlidae, uma das famílias entre os vertebrados com maior número de espécies conhecidas, cerca de 1300, com distribuição natural restrita à América do Sul e Central, África e Índia (Kullander, 2003; Lowe-McConnel, 1999). Os ciclídeos são representados por peixes muito versáteis, territorialistas e resistentes, com predileção por ambientes lênticos, principalmente lagos e lagoas. Quanto à alimentação, são onívoros e possuem hábitos muito diversificados, podendo se alimentar de detritos, sedimentos, frutos/sementes, peixes, gastrópodos, microcrustáceos e larvas de insetos (Costa, 1987).

O acará, popularmente denominado de cará, acará ou papa-terra, é uma das espécies mais comuns no Brasil, bem adaptada ao clima tropical e com elevada capacidade de adaptação a ambientes lênticos e elevadas abundâncias em lagos e reservatórios do Estado do Rio de Janeiro. Distribuída pela costa leste a sul do país, a espécie habita ecossistemas dulcícolas e pode ser considerada adulta quando atinge 18 cm de comprimento.

Devido a estas características, a espécie *Geophagus brasiliensis* foi umq das escolhidos como biomonitor para este estudo.

Sua classificação taxonômica é dada por:

Reino Animalia

Filo Chordata

Classe Osteichthyes

Subclasse Actinopterygii

Subdivisão Teleostei

Ordem Perciformes

Família Cichlidae

Gênero *Geophagus* Heckel, 1840

Espécie *Geophagus brasiliensis* Quoy & Gaimard, 1824

Nome científico *Geophagus brasiliensis* Quoy & Gaimard, 1824

c) *Tilapia rendalli* (Boulenger, 1896) - Tilápia

As tilápias são peixes de água doce, pertencentes à família Cichlidae, originárias da África (Appleyard *et al.*, 2001); atualmente, são cultivadas em vários países do mundo (Dey & Gupta, 2000). De acordo com Hilsdorf (1995), as tilápias exibem vantagens que as tornam um grupo de peixes de interesse mundial: alimentam-se da base da cadeia trófica, aceitam variedade de alimentos e apresentam resposta positiva à fertilização em viveiros. São bastante resistentes a doenças, ao superpovoamento e a baixos níveis de oxigênio dissolvido. Estão amplamente distribuídas pelo território brasileiro e são cultivadas nos mais diversos sistemas de produção. Embora considerada por muitos como de hábito alimentar herbívoro, alimentando-se principalmente de folhas de vegetais superiores, é também uma espécie planctófaga (Bassay *et al.*, 1997).

A cabeça e o corpo desta espécie possuem coloração verde-oliva escura dorsalmente, o corpo geralmente com barras verticais negras apenas. A nadadeira dorsal é verde-oliva com uma pequena margem vermelha e branca até cinza-escuro com pontos oblíquos. A nadadeira caudal é pontuada na porção dorsal e vermelho ou amarela na porção ventral. Esta espécie pode atingir um máximo de 45 cm de comprimento e pesar 2,5 kg (Instituto Horus, 2008).

Devido a estas características, a espécie *Tilapia rendalli* foi uma das escolhidos como biomonitor para este estudo.

Sua classificação taxonômica é dada por:

Reino Animalia

Filo Chordata

Classe Osteichthyes

Subclasse Actinopterygii

Subdivisão Teleostei

Ordem Perciformes

Família Cichlidae

Gênero *Tilapia* Smith, 1840

Espécie *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896

Nome científico *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896

4.3.

Análises biométricas e morfológicas dos peixes estudados

Para as análises morfológicas e ultra-estruturais foram coletados exemplares de *Mugil liza*, *Geophagus brasiliensis* e *Tilapia rendalli* nos locais de coleta estabelecidos, nos meses de Agosto de 2006 a Janeiro de 2007 e Agosto de 2007 a Maio de 2008.

Após identificação das espécies utilizando chaves taxonômicas, foram realizadas as análises biométricas (figura 6), incluindo a pesagem dos indivíduos, e os seguintes parâmetros morfométricos:

- a) Comprimento total (Lt): corresponde à distância da ponta do focinho até a maior extremidade da nadadeira caudal;
- b) Comprimento padrão (Lp): corresponde à distância da ponta do focinho até a porção distal do pedúnculo caudal (base dos raios da nadadeira caudal);
- c) Comprimento da cabeça (Lc): corresponde à distância da ponta do focinho até a margem posterior do opérculo;
- d) Altura da cabeça (Ac): corresponde à distância vertical, em ângulo reto com o eixo longitudinal do peixe, do topo da caixa craniana até a mandíbula.

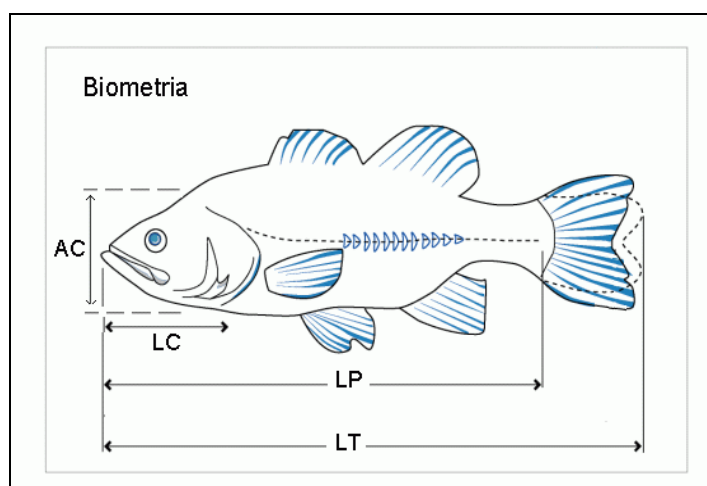


Figura 6. Representação esquemática das medições morfométricas realizadas.

Estas medições permitem o cálculo do Índice Gonadosomático (IGS), do Índice Hepatosomático (IHS) e o Fator de Condição dos peixes.

De cada indivíduo foram coletados o fígado e as gônadas (quando possível), para preparo de lâminas histológicas; e encéfalos, para preparo de fração enzimática de acetilcolinesterase.

As medidas foram feitas utilizando um ictiômetro e um paquímetro com 1 mm de precisão, calibrados pela Rede Brasileira de Calibração (RBC). Na pesagem foi utilizada uma balança analítica (MARTE®) também calibrada pela Rede brasileira de Calibração (RBC)

Quando possível, foi realizada a sexagem dos exemplares, utilizando a escala a seguir, descrita por Vazzoler (1982), para identificar os estágios de maturação gonadal dos peixes capturados:

a) Imaturo: os ovários são muito pequenos, filamentosos, translúcidos e sem sinal de vascularização; não se observam ovócitos a olho nu. Os testículos também se encontram reduzidos, filamentosos e com posição semelhante à dos ovários;

b) Em maturação: os ovários se tornam maiores, ocupando de 1/3 a 2/3 da cavidade abdominal, intensamente vascularizados. A olho nu observa-se ovócitos opacos, pequenos e médios. Os testículos também se apresentam desenvolvidos, com forma lobulada.

c) Maduro: os ovários aparecem túrgidos, ocupam de 2/3 a praticamente toda a cavidade abdominal, sendo visível um grande número de ovócitos grandes opacos e/ou translúcidos, cuja frequência varia de acordo com o grau de maturação sexual da espécie.

Os testículos também aparecem túrgidos, ocupando quase que totalmente a cavidade abdominal.

d) Esvaziado: os ovários apresentam-se flácidos, com membranas distendidas de tamanho relativamente grande, mas não volumosos, ocupando menos da metade da cavidade abdominal. Observam-se poucos ovócitos em estado de absorção, podendo formando glóbulos esbranquiçados. Há a presença de zonas hemorrágicas bem visíveis, com os vasos sanguíneos dilatados. Os testículos também se apresentam flácidos, com aspecto hemorrágico.

e) Em repouso: os ovários se apresentam reduzidos, ocupando cerca de 1/3 da cavidade abdominal, porém sendo claramente maiores que os imaturos. São translúcidos, com fraca vascularização, não se observando ovócitos a olho nu.

As proporções sexuais de cada espécie estão descritas e/ou ilustradas nos tópicos de estatísticas descritivas de cada espécie.

4.4.

Cálculo do IGS, IHS e Fator de Condição

O Índice Gonadosomático (IGS), o Índice hepatossomático (IHS) e o Fator de Condição foram calculados de acordo com Vazzoler (1981), da seguinte forma:

- $IGS = \frac{W_G}{W_T}$; onde IGS = Índice Gonadosomático; W_G = peso da gônada (g) e W_T = peso total do peixe (g).
- $IHS = 100 \frac{W_F}{W_T}$; onde W_F = peso do fígado (g) e W_T = peso total do peixe (g);
- $F_C = 100 \frac{W_T}{L_T^3}$; onde W_T = peso total do peixe (g) e L_T = comprimento total do peixe (cm).

4.5.

Retirada da bÍlis

Após realizada a morfometria dos peixes, foi feita uma incisão na face ventral do peixe, com tesoura cirúrgica, iniciando pelo poro urogenital e terminando nos rastros branquiais. A vesícula biliar foi localizada (figura 7) e a bÍlis foi retirada com auxílio de

seringas de 3 mL, colocada em eppendorfs de 2 mL e armazenada em geladeira (10° C) até que a bÍlis de todos os peixes tivesse sido retirada. O volume de bÍlis e sua coloração foram anotados para futuras referências, utilizando uma escala de cor montada ao longo deste trabalho (figura 8).

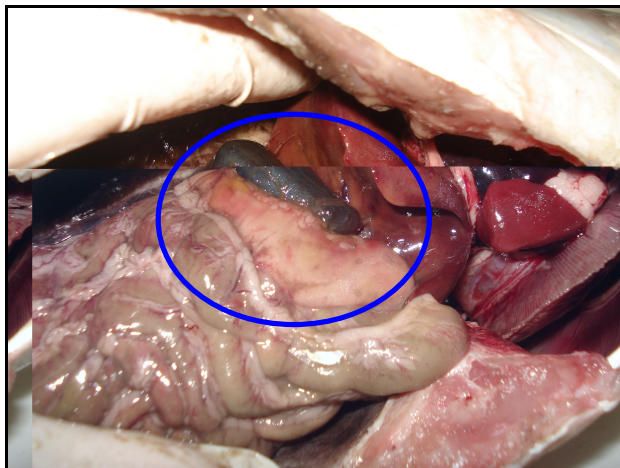


Figura 7. Localização da vesícula biliar de um dos peixes em estudo.

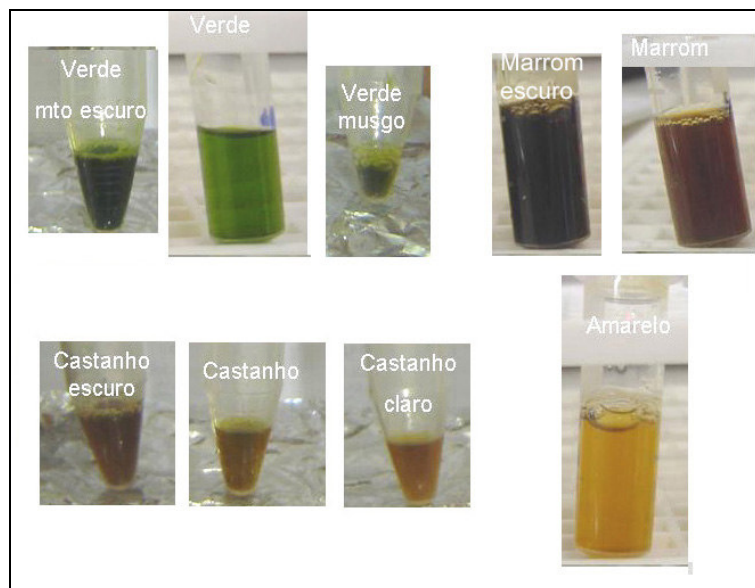


Figura 8. Escala de cor de bÍlis de peixes utilizada ao longo deste trabalho.

4.6. Retirada dos encéfalos

Para expor e/ou retirar o encéfalo do peixe é necessário abrir uma janela no teto do crânio. As incisões são feitas com cuidado para não destruir as membranas que envolvem o encéfalo.

A retirada dos encéfalos seguiu o procedimento descrito por Höfling *et al.* (1995). Com auxílio de uma faca elétrica, foi aberta uma janela no teto do crânio dos peixes. Utilizando tesouras cirúrgicas, os tecidos ao redor do encéfalo foram cortados, e empurrados para o lado com pinças histológicas de ponta romba (figuras 9 e 10). Os encéfalos foram então retirados, descolando-os do assoalho do crânio com o auxílio de pinças histológicas de ponta romba e tesouras cirúrgicas. Os nervos ópticos foram cortados o mais distalmente possível do encéfalo, para que o encéfalo se soltasse na sua porção rostral, podendo ser levantado em direção caudal. A medula espinal foi seccionada o mais distalmente possível do encéfalo, para preservar o maior número de nervos cranianos. Os encéfalos, ao ficarem totalmente livres da caixa craniana, foram então retirados.

A camada de gordura presente foi removida ao máximo, para evitar interferências nas leituras. Após o procedimento descrito acima, os encéfalos foram lavados em água destilada (4º C) e congelados em freezer até uso.

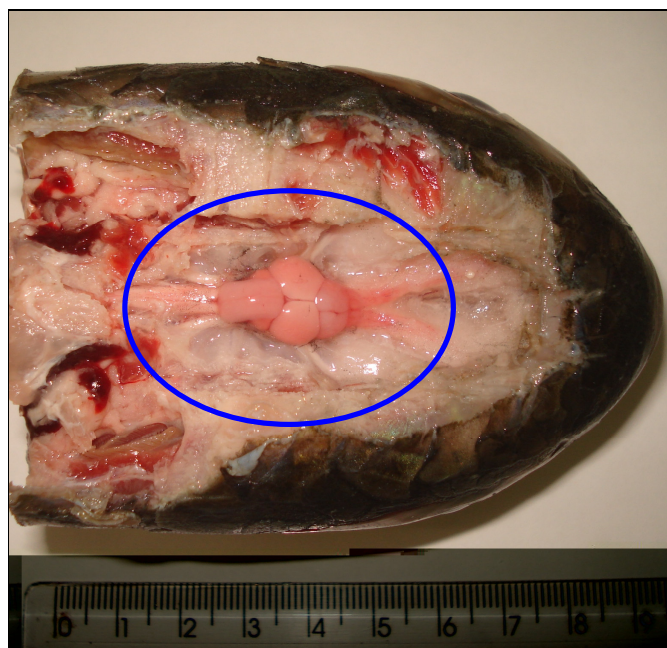


Figura 9. Vista dorsal mostrando a localização do encéfalo de tainha (*Mugil liza*) “*in vivo*”.



Figura 10. Encéfalo de tainha (*Mugil liza*) "in vivo", vista dorsal.

Observa-se na figura 11 uma representação esquemática do encéfalo de peixe e as suas estruturas.

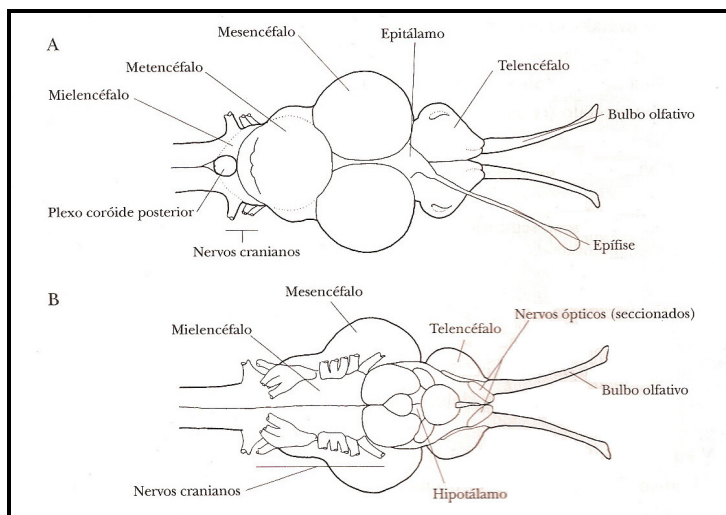


Figura 11. Representação esquemática de encéfalo de peixe e suas estruturas, (A) vista dorsal e (B) ventral. (Fonte: Höfling *et al*, 1995).

4.7.

Preparo da fração enzimática de Acetilcolinesterase a partir de encéfalos de *Mugil Liza*

A metodologia utilizada para o preparo da fração enzimática de Acetilcolinesterase foi baseada no procedimento descrito por Moura (1998), com modificações, onde as atividades são quantificadas com base na metodologia de Ellman e colaboradores (1961).

Os encéfalos de peixe já retirados e lavados foram cortados em pequenos pedaços e homogeneizados em 5,5 vezes o seu peso de água destilada a 4º C por grama de

tecido durante 2 minutos, em homogeneizador tipo Potter. Este homogeneizado foi centrifugado a 20.000 x g por 1 hora. O sobrenadante resultante teve seu volume medido e foi então descartado, e a fração sedimentada foi solubilizada em 2 vezes o volume de sobrenadante de solução de Triton X-100 a 1,0% e agitada por 1 hora, em temperatura de 25°C. O volume da solução de Triton adicionado corresponde ao dobro do volume do sedimento resultante da centrifugação, obtido ao calcular a diferença entre os volumes do homogeneizado e do sobrenadante. Ao término da agitação centrifugou-se novamente a amostra, nas mesmas condições iniciais, de 20.000 x g, por 2 horas. O sobrenadante final foi coletado e azida sódica 0,02% (0,02 g /100 mL de sobrenadante) foi adicionada à amostra, para evitar contaminações por bactérias. Esta fração pode ser mantida na geladeira por um período de até seis meses (Cunha Bastos *et al.*, 1991).

Foram realizados testes enzimáticos para determinar se HPA inibem ou não a atividade da acetilcolinesterase no encéfalo de peixes, e qual o tipo de inibição que ocorre.

Foram preparadas frações enzimáticas de apenas uma espécie, *Mugil liza* (tainha), pois os encéfalos das outras duas espécies são muito pequenos, necessitando de um grande número de exemplares para obter uma quantidade aceitável de amostras para centrifugação, e o número de indivíduos capturados de Acarás e Tilápias foi pequeno em relação às tainhas.

As amostras analisadas foram provenientes de São Gonçalo, Magé – Praia de Ipiranga e Itaipu. Este último local foi utilizado como grupo controle (dos extratos de peixe), por não existir ter histórico de contaminações neste local, ao contrário dos outros dois locais de coleta, onde existe histórico de contaminações por HPA.

4.7.1.

Testes enzimáticos para determinação do efeito de HPA na atividade da Acetilcolinesterase

Foram preparadas soluções estoque de padrões de Fenantreno (Acros Organics, pureza ≥99%), Naftaleno (Acros Organics, pureza ≥99%), Pireno (Acros Organics, pureza ≥99%), 1-Hidroxi-pireno (AccuStandard, pureza ≥99%), Criseno (AccuStandard, pureza ≥99%) e 2-Naftol (Chem Service, pureza ≥99%), em Etanol P.A. a 100% (Merck), pesando aproximadamente 1 mg de cada HPA e avolumando a 25 mL. Os testes foram realizados em triplicata.

Alíquotas (10 µL) destas soluções foram evaporados à secura em tubos de ensaio, e então ressuspensos em 12 µL de acetilcolinesterase extraída de encéfalos dos peixes da espécie *Mugil liza* coletados neste trabalho e 68 µL de solução tampão de fosfato de sódio 0,2 mol L⁻¹. Os tubos contendo esta solução de incubação foram colocados em banho-maria, a 37° C, por 2 horas. A seguir, foram adicionados a cada tubo 160 µL de DTNB (reativo de cor) e 160 µL de acetiltiocolina (substrato) para iniciar a reação de quebra/degradação da molécula de tiocolina (o padrão disponível comercialmente é a acetiltiocolina, e não a acetilcolina, que ocorre no organismo vivo, portanto este padrão foi o utilizado neste estudo). Após serem adicionadas estas substâncias, cada amostra foi então colocada em uma microplaca de 96 poços e foi feita a leitura imediata em leitor de ELISA (Vítor R³ – PERKIN ELMER). Foram utilizados filtros de 405 nm (com extensão a 415 nm) e de 420 nm durante 3 minutos.

A atividade da acetilcolinesterase (AChE) foi determinada pela variação da absorvância por minuto em cada amostra incubada. A atividade máxima da AChE (sem inibição alguma) foi determinada utilizando incubações controle, com apenas a AChE em tampão de fosfato de sódio, sem a presença dos HPA, nas mesmas condições de pH e temperatura do restante das amostras.

Os valores de atividade obtidos a partir extratos de encéfalos de peixes foram comparados aos valores obtidos a partir de extrato de encéfalos de rato, que possuem atividade conhecida, cedidos pelo Laboratório de Toxicologia Enzimática do Instituto de Biologia da UERJ.

4.8.

Absorção molecular da biliverdina

As amostras de bilis foram diluídas a 1% em água destilada e a absorvância foi medida em 380 nm, que é o comprimento de onda de maior absorvância da biliverdina (Vuorinen, 2006), utilizando um espectrofotômetro UV-visível PERKIN-ELMER Lambda 19. As concentrações de biliverdina foram comparadas às concentrações de compostos fluorescentes totais em equivalentes de 1-Hidroxi-Pireno de amostras analisadas por espectrofluorimetria, em trabalhos anteriores realizados no Laboratório de Estudos Ambientais, para verificar se a normalização destes dados é válida.

Neste trabalho foram utilizadas soluções de um padrão de Biliverdina dihidrocloreto (MP Biomedicals; M.M = 655,6 g) com diluição de 1:100 v/v do líquido biliar

em etanol 48%, de acordo com Ariese *et al.*, 1997; Aas *et al.*, 2000 e Richardson *et al.*, 2004).

O limite de detecção, definido como o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado pelo método, e quantificação, definido como a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de exatidão e precisão do método, foram calculados de acordo com Ribani (2004), que utiliza uma metodologia baseada nos parâmetros da curva analítica.

Portanto, o cálculo do limite de detecção do espectrofotômetro é dado pela equação abaixo:

$$LD = \frac{3 * s}{S}, \text{ onde:}$$

- s é a estimativa do desvio-padrão da equação da linha de regressão;
- S é a inclinação da reta.

O limite de quantificação, também foi calculado pela mesma metodologia baseada nos parâmetros da curva analítica, dada pela equação:

$$LQ = \frac{10 * s}{S}, \text{ onde:}$$

- s é a estimativa do desvio-padrão da equação da linha de regressão;
- S é a inclinação da reta.

4.8.1.

Curva analítica de solução de biliverdina em etanol 48%

As curvas analíticas foram feitas a partir de soluções padrão de biliverdina, pesando-se aproximadamente 1 mg de padrão de biliverdina em balança analítica. Esta massa foi solubilizada em etanol 48% e avolumada em balão volumétrico a 10 mL. A partir da solução-estoque, foram preparadas soluções diluídas de concentrações na faixa de 5, 10, 20, 40, 50 e 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A medição das soluções foi realizada em espectrofotômetro.

4.9.

Análise das bílis de peixe para determinação de metais por absorção atômica

As bílis foram analisadas por absorção atômica em forno de grafite com lâmpada de catodo oco, Analytik Jena, modelo Zeenith 60, no Laboratório de Absorção Atômica do Departamento de Química da PUC-Rio. Esta técnica utiliza basicamente o princípio de que átomos livres (estado gasoso) podem absorver a luz em um certo comprimento de onda. A absorção é específica a cada elemento.

4.10.

Limpeza do Material Utilizado

Toda a vidraria utilizada no armazenamento da bílis e no preparo das soluções utilizadas foi lavada com detergente (Detertec 5%) e enxaguada com água. Após este procedimento, todo o material foi enxaguado com água deionizada e rinsado com etanol. As micro-placas não foram reutilizadas para evitar interferências nas leituras da atividade da AChE.

Observa-se na figura 12 um fluxograma com todos os passos da parte experimental deste trabalho.

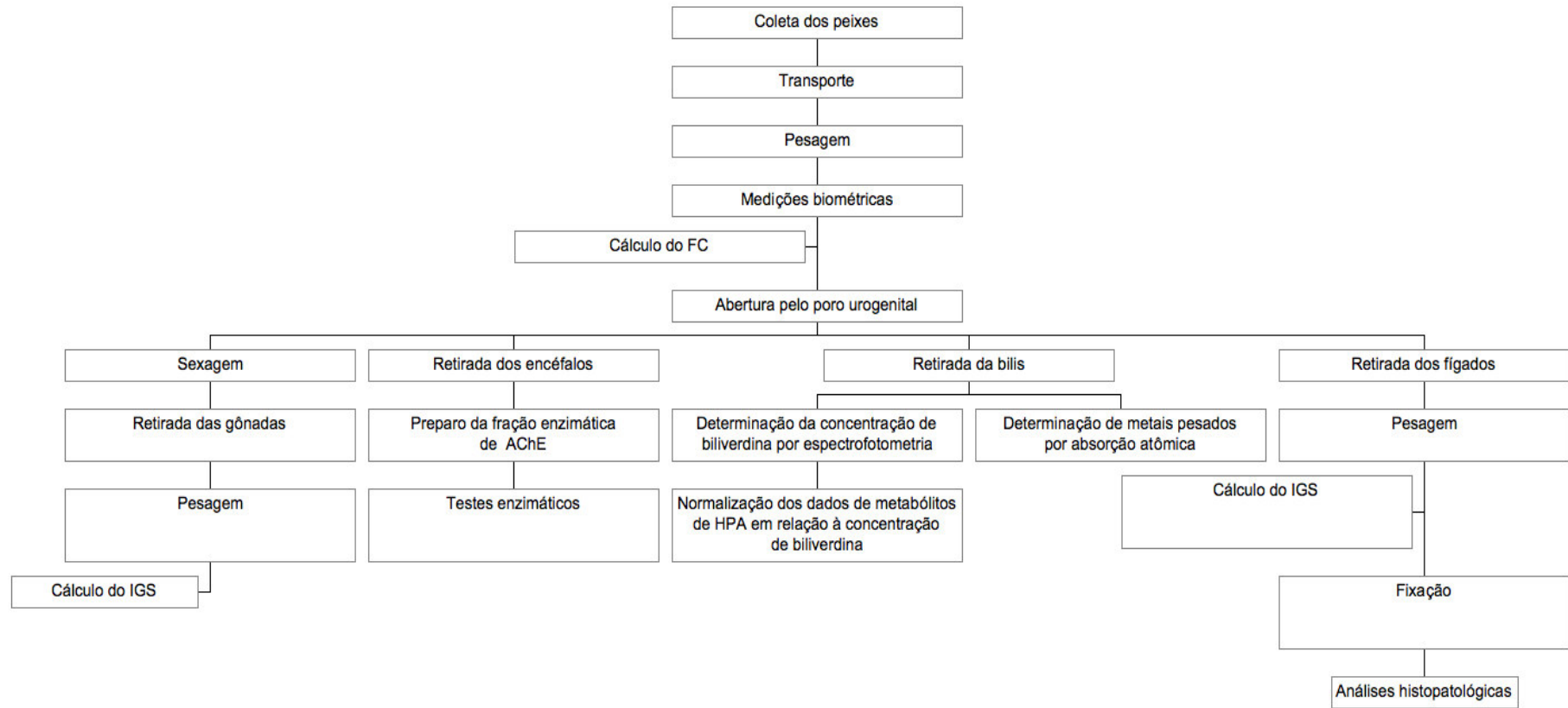


Figura 12. Fluxograma ilustrando todos os passos da parte experimental deste trabalho.

4.11. Análises estatísticas dos dados

4.11.1. Análise de correspondência

É uma técnica multivariada utilizada para examinar as relações entre variáveis nominais que contêm numerosas categorias. Permite analisar a relação entre as duas variáveis graficamente em um espaço multidimensional, de modo que se possa verificar que categorias de uma variável são similares às outras ou quais categorias das duas variáveis são relacionadas. Para isso utiliza-se uma tabela de correspondência (ou tabela de contingência) e a Análise de Correspondência mostra as relações entre as linhas e colunas da mesma.

O objetivo da Análise de Correspondência é encontrar uma configuração em que as distâncias entre os pontos da linha no gráfico sejam iguais às distâncias calculadas nos perfis. As distâncias que a Análise de Correspondência aproxima são distâncias ponderadas baseadas no conceito de “MASS”, que é uma medida que indica a influência de um objeto baseada em sua frequência marginal. Pontos com grande “MASS”, puxam fortemente o centróide linha (média do perfil linha), para sua localização, ou seja, tende a ficar no centro da distribuição.

A Inércia total é definida como a soma ponderada de todas as distâncias do centróide pela soma de todas as células na tabela de correspondência. Assim a inércia total pode representar a soma através dos componentes de todas as distâncias à origem. É possível distribuir a Inércia entre os componentes. O primeiro componente mostra a maior quantidade de inércia, seguindo-se o segundo componente, e assim por diante. Pode-se então avaliar a inércia para cada componente em relação à inércia total. Para se ter uma idéia sobre as relações entre as variáveis linha e coluna faz-se a projeção ortogonal de cada ponto coluna em direção aos pontos de linha. A distância a partir da interseção as duas linha ao ponto de coluna, fornece uma indicação de como as categorias das duas variáveis são relacionadas uma com a outra.

4.11.2. Teste de Hipóteses

Foram conduzidos testes de hipóteses com a estatística t de Student considerando as variâncias não-homogêneas com os dados dos Fatores de Condição das tainhas, para

verificar se existe ou não diferença significativa entre as médias dos fatores de condição entre os indivíduos de cada local de coleta.

4.11.3. Análise por Levene

Esta análise testa se as variâncias de grupos de dados são homogêneas ou não, e foi utilizada para analisar a igualdade de variância do conjunto de dados relativos aos Fatores de Condição das tainhas entre os diferentes locais de coleta.

4.11.4. Teste de Pearson

O teste qui-quadrado de Pearson testa a hipótese nula de que a distribuição de frequência de certos eventos observados em uma amostra é consistente com uma distribuição em particular, teórica. Os eventos considerados devem ser mutualmente exclusivos e ter probabilidade total de 1. Calcula-se um valor p , que, se for igual ou menor a 0,05 é interpretado como a não-existência de correlação entre as variáveis.