

## 5 Resultados e Discussão

### 5.1. Distribuição das três espécies coletas por data e área de coleta

A espécie *Tilapia rendalli* foi coletada em sua maioria na Lagoa de Jacarepaguá, com apenas três exemplares capturados na Lagoa Rodrigo de Freitas, em janeiro e dezembro de 2007.

A espécie *Geophagus brasiliensis* foi capturada apenas na Lagoa Rodrigo de Freitas, em janeiro, setembro e dezembro de 2007.

Já a espécie *Mugil liza* foi a espécie com maior número de indivíduos coletados, de 5 locais diferentes: Magé – Praia de Ipiranga, Magé – Olaria, São Gonçalo – Gradim, Lagoa Rodrigo de Freitas e Itaipu.

As espécies *Tilapia rendalli* e *Geophagus brasiliensis* foram capturadas em Dezembro e Janeiro (verão), Março (outono), Agosto e Setembro (inverno). Já a espécie *Mugil liza* foi coletada ao longo de quase todos os meses do ano (fevereiro, maio, julho, agosto, setembro, novembro e dezembro). Houve maior incidência desta espécie nos meses de inverno, o que pode ser explicado devido ao fato de, durante os meses de verão, esta espécie estar em alto mar, pois é sua época reprodutiva (Neves, Oliveira & Ziolli, 2007).

A tabela 1 apresenta informações relacionando local de coleta, data, espécies e número de amostras coletadas.

Tabela 1. Local de coleta, data e número de amostras das 3 espécies de peixes estudadas ao longo deste trabalho.  $N_{total} = 237$ .

Área de coleta	Data	Espécies	Nome popular	Nº de amostras
Lagoa Rodrigo de Freitas	jan/07	<i>Tilapia rendalli</i>	Tilápia	1
	jan/07	<i>Geophagus brasiliensis</i>	Acará	8
	set/07	<i>Geophagus brasiliensis</i>	Acará	8
	dez/07	<i>Geophagus brasiliensis</i>	Acará	3
	dez/07	<i>Tilapia rendalli</i>	Tilápia	2
	nov/06	<i>Mugil liza</i>	Tainha	10
	dez/06	<i>Mugil liza</i>	Tainha	20
	jan/07	<i>Mugil liza</i>	Tainha	4
	ago/07	<i>Mugil liza</i>	Tainha	1
	set/07	<i>Mugil liza</i>	Tainha	3
	dez/07	<i>Mugil liza</i>	Tainha	2
Lagoa de Jacarepaguá	mar/08	<i>Tilapia rendalli</i>	Tilápia	9
	ago/07	<i>Tilapia rendalli</i>	Tilápia	12
Magé - Olaria	ago/07	<i>Mugil liza</i>	Tainha	12
São Gonçalo - Gradim	set/07	<i>Mugil liza</i>	Tainha	6
	out/07	<i>Mugil liza</i>	Tainha	6
Itaipu	ago/05	<i>Mugil liza</i>	Tainha	11
	set/05	<i>Mugil liza</i>	Tainha	8
	jul/06	<i>Mugil liza</i>	Tainha	17
	ago/07	<i>Mugil liza</i>	Tainha	9
	mai/08	<i>Mugil liza</i>	Tainha	5
Magé - Praia de Ipiranga	ago/05	<i>Mugil liza</i>	Tainha	19
	dez/05	<i>Mugil liza</i>	Tainha	12
	set/06	<i>Mugil liza</i>	Tainha	23
	set/07	<i>Mugil liza</i>	Tainha	3
	fev/08	<i>Mugil liza</i>	Tainha	13

## **5.2. Análises morfométricas dos peixes**

Os peixes foram analisados de acordo com seus pesos, tamanhos, fatores de condição, IGS e IHS. Foram analisadas também as proporções sexuais de cada espécie.

Deve se ressaltar que diversas fêmeas das três espécies foram encontradas em estado maduro, ou seja, com os ovários aumentados, prontas para reprodução. Com isto, o peso total das fêmeas aumenta sensivelmente, podendo influenciar os índices calculados.

### **5.1.2. Sexagem dos indivíduos capturados**

Foram encontradas gônadas em diversos estados de maturação sexual, em todas as 3 espécies. Fêmeas foram mais facilmente identificadas que machos, pelo fato de seus ovários serem mais característicos. Muitos indivíduos das 3 espécies não puderam ser sexados, pela dificuldade de visualização das gônadas e falta de caracteres de dimorfismo sexual que poderiam facilitar este processo. Em alguns casos, houve dúvida na identificação do sexo, pois ovários imaturos ou em repouso podem ser facilmente confundidos com testículos imaturos. Ao ocorrer esta dúvida, os indivíduos foram classificados como sexo indeterminado, para evitar possíveis tendências e erros de análise onde o sexo se torna uma característica importante a ser analisada e levada em conta.

### **5.1.3. Estatísticas descritivas de *Geophagus brasiliensis***

Foram coletados 19 indivíduos, sendo que em 42,63% não foi possível a identificação do sexo, 36,85% foram machos e 15,78% foram fêmeas. Houve maior incidência (N=8) na faixa de tamanho de 16 a 18 cm. Na Figura 13 encontra-se a distribuição de frequência do comprimento total dos acarás capturados na Lagoa Rodrigo de Freitas. Os machos desta espécie, em média, são maiores e pesam mais que as fêmeas (Figura 14).

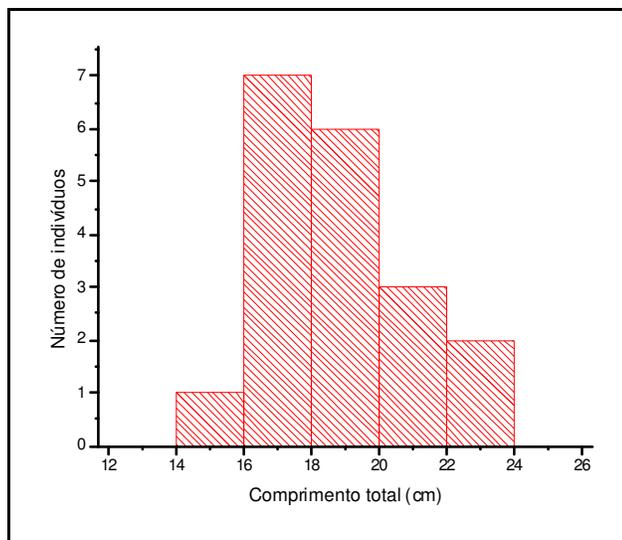


Figura 1. Distribuição de frequência do comprimento total de exemplares de *Geophagus brasiliensis* (Acarás).

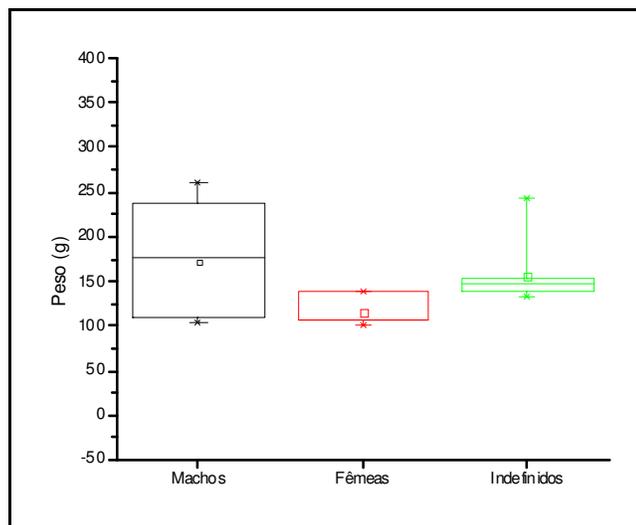


Figura 2. Gráfico de Boxplot do peso dos acarás, classificado por sexo.

#### 5.1.4. Estatísticas descritivas de *Tilapia rendalli*

Foram coletados 24 indivíduos, onde todos (100%) puderam ser sexados. Houve predominância de fêmeas em todas as coletas, correspondendo a 83,33% do total de indivíduos capturados. Houve maior incidência (N= 9) na faixa de tamanho de 22 a 24 cm. Na Figura 15 encontra-se a distribuição de frequência do comprimento total das tilápias capturados na Lagoa de Jacarepaguá e Lagoa Rodrigo de Freitas. Os machos desta espécie, em média, são menores e pesam menos que as fêmeas (Figura 16).

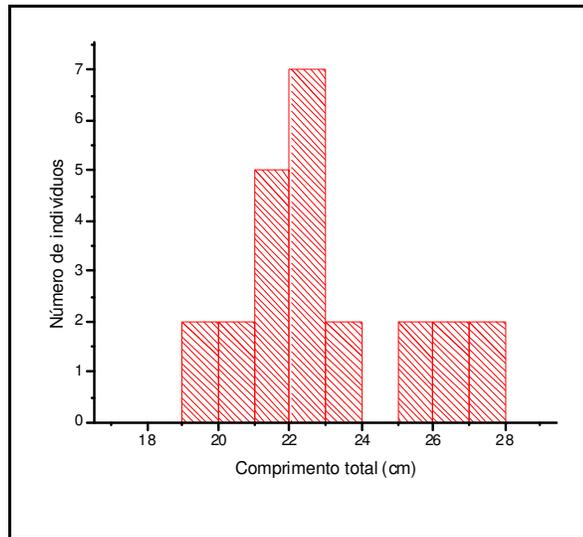


Figura 3. Distribuição de frequência do comprimento total de exemplares de *Tilapia rendalli* (Tilápias).

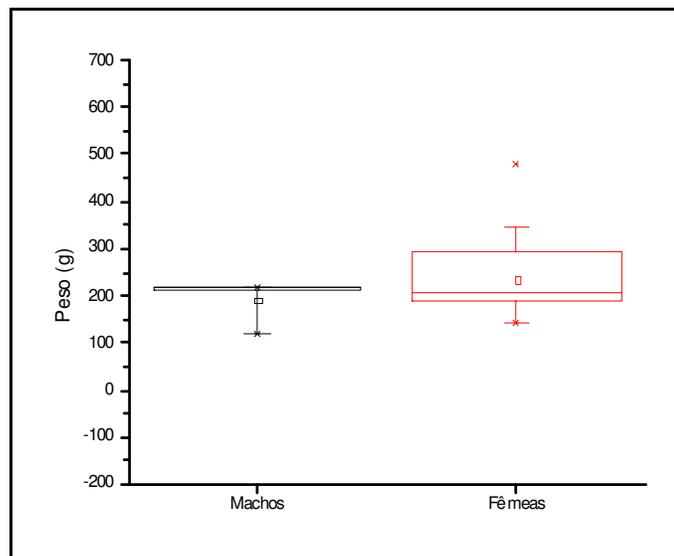


Figura 4. Gráfico de Boxplot do peso das tilápias, classificado por sexo.

Considerando a escala de Vazzoler (1982), observou-se que os peixes da espécie *Tilapia rendalli* coletados em Agosto de 2007 eram todas do sexo feminino (N=12) e estavam com os ovários em estado maduro, túrgidos e com um grande número de ovócitos maduros visíveis a olho nu (Figura 17), indicando preparo para a época de reprodução, e que os peixes desta mesma espécie coletados em Março de 2008 eram em sua maioria fêmeas com ovários em repouso, com apenas um indivíduo com ovários

maduros. Não foram encontrados dados com relação à época reprodutiva das tilápias no sudeste brasileiro, porém com os dados obtidos neste trabalho pode-se afirmar, tentativamente, que a época de reprodução desta espécie deve ocorrer por volta de Agosto. Deve-se ressaltar, porém, que foram capturados indivíduos em maturação em dezembro, porém na localidade da Lagoa Rodrigo de Freitas, podendo, então, existir épocas reprodutivas diferentes em populações de localidades diferentes.

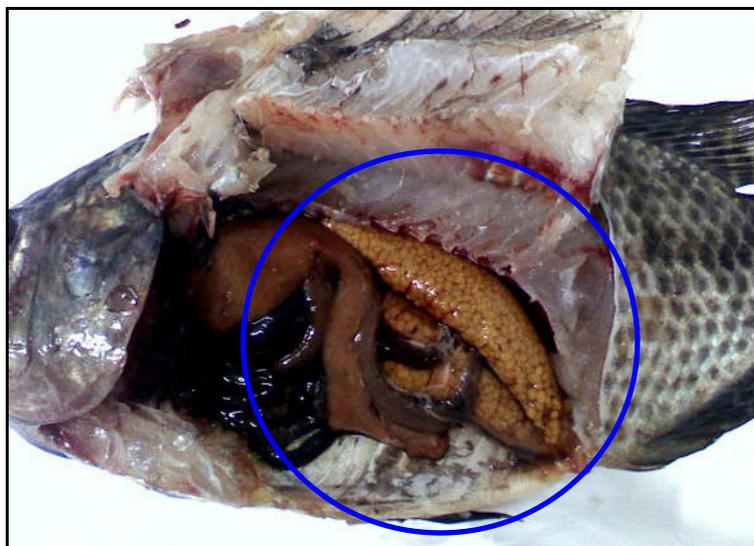


Figura 5. Fêmea de tilápia (*Tilapia rendalli*) apresentando ovários maduros, com ovócitos visíveis

### 5.1.5. Estatísticas descritivas de *Mugil liza*

Foram coletados 183 indivíduos sendo que, deste total, 18,58% não foram possíveis identificar o sexo, 59,02% foram machos e 22,40% foram fêmeas.

O comprimento mínimo de captura de peixes da espécie *Mugil liza* é de 35 cm, de acordo com o IBAMA (Portaria no 73/2003). A maior parte dos peixes desta espécie capturados manteve-se dentro desta faixa de tamanho, com maior incidência (N= 57) na faixa de tamanho de 35 a 40 cm (figura 16). As fêmeas desta espécie apresentaram maior variação de peso, devido aos diversos estágios de maturação em que foram encontradas, pois o peso dos ovários aumenta significativamente ao se aproximar o período reprodutivo (figura 17)

Nos locais onde foram coletados aproximadamente a mesma proporção de machos e fêmeas foram Itaipu (53,06% de machos e 46,94% de fêmeas) e São Gonçalo (61,54% de machos e 38,46% de fêmeas). Em Olaria foi coletada apenas uma fêmea.

Dentre os peixes desta espécie coletados em São Gonçalo, um exemplar apresentou diversos grânulos presos aos seus órgãos internos, indo da cabeça ao intestino (figuras 18 e 19), de consistência dura e aparência oval. Nenhum dos outros exemplares de *Mugil liza* apresentou, em quaisquer das coletas, em diferentes locais e em diferentes épocas do ano, um quadro semelhante.

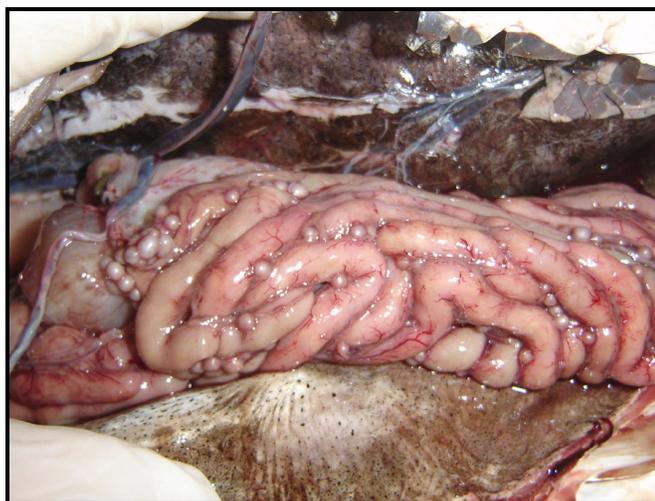


Figura 6. Espécime de *Mugil liza* apresentando grânulos ovalados presos ao intestino.



Figura 7. Espécime de *Mugil liza* apresentando grânulos ovalados presos na parte superior da cabeça.

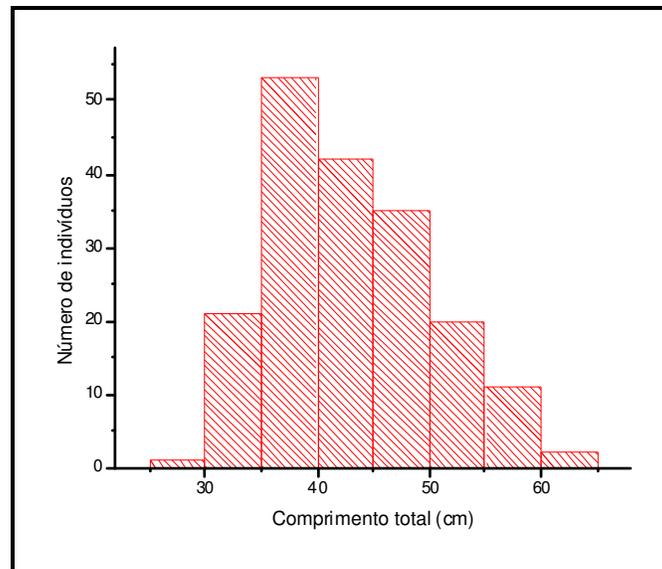


Figura 8. Distribuição de freqüência do comprimento total de exemplares de *Mugil liza* (Tainhas).

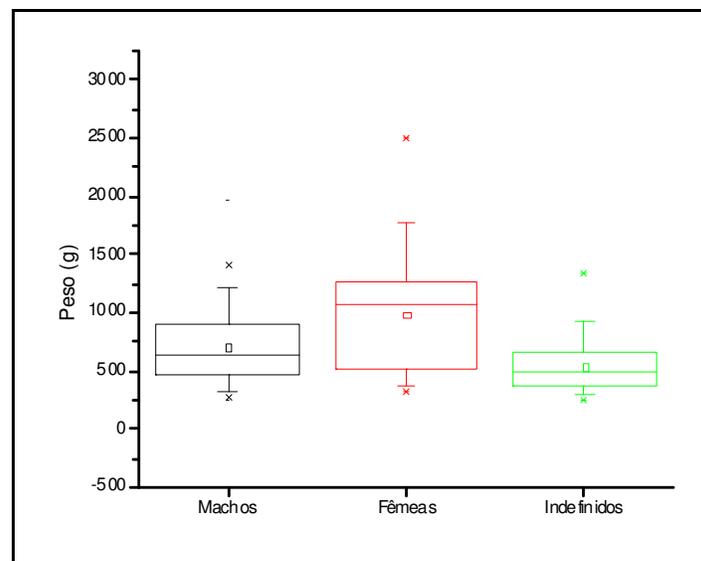


Figura 9. Gráfico de Boxplot do peso das tainhas, classificado por sexo.

Dentre as tainhas, os peixes maiores e mais pesados foram os de São Gonçalo, seguidos pelos peixes de Itaipu e Olaria, com os peixes de Magé – Praia de Ipiranga e da Lagoa Rodrigo de Freitas apresentando aproximadamente as mesmas proporções (figura 22). O peso segue esta mesma tendência (Figura 23).

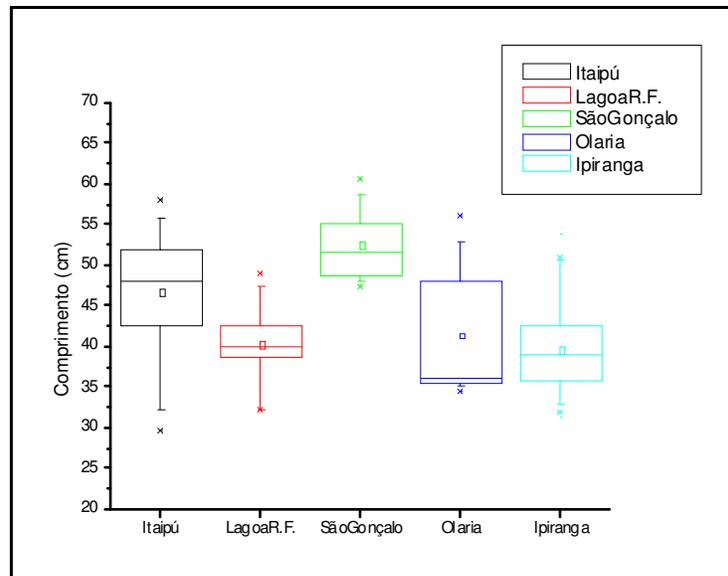


Figura 10. Gráfico Box-Plot mostrando o comprimento (cm) das tainhas por local de coleta.

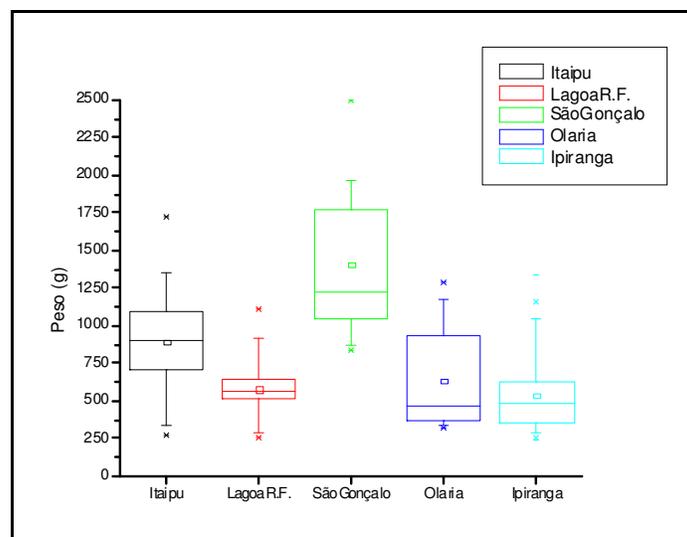


Figura 11. Gráfico Box-Plot mostrando o peso (g) das tainhas por local de coleta.

As tainhas apresentaram seus órgãos sexuais com características de todos os estágios de maturação sexual, de imaturos a maduros em diversas épocas do ano. Na figura 24 observa-se um exemplo de tainha fêmea com ovários maduros.



Figura 12. Fêmea de tainha (*Mugil liza*) apresentando ovários maduros

### 5.3. Análises de metais na bÍlis de peixes

A tabela 2 apresenta as concentrações médias ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )  $\pm$  DP dos 4 metais determinados neste estudo, em amostras de bÍlis de *Mugil liza* coletados em Magé e em Itaipu. Os tÓpicos seguintes apresentam com maiores detalhes as concentrações de cada metal nas amostras.

Tabela 2. Concentrações médias ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )  $\pm$  DP dos 4 metais determinados neste estudo, em amostras de bÍlis de *Mugil liza* coletados em Magé e em Itaipu.

Concentração média ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) $\pm$ DP			
Metal	Magé	Itaipu	Diferença estatisticamente significativa
Se	665,8 $\pm$ 245,4	506,6 $\pm$ 167,3	Não
Cr	2,4 $\pm$ 0,7	1,1 $\pm$ 0,3	Sim
As	541,2 $\pm$ 219,8	204,0 $\pm$ 262,8	Sim
Ni	4,9 $\pm$ 1,5	48,8 $\pm$ 79,5	Sim

#### 5.3.1. Selênio

Os resultados encontrados com relação a este elemento nas amostras de bÍlis nas amostras de bÍlis demonstram que os valores encontrados em Magé são mais altos do

que os encontrados em Itaipu, porém esta foi não-significativa ( $p > 0,05$ ), de acordo com Seixas *et al.*, (2007), onde peixes da Baía de Guanabara apresentaram concentrações de selênio semelhantes a de áreas consideradas não-impactadas, como observado neste trabalho. Também foi observado que nenhum dos valores da concentração de selênio nas amostras de bÍlis de *Mugi Iliza* (tainhas) analisadas se aproximou de valores considerados tóxicos para estes organismos (Tabela 3), ou dos valores considerados permissÍveis pela legislação brasileira. Estes dados estÍo novamente de acordo com Seixas *et al.* (2007), que, estudando tecido muscular e fÍgados desta mesma espÍcie na Baía de Guanabara, obtiveram valores abaixo daquele considerado tóxico aos peixes.

Assim como em Seixas *et al.* (2007), neste trabalho foi encontrada correlaçaõ entre as concentrações de Selênio e o comprimento total dos peixes, resultados estes coerentes, uma vez que com o aumento do comprimento há o aumento da idade do peixe e, conseqüentemente, o aumento do tempo de exposiçaõ do organismo ao Se, atraves do ambiente e do alimento. Diversos autores já verificaram esta influêncÍa do fator tamanho no acúmulo de selênio, com alguns não encontrando relaçaõs significativas entre as concentrações de selênio e o comprimento total dos organismos (Lyle, 1986; Chvojka, 1988) e outros encontrando relaçaõs significativas (Mackay, 1975).

Tabela 3. Concentrações de Se nas amostras de bÍlis de peixes coletados em Magé e Itaipu.

Magé		Itaipu	
Amostra	$\mu\text{g L}^{-1}$	Amostra	$\mu\text{g L}^{-1}$
178	358,9	200	306,2
181	887,6	201	550,6
187	771,00	202	484,1
189	863,6	203	759,4
190	448,00	204	432,8
<b>Média ± DP</b>	<b>665,82 ± 245,46</b>	<b>Média ± DP</b>	<b>506,62 ± 167,30</b>

### 5.3.2. Cromo

Os resultados encontrados com relaçaõ a este elemento (tabela 4) nas amostras de bÍlis demonstram que os valores encontrados em Magé sÍo mais altos do que os encontrados em Itaipu, sendo significativamente diferentes ( $r = -1,00$ ). Nenhum dos valores da concentraçaõ de cromo das amostras de bÍlis de *Mugi Iliza* (tainhas) analisadas se aproximou dos valores máximos permissÍveis para estes organismos, de acordo com a legislação brasileira.

Tabela 4. Concentrações de Cr nas amostras de bÍlis de peixes coletados em Magé e Itaipu.

Magé		Itaipu	
Amostra	$\mu\text{g L}^{-1}$	Amostra	$\mu\text{g L}^{-1}$
178	-*	200	1,11
181	-*	201	1,43
187	2,9	202	-*
189	-*	203	0,70
190	1,89	204	-*
<b>Média <math>\pm</math> DP</b>	<b>2,40 <math>\pm</math> 0,71</b>	<b>Média <math>\pm</math> DP</b>	<b>1,08 <math>\pm</math> 0,37</b>

\* - não foi possível a quantificação do elemento por falta de bÍlis.

### 5.3.3. Arsênio

Os resultados encontrados com relação a este elemento (tabela 5) nas amostras de bÍlis demonstram que os valores encontrados em Magé são mais altos do que os encontrados em Itaipu, sendo significativamente diferentes ( $r = -0,12$ ). Nenhum dos valores da concentração de arsênio das amostras de bÍlis de *Mugi Iliza* (tainhas) analisadas se aproximou dos valores máximos permissÍveis para estes organismos, de acordo com a legislação brasileira.

Tabela 5. Concentrações de As nas amostras de bÍlis de peixes coletados em Magé e Itaipu.

Magé		Itaipu	
Amostra	$\mu\text{g L}^{-1}$	Amostra	$\mu\text{g L}^{-1}$
178	590,00	200	580,00
181	555,00	201	16,00
187	775,00	203	30,00
190	245,00	204	190,00
<b>Média <math>\pm</math> DP</b>	<b>541,25 <math>\pm</math> 219,82</b>	<b>Média <math>\pm</math> DP</b>	<b>204,00 <math>\pm</math> 262,80</b>

### 5.3.4. NÍquel

Os resultados encontrados com relação a este elemento (tabela 6) demonstram que os valores encontrados em Itaipu são mais altos do que os encontrados em Magé, sendo significativamente diferentes ( $r=-0,28$ ). Nenhum dos valores da concentração de níquel das amostras de bÍlis de *Mugi Iliza* (tainhas) analisadas se aproximou dos valores máximos permissÍveis para estes organismos, de acordo com a legislação brasileira.

Este metal foi o único a apresentar valores mais altos em Itaipu. Isto, de acordo com Neto, Smith & Mcallister (200), é devido à intensa urbanização ao redor de Itaipu, o que acarreta um intenso despejo de esgoto próximo ao local. Além disto, a lama próximo ao Porto de Niterói vem sendo dragada e despejada em locais irregulares, como as ilhas próximas à praia de Itaipu, podendo então talvez contribuir com este aumento de níquel nas bílis de peixes coletados neste local.

Tabela 6. Concentrações de Ni nas amostras de bílis de peixes coletados em Magé e Itaipu.

Magé		Itaipu	
Amostra	$\mu\text{g L}^{-1}$	Amostra	$\mu\text{g L}^{-1}$
178	4,2	200	5,1
181	7,2	201	10,9
187	4,5	202	7,9
189	-*	203	30,00
190	3,9	204	190,00
<b>Média ± DP</b>	<b>4,95 ± 1,52</b>	<b>Média ± DP</b>	<b>48,78 ± 79,55</b>

\* - não foi possível a quantificação do elemento por falta de bílis

Embora nenhum dos valores da concentração destes metais tenha se aproximado dos valores máximos permissíveis para estes organismos, de acordo com a legislação brasileira, cabe ressaltar que a matriz analisada foi a bílis, que é um meio de excreção de xenobióticos, inclusive metais, porém ainda existe a possibilidade de que apenas uma pequena parte dos metais que entram em contato com o peixe pelas diversas vias, como pela água e pelo alimento, possam estar ainda retidas em seu organismo, portanto, fazendo com que outras partes do peixe, como músculos e tecido, acumulem estes elementos em concentrações acima dos valores permitidos.

#### 5.4. Fator de Condição

O fator de condição mede implicações devido à exposição de substâncias tóxicas, podendo ser relacionados com parâmetros biológicos, indicando o estado geral e de reserva de energia do peixe e é muito útil para estimar o estado de saúde do peixe (Albuquerque, 2004). Este índice é muitas vezes utilizado para avaliar os níveis de estresse do peixe (Lohner *et al.*, 2001; Eastwood & Couture, 2002). O FC pode flutuar com o desenvolvimento fisiológico, maturação sexual, sazonalidade e localização geográfica (Goede and Barton, 1990), reduzindo na época de reprodução, já que este

pode ser influenciado, entre outros fatores, pela variação do peso das gônadas e estômago (Querol, Querol & Gomes (2002).

Ao existir uma correlação entre o fator de condição e o índice gonadossomático, estes dois índices podem ser utilizados para determinar o período reprodutivo. Já na ausência de correlação, o mesmo não ocorre. (Querol, Querol & Gomes, 2002). De acordo com estes autores, o Fator de Condição é influenciado pelo peso das gônadas.

Diversos estudos relataram um fator de condição mais baixo onde existe contaminação por metais (Laflamme *et al.*, 2000; Eastwood & Couture 2002; Rajotte *et al.* 2003). Outros estudos sugerem que os valores do fator de condição de peixes expostos a poluentes não são significativamente diferentes do grupo controle (Van der Oost *et al.* 1998; Gadagbui & Goksøyr, 1996), enquanto outros reportaram que um aumento no fator de condição é às vezes indicativo de efeitos tóxicos (Figueiredo-Fernandes *et al.*, 2006).

De acordo com os valores obtidos neste trabalho, cada espécie possui uma ordem de grandeza característica de seu Fator de Condição, que varia muito pouco entre os indivíduos.

#### 5.4.1.

##### **Fator de Condição de *Geophagus brasiliensis* e sua relação com o IGS**

Foi possível calcular o Fator de Condição de todos os indivíduos coletados (N=19) desta espécie, que apresentou valor de  $2,44 \pm 0,34$ .

Utilizando o teste de Pearson, foi verificado que não existe correlação significativa entre o Fator de Condição e o IGS ( $p=0,532$ ) e entre o Fator de Condição e o IHS ( $p=0,533$ ). Estes dados contrastam com as afirmações de Querol, Querol & Gomes, (2002), que afirmam que o Fator de Condição é influenciado pelo peso das gônadas. Neste caso, nem as gônadas nem o fígado influenciaram no Fator de Condição.

Como todos os acarás foram coletados apenas de um local, mesmo sendo um local conhecidamente contaminado com metais pesados (Lagoa Rodrigo de Freitas), não foram feitas considerações com relação a metais e a sua influência no Fator de Condição, pois não foram feitas coletas em locais sem histórico de contaminação para fins comparativos.

#### 5.4.2.

#### **Fator de Condição de *Tilapia rendalli* e sua relação com o IGS**

Foi possível calcular o Fator de Condição de todos os indivíduos coletados (n=24) desta espécie, que apresentou valor médio de  $1,74 \pm 0,17$ .

Utilizando o teste de Pearson, foi verificado que não existe correlação significativa entre o Fator de Condição e o IGS ( $p=0,976$ ) e entre o Fator de Condição e o IHS ( $p=0,620$ ). Estes dados também contrastam com as afirmações de Querol, Querol & Gomes, (2002), que afirmam que o Fator de Condição é influenciado pelo peso das gônadas. Novamente, nem as gônadas nem o fígado influenciaram no Fator de Condição.

Foram coletadas tilápias de dois locais diferentes, Lagoa Rodrigo de Freitas (N=3) e Lagoa de Jacarepaguá (N=21), porém, embora sabendo que a Lagoa Rodrigo de Freitas é contaminada substancialmente com metais pesados, não se conhece o tipo de contaminação existente na Lagoa de Jacarepaguá e, além disso, não foram feitas coletas em locais sem histórico de contaminação, para fins comparativos, e, portanto, não foram feitas considerações com relação a metais e a sua influência no Fator de Condição.

#### 5.4.3.

#### **Fator de Condição de *Mugil liza* e sua relação com o IGS**

Foi possível calcular o Fator de Condição de todos os indivíduos coletados (N=185) desta espécie, que apresentou valor de  $0,85 \pm 1,06$ .

Como esta espécie foi coletada em diversos locais diferentes, uma tentativa de separar os dados por local de coleta foi feita. Ao separar os dados por local de coleta, observa-se alta correlação entre o FC e o IGS de São Gonçalo – Gradim, e Magé – Olaria ( $r = 0,8370$  e  $r = 0,741$ , respectivamente), baixa correlação em Itaipu ( $r = 0,287$ ) e ausência de correlação entre os peixes da Lagoa Rodrigo de Freitas ( $r = -1,000$ ). Não foi possível analisar a correlação entre as tainhas de Magé – Praia de Ipiranga, pois não foram obtidos dados suficientes.

Portanto, neste trabalho, não foram consideradas estas correlações separadas por local de coleta e sim a correlação de todas as tainhas de todos os locais diferentes.

Analisando estes dados de FC e IGS de modo global, levando em contas todos os locais de coleta conjuntamente, foi feito o teste de Pearson, verificando que não existe correlação significativa entre o Fator de Condição e o IGS ( $p=0,129$ ), e que existe uma correlação positiva e significativa entre o Fator de Condição e o IHS ( $p=0,000$ ).

Esta ausência de correlação entre o FC e o IGS contrasta com as afirmações de Querol, Querol & Gomes, (2002), que afirmam que o Fator de Condição é influenciado pelo peso das gônadas. Porém, como existe uma correlação entre o Fator de Condição e o IHS, uma influência do peso do fígado não pode ser descartada, pois, durante o período de inverno, o aumento das reservas energéticas causa um aumento de peso em todos os órgãos, inclusive o do fígado.

Se existir uma correlação entre o Fator de Condição e o índice gonadossomático, estes dois índices podem ser utilizados para determinar o período reprodutivo. Já na ausência de correlação, o mesmo não ocorre (Querol, Querol & Gomes, 2002). As tainhas, porém, foram coletadas em praticamente todos os meses do ano, fazendo com que uma relação específica com os meses do inverno seja difícil de obter conclusivamente.

Ao relacionar o Fator de Condição dos peixes coletados em Magé-Praia de Ipiranga com os peixes coletados em Itaipu (área contaminada e área controle, respectivamente), não houve diferença significativa ( $p=0,184$ ).

A tabela 7 a seguir exibe as estatísticas do fator de condição da *Mugil liza* por local de coleta e sexo. Pode-se observar que a maior variação foi encontrada nos indivíduos de Magé com CV de 19,69%.

Tabela 7. Estatísticas descritivas do fator de condição da *Mugil liza* por local de coleta.

FC	n	Média			Desvio padrão			CV%
		Macho	Fêmea	Geral	Macho	Fêmea	Geral	
Local								
Itaipu	49	0,8396	0,8579	0,8482	0,0789	0,0972	0,0875	10,32
Lagoa	35	0,8719	0,8922	0,8748	0,0721	0,0337	0,0679	7,76
Magé	40	0,8383	0,8842	0,8463	0,1819	0,0443	0,1666	19,69
Olaria	12	0,7939	11,200	0,8211	0,0396		0,1014	12,35
São	13							
Gonçalo		0,8119	10,068	0,8869	0,0669	0,0425	0,1138	12,83
Total	149							
Geral		0,8415	0,8911	0,8551	0,1173	0,0970	0,1140	

Foram conduzidos testes de hipóteses para as diferenças de médias do Fator de Condição dos indivíduos por local de coleta com a estatística t de *Student* considerando as variâncias diferentes, os quais foram não significativos, o que significa que não existe diferença significativa entre as médias dos fatores de condição entre os indivíduos de cada local.

Considerando todos os indivíduos de todos locais de coleta, foi conduzido o teste de hipótese por Levene para analisar a igualdade de variância, o qual forneceu um resultado não significativo, com  $p=0,729$ , o que significa que não existe diferença significativa entre os fatores de condição das tainhas entre os diferentes locais de coleta, consideradas como um todo.

Com o objetivo de se verificar se o fator de condição da espécie *Mugil liza* está relacionado com os locais de coleta foi conduzida a técnica de Análise de Correspondência.

O fator de condição foi distribuído em classes de acordo com a Tabela 8.

Tabela 8. Distribuição de freqüência do fator de condição por local de coleta da espécie *Mugil liza*.

Classe	Fator	Itaipu	Lagoa	Praia de Ipiranga	Olaria	S.Gonçalo	Total
$FC \leq 0,678$	F <sub>1</sub>	7	3	8	3	1	22
$0,678 < FC \leq 0,767$	F <sub>2</sub>	18	6	18	8	4	54
$0,767 < FC \leq 0,856$	F <sub>3</sub>	15	22	11	0	3	51
$FC > 0,856$	F <sub>4</sub>	9	4	3	1	5	22
Total		49	35	40	12	13	149

Plotou-se então um gráfico de simetria da Análise de Correspondência. Os círculos da Figura 25 a seguir mostram os grupos de variáveis com maior associação (neste caso, as classes F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> e F<sub>4</sub> do Fator de Condição em relação ao local de coleta) (Hauser-Davis, Oliveira e Ziolli, 2008a).

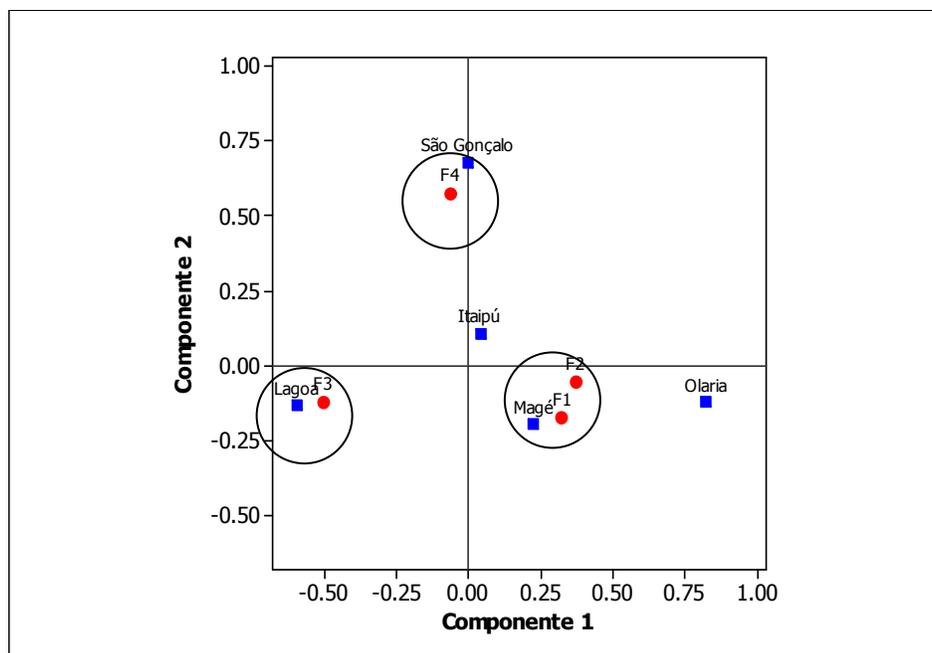


Figura 13. Gráfico de simetria da Análise de correspondência.

Assim, pôde-se verificar que os indivíduos coletados em Magé apresentam maior associação com a classe do Fator de Condição  $F_1$  ( $F_C \leq 0,678$ ) e  $F_2$  ( $0,678 < F_C \leq 0,767$ ). Os indivíduos coletados na Lagoa apresentam maior associação com  $F_3$  ( $0,767 < F_C \leq 0,856$ ). Finalmente, os indivíduos de São Gonçalo apresentam maior associação com  $F_4$  ( $F_C > 0,856$ ).

#### 5.4.4.

#### Considerações sobre a relação entre o Fator de Condição de *Mugil liza* e metais pesados

Ao comparar os Fatores de Condição de apenas Magé-Praia de Ipiranga e Itaipu, respectivamente a área contaminada e a área controle com relação à contaminação por metais, existiu diferença significativa ( $r = -0,19$ ), com o FC de Magé ( $0,83 \pm 0,13$ ) menor do que de Itaipu ( $0,85 \pm 0,09$ ) corroborando com os estudos de Laflamme *et al.*, (2000), Eastwood & Couture (2002) e Rajotte *et al.* (2003), que indicam que em locais onde existe contaminação por metais o Fator de Condição é menor do que em locais não contaminados.

## 5.5. IGS e IHS

O IGS fornece dados relativamente concretos para fêmeas, pois as evidências de modificações estruturais nas gônadas nos diferentes estágios de maturação gonadal são maiores e mais visíveis neste sexo do que nos machos, onde nem sempre este índice representa corretamente a condição reprodutiva, particularmente em peixes (Nikolsky, 1963; Vazzoler, 1996, Navarro, 2006.).

Isto é comprovado em diversas espécies onde, no processo de maturação gonadal, ocorre um aumento gradativo dos valores de IGS, cujo ápice coincide com o estágio de maturação mais avançada dos machos e fêmeas, e os menores valores são atribuídos aos estágios de repouso (Nomura, 1976; Ferraz de Lima *et al.*, 1984; Azevedo *et al.*, 1988; Navarro, 2006). As variações deste índice acompanham as modificações estruturais das gônadas nos diferentes estágios de maturação (Navarro *et al.*, 2006).

A figura 26 apresenta a distribuição dos valores de IGS nas três espécies estudadas.

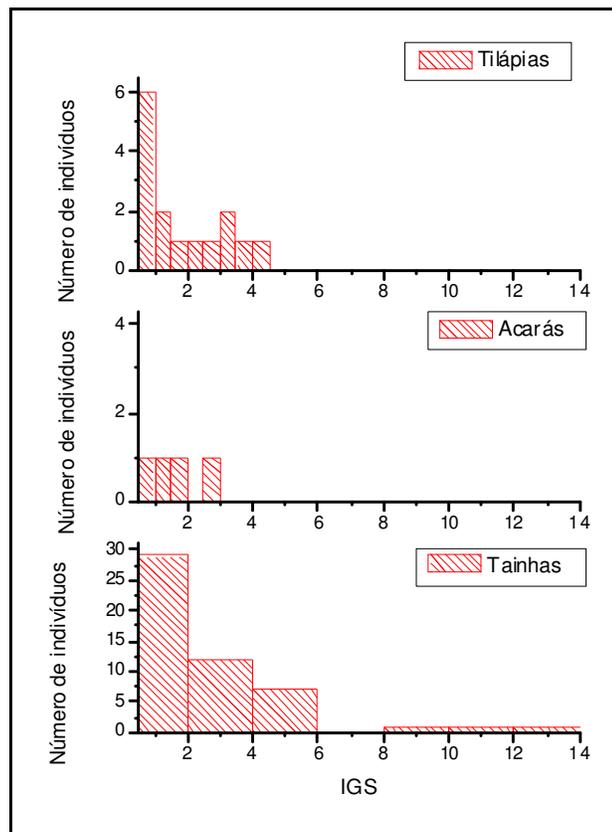


Figura 14. Histogramas mostrando a frequência de distribuição dos valores de IGS nas 3 espécies estudadas.

De acordo com Querol, Querol & Gomes (2002), o índice hepatossomático pode estar relacionado com a mobilização de reservas energéticas necessárias para o (a) processo de vitelogênese, (b) reprodução ou (c) preparação para o período de inverno. Costa (1999) também comenta sobre a importância deste índice, citando como o fígado reflete estas mudanças, pois este órgão sintetiza e secreta o precursor das proteínas do vitelo, a vitelogenina, que é transportada até as gônadas via corrente sanguínea, para participação da formação do vitelo. Esta atividade metabólica implica na utilização de nutrientes obtidos a partir do alimento ingerido e de reservas energéticas depositadas em diferentes partes do organismo. Portanto, é possível esperar que o peso do fígado, provavelmente, reflita este metabolismo.

Porém, se não existir correlação entre o IGS e o IHS, ou se esta for muito baixa, o IHS está relacionado com o acúmulo de reservas energéticas para o período de inverno, e não com o processo de vitelogênese e/ou reprodução. Deve-se levar em conta, portanto a época do ano em que os animais foram capturados.

A figura 27 apresenta a distribuição dos valores de IHS nas três espécies estudadas.

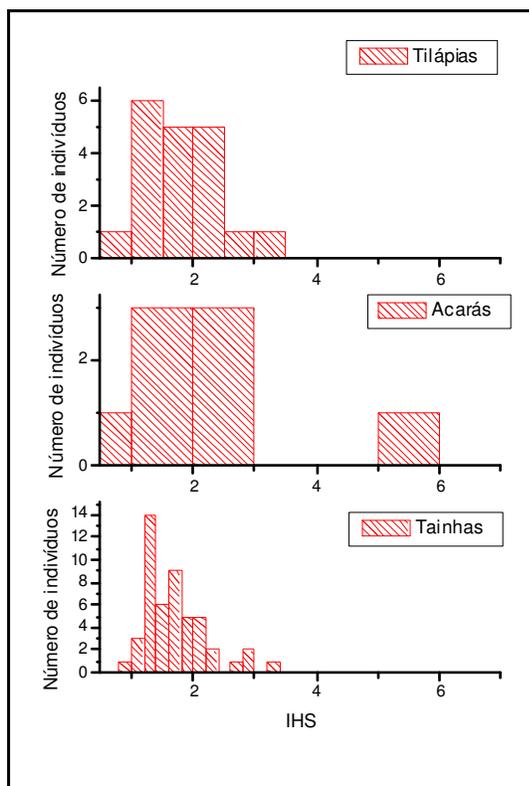


Figura 15. Histogramas mostrando a frequência de distribuição dos valores de IHS nas 3 espécies estudadas.

### **5.5.1. IGS e IHS de *Geophagus brasiliensis***

Foi possível calcular o IHS de 8 indivíduos desta espécie, que apresentou valor de  $2,12 \pm 1,34$ , enquanto o IGS de 10 indivíduos puderam ser calculados, com valor de  $1,11 \pm 0,86$ .

Utilizando o teste de Pearson, foi verificado que não existe correlação significativa entre o IGS e o IHS ( $p=0,732$ ), o que indica que, no caso dos acarás, o IHS está relacionado com o acúmulo de reservas energéticas em preparo para o inverno, e não com o processo de vitelogênese ou reprodução (Querol, Querol & Gomes, 2002).

Esta afirmação, porém, deve levar em conta as datas de captura dos indivíduos, onde 8 indivíduos foram capturados em Setembro (final de inverno), 3 indivíduos foram capturados em Dezembro e 8 em Janeiro (verão). Como um grande número de indivíduos foi capturado realmente no inverno, a afirmação com relação a esta espécie pode ser considerada verdadeira.

Esta espécie não é migratória, tornando os dados em relação a estes índices mais confiáveis.

### **5.5.2. IGS e IHS de *Tilapia rendalli***

Foi possível calcular o IHS de 19 indivíduos desta espécie, que apresentou valor de  $1,80 \pm 0,57$ , enquanto o IGS de 20 indivíduos foi calculado, com valor de  $1,83 \pm 1,54$ .

Utilizando o teste de Pearson, foi verificado que não existe correlação significativa entre o IGS e o IHS ( $p=0,202$ ), o que indica que, no caso das tilápias, o IHS está relacionado com o acúmulo de reservas energéticas em preparo para o inverno, e não com o processo de vitelogênese ou reprodução (Querol, Querol & Gomes, 2002).

Novamente, deve se levar em conta as datas de captura dos indivíduos: 2 foram capturados em Dezembro (verão), 1 em Janeiro (verão), 12 em Agosto (inverno) e 9 em março (outono). Como um grande número de indivíduos foi capturado realmente no inverno, a afirmação com relação a esta espécie também pode ser considerada verdadeira.

Esta espécie também não possui hábitos migratórios, tornando os dados em relação a estes índices mais confiáveis.

### 5.5.3. IGS e IHS de *Mugil liza*

Utilizando o teste de Pearson, foi verificado que não existe correlação significativa entre o IGS e o IHS ( $p=0,438$ ), o que indica que, no caso das tainhas, o IHS está relacionado com o acúmulo de reservas energéticas em preparo para o inverno, e não com o processo de vitelogênese ou reprodução (Querol, Querol & Gomes, 2002). Esta não-significância pode ser justificada pelo fato de que a maioria dos indivíduos foi coletada durante os meses de Agosto, Setembro e Outubro, meses de inverno, embora também tenham sido capturados indivíduos em outros meses do ano.

Na literatura, as tainhas são descritas como apresentando sua época reprodutiva em Dezembro na Baía de Guanabara (Oliveira, 1997), em contraste com as tainhas capturadas em Itaipu, que estavam claramente em época reprodutiva no mês de Agosto (fato já observado por Neves (2006)), corroborando discrepâncias anteriores já observadas neste trabalho com relação ao período reprodutivo das tainhas.

Foi possível calcular o IGS de 48 indivíduos coletados em Itaipu, Magé-Praia de Ipiranga e Olaria. Os valores de IGS dos machos ( $1,82\pm 0,54$ ) foram mais baixos que os das fêmeas ( $3,17\pm 1,54$ ), embora esta tenha sido uma diferença não-significativa ( $p=0,100$ ). Esta diferença pode estar relacionada com a dificuldade de visualização e retirada das gônadas masculinas, implicando em uma falta de representabilidade deste índice em machos (Nikolsky, 1963).

Pelo fato das tainhas serem peixes migratórios, é possível terem sido capturados espécimes juvenis juntamente com espécimes sexualmente maduros, embora tenha sido feita uma tentativa de capturar espécimes de aproximadamente o mesmo tamanho, ao longo de todo o trabalho.

A captura de tainhas com ovários e testículos maduros, indicando preparo para a época reprodutiva, ocorreu em meses que não estão de acordo com os dados obtidos na literatura acerca da época reprodutiva desta espécie, em diversos dos locais de coleta.

De acordo com Oliveira (1997), a época reprodutiva da espécie na Baía de Guanabara ocorre em Dezembro (verão). Portanto, o esperado seria não encontrar peixes nos locais de coleta, pois esta espécie se reproduz em alto mar. Nas localidades de São Gonçalo e Magé-Olaria (com datas de coleta de Agosto e Setembro, respectivamente) o IGS refletiu corretamente a afirmação deste autor, com valores baixos de IGS, por serem meses distantes de dezembro. Os peixes de Magé-Praia de Ipiranga foram coletados em Agosto também, porém nem todos puderam ter seu IGS calculado. Os que foram

possíveis calcular, porém, também indicam baixos valores de IGS, com apenas uma fêmea se apresentando em maturação.

Já os peixes capturados em Itaipu demonstraram uma grande discrepância com relação a esta época de reprodução descrita na literatura, pois os seus valores de IGS foram mais altos em épocas não esperadas. Os meses de maio, julho e agosto tiveram alta incidência de fêmeas com os ovários em maturação ou maduros, de acordo com a escala de Vazzoler (1982).

O Plot de intervalo de 95% para médias da Figura 28 exhibe o IGS por temporalidade. Pôde-se observar que em maio este índice foi mais alto do que os demais meses, sendo esta diferença significativa ( $p=0,000$ ), novamente demonstrando a discrepância com relação à época reprodutiva das tainhas na Baía de Guanabara.

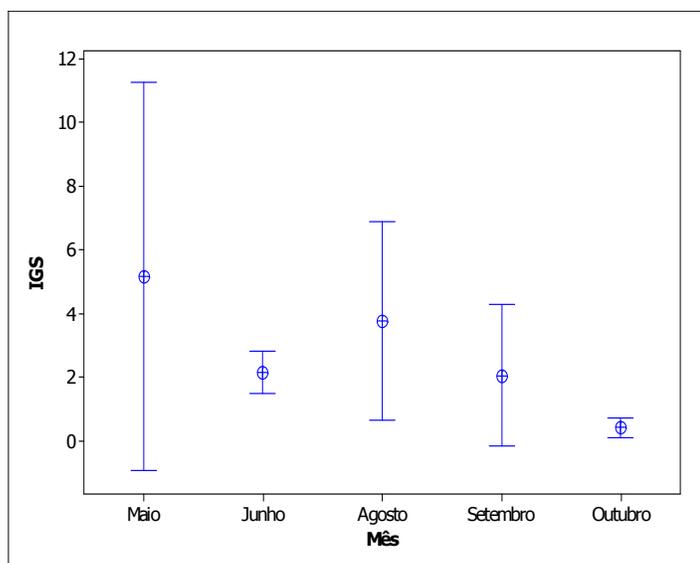


Figura 16. Plot de intervalo de 95% para média do IGS por temporalidade.

Com relação ao IHS, foi possível o cálculo de 49 IHS e a sexagem de 39 desses indivíduos. Pôde-se observar que os valores de IHS dos machos ( $1,59 \pm 0,07$ ) foram mais baixos que os valores das fêmeas ( $2,03 \pm 0,16$ ), apresentando diferença significativa ( $p=0,019$ ).

Os menores valores foram encontrados nas tainhas de Magé – Praia de Ipiranga, seguidos pelos peixes de Itaipu, Lagoa Rodrigo de Freitas, São Gonçalo e, por fim, Magé – Olaria.

Um aumento no valor de IHS pode ser devido à modificações metabólicas induzidas por exposição crônica a metais pesados (Stephensen *et al.*, 2000; Fernandes, 2008). Resultados de diferentes estudos de peixes expostos a diferentes poluentes, como PCB,

também demonstraram um aumento no IHS (Newsted & Giesy 1993; Arnold, Pluta & Braunbeck, 1995; Gadagbui & Goksøyr 1996). Em contraste, alguns estudos reportaram que valores de IHS de peixes expostos a metais não são diferentes dos valores do grupo controle (Martin & Black 1996; Eastwood & Couture 2002). Norris *et al.* (2000) encontrou diferenças significativas entre sexo e locais com relação ao IHS, com fígados grandes observados em peixes de locais não contaminados.

#### **5.5.4.**

#### **Considerações sobre a relação entre o IHS de *Mugil liza* e metais pesados**

Analisando a relação entre o IHS e as concentrações de metais pesados na bÍlis de peixes da espécie *Mugil liza*, tanto de Magé-Praia de Ipiranga quanto de Itaipu, pôde-se observar que os valores de IHS de peixes de Magé foram significativamente diferentes dos valores de peixes do grupo controle ( $r=0,902$ ), ao contrário dos estudos de Martin & Black (1996) e Eastwood & Couture (2002), que não encontraram esta relação entre o IHS e a exposição a metais pesados. Com isto, verifica-se, então, uma possível influência de metais pesados nos peixes provenientes de um local contaminado (Magé-Praia de Ipiranga).

#### **5.6.**

#### **Alterações histopatológicas**

As alterações registradas nos fígados de *Mugil liza* e *Tilapia rendalli* indicam a condição dos organismos em Magé, Itaipu e na Lagoa de Jacarepaguá.

As lesões encontradas no fígado estão demonstradas na Figura 29 e Tabelas 9, 10 e 11. Foram identificadas a presença de melanomacrófagos, infiltrações leucocitárias e parasitas.

Foram analisados 9 fígados de *Mugil liza* coletados em Magé-Praia de Ipiranga, 2 de *Tilapia rendalli* coletados na Lagoa de Jacarepaguá e 5 de *Mugil liza* coletados em Itaipu.

Tabela 9. Alterações histopatológicas encontradas nos fígados de *Mugil liza* coletados em Magé-Ipiranga.

<b>Amostra</b>	<b>Alterações histopatológicas</b>
147	Presença de melanomacrófagos; Infiltração leucocitária; Presença de parasita
148	Infiltração leucocitária
149	Presença de melanomacrófagos; Infiltração leucocitária
178	Presença de melanomacrófagos; Infiltração leucocitária
179	Presença de melanomacrófagos; Infiltração leucocitária
180	Presença de melanomacrófagos (em maior quantidade que os demais); Infiltração leucocitária
182	Presença de melanomacrófagos; Presença de parasita
183	Presença de melanomacrófagos (em maior quantidade que os demais); Infiltração leucocitária
189	Presença de melanomacrófagos

Tabela 10. Alterações histopatológicas encontradas nos fígados de *Mugil liza* coletados em Itaipu.

<b>Amostra</b>	<b>Alterações histopatológicas</b>
200	Tecido muito degradado para ser analisado
201	Infecção generalizada em todo o tecido (bactérias)
202	Infecção generalizada em todo o tecido (bactérias)
203	Infecção generalizada em todo o tecido (bactérias)
204	Tecido muito degradado para ser analisado

Tabela 11. Alterações histopatológicas encontradas nos fígados de *Tilapia rendalli* coletados na Lagoa de Jacarepaguá.

<b>Amostra</b>	<b>Alterações histopatológicas</b>
197	Morfologia alterada, diferente da normal
199	Presença de melanomacrófagos(em maior quantidade que os demais); Infiltração leucocitária

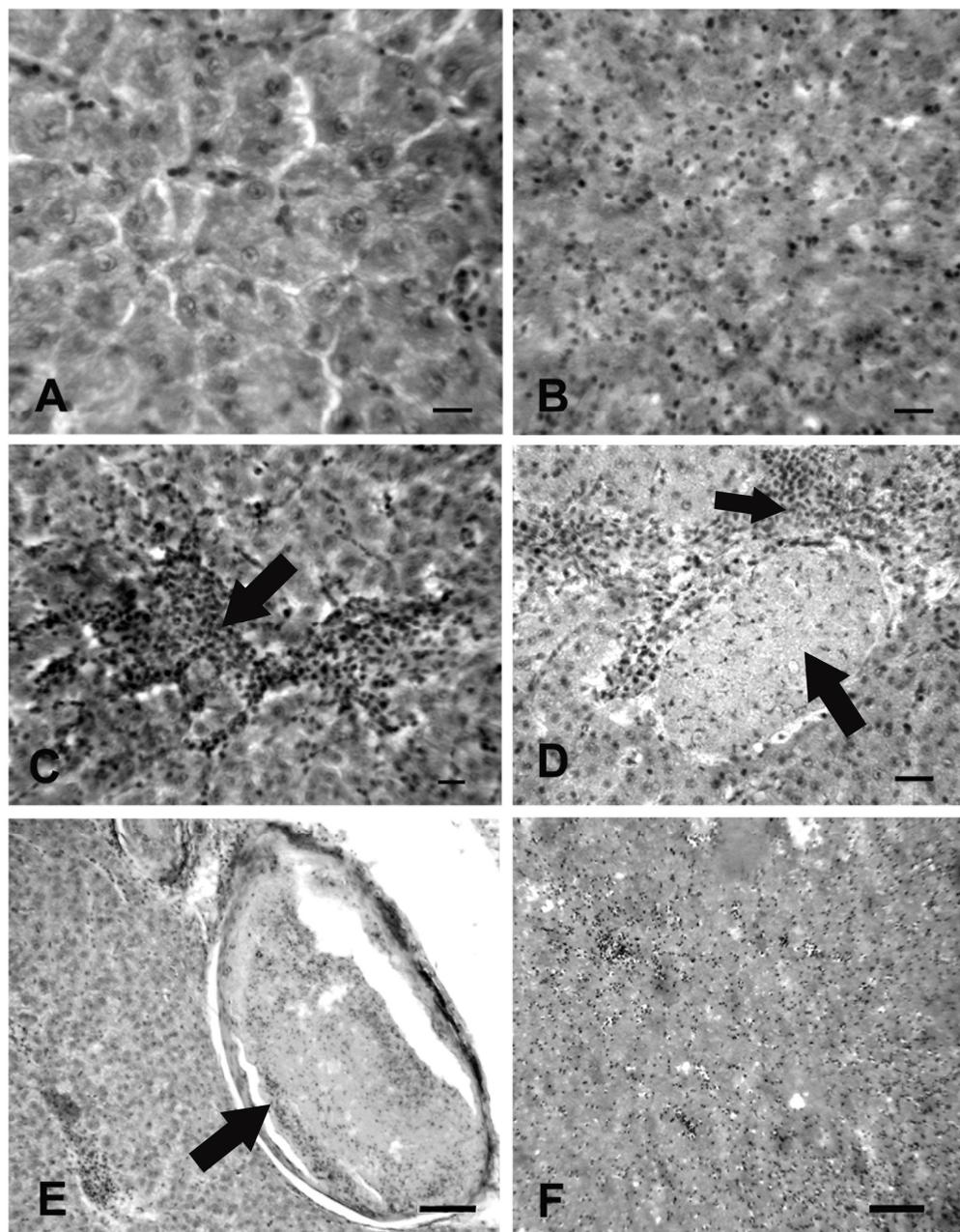


Figura 17. Histopatologia do fígado de *Mugil liza* e *Geophagus brasiliensis* corados com Hematoxilina e Eosina. **A.** Tecido normal sem danos aparentes (*Mugil liza* - Itaipu). **B e F.** Tecido hepático muito alterado apresentando infecção generalizada com infestação bacteriana (*Geophagus brasiliensis* - Lagoa de Jacarepaguá). **C.** Área de infiltração leucocitária demonstrando resposta inflamatória (seta) (*Mugil liza* - Magé - Praia de Ipiranga). **D.** Presença de centros de melanomacrófagos (seta menor) e resposta inflamatória (seta maior) (*Mugil liza* Magé - Praia de Ipiranga). **E.** Presença de endoparasita (seta) (*Mugil liza* Magé - Praia de Ipiranga). Escala = 20  $\mu$ m.

Os dois fígados de *Tilapia rendalli* se apresentaram diferentes dos demais fígados dos outros indivíduos coletados, pois houve a presença de colorações verde-escuras, muito intensas atípicas (figura 28), impregnando o tecido hepático. Ao analisar a citologia e histopatologia destes fígados, observou-se que um apresentou morfologia celular muito alterado, com o tecido completamente diferente do normal e o outro com infiltrações leucocitárias e uma presença maior que a normal de melanomacrófagos. Foi postulada a hipótese de que a presença de manchas verdes nos fígados pudesse ser devido à intensa contaminação por microcistina que ocorre neste local, porém não foram feitas análises mais detalhadas com relação a esta possibilidade.

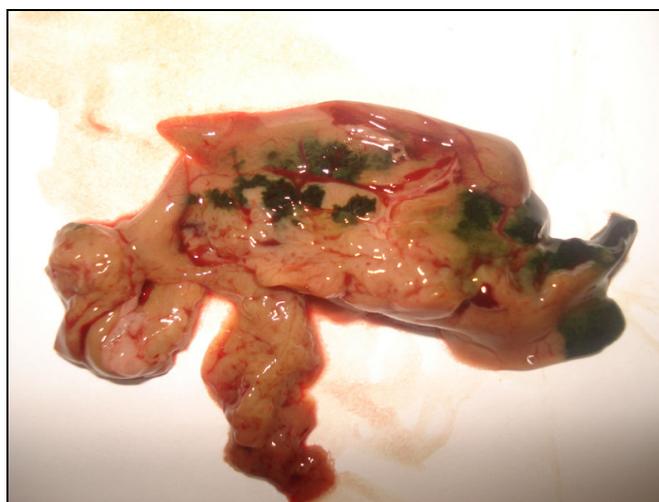


Figura 18. Fígado de *Tilapia rendalli* apresentando manchas verde-escuras atípicas.

Com relação à espécie *Mugil liza*, pôde-se observar que os fígados de peixes coletados em Magé – Praia de Ipiranga apresentaram muito mais alterações histopatológicas (presença de melanomacrófagos, parasitas e infiltrações leucocitárias) do que os peixes da mesma espécie coletados em Itaipu (onde foi observado apenas infecção generalizada no tecido, com a presença de bactérias). Este tipo de alteração maior em Magé indica a possibilidade de que a contaminação extensa presente no local pode estar, de alguma maneira, interferindo no metabolismo dos peixes.

A presença de melanomacrófagos, indicadora de stress em peixes, é normal, portanto foram levados em conta como alterações significativas os fígados onde houve maior incidência desta alteração.

O aparecimento de focos de infiltração leucocitária encontrados para *Mugil liza* e *Tilapia rendalli* pode indicar um processo inflamatório no fígado dos peixes em virtude da

exposição aos contaminantes e pode expressar uma maior susceptibilidade imune à ação de agentes externos como bactérias e vírus, ou até mesmo de parasitas oportunistas.

Os poucos registros de parasitas nas amostras analisadas tendem a corroborar com a falta de relação entre a exposição crônica e a debilidade imune. A presença de parasita, na ocasião, pode ser considerada um aspecto ecológico normal, porém são necessários estudos mais aprofundados para obter dados conclusivos sobre alterações nos padrões de parasitismo nas duas espécies.

Cortes histológicos representam, porém, apenas uma pequena parcela do órgão, sendo incapazes de detectar a totalidade de lesões presentes a menos que sejam realizados cortes seriados para que se avalie o órgão como um todo. Portanto, muitas alterações podem em realidade não terem sido constatadas neste trabalho, ou até mesmo ter sido registradas em menor número do que realmente ocorrem.

## 5.7.

### Atividade colinesterásica

O grupo controle foi considerado como sendo a fração enzimática de AChE extraída de cérebros de rato.

Todas as amostras de fração enzimática de AChE extraídas de encéfalos de peixe apresentaram atividade menor que o grupo controle de cérebros de rato (tabela 12). Este fato pode ser visto como corroboração da afirmação de Magnotti *et al.* (1994), onde os autores relataram que peixes mais primitivos apresentaram atividade enzimática mais baixa que peixes mais desenvolvidos. Seguindo a linha de raciocínio destes autores, é de se esperar que animais mais primitivos como os peixes apresentem atividade enzimática mais baixa que animais mais desenvolvidos de outra origem filogenética, como ratos. Porém, esta afirmação não pode ser feita com total certeza, pois, embora as atividades de AChE de peixes tenham sido mais baixas que a de ratos, elas variaram muito entre si, e o esperado, de que os peixes de Itaipu apresentassem atividade colinesterásica mais alta, por este ser um local sem histórico de contaminações por HPA, não ocorreu.

Tabela 12. Comparação entre a atividade média de AChE por minuto extraída de cérebros de rato e encéfalos de peixe.

<b>Amostra de fração enzimática de AChE</b>	<b>Atividade média por minuto da AChE</b>
Controle	0,0336
Peixes de Itaipu	0,0020
Peixes de São Gonçalo	0,0053
Peixes de Magé	0,0157

### 5.7.1.

#### Peixes de São Gonçalo

Em relação ao extrato de encéfalos de peixe de São Gonçalo, houve inibição de 5 a 40% da atividade colinesterásica com a adição dos padrões de Naftaleno, 2-Naftol, Pireno e 1-OH-Pireno (Em ordem decrescente de inibição). Já com a adição de Criseno e Fenantreno, a atividade colinesterásica aumentou de 40 a 90%. Os metabólitos do Naftaleno e do Pireno inibiram sempre menos a atividade colinesterásica que seus HPA originais.

Ao comparar estes dados com o grupo controle de cérebros de ratos, observou-se que houve inibição de 20 a 98% da atividade colinesterásica com a adição dos padrões de Fenantreno, Pireno, 1-OH-Pireno e Criseno (em ordem decrescente de inibição). A adição do Naftaleno e de seu metabólito, o 2-Naftol, aumentaram a atividade colinesterásica de 3 a 12%. Embora tenham ocorrido discrepâncias entre quais HPA inibiram e quais aumentaram a atividade colinesterásica nos extratos dos peixes de São Gonçalo, continua-se verificando que os metabólitos do Naftaleno e do Pireno inibiram sempre menos a atividade colinesterásica que seus HPA originais.

O aumento da atividade colinesterásica talvez seja devido a interferências causadas pela impossibilidade de retirar totalmente as finas camadas protetoras dos encéfalos dos peixes deste local.

### 5.7.2.

#### Peixes de Magé

Em relação aos extratos de encéfalos dos peixes de Magé – Praia de Ipiranga verificou-se que todos os HPA inibiram a atividade colinesterásica, de 20 a 40% na ordem

decrecente de inibição de: Pireno, Fenantreno, 1-OH-Pireno, 2-Naftol, Naftaleno e Criseno.

O Naftaleno e o Criseno inibiram igualmente a atividade colinesterásica. Novamente foi observado que o Pireno inibe mais a atividade colinesterásica que o seu metabólito, o 1-OH-Pireno. O Naftaleno e seu metabólito, 2-Naftol, não seguiram esse padrão neste caso, onde a inibição maior foi causada pela adição do metabólito e não do HPA original.

Ao comparar estes dados com o grupo controle de cérebros de ratos observou-se que houve inibição da atividade colinesterásica com a adição de todos os padrões, de 2 a 20%. Neste caso, houve semelhança com o caso dos peixes de São Gonçalo, onde os metabólitos do Naftaleno e do Pireno inibiram menos a atividade colinesterásica que seus HPA originais.

Comparando os peixes de Magé com os de São Gonçalo, verificou-se o oposto que o esperado, que seria os peixes de Magé apresentarem atividade colinesterásica inferior à atividade dos peixes de São Gonçalo. Isto seria esperado, pois imaginou-se que peixes de locais mais contaminados apresentariam inibição maior por causa dos compostos presentes na área, como HPA e metais pesados. Porém, esta discrepância pode ter ocorrido pelo fato de que os peixes de São Gonçalo foram os primeiros peixes a ser testados para este tipo de atividade colinesterásica, encontrando-se inúmeros obstáculos, como a procura por ferramentas adequadas para a retirada do encéfalo e a dificuldade de retirar as camadas protetoras do mesmo, além da possibilidade de contaminação por causa da presença de resíduos minúsculos das camadas protetoras que permaneceram. Pode-se dizer, portanto, que os peixes de São Gonçalo foram utilizados como teste para “otimizar” o método de extração dos encéfalos e o subsequente preparo da fração enzimática, sendo considerados testes preliminares.

### **5.7.3. Peixes de Itaipu**

Os peixes de Itaipu foram considerados o grupo controle das amostras reais, de encéfalos de peixe.

Em relação aos encéfalos dos peixes de Itaipu verificou-se que todos os HPA causaram o aumento da atividade enzimática da AChE, em mais de 100%, na ordem crescente de aumento de atividade de: Fenantreno, 1-OH-Pireno, Naftaleno, Criseno, 2-Naftol e Pireno. O Fenantreno e o 1-OH-Pireno aumentaram apenas ligeiramente a atividade enzimática, enquanto os outros HPA causaram um aumento considerável. Neste

caso não existiu a relação entre metabólitos e HPA originais existente nos outros casos, em que o metabólito se apresentou menos tóxico e inibiu menos que o HPA original (tabela 17).

Ao comparar estes dados com o grupo controle de cérebros de ratos (tabela 18), observou-se que houve inibição da atividade colinesterásica com a adição de todos os padrões de HPA, de 2 a 20%, e que, no caso da adição do Pireno, houve maior inibição que no caso de seu metabólito, o 1-OH-Pireno. O mesmo não aconteceu com o Naftaleno e seu metabólito.

Os dados obtidos neste trabalho com relação aos metabólitos dos HPA, que inibiram, na maior parte das vezes, a atividade colinesterásica, menos que os HPA originais, vão de acordo com Bastos (2006), que cita que após as fases da biotransformação o composto perde o seu potencial tóxico, levando à desintoxicação.

Kang e Fang (1997) foram os primeiros a demonstrar que a adição de HPA *in vitro* inibe a atividade de acetilcolinesterase. Estes autores concluíram que a classe de aromaticidade dos HPA pode estar relacionada com a potência da inibição. Eles observaram que os HPA com 3 ou mais anéis aromáticos demonstraram o maior efeito inibitório, e que os HPA com menos anéis têm pouco efeito na atividade da AChE. Também chegaram a esta conclusão com relação à aromaticidade, Jett *et al.* (1999), que em seu trabalho encontraram efeitos anti-colinesterásicos com alguns HPA, observando que os quatro diferentes HPA testados (Pireno, Benzo-a-Pireno, Fluoranteno e Antraceno) inibiram a atividade da acetilcolinesterase em graus diferenciados, com o Fluoranteno apresentando o menor grau de inibição, o Benzo-a-pireno apresentando o maior grau de inibição e o Pireno e Antraceno apresentando valores intermediários de inibição.

No presente trabalho, na maior parte das vezes, os HPA com maior número de anéis inibiram mais a atividade colinesterásica. Porém, isto não ocorreu em todos os testes, onde foram observados aumentos de atividade colinesterásica que não podem ser explicados com base nos trabalhos dos autores citados acima, com os HPA Fenantreno, no caso dos peixes de Magé, Criseno e Fenantreno no caso dos peixes de São Gonçalo, Naftaleno e 2-Naftol no caso dos cérebros de rato testados juntamente com os peixes de São Gonçalo e em todos os padrões de HPA adicionados aos encéfalos dos peixes de Itaipu.

As discrepâncias encontradas neste trabalho já foram encontradas em outros estudos. Diversos autores têm destacado a necessidade de mais estudos sobre a relação

entre contaminações por HPA e inibição da atividade da AChE, pois os resultados obtidos em muitos estudos diferem muito entre si, com alguns autores concluindo que a atividade da AChE sofre inibição quando ocorre contaminação por HPA, outros concluindo o contrário e outros ainda obtendo resultados que demonstram tanto inibição quanto aumento da atividade, existindo também discrepâncias quanto à importância da aromaticidade dos compostos na inibição (Deviér *et al.*, 2005; Cunha, García e Guilhermino, 2005).

Dentre estes podemos citar Deviér *et al.* (2005), que concluíram em seu trabalho que embora numerosas correlações entre HPA de baixo peso molecular e a AChE foram observadas, sua significância parece ser duvidosa, pois no trabalho destes autores (1) um biomarcador que correlacionou-se positivamente com um certo HPA em um local foi negativamente correlacionado com o mesmo composto em um outro local com concentrações semelhantes de poluentes no ambiente, (2) os HPA de peso molecular baixo exibiram variações muito pequenas, comparando com a variação das respostas dos biomarcadores e (3) nenhuma correlação foi observada ao considerar os HPAs pelas classes de aromaticidade; e Cunha, García e Guilhermino (2005), que utilizaram frações de gasolina e o HPA benzo[a]pyrene (Sigma) para verificar efeitos deste tipo de contaminação em ouriços e mexilhões, não observaram efeitos significativos na atividade da AChE de ouriços, porém em mexilhões foi observada inibição da atividade da AChE após exposição ao BaP.

Cabe destacar que, dentre os trabalhos citados, Dévier *et al.* (2005) utilizaram AChE obtido a partir de brânquias de mexilhões e Cunha, García e Guilhermino (2005) utilizaram tecidos dos pés de mexilhões.

## 5.8. Biliverdina

### 5.8.1. Limites de detecção e quantificação do método

O resultado da análise de regressão feita no software Microsoft Office Excel 2003 está representado na tabela 13.

Tabela 13. Estatística de regressão

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0.99673863

R-Quadrado	0.9934879
R-quadrado ajustado	0.99308089
Erro padrão	0.05693393
Observações	18

ANOVA					
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	7.9123	7.9123	2441	6.37E-19
Resíduo	16	0.0519	0.0032		
Total	17	7.9642			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>	<i>95% inferiores</i>	<i>95% superiores</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Interseção	0.0459	0.0221	2.0756	0.0544	-0.0010	0.0927	0.0010	0.0927
Variável X 1	0.0252	0.0005	49.4061	0.0000	0.0241	0.0263	0.0241	0.0263

O limite de detecção do espectrofotômetro foi calculado utilizando os dados obtidos pela análise de regressão, apresentados na Tabela 29. O valor encontrado para limite de detecção foi de 3,72  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

O limite de quantificação do espectrofotômetro também foi calculado utilizando os dados obtidos pela análise de regressão, apresentados na Tabela 29. O valor encontrado para limite de quantificação foi de 12,40  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

### 5.8.2.

#### **Absorção molecular e normalização dos dados de metabólitos de HPA em relação à concentração de biliverdina**

As absorvâncias das amostras de bÍlis foram comparadas às absorvâncias das soluções padrão de biliverdina (MP Biomedicals). Foram utilizadas bÍlis de todos os locais de coleta, e de cores diferentes.

O tipo de pesca de captura dos peixes pode influenciar em seu *status* alimentar, devido às diferenças entre o tempo que o peixe permanece preso, como por exemplo na captura por curral, praticado em um dos locais de coleta (Magé – Praia de Ipiranga), ao comparar com outros tipos de pesca como rede de arrasto, praticado na Lagoa Rodrigo de Freitas e em Itaipu. Na captura por curral, utilizam-se esteiras de bambu, presas a troncos de árvores dos manguezais ou eucalipto, fixos no local. A vida útil de um curral varia de 11 a 12 meses (IBAMA, 2002). O peixe consegue entrar nesta armadilha, porém não consegue sair, ficando confinado ao local até ser retirado pelos pescadores. Com

isso, a probabilidade do peixe se alimentar se torna menor, por ele estar preso e não poder nadar livremente à procura de alimento. Já no tipo de pesca por rede de arrasto, como a que é mais utilizada em Itaipu, os peixes são capturados nadando livremente.

Existem dois principais motivos para a normalização dos metabólitos biliares de HPA: (1) ela é uma tentativa de reduzir a variância do conjunto de dados, e (2) para investigar se aparentes diferenças entre grupos de amostras são na verdade devido à diferenças na exposição e ingestão de xenobióticos, como os HPA, ou se são conseqüências do acúmulo ao longo do tempo dos metabólitos de HPA na bÍlis.

De acordo com diversos autores (Richardson, 2004; Aas *et al.*, 2000) a normalização dos dados para a biliverdina não reduza variância das mensurações dos metabólitos de HPA na bÍlis em peixes amostrados ao mesmo tempo. Porém, existem controvérsias na literatura, como nos estudos de Ruddock *et al.*, (2003), em que a normalização da biliverdina tem efeito na redução da variação destes biomarcadores. Portanto, a normalização dos dados foi realizada, para verificar se era válida ou não para este estudo, seguindo o método proposto por Ariese *et al.* (1997), em que os dados foram normalizados para a absorvância no comprimento de onda de 380nm.

Neste trabalho, então, foram normalizados os dados de metabólitos de HPA (Compostos fluorescentes totais, dados em equivalentes de 1-OH-Pireno), quantificados por fluorescência em trabalhos anteriores no Laboratório de Estudos Ambientais da PUC-Rio (Neves & Hauser-Davis, Com. Oral, 2008) em relação às concentrações de biliverdina determinadas no presente trabalho.

Os resultados mostraram correlação significativa ( $p > 0,05$ ) entre as concentrações de biliverdina e os metabólitos de HPA nas bÍlis das tainhas coletadas em Magé – Olaria e São Gonçalo – Gradim. Não houve correlação entre as tainhas coletadas em Itaipu, Magé-Praia de Ipiranga e entre as tilápias coletadas na Lagoa de Jacarepaguá.

Porém, como os peixes de diferentes locais foram coletados por diferentes técnicas de captura, como rede de arrasto e captura por curral, não há como saber por quanto tempo os peixes ficaram sem se alimentar antes de serem capturados, dificultando a compreensão dos dados.

Estes resultados sugerem que os dados de normalização de biliverdina não devem ser discutidos sozinhos, mas sim em conjunto com outras técnicas de quantificação de metabólitos de HPA e observações morfológicas.

As figuras 31, 32 e 33 apresentam a curva analítica das soluções padrão de biliverdina, o espectro de varredura das soluções padrão e o espectro das amostras de

bílis diluídas a 1%, coletadas em Itaipu, na Lagoa Rodrigo de Freitas, Magé - Olaria, Magé – Praia de Ipiranga e São Gonçalo, respectivamente.

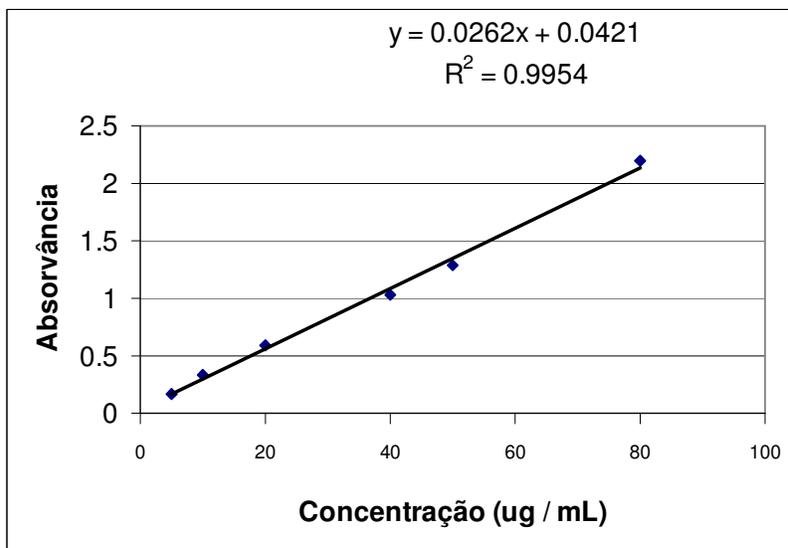


Figura 19. Curva analítica das soluções padrão de biliverdina em etanol 48%.

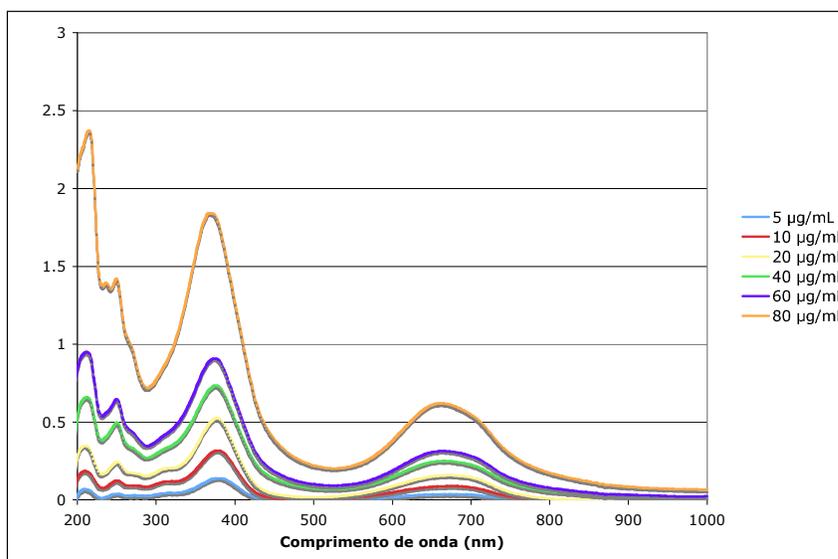


Figura 20. Espectros de varredura das soluções padrão de Biliverdina.

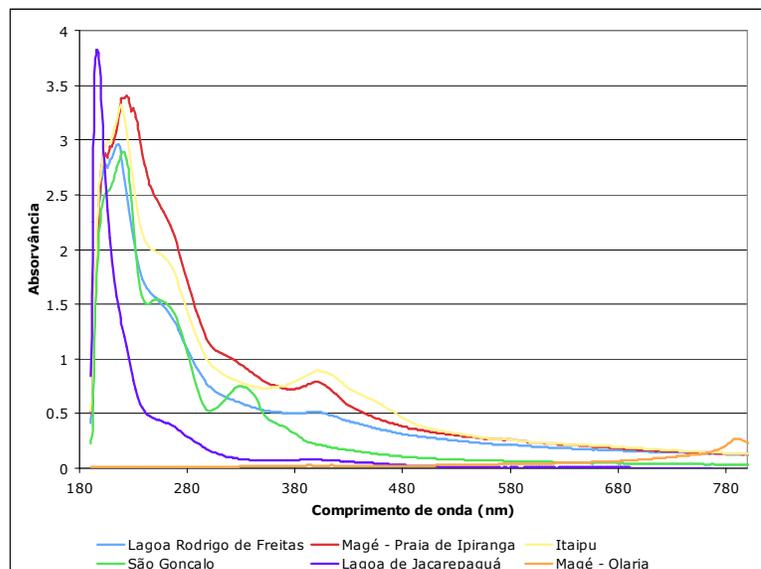


Figura 21. Espectro das amostras de bÍlis diluídas a 1%, coletadas em Itaipu, Lagoa Rodrigo de Freitas, Magé - Olaria, Magé – Praia de Ipiranga e São Gonçalo.

A tabela 14 apresenta os valores das Concentrações de biliverdina ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e de compostos fluorescentes totais (CFT) em equivalentes de 1-OH-Pireno ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) das amostras de bÍlis de *Tilapia rendalli* e *Mugil liza* analisadas neste trabalho. Não foi possível calcular estes valores para os acarás, por falta de quantidade suficiente de bÍlis.

Tabela 14. Concentrações de biliverdina ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e de compostos fluorescentes totais (CFT) em equivalentes de 1-OH-Pireno ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) das amostras de bÍlis de *Tilapia rendalli* e *Mugil liza* analisadas neste trabalho.

<b>Espécie, data e local de coleta</b>	<b>Amostra</b>	<b>Biliverdina (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>CFT em Equivalentes de 1-OH-Pireno (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>
<i>Tilapia rendalli</i> Lagoa de Jacarepaguá ago/07	4	18,89	1,08
	5	7,52	< LD
	9	5,39	< LD
	10	7,62	< LD
	11	3,83	< LD
<i>Mugil liza</i> Itaipu ago/07	2	43,45	0,57
	3	35,14	0,55
	4	27,86	0,47
	5	25,97	0,54
	6	24,28	1,03
	7	29,73	0,97
	8	51,33	0,28
	9	26,18	0,14
<i>Mugil liza</i> Magé - Olaria ago/07	1	14,13	0,03
	2	19,00	< LD
	3	20,60	0,12
	4	7,33	0,05
	5	14,58	0,35
	6	21,82	1,44
	7	46,89	2,05
	8	20,88	0,97
	9	32,19	1,26
	10	24,68	1,03
	11	42,18	1,71
	12	4,83	0,39
<i>Mugil liza</i> Magé - Praia de Ipiranga ago/07	147	27,87	5,49
	148	44,15	4,66
	149	< LD	4,85
	150	14,71	0,84

<i>Mugil liza</i> São Gonçalo set/out /07	151	25,33	0,12
	152	15,340	0,33
	153	10,811	0,56
	154	13,148	0,53
	157	25,515	0,43
	158	63,957	1,07
	159	13,058	0,19
	160	13,127	1,31