

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Coletas das Amostras

Todos os peixes coletados em 2001 pertenceram à espécie *Cichla monoculus*, conhecida como tucunaré comum. Os tucunarés coletados em 1992 foram classificados apenas ao nível de gênero, portanto constam no presente trabalho como *Cichla* sp.. Acredita-se, no entanto, que no sistema de lagos Maicá a espécie predominante seja *Cichla monoculus*, pois no ano de 2001 somente foram coletados exemplares desta espécie. Na Figura 3 se mostra um exemplar da espécie *Cichla monoculus* coletado em 2001.



Figura 3. Fotografia de um exemplar de *Cichla monoculus* coletado em 2001.

No total realizaram-se quatro conjuntos de coletas. No sistema de lagos Maicá, foram coletados 52 espécimes de *C. Monoculus* e 28 espécimes de *Cichla* sp nos anos 2001 e 1992 respectivamente. No rio Tapajós, foram coletados 26 exemplares de *C. Monoculus* e 33 exemplares de *Cichla* sp nos

anos 2001 e 1992, respectivamente. Os locais de coleta, o tamanho, o peso e a concentração de mercúrio de cada um dos exemplares coletados encontram-se nas Tabelas 9, 10, 11 e 12 do Apêndice, e foram disponibilizados pela Dra. Zuleica Castilhos, do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) e o Dr. Paulo Sérgio Souto da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA).

#### 4.2.

#### **Análise dos Peixes e Processamento Estatístico dos Dados**

Medidas morfométricas (comprimento e massa) dos peixes foram realizadas.

O comprimento total, (distância da ponta do focinho à extremidade dos raios mais longos da nadadeira caudal, CT) e padrão (distância à base da nadadeira caudal, CP) dos peixes coletados em 2001 foram medidos e registrados. Para os indivíduos coletados em 1992, foi medido apenas o comprimento total.

A massa de cada indivíduo foi determinada utilizando uma balança comum. A pesagem foi feita com o peixe íntegro, ou seja, não foi removido o estômago nem nenhuma outra víscera para determinar a massa do espécime.

A determinação da concentração de mercúrio total no músculo do peixe foi realizada no CETEM. Foi utilizada a técnica de abertura ácida úmida a quente, e se empregou um espectrômetro de absorção atômica com sistema de geração de vapor frio de mercúrio, *Automatic Mercury Analyzer Hg 3500*.

Os valores médios do comprimento total, do peso e da concentração de mercúrio no tucunaré foram estimados para cada coleta. A medida de dispersão das médias foi dada pelos respectivos intervalos de confiança destas estimativas. As mesmas foram comparadas através do Teste ANOVA para determinar se existiam diferenças significativas entre o valor médio do comprimento, do peso e da concentração de mercúrio dos grupos para um nível de significância de 5% (Zar 1999). O teste de Duncan foi utilizado para determinar especificamente qual grupo é estatisticamente diferente dos outros para o mesmo nível de significância. Também se determinou por meio de histogramas de frequência por intervalo de comprimento, a faixa de comprimento mais comum dos peixes em cada um dos grupos de coleta. Não se pretendeu, entretanto, caracterizar as populações de tucunaré que habitam o lago Maicá e o

rio Tapajós, pois isto, além de ser inviável, tendo em vista o reduzido tamanho amostral, fugiria do escopo dos objetivos propostos neste trabalho

Para cada uma das amostras foram calculados os parâmetros ( $a$  e  $b$ ) da expressão exponencial empírica que relaciona o peso com o comprimento padrão ( $W=aCP^b$ ). As determinações de  $a$  e  $b$  foram feitas a partir do ajuste linear dos pontos do gráfico logarítmico do peso e comprimento padrão. Os mesmos foram comparados através do Teste de Duncan, num nível de significância de 5% (Zar 1999). Para os peixes coletados no ano 1992 os comprimentos padrões foram determinados a partir de uma equação linear que relaciona o comprimento padrão e o total. Esta relação foi obtida a partir dos dados de comprimento total e padrão dos peixes coletados em 2001.

Realizou-se um gráfico de concentração de mercúrio em função do comprimento para cada um dos conjunto de coletas. A partir deste se analisou a variação da concentração de mercúrio com a idade do peixe.

A variação da concentração de mercúrio nos peixes foi calculada a partir do modelo de balanço de massa de Trudel. As taxas de consumo de alimento, que é um dos parâmetros de entrada do modelo de Trudel, foram calculadas através do modelo bioenergético tipo Wisconsin, conjuntamente com a taxa metabólica. O modelo de bioacumulação para cada uma das coletas foi executado partindo de certas condições iniciais de concentração de mercúrio e comprimento padrão do tucunaré. Estas condições iniciais são próprias de cada coleta. A variação da concentração de mercúrio no tucunaré foi modelada para valores de concentração de mercúrio mínima ( $C_{dmín}$ ) e máxima ( $C_{dmáx}$ ) observadas na espécie *Semaprochilodus brama*, conhecida como jaraquí, e coletadas no sistema de lagos Maicá (Santarém) e no rio Tapajós (Itaituba-Jacareacanga) no ano 1992. As coletas do *Semaprochilodus brama*, conhecido como jaraquí, foram feitas na mesma época e nos mesmos locais que as coletas do tucunaré. Também se modelou para valores concentração de mercúrio no alimento duas e três vezes o valor da concentração máxima de mercúrio observada no jaraquí. O modelo calcula cada um dos parâmetros por dia. Como não foi determinada a concentração no jaraquí nas regiões de Itaituba-Jacareacanga e Santarém no ano 2001, foram usadas as concentrações de mercúrio no jaraquí coletado no ano 1992.

O erro relativo porcentual médio de cada estimativa foi calculado a partir da seguinte equação:

$$E\% = 100\left\{\sum\left|y_0 - y_p\right|^{-1}\right\}n^{-1} \quad (4.2.1)$$

onde:  $y_0$  representa o valor observado de concentração de mercúrio no peixe,  $y_p$  o valor estimado de concentração de mercúrio e  $n$  o número de pares de valores.

A idade foi estimada utilizando a curva de crescimento de von Bertalanffy para a espécie *C. monoculus*. Os parâmetros  $k$  (taxa de crescimento) e  $CP_8$  (crescimento máximo ou assintótico da espécie) desta equação foram obtidos da literatura (Issac & Rufino 1995), vide Tabela 13, Apêndice.

Os cálculos dos parâmetros de saída do modelo e as determinações do valor médio e intervalo de confiança foram feitos no programa Microsoft® Excel 2000. Para as comparações entre os valores médios das variáveis determinadas nas coletas, foi utilizado o programa ESTATISTICA.

#### 4.3.

##### Modelo de Balanço de Massa para o Mercúrio

A acumulação do mercúrio no peixe foi calculada a partir da seguinte equação (Thomann 1981):

$$\frac{dC}{dt} = aC_d I - (Em + G + K)C \quad (4.3.1)$$

onde:  $C$  é a concentração de mercúrio no peixe ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ),  $t$  é o tempo (dia),  $a$  é a eficiência de assimilação do mercúrio a partir do alimento (-),  $C_d$  é a concentração média de mercúrio no alimento ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ),  $I$  é a taxa específica de consumo de alimento pelo peixe por dia ( $\text{dia}^{-1}$ ),  $Em$  é a taxa de eliminação de mercúrio pelo peixe ( $\text{dia}^{-1}$ ),  $G$  é taxa de crescimento específico de um indivíduo de uma espécie que não está em fase de reprodução ( $\text{dia}^{-1}$ ) e  $K$  é a taxa de perda de mercúrio para as gônadas por dia ( $\text{dia}^{-1}$ ), Figura 4.

A taxa de eliminação de mercúrio pelo peixe ( $Em$ ) foi calculada pela seguinte equação:

$$Em = j W^b e^{gT} \quad (4.3.2)$$

onde:  $j$ ,  $b$  e  $g$  são constantes empíricas,  $W$  é a massa do peixe (g) e  $T$  é a temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ). Na Tabela 13 do Apêndice encontram-se os valores destas constantes.

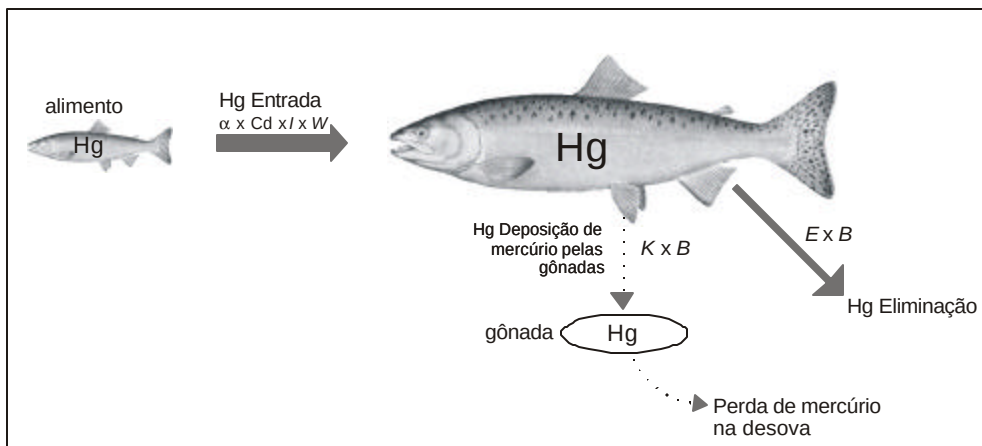


Figura 4. Diagrama em que se representa a entrada e as saídas de mercúrio do peixe.

A taxa individual de crescimento específico ( $G$ ) foi estimada usando a massa em dois dias consecutivos a partir da seguinte equação:

$$G = \frac{1}{\Delta t} \ln \frac{W_{t+\Delta t}}{W_t} \quad (4.3.3)$$

onde:  $\Delta t$  é o intervalo de tempo (1 dia),  $W_t$  e  $W_{t+\Delta t}$  são as massas do peixe (g) nos tempos  $t$  e  $t + \Delta t$ .

A expressão de von Bertalanffy, equação 4.3.4, foi usada para a obtenção da curva de crescimento em comprimento. A curva de crescimento em massa foi determinada pelo método dedutivo, através das expressões da curva de crescimento em comprimento e da relação massa x comprimento, equação 4.3.5.

$$CP = CP_{\infty} (1 - e^{-kt}) \quad (4.3.4)$$

$$W = aCP^b \quad (4.3.5)$$

Na equação 4.3.4,  $k$  é a taxa de crescimento ( $\text{dia}^{-1}$ ) e  $CP_{\infty}$  é o comprimento padrão máximo atingido pela espécie (cm). As constantes  $a$  e  $b$  são estimadas através da regressão linear dos parâmetros comprimento padrão e massa, previamente logaritmizados.

A taxa de eliminação de mercúrio pelas gônadas ( $K$ ) foi calculada pela equação:

$$K = \frac{Q \cdot G_{si}}{365} \quad (4.3.6)$$

onde:  $Q$  é a razão entre a concentração de mercúrio nas gônadas e a concentração de mercúrio no peixe (-) e  $G_{si}$  é o índice gonadosomático (-), Tabela 13 no Apêndice.

O valor de  $Q$  foi calculado a partir de:

$$Q = \frac{Q_m G_{si} + Q_f G_{sif}}{G_{sim} + G_{sif}} \quad (4.3.7)$$

onde:  $Q_m$  e  $Q_f$  são as razões entre a concentração de mercúrio nas gônadas e a concentração de mercúrio no macho e na fêmea, respectivamente, e  $G_{sim}$  e  $G_{sif}$  são os índices gonadosomáticos do macho e da fêmea, respectivamente.

O modelo supõe que diariamente uma fração constante de mercúrio é eliminado pelas gônadas.

Integrando a equação 4.3.1 para um determinado intervalo de tempo  $Dt$  a seguinte equação é obtida:

$$C_{t+Dt} = C_t e^{-(E+G+K)Dt} + \frac{(a C_d I)}{(E+G+K)} [1 - e^{-(E+G+K)Dt}] \quad (4.3.8)$$

onde  $C_t$  e  $C_{t+Dt}$  são as concentrações de mercúrio no peixe ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) nos tempos  $t$  e  $t + Dt$ . Em peixes juvenis a equação 4.3.8 pode ser simplificada considerando  $K = 0$ , pois estes ainda não desovaram.

A equação 4.3.8 pode ser usada para determinar a acumulação de mercúrio no peixe ao longo do tempo, ou seja, com a idade, e requer estimativas de  $a$ ,  $E$ ,  $G$ ,  $C_d$  e  $I$  para  $t = 0$ ,  $C_d$  e  $I$ . Considera-se que  $a$  é constante e que  $E$ ,  $G$  e  $I$  variam com o tempo em função do tamanho do peixe e temperatura da água.  $K$  foi igualado a zero para peixes imaturos e foi suposto constante para peixes adultos.

#### 4.4. Modelo Bioenergético de Wisconsin

O modelo bioenergético de Wisconsin foi usado para calcular a taxa diária de consumo de alimento a partir de dados de crescimento estimados. A descrição desse modelo fundamenta-se na versão publicada por Kitchell et al., (1977).

A taxa de consumo de alimento é determinada como o somatório das taxas de todos os processos que despendem a energia assimilada pelo peixe através do alimento, somando-se aquela que não foi assimilada e que foi assimilada, mas não utilizada.

A seguinte equação foi usada para calcular a taxa diária de consumo de alimento.

$$I = R + F + E + G \quad (4.4.1)$$

onde:  $R$  é a taxa de consumo de energia pela respiração ou metabolismo (inclui metabolismo em repouso (*standard*), metabolismo ativo e o devido às ações dinâmicas específicas) ( $\text{dia}^{-1}$ ),  $F$  é a taxa específica de ejeção ( $\text{dia}^{-1}$ ),  $E$  é a taxa específica de excreção ( $\text{dia}^{-1}$ ) e  $G$  e  $I$  significam o mesmo que no modelo de balanço de massa.

A taxa de metabolismo em repouso depende da massa corporal e da temperatura ambiente. Ademais, os níveis de atividade e de alimentação afetam a respiração. A taxa de respiração específica ou total,  $R$ , é dada por:

$$R = R_{\max} f(T) ACT + sda(I - F) \quad (4.4.2)$$

$$R_{\max} = a_1 W^{b_1} \quad (4.4.3)$$

onde:  $R_{\max}$  é a taxa máxima de respiração na temperatura ótima de respiração, e se expressa como função alométrica do peso, onde  $a_1$  e  $b_1$  são constantes de regressão,  $ACT$  é um parâmetro que caracteriza a atividade para especificar as taxas de respiração maiores que a respiração em repouso (i.e. quando  $ACT = 2$  significa que o gasto da atividade é igual ao consumo de energia da respiração em repouso),  $f(T) = V^X [e^{X(1-V)}]$  é o termo de ajuste para a variação da taxa de respiração com a temperatura e  $sda$  é o coeficiente das ações dinâmicas específicas.

A função  $f(T)$  é empregada para ajustar a curva da resposta a alterações na temperatura usando três parâmetros de importância biológica ( $T_o$ ,  $T_m$ ,  $Q$ ).  $T_o$  é a temperatura ótima para a respiração em repouso,  $T_m$  é a temperatura máxima para a respiração em repouso e  $Q$  é o coeficiente angular para a dependência da respiração em repouso com a temperatura (Tabela 13 no Apêndice). O valor de  $f(T)$  alcança o valor máximo de 1 quando a temperatura é igual a  $T_o$  e decresce rapidamente a zero quando a temperatura é igual a  $T_m$ . Os termos que participam na função de dependência da temperatura são:

$$V = \frac{T_m - T}{T_m - T_o}$$

$$X = \frac{Z^2 \left[ 1 + \left( 1 + \frac{40}{Y} \right)^{0.5} \right]^2}{400}$$

$$Z = \ln(Q)(T_m - T_o)$$

$$Y = \ln(Q)(T_m - T_o + 2)$$

As ações dinâmicas específicas são definidas como o custo metabólico da digestão do alimento e incluem a energia liberada na deaminação das proteínas (ações dinâmicas específicas) e também a energia usada durante a digestão mecânica, assimilação e deposição da energia consumida. Muitas vezes o coeficiente  $sda$  é suposto constante e proporcional à taxa de consumo de energia (Jobling 1985).

As perdas de energia no material de rejeito são definidas como ejeção e excreção. A ejeção é a parte do alimento que não é assimilado sendo eliminado nas fezes. A excreção é a parte do alimento assimilado que não é usado pelas células do organismo e que se elimina em forma de compostos nitrogenados na urina. Essas taxas são calculadas em função da taxa de alimentação pelas seguintes equações:

$$F = fI \quad (4.4.3)$$

onde  $f$  é a fração do alimento consumido que é ejetado.

$$E = e(I - F) \quad (4.4.4)$$



onde  $e$  é a fração do alimento assimilado que é excretado.

Todas as taxas específicas são expressas em  $\text{dia}^{-1}$  e são calculadas diariamente. As taxas totais podem ser calculadas a partir da multiplicação da massa do peixe pelas taxas específicas.