



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro de Tecnologia e Ciências

Faculdade de Oceanografia

Lara Gama Vidal

**O uso do boto-cinza (*Sotalia guianensis*) como sentinel da poluição ambiental  
por compostos organoclorados (DDT, PCB, HCH, HCB e Mirex) em baías  
costeiras do Estado do Rio de Janeiro.**

Rio de Janeiro

2010

Lara Gama Vidal

**O uso do boto-cinza (*Sotalia guianensis*) como sentinel da poluição ambiental  
por compostos organoclorados (DDT, PCB, HCH, HCB e Mirex) em baías  
costeiras do Estado do Rio de Janeiro.**

Dissertação apresentada, como requisito  
parcial para obtenção do título de Mestre,  
ao Programa de Pós-Graduação da  
Faculdade de Oceanografia, da  
Universidade do Estado do Rio de  
Janeiro. Área de concentração:  
Caracterização, Diagnóstico e Evolução  
de Ambientes Marinhos

Orientador: Prof. Dr. José Lailson Brito Junior

Co-orientador: Prof. Dr. Alexandre de Freitas Azevedo

Rio de Janeiro

2010

CATALOGAÇÃO NA FONTE

UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOECA CTC/C

V648

Vidal, Lara Gama.

O uso do boto-cinza (*Sotalia guianensis*) como sentinela da poluição ambiental por compostos organoclorados (DDT, PCB, HCH, HCB e Mirex) em baías costeiras do Estado do Rio de Janeiro.. – 010. 88 f.

Orientador: José Lailson Brito Junior

Co-orientador: Alexandre de Freias Azevedo.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Oceanografia.

1. Boto – Teses. 2. Compostos organoclorados – Teses. 3. Poluição – Sepetiba, Baía de – Teses. 4. Poluição – Ilha Grande, Baía de – Teses. I. Brito Junior, José Lailson. II. Azevedo, Alexandre de Freitas. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Oceanografia. III. Título.

CDU 599.5

Autorizo , apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese.

---

Assinatura

---

Data

Lara Gama Vidal

**O uso do boto-cinza (*Sotalia guianensis*) como sentinel da poluição ambiental  
por compostos organoclorados (DDT, PCB, HCH, HCB e Mirex) em baías  
costeiras do Estado do Rio de Janeiro.**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Oceanografia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Caracterização, Diagnóstico e Evolução de Ambientes Marinhos

Aprovado em 16 de Setembro de 2010

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. José Lailson Brito Junior (Orientador)  
Faculdade de Oceanografia da UERJ

---

Prof. Dr. Marcos A. S. Fernandez  
Faculdade de Oceanografia da UERJ

---

Prof. Dr. Olaf Malm  
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da UFRJ

---

Prof. Dr. Paulo R. Dorneles  
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da UFRJ

Rio de Janeiro  
2010

## **DEDICATÓRIA**

Ao meu esposo, Thiago e aos meus pais,  
Olivia e Almir.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, José Lailson Brito Junior, que há 6 anos, quando era apenas uma aluna do 3º período da graduação, me deu a oportunidade de entrar na família MAQUA. Por acreditar no meu trabalho, por me confiar o GC, equipamento que acho só ter visto uma única vez. Por me incentivar a sempre continuar, a acreditar que mesmo que hoje não desse certo, amanhã com certeza daria, e deu. Pela leitura de meus manuscritos, pelas idéias, pela atenção... Por toda a força e dedicação para que hoje o MAQUA tenha e seja um excelente laboratório.

Ao meu co-orientador, Alexandre Azevedo, pelas várias carcaças recolhidas em conjunto, incluindo madrugadas de domingo, tardes de páscoa... Pelo incentivo, pela atenção para esclarecer dúvidas, por ler meus manuscritos, pelas aulas em que tive o privilégio de ser sua aluna, e por junto com o Zé, lutar para que tivéssemos o surreal laboratório que hoje o MAQUA tem.

Ao Dr., Paulo Dorneles por todos os ensinamentos, pela paciência em repassar cada um de seus conhecimentos, seja no laboratório, seja no recolhimento de carcaças, eu aprendi com você, boa parte do que sei hoje. Por acreditar em mim, confiar em meu trabalho, e sempre me incentivar. E por acompanhar e opinar na adequação da metodologia e dos resultados desse trabalho.

Ao Prof. Olaf Malm por sempre ter disponibilizado a estrutura do Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca e pelo apoio prestado.

Ao Prof. João Torres por ter disponibilizado a estrutura de seu laboratório. Assim como às suas alunas, Carol e Larissa, pela ajuda para que pudéssemos realizar a confirmação dos padrões.

À Haydée pela determinação do sexo das biópsias, por revisar o manuscrito de sexagem. A Bruna, aluna da Haydée, que ajudou na determinação da sexagem das biópsias.

Ao Cláudio Eduardo, por mesmo acidentado nos receber em sua casa para discussões, idéias, dicas e ensinamentos sobre a metodologia. Por ter disponibilizado seu tempo para ajudar na preparação das soluções padrões. Por todos os emails e ligações, estando sempre pronto a esclarecer dúvidas.

Ao Leonardo Flach, pelo imprescindível trabalho e apoio no recolhimento de carcaças na Baía de Sepetiba, e pelas biópsias das baías de Sepetiba e Ilha Grande, sem as quais esse trabalho simplesmente não teria sido realizado.

Ao Prof. Marcos Fernandez, por disponibilizar seu escasso tempo para esclarecer dúvidas, pelas sempre produtivas discussões, e por todas as dicas e idéias.

À Tati Bisi, por fazer o laboratório funcionar, por mesmo estando na Bélgica, me ouvir e acompanhar comigo o passo a passo da validação da metodologia. Por torcer e apoiar esse trabalho. E principalmente por sua amizade. Sua competência e dedicação são grandes exemplos.

À Mariana Alonso, pelo repasse do conhecimento adquirido, e pela companhia no início de todo o processo.

À equipe do MAQUA, pela ajuda e apoio prestados. Um agradecimento especial a Luciana, por todo o incentivo e pelas conversas. E ao Rafael, meu irmão mais novo, pelas conversas e saídas de campo, sempre energizantes. A Ju Marigo, por em sua curta permanência no MAQUA já ter adicionado conhecimento e informações de grande valia. E pelas conversas e apoio. E as meninas, Lorena, Débora, Luciana, pelos papos, pelos choros e risadas, pelas pizzas, pelas quase noites viradas.

Aos meus pais, que sempre me apoiaram em minhas escolhas mesmo quando passei a trilhar um caminho desconhecido por eles. Que sempre me ouviram e incentivaram nos momentos mais difíceis, que mesmo com os milhares de quilômetros nos separando eu sentia o calor e abraço de meu pai e minha mãe. E acima de tudo muito obrigada pela criação que vocês me deram, porque depois desses anos de vida trilhados, consigo perceber que cada pessoa é 80% do reflexo de sua criação. Obrigada por todo amor e carinho.

A minha avó Penha e meu avô Sebastião, que nos ajudaram a criar, nos dando sempre muito carinho, amor e atenção. Vocês são minhas jóias mais preciosas.

Aos meus irmãos, Hector e Herbert, que sempre me ouviram, me apoiaram e me incentivaram.

A toda minha família, avós, avôs, tios, tias, primas, primos, por sempre vibrarem com cada uma de minhas conquistas e sempre estarem de braços abertos e quentes para me receber.

Ao meu esposo Thiago, pelo apoio e incentivo, mesmo quando as coisas não estavam dando certo, por sempre acreditar em mim. Por muitas vezes dormir com a cama vazia enquanto as noites foram longas para mim, ou pelas vezes em que para não ficarmos longe, dormiu com a luz acessa enquanto eu trabalhava. Por todo seu carinho e atenção, por ouvir meus devaneios e histórias com os clorados, tenho certeza que hoje você sabe várias coisas. Obrigada, meu anjo.

Aos meus amigos, Rodrigo e Karla, por sempre me ouvir, apoiar, acreditar, e incentivar.

Intoxicada com a sensação de seu poder, a humanidade parece estar se envolvendo cada vez mais em experiências de destruição de si próprio e de seu mundo

*Rachel Carson*

## RESUMO

VIDAL, Lara Gama. *O uso de cetáceos (Mammalia, Cetacea) como sentinelas da poluição ambiental por compostos organoclorados (DDT, PCB, HCH, HCB e Mirex) em baías costeiras do Estado do Rio de Janeiro.* 2010. 88f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) – Faculdade de Oceanografia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

Concentrações de compostos organoclorados (DDTs, PCBs, HCHs, Mirex e HCB) foram determinadas em camadas externas e internas do tecido adiposo subcutâneo de 17 botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da região Sudeste do Brasil. Não houve diferenças estatísticas significativas entre os estratos, relativo aos 37 compostos determinados, assim como  $\Sigma$ DDT,  $\Sigma$ PCB,  $\Sigma$ HCH, e as razões  $p,p'$ -DDE/ $\Sigma$ DDT e  $\Sigma$ DDT/ $\Sigma$ PCB. Entretanto, foram observadas diferenças significativas nas concentrações de alguns compostos organoclorados de animais encalhados ou capturados acidentalmente quando comparados com animais biopsiados remotamente, sendo assim as comparações entre esses dois conjuntos de dados, devem ser vistas com cuidado. No presente estudo, as concentrações dos compostos organoclorados foram determinadas em biópsias de botos-cinza obtidas de 2007 a 2009, nas baías de Sepetiba (n=13) e Ilha Grande (n=11), Sudeste do Brasil. As concentrações (ng/g de lipídio) variaram de <LD a 26 621 para o  $\Sigma$ DDT, de 256 a 60 195 para o  $\Sigma$ PCB; de <LD a 2 296 para  $\Sigma$ HCH; de 142 a 1 088 para o Mirex, bem como de <LD a 35 para o HCB. Com relação à análise discriminante, os dados dos machos capturados acidentalmente gerados no presente estudo foram analisados juntamente com dados dos machos de um estudo recente que utilizou amostras do tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza capturados acidentalmente. Através dessa análise, foi possível verificar que as populações de boto-cinza de 2 baías costeiras vizinhas (Sepetiba e Guanabara), bem como da Baía de Paranaguá, apresentaram padrões distintos de acumulação dos compostos organoclorados. O último achado demonstra a existência de separações ecológicas entre os botos-cinza a partir de diferentes áreas, o que constitui informação de grande importância para a conservação e o manejo da espécie.

Palavras-chave: Organoclorados. Biópsias. *Sotalia guianensis*. Boto-cinza. Baía de Sepetiba. Baía de Ilha Grande.

## ABSTRACT

Organochlorine compound (OC) concentrations (DDTs, PCBs, HCHs, Mirex and HCB) were determined in inner and outer strata from blubber of 17 Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*) from southeast Brazil. There was no statistically significant difference between the strata concerning the 37 determined compounds,  $\Sigma$ DDT,  $\Sigma$ PCB,  $\Sigma$ HCH as well as regarding the *p,p'*-DDE/ $\Sigma$ DDT and the  $\Sigma$ DDT/ $\Sigma$ PCB ratios. However, significant differences were found in concentrations of some organochlorine compounds in stranded or incidentally captured animals and remotely biopsied , thus comparisons between these two sets of data should be viewed with caution. In the present study, OC concentrations were determined in biopsy samples from Guiana dolphins obtained from 2007 to 2009, in Sepetiba (n=13) and Ilha Grande (n=11) bays, southeast Brazil. Concentrations (ng/g lipids) varied from <LD to 26 621 for  $\Sigma$ DDT, from 256 to 60 195 for  $\Sigma$ PCB; from <LD to 2 296 for  $\Sigma$ HCH; from 142 to 1 088 for Mirex; as well as from <LD to 35 for HCB. Concerning the discriminant analysis, the data from males incidentally captured generated by the present study were analyzed together with data from males to a recent study that dealt with blubber samples from males incidentally captured Guiana dolphins. Through this analysis, it was possible to verify that the Guiana dolphin populations from 2 neighboring coastal bays (Sepetiba and Guanabara), as well as from Paranaguá Bay, present differentiation on the OC accumulation patterns. This latter finding demonstrates the existence of ecological separations among Guiana dolphins from different areas, which constitutes information of importance for conservation and management purposes.

Keywords: Organochlorine, biopsy, *Sotalia guianensis*, Guiana dolphin, Sepetiba Bay, Ilha Grande Bay.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Estrutura molecular geral do PCB.....	4
Figura 2 -	Estrutura molecular dos isômeros do dicloro-difenil-tricloroetano ( <i>o,p'</i> -DDT e <i>p,p'</i> -DDT) e seus respectivos metabólitos.....	7
Figura 3 -	Estrutura molecular do hexaclorobenzeno (HCB).....	8
Figura 4 -	Estrutura molecular dos isômeros do hexaclorociclohexano (HCH).....	9
Figura 5 -	Estrutura química do dodecaclorohidro-1,3,4-metano-1H-ciclobuta[c,d] pentaleno (Mirex).....	10
Figura 6 -	Mapa de distribuição de <i>Sotalia guianensis</i> .....	11
Figura 7 -	Boto-cinza na Baía de Sepetiba (Foto: Leonardo Flach).....	11
Figura 8 -	Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande, Rio de Janeiro.....	17
Figura 9 -	Tecido adiposo subcutâneo, com a camada externa e a camada interna.....	18
Figura 10 -	Fluxograma dos tratamentos para amostras provenientes de animais encalhados e de animais biopsiados.....	28
Figura 11 -	Comparação entre médias (ng.g <sup>-1</sup> lipídio) das concentrações de organoclorados nas camadas externa e interna de tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza (n= 17) da Baía de Sepetiba.....	35
Figura 12 -	Porcentagem do <i>p,p'</i> -DDT e de seus metabólitos <i>p,p'</i> -DDE e <i>p,p'</i> -DDD no $\Sigma$ DDT no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza ( n= 17; machos= 13; fêmeas= 4) da Baía de Sepetiba.....	36
Figura 13 -	Distribuição relativa dos percentuais de organoclorados ( $\Sigma$ PCB, $\Sigma$ DDT, $\Sigma$ HCH, Mirex e HCB) nos estratos do tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza (n=17) da Baía de Sepetiba.....	37
Figura 14 -	Distribuição relativa dos percentuais de organoclorados ( $\Sigma$ PCB, $\Sigma$ DDT, $\Sigma$ HCH, Mirex e HCB) em botos-cinza (n = 24) da Baía de Sepetiba (SEP, n=13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n=11).....	40

Figura 15 -	Mediana e valores mínimos e máximos das concentrações do $\sum$ PCB e $\sum$ DDT no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP, n = 13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n =11), RJ.....	41
Figura 16 -	Mediana e valores mínimos e máximos concentrações do PCB 49 no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP, n=13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n=11), RJ.....	42
Figura 17 -	Mediana e valores mínimos e máximos das concentrações do $\sum$ HCH, HCB e Mirex no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP, n = 13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n = 11), RJ.....	43
Figura 18 -	Mediana e valores mínimos e máximos das concentrações do <i>p,p'</i> -DDD e no PCB 118 no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP, n=13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n=11), RJ.....	44
Figura 19 -	Contribuição relativa do <i>o,p'</i> -DDE, <i>p,p'</i> -DDD, <i>p,p'</i> -DDE e <i>p,p'</i> -DDT no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP, n= 13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n = 11), RJ.....	45
Figura 20 -	Contribuição relativa média (%) dos diferentes congêneres e isômeros para o $\sum$ PCB no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP, n=13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n=11), RJ.....	46
Figura 21 -	Contribuição relativa média (%) dos PCBs agrupados pelo número de cloros presentes na molécula para o $\sum$ PCB no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP, n = 13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n = 11), RJ.....	47
Figura 22 -	Mediana e valores mínimos e máximos das concentrações do <i>p,p'</i> -DDE, PCB 153, PCB 138, PCB 180, $\sum$ DDT e $\sum$ PCB no tecido adiposo subcutâneo de machos ( n = 6) e fêmeas ( n= 7) de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP), RJ.....	48
Figura 23 -	Representação gráfica das variáveis canônicas para o boto-cinza da Baía de Guanabara (n=4), Baía de Sepetiba (n=12) e Baía de Paranaguá (n=7). Os pontos cheios representam os valores médios para cada área. ....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Comprimento total (CT) em centímetros, data de encalhe e sexo dos botos-cinza encalhados, na Baía de Sepetiba, RJ.....	19
Tabela 2 -	Amostras do tecido adiposo subcutâneo de espécimes do boto-cinza, <i>Sotalia guianensis</i> , sexo (F=fêmea; M=macho), local e data de coleta de biópsias remota de botos-cinza nas Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande, RJ.....	21
Tabela 3 -	Limite de detecção dos compostos organoclorados analisados.....	30
Tabela 4 -	Porcentagem de recuperação dos compostos certificados pelos materiais de referência.....	31
Tabela 5 -	Média, desvio padrão, valores mínimos e máximos das concentrações dos compostos organoclorados ( $\text{ng.g}^{-1}$ lipídio) das camadas externa e interna de tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza ( $n=17$ ) da Baía de Sepetiba. ....	34
Tabela 6 -	Concentrações de organoclorados ( $\sum \text{DDT}$ , $\sum \text{PCB}$ , $\sum \text{HCH}$ , HCB e Mirex) em $\text{ng.g}^{-1}$ lip, nos exemplares de boto-cinza da Baía de Sepetiba, RJ.....	38
Tabela 7 -	Concentrações de organoclorados ( $\sum \text{DDT}$ , $\sum \text{PCB}$ , $\sum \text{HCH}$ , HCB e Mirex) em $\text{ng.g}^{-1}$ lip, nos exemplares de boto-cinza da Baía de Ilha Grande, Rio de Janeiro.....	39
Tabela 8 -	Razão entre a contribuição relativa (%) de PCBs de baixa cloração (2,3 e 4 Cl) e os PCBs de alta cloração (6,7,8,9 e 10 Cl) no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba ( $n=13$ ) e Baía de Ilha Grande ( $n=11$ ), RJ.....	46
Tabela 9 -	Resultados da Análise de Discriminante (Valor de F, Distância de <i>Mahalanobis</i> ( $D^2$ ) e nível de significância), utilizada para a comparação no padrão de acumulação de organoclorados em tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza de diferentes localidades: Baía de Guanabara ( $n= 4$ ), Baía de Sepetiba ( $n= 12$ ), e Baía de Paranáguá ( $n = 7$ ), dados a partir da análise discriminante.....	50

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	15
1	<b>COMPOSTOS ORGANOCLORADOS.....</b>	17
1.1	<b>Bifenilas Policloradas (PCB) .....</b>	18
1.2	<b>Diclorodifeniltricloroetano (DDT).....</b>	20
1.3	<b>Hexaclorobenzeno (HCB).....</b>	22
1.4	<b>Hexaclorociclohexano (HCHs).....</b>	23
1.5	<b>Mirex.....</b>	24
2	<b>ESPÉCIE ESTUDADA: BOTO-CINZA, <i>Sotalia guianensis</i> (VAN BÉNÉDEN, 1864).....</b>	25
3	<b>OBJETIVOS.....</b>	30
3.1	<b>Objetivo Geral.....</b>	30
3.2	<b>Objetivos Específicos.....</b>	30
4	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	31
4.1	<b>Área de Estudo.....</b>	31
4.1.1	<u>Baía de Sepetiba.....</u>	31
4.1.2	<u>Baía de Ilha Grande.....</u>	32
4.2	<b>Amostragem.....</b>	33
4.2.1	<u>Amostragem de tecido adiposo subcutâneo de boto-cinza capturados acidentalmente em redes de pesca e/ou encalhados.....</u>	33
4.2.2	<u>Amostragem de tecido adiposo subcutâneo de boto-cinza através de biópsia remota.....</u>	35
4.3	<b>Sexagem molecular.....</b>	37
4.4	<b>Análises químicas dos compostos organoclorados.....</b>	37
4.4.1	<u>Descontaminação dos materiais.....</u>	37
4.4.2	<u>Reagentes.....</u>	38
4.4.3	<u>Tratamento do Sulfato de Sódio.....</u>	38
4.4.4	<u>Soluções padrões dos compostos organoclorados.....</u>	38
4.4.5	<u>Condições cromatográficas.....</u>	39
4.4.5.1	<u>Identificação e quantificação dos analitos.....</u>	40
4.4.6	<u>Curva analítica.....</u>	40
4.4.7	<u>Procedimento de Extração.....</u>	41
4.4.8	<u>Quantificação do conteúdo lipídico.....</u>	42
4.4.9	<u>Purificação.....</u>	44
4.4.10	<u>Limite de Detecção do método.....</u>	45
4.4.11	<u>Validação da metodologia.....</u>	46
4.5	<b>Testes estatísticos.....</b>	47
5	<b>RESULTADOS.....</b>	48
5.1	<b>Compostos organoclorados nas camadas externa e interna do tecido adiposo subcutâneo de <i>Sotalia guianensis</i>.....</b>	48

5.2	<b>Compostos organoclorados em biópsias e em animais encalhados da Baía de Sepetiba, RJ.....</b>	51
5.3	<b>Bioacumulação de compostos organoclorados em <i>Sotalia guianensis</i> da Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande, Rio de Janeiro.....</b>	52
6	<b>DISCUSSÃO.....</b>	64
6.1	<b>Compostos organoclorados nas camadas externa e interna do tecido adiposo subcutâneo de <i>Sotalia guianensis</i>.....</b>	64
6.2	<b>Compostos organoclorados em biópsias e em animais encalhados da Baía de Sepetiba, RJ.....</b>	66
6.3	<b>Bioacumulação de compostos organoclorados em <i>Sotalia guianensis</i> da Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande, Rio de Janeiro.....</b>	67
6.3.1	<b><u>Padrão de acumulação da Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande.....</u></b>	67
6.3.2	<b><u>Diferenciação geográfica.....</u></b>	71
7	<b>CONCLUSÕES.....</b>	73
8	<b>RECOMENDAÇÕES DA DISSERTAÇÃO.....</b>	74
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	75

## INTRODUÇÃO

Após a Revolução Industrial a população humana passou a crescer exponencialmente e de maneira desordenada, fazendo com ocorresse o aumento da demanda por alimentos e novos produtos. O que resultou na geração de diversos compostos, sendo muitos deles nocivos aos organismos. Devido à maior ocupação humana nas zonas costeiras muitos desses compostos têm seu destino final nos oceanos (WEBER, 1992).

A poluição que chega ao ambiente marinho costeiro se torna ainda mais preocupante quando consideramos a transferência de tais poluentes através da teia alimentar (LACERDA; MALM, 2008). Devido à lipofilicidade, alguns compostos, como os organoclorados, têm a sua passagem através das membranas biológicas facilitadas, constituindo processo denominado bioacumulação. Tais compostos podem ainda vir a sofrer biomagnificação, que pode ser definido como o aumento das concentrações dos poluentes à medida que seguem o fluxo trófico (WALKER et al., 1997). Ambos os processos fazem com que organismos, principalmente aqueles que ocupam o topo das teias tróficas, acumulem contaminantes em elevadas concentrações (SMITH et al., 2002). Tal acumulação pode ter efeitos não só para indivíduos, mas para a população. Em muitos casos, essa poluição pode chegar à população humana, tendo também reflexos sobre a saúde (CHIEN et al., 2002).

Os compostos organoclorados podem atingir o ambiente marinho através da lixiviação, descarga de rios e podem ser transportados através da atmosfera, alcançando regiões distantes de suas fontes, como por exemplo, zonas em altas latitudes ou em oceano profundo (WANIA; MACKAY, 1996). A produção em escala industrial, o lançamento descontrolado e a estabilidade térmica fazem com que tais compostos estejam dispersos pelos diversos compartimentos do ambiente (World, 1989; World, 1992). A persistência no ambiente e a acumulação na biota são características desses compostos que, de maneira geral, podem afetar os sistemas imunológico, reprodutivo e nervoso dos organismos (World, 2003).

Os cetáceos são animais marinhos completamente adaptados à vida aquática. Esses mamíferos estão presentes em todos os oceanos do mundo, de zonas costeiras a oceânicas, da região equatorial a polar, tais animais podem ainda

ocorrer em certos rios. A Ordem Cetacea é divida em três subordens: Archaeoceti, cetáceos já extintos; Mysticeti, cetáceos de barbatanas; e a Odontoceti, cetáceos dentados (HARRISON; BRYDEN, 1988). Sendo reconhecidas atualmente 86 espécies de cetáceos em todo o mundo, e no Brasil até o momento foram registradas 42 espécies (IBAMA, 2001).

A idéia da utilização de sentinelas vem sendo utilizada há tempos, onde espécies sentinelas seriam aquelas que nos permitem fazer um monitoramento dos níveis de micropoluentes, alertando para tendências e impactos sobre o ecossistema e a saúde humana, já que podem fornecer percepção sobre alterações ambientais nas escalas espacial, temporal e trófica (TABOR & AGUIRRE, 2004).

Os cetáceos podem ser considerados bons sentinelas do ambiente marinho e costeiro, por serem animais que ocupam altos níveis tróficos, integrando assim a contaminação a médio e longo prazo; vida longa, e por isso possuem um longo tempo de exposição; respiram ar atmosférico, sendo reduzida a incorporação de xenobióticos por esse meio, sendo sua principal via a dietética; e por possuírem proximidade filogenética com o ser humano (BOSSART, 2006).

No que diz respeito aos compostos organoclorados em cetáceos, o tecido adiposo subcutâneo se constitui no sítio de escolha para a determinação de tais xenobióticos, devido à lipofilicidade dos mesmos (O'SHEA, 1999). Entretanto, há contínua discussão sobre a distribuição dos poluentes ao longo das profundidades da camada adiposa não ser equitativa, sendo este um fator importante na interpretação das concentrações de micropoluentes orgânicos. Alguns estudos buscaram realizar tal investigação em algumas espécies de cetáceos e os resultados parecem ter relação com a fisiologia de cada espécie (TILBURY et al., 1997; HANSEN et al., 2004; HOBBS et al., 2003; AGUILAR; BORREL, 1991; AGUILAR; BORREL, 1994).

Portanto, a biópsia remota, utilizada em cetáceos para a investigação de micropoluentes lipofílicos, pode trazer consigo fatores de confundimento, pois retiram, quase sempre, alíquotas da camada mais superficial do tecido adiposo subcutâneo e tal extrato pode não ser representativo da contaminação em todo o tecido adiposo (O'SHEA, 1999; HANSEN et al., 2004). Desta maneira, torna-se

oportuna a realização de estudos nos quais a determinação dos compostos organoclorados seja efetuada tanto em animais biopsiados quanto em diferentes profundidades da mencionada camada adiposa subcutânea, em animais encontrados mortos.

## 1 COMPOSTOS ORGANOCLORADOS

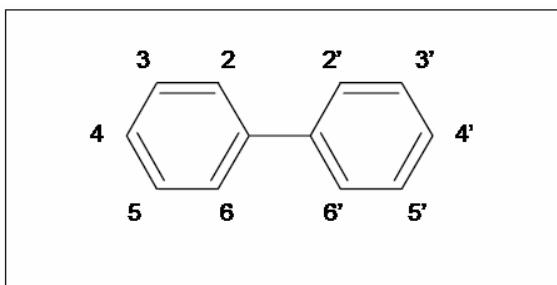
Os organoclorados (OCs) pertencem ao grupo conhecido como POPs (poluentes orgânicos persistentes), que tem como características comuns a resistência a degradação fotoquímica, química e biológica, sendo, portanto compostos com alta estabilidade química. Por tais características, foram incluídos em listas dos poluentes prioritários ao impacto da saúde humana e do ambiente pela Convenção de Estocolmo, que visou limitar a poluição por tais compostos (UNEP, 2002).

Dentre os compostos organoclorados presentes como contaminantes no ambiente estão os pesticidas, como o DDT (Diclorodifeniltricloroetano), o HCB (Hexaclorobenzeno), o HCH (Hexaclorociclohexano) e o Mirex, e os de utilização industrial e urbana, como os PCBs (Bifenilos Policlorados) (SMITH et al., 2002).

O transporte atmosférico e a circulação oceânica são importantes mecanismos de dispersão global dos compostos organoclorados, possibilitando que tais compostos atinjam zonas remotas, não limitando a contaminação a regiões próximas a seu uso. O transporte atmosférico ocorre devido à volatilização desses compostos a partir da área fonte, geralmente em regiões tropicais, e a deposição em regiões remotas, geralmente polares. Sendo que os compostos mais pesados (menos voláteis) possuem maior tendência em ficar depositados próximos à fonte enquanto os compostos mais leves (mais voláteis) seriam os que atingiriam regiões mais distantes (WANIA; MACKAY, 1996).

## 1.1 Bifenilos Policlorados (PCBs)

PCBs são compostos sintéticos, desenvolvidos na segunda metade do século XVIII na Alemanha, que apresentam dois anéis aromáticos ligados por uma ligação carbono-carbono e possuem de 1 a 10 átomos de cloro em suas substituições. Sua fórmula química pode ser representada por  $C_{12}H_{10-n}Cl_n$  (Fig.1), onde n é o número de átomos de cloro na molécula (World, 1992).



**Figura 1:** Estrutura molecular geral do PCB

A configuração de sua estrutura molecular permite diversas combinações de substituições, sendo possíveis 209 congêneres de PCB. Mas estudos têm mostrado que desses, 130 são possíveis de ser encontrados em misturas comerciais. Individualmente, os congêneres de PCB são incolores, muitas vezes cristalinos, já na mistura comercial se apresentam com uma cor clara, podendo ser líquidos ou sólidos (World, 1992). Esses compostos possuem baixa solubilidade em água, que tende a decrescer à medida que o número de átomos de cloro presentes na molécula aumenta (METCALFE et al., 1986).

Os compostos que pertencem ao grupo dos PCBs podem ser chamados de congêneres, enquanto aqueles que possuem o mesmo número de átomos de cloro na molécula são conhecidos como isômeros. Os bifenilos policlorados podem ainda ser classificados como planares e não planares dependendo da configuração da molécula. Onde as primeiras possuem um ou nenhum cloro na posição *ortho* (2,2',6,6'), enquanto as não planares possuem a conformação perpendicular, devido a múltiplas substituições na posição *ortho* (United States, 1998).

PCBs foram fabricados e vendidos como misturas com uma variedade de nomes comerciais, nos Estados Unidos foi chamado de Aroclor e no Brasil foi comercializado com o nome de Ascarel (UNEP, 2002).

A nomenclatura utilizada para os PCBs segue as regras estipuladas pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), onde é levada em consideração a posição relativa dos átomos de cloro. Entretanto, como uma maneira de simplificar, Ballschmiter, Zell (1980) propuseram uma nova nomenclatura onde os congêneres seriam numerados de 1 a 209 (AZEVEDO; SILVA et al., 2007).

Tais compostos foram utilizados principalmente em transformadores e capacitores, em fluídos de calor e como aditivos na formulação de plastificantes, tintas e adesivos. Essa ampla utilização foi possível devido às suas propriedades físico-químicas, como alta constante dielétrica e elevada estabilidade térmica (HOIVIK; SAFE, 1998).

A produção mundial de PCB em escala industrial se deu a partir de 1933, sendo seu pico em 1970, com 50.000 toneladas. A estimativa é que a produção mundial de tais compostos tenha atingido 1.200.000 toneladas. No Brasil não houve registros de produção, sendo importados principalmente dos EUA e da Alemanha (PENTEADO; VAZ, 2001).

A restrição para o uso dos bifenilos policlorados começou em 1978 nos Estados Unidos. Já no Brasil aconteceu em 1981, quando foi proibida a fabricação, a comercialização e o uso de PCBs em todo território nacional, havendo ressalva em relação ao montante de PCB que já estava em uso em determinados equipamentos. Neste último caso, a utilização de PCBs poderia continuar até substituição integral do equipamento ou a troca do fluido dielétrico por outro, livre de PCB (PENTEADO; VAZ, *op. cit.*)

PCBs geralmente biomagnificam em cadeias alimentares aquáticas, como indicam as concentrações encontradas em organismos aquáticos que ocupem altos níveis tróficos. Tais compostos são rapidamente absorvidos pelo trato gastrointestinal, distribuídos e acumulados no fígado e tecido adiposo. Os PCBs

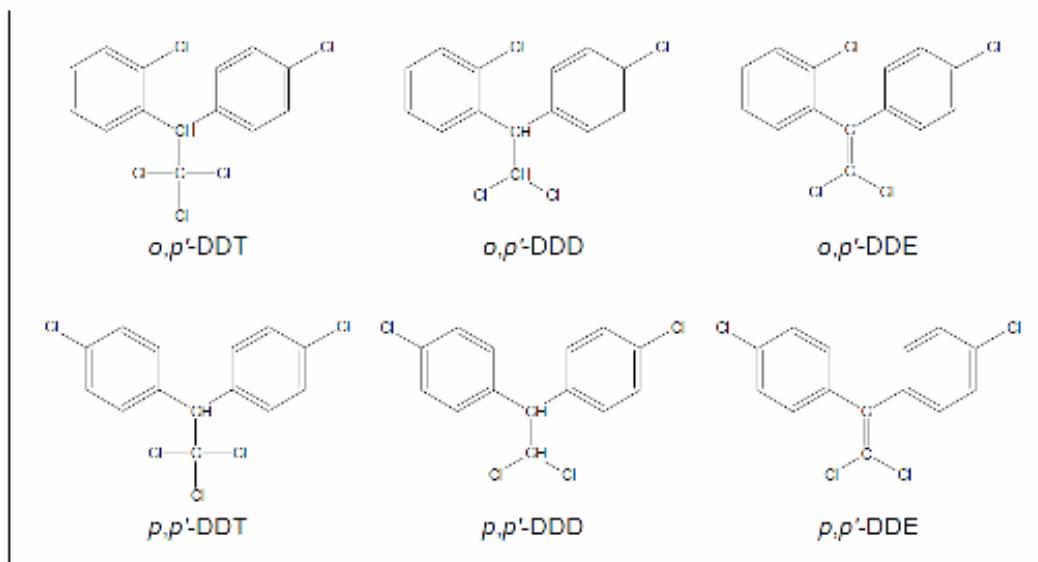
podem ser transferidos através da placenta e pelo leite, acumulando-se assim no feto e no filhote (World, 2003).

Estudos mostram que os PCBs são promotores de câncer, causam alterações no sistema imunológico, podem causar efeitos adversos sobre a reprodução, como a diminuição na taxa de concepção, impedindo a implantação do embrião na parede uterina, por exemplo. Alterações relacionadas aos neurotransmissores e seus metabólitos, são também relatadas como efeitos da exposição a tais compostos (World, 2003).

## 1.2 Diclorodifeniltricloroetano (DDT)

O diclorodifeniltricloroetano (DDT) foi um importante pesticida amplamente utilizado para o controle de pragas na agricultura e, de vetores de doenças como a malária e o tifo. Trata-se de um composto branco, cristalino, insípido, inodoro, quase sólido (World, 1989).

Nas misturas comerciais de DDT há o predomínio de *p,p'*-DDT (77,1%), sendo estas também constituídas por *o,p'*-DDT (14,9%), *p,p'*-DDD, (0,3%), *o,p'*-DDD (0,1%) e impurezas (3,5%) (World, 1979). O *p,p'* DDT ao ser degradado forma os metabólitos 2,2-bis- *p*-clorofenil-1,1-dicloroetano, (o DDD) e o 2,2-bis-*p*-clorofenil-1,1-dicloroetileno, (o DDE), sendo o último ainda mais resistente e persistente que o próprio DDT (World, 1989). O *p,p'*-DDT possui fórmula molecular C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>C<sub>15</sub> (Fig.2), e massa molecular relativa de 354,50 (FAO, 1992).



**Figura 2:** Estrutura molecular dos isômeros do dicloro-difenil-tricloroetano (*o,p'*-DDT e *p,p'*-DDT) e seus respectivos metabólitos.

O DDT foi sintetizado pela primeira vez em 1874, mas só em 1939 que Paul Müller e seus colaboradores descobriram as suas propriedades inseticidas, o que valeu ao referido pesquisador posteriormente o Prêmio Nobel de Medicina devido ao uso do DDT no combate à Malária. Anofex, Gyron, Ixodex, Neocid, Neocidol e Zerdane são alguns dos nomes comerciais pelos quais o DDT foi vendido (United States, 2002a).

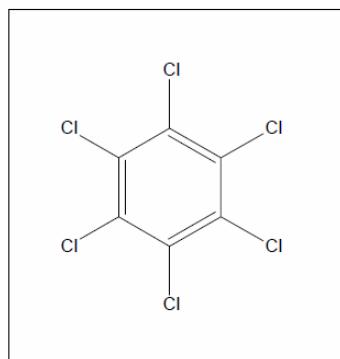
O primeiro indício de que o DDT poderia estar causando efeitos sobre o ambiente foi levantado pelo livro “Primavera Silenciosa” de Rachel Carson, onde a autora relaciona a redução de diversas populações de aves ao uso do DDT.

O primeiro país a banir o DDT foi a Suécia em 1970. No Brasil as primeiras medidas foram tomadas em 1971, mas somente em 1985 sua comercialização, uso e distribuição foram proibidos em território nacional, só sendo permitido seu uso para o controle de vetores de doenças a critério da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) (UNEP, 2002).

Diversos efeitos deletérios à saúde são promovidos pelo DDT e seus metabólitos, entre eles estão a neurotoxicidade, a hepatotoxicidade e a interferência no sistema endócrino (UNEP, 2002).

### 1.3 Hexaclorobenzeno (HCB)

O Hexaclorobenzeno (HCB) é um hidrocarboneto clorado com fórmula molecular  $C_6Cl_6$  (Fig.3), este produto é um sólido cristalino branco, que é praticamente insolúvel em água (United States, 2002b).



**Figura 3:** Estrutura molecular do hexaclorobenzeno (HCB).

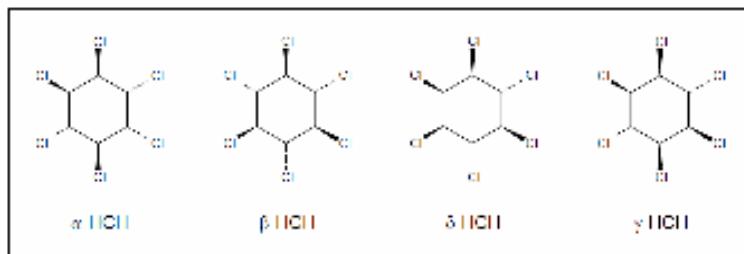
O HCB foi introduzido pela primeira vez em 1945 como um fungicida para o tratamento de sementes de cereais. Sendo posteriormente utilizado em fogos de artifício, munições e borracha sintética. Hoje é disponibilizado como um subproduto da produção de um grande número de compostos clorados, especialmente solventes e vários pesticidas. Sendo emitido para a atmosfera compondo o conjunto de gases de combustão gerados por incineradoras e metalurgia (KENNISH, 1997).

O HCB é conhecido por causar insuficiência hepática nos seres humanos, tendo sido classificado pela Agência Internacional para Pesquisa de Câncer (IARC) como um possível agente cancerígeno em humanos (United States, 2002).

#### 1.4. Hexaclorociclohexano (HCHs)

O HCH foi um inseticida utilizado na agricultura e no ambiente doméstico, bastante difundido nos anos 1960 e 1970 em todo o mundo. Ele é um composto muito volátil, sendo perdido em altas taxas para a atmosfera durante sua aplicação. Um estudo realizado no sul da Índia revelou que 99,6% do HCH aplicado em campos de arroz podia ser perdido para a atmosfera (CLARK, 2001).

Em nível mundial, o HCH foi amplamente utilizado como fumegante na proteção de sementes devido a sua estabilidade em altas temperaturas. No Brasil, ele foi especificamente usado no tratamento de culturas de café, soja e algodão, bem como no controle da doença de Chagas (WEBER; MONTONE, 1990).



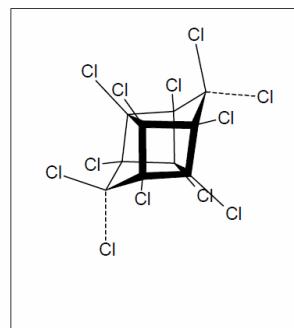
**Figura 4:** Estrutura molecular dos isômeros do hexaclorociclohexano (HCH).

Existem diversos isômeros de HCH, identificados por letras gregas (alfa, beta, gama, delta) (Fig. 4). O composto de maior ação inseticida é o gama-HCH, cujo produto comercial, de nome técnico lindano, contém pequenas quantidades de outros isômeros. Por ter sido o mais utilizado, é o que tem maior expressão ambiental. Os demais produtos comerciais são uma mistura de dois ou mais isômeros (LAMPARELLI et al., 2001). O lindano não demonstrou ter potencial carcinogênico em inúmeros estudos, mas apresentou atividade de alteração endócrina (UNEP, 2002).

### 1.5 Mirex

O Mirex (Fig. 5) é um pesticida com grande especificidade no combate a formiga. Por este motivo foi inicialmente usado no controle das mesmas no sul dos Estados Unidos, sendo posteriormente também usado como aditivo retardante de chama em polímeros (KENNISH, 1997).

É considerado um dos pesticidas mais estáveis e persistentes no ambiente, com uma meia-vida no solo de até 10 anos. Pode levar à imunossupressão e a deficiências reprodutivas (VORKAMP et al., 2004).



**Figura 5:** Estrutura química do dodecaclorohidro-1,3,4-metano-1H-ciclobuta[c,d]pentaleno (Mirex).

## 2 ESPÉCIE ESTUDADA: BOTO-CINZA, *Sotalia guianensis* (VAN BÉNÉDEN, 1864)

*Sotalia guianensis*, é um pequeno odontoceto da Família Delphinidae endêmico do Atlântico Ocidental, distribuído da Nicarágua, com registros em Honduras, ao sul de Santa Catarina, Brasil (DA SILVA; BEST, 1994; FLORES, 2002; FLORES; DA SILVA, 2009) (Fig. 6).



**Figura 6:** Mapa de distribuição de *Sotalia guianensis*.

Sua taxonomia já foi bastante discutida, por haver uma forma que habita rios, bastante semelhante à forma marinha. Mas a partir de estudos morfométricos (MONTEIRO-FILHO et al. 2002), genéticos (CUNHA et al., 2005) e até mesmo por suas distintas distribuições, duas espécies passaram a ser consideradas, *Sotalia guianensis* e *Sotalia fluviatilis*.

O estudo realizado por CUNHA et al. (2005) ainda mostrou que depois da separação das duas espécies, *Sotalia guianensis* começou a se expandir em direção ao Sul do Brasil. Sendo hoje possível separá-los geneticamente em 3 populações, norte, nordeste e sul/sudeste. Mas o agrupamento da última é preciso ser avaliado com cuidado, já que a presença de um único haplótipo para a região, pode representar tanto o fluxo gênico atual, quanto um evento evolutivo recente.



**Figura 7:** Boto-cinza na Baía de Sepetiba (Foto: Leonardo Flach)

A espécie pode atingir pouco mais de 200 cm de comprimento, e cerca de 30 anos de idade. A maturidade sexual dos machos é atingida entre 170-180 cm, cerca de sete anos e das fêmeas entre 160-169 cm, entre cinco e sete anos (Fig. 7) (FLORES, 2002). Estudos de foto-identificação têm mostrado que esses animais possuem um alto grau de residência em baías e estuários ao longo de sua distribuição (SANTOS et al., 2001; AZEVEDO et al., 2004; FLORES; BAZZALO, 2004).

Tratando exclusivamente da agregação da Baía de Ilha Grande, Lodi et al. (2003) observaram que o tamanho de grupo variou de um a 100 indivíduos, sendo os grupos com 31-40 indivíduos mais comuns. Os maiores grupos observados estavam associados ao comportamento de alimentação. Adultos, juvenis e filhotes foram observados durante todo o ano, mas houve diferenças significativas entre as estações. Uma maior presença de filhotes durante o verão foi observada, tal informação foi associada à maior disponibilidade de presas, o que atenderia a uma maior necessidade energética das fêmeas lactantes.

Na Baía de Sepetiba, Flach et al. (2008) observaram os grupos de boto-cinza mais frequentemente na entrada da baía que no interior, tal padrão pode ser explicado pela maior diversidade de peixes devido as características ambientais. O tamanho de grupo variou de um a 280 indivíduos, mas a maioria possuía de dois a 20 indivíduos. As atividades de alimentação foram mais frequentes, e não tiveram diferenças sazonais, devido à baixa flutuação da temperatura superficial da água do

mar e da disponibilidade de presas. A presença de filhotes e neonatos foi maior em agregações (>100 indivíduos) que em grupos (<100 indivíduos) (DIAS et al., 2009).

A dieta do boto-cinza tem sido investigada e os estudos mostram que peixes teleósteos juvenis são os itens predominantes. Dentre as famílias que vem sendo frequentemente reportadas estão: Sciaenidae; Trichuridae; Clupeidae; Engraulidae; mas cefalópodes e crustáceos também possuem importância na dieta desses animais (DI BENEDITTO; SICILIANO, 2007; ARAÚJO et al., 2008; ARAÚJO et al., 2009; MELO et al., 2009). Tratando exclusivamente da dieta dos animais das duas baías do presente estudo, foi verificado que para a Baía de Sepetiba, as duas espécies que apresentaram maior importância relativa, foram a lula (*Loligo plei*) e a corvina (*Micropogonias furnieri*) (ARAÚJO et al., 2009); enquanto para a Baía de Ilha Grande foram o mamangá-liso (*Porichthys porosissimus*) e o cangoá (*Stellifer sp.*) (MELO et al., 2009).

Devido a seu hábito costeiro, a espécie possui uma interação constante com a população humana e sofre diversos impactos. Dentre eles estão, a captura acidental, registrada ao longo de toda sua distribuição; intenso tráfego de embarcações e a poluição por metais pesados, matéria orgânica e organopersistentes (DA SILVA; BEST, 1996; FLORES; DA SILVA, 2009).

Diversos trabalhos trataram da contaminação por metais e elementos traços (Cd, Pb, HgT, HgOrg, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Mo, Ag, Sb, Cs, Ba, Ti e Sn) em *Sotalia guianensis* em diversos pontos da costa brasileira (MONTEIRO-NETO et al., 2003; KUNITO et al., 2004; DORNELES et al., 2007; DORNELES et al., 2008a; KEHRIG et al., 2008; SEIXAS et al., 2009; KORN et al., 2010). E alguns desses reportaram concentrações elevadas, sendo algumas comparáveis as observadas em países com grandes emissões antrópicas. As elevadas concentrações encontradas podem ser devido a maior importância das fontes naturais (KUNITO et al., 2004), ou ao forte impacto de origem antropogênica (DORNELES et al., 2008a).

Dorneles et al. (2008b) determinaram perfluorooctano (PFOS) no tecido hepático de boto-cinza do Estado do Rio de Janeiro, e observaram que as

concentrações dos espécimes da Baía de Guanabara ( $43 - 2431 \text{ ng.g}^{-1}$  peso seco) estão entre as mais altas já determinadas em cetáceos.

Dorneles et al. (2010) ao analisar organobromados (PBDEs e MeO-PBDEs) no tecido hepático de espécimes do Estado do Rio de Janeiro, observaram o seguinte padrão: BDE 47>BDE 100>BDE 99>BDE 154>BDE 153>BDE 28>BDE 85. A presença dos BDE 47, 99 e 100 indicam o possível uso de misturas pentaBDE no Brasil. Já em relação aos organobromados naturais ( $\sum \text{MeO-PBDE}$ ) ( $26 - 480 \text{ ng.g}^{-1}$  lip.), os valores foram bem inferiores aos reportados para golfinhos de plataforma continental. Foi observada uma maior razão da transferência placentária para os compostos com menor número de bromo.

Kajiwara et al. (2004) analisaram compostos organoclorados (101 isômeros e congêneres de PCB,  $\sum \text{DDT}$ ,  $\sum \text{HCH}$ , clordanos, HCB, heptacloro epóxido, dieldrin, TCPMe e TCPMOH) no tecido adiposo subcutâneo de espécimes de boto-cinza dos estados de São Paulo e Paraná. Os autores observaram que as concentrações de  $\sum \text{DDT}$  ( $1-150 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$  lip.) e  $\sum \text{PCB}$  ( $1,3-79 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$  lip.) foram comparáveis às já reportadas para regiões altamente industrializadas, mostrando a presença de fontes locais. YOGUI et al. (2003) determinaram compostos organoclorados ( $\sum \text{DDT}$ ,  $\sum \text{HCH}$ , clordanos, HCB, mirex e 27 isômeros e congêneres de PCB) no tecido adiposo subcutâneo de espécimes de boto-cinza de Cananéia, São Paulo. O  $\sum \text{DDT}$  foi predominante ( $0,541 - 125 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$  lip.), resultado da característica mais agrícola da região, mas a razão  $p,p'$ -DDE/ $\sum \text{DDT}$  foi 0,8 mostrando que a utilização do DDT se deu no passado. O segundo grupo que apresentou as maiores concentrações foi o  $\sum \text{PCB}$ , resultado do transporte atmosférico e da proximidade com o complexo industrial de Cubatão. Enquanto as baixas concentrações de HCB e  $\sum \text{HCH}$  acreditam-se ser devido à alta volatilidade desses compostos em ambientes tropicais.

Lailson-Brito et al. (2010) analisaram compostos organoclorados ( $\sum \text{DDT}$ , HCB e 27 isômeros e congêneres de PCB) no tecido adiposo subcutâneo de espécimes de boto-cinza da Baía de Paranaguá, Paraná; Baía de Guanabara e o complexo Baía de Sepetiba/Baía de Ilha Grande, Rio de Janeiro. Considerando o  $\sum \text{PCB}$ , as concentrações foram superiores às já reportadas para golfinhos do Hemisfério Sul, sendo comparáveis a grandes regiões industrializadas do Hemisfério Norte. E

observaram que para a Baía de Paranaguá, a contribuição de  $\Sigma$ DDT foi predominante, enquanto para as baías do Rio de Janeiro, o  $\Sigma$ PCB foi superior aos demais. Tal predominância ocorre pela maior presença humana e industrial no Estado do Rio de Janeiro. O estudo ainda mostrou a utilização dos perfis de organoclorados como uma importante ferramenta auxiliar na diferenciação de populações de mamíferos marinhos, onde através de um modelo de análise discriminante, as três populações em questão ficaram separadas. Os PCBs de baixa cloração e o HCB foram os compostos que tiveram maior importância na separação da Baía de Guanabara dos demais.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

- ✓ Comparar a biodisponibilidade de compostos organoclorados na Baía de Sepetiba e na Baía de Ilha Grande (RJ) utilizando o boto-cinza, *Sotalia guianensis*, como sentinela da poluição.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Verificar possíveis diferenças entre as concentrações e a composição relativa dos compostos organoclorados nas camadas interna e externa do tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza, *Sotalia guianensis*.
- ✓ Determinar as concentrações de compostos organoclorados (DDTs, PCBs, HCHs, Mirex e HCB) em tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza, *Sotalia guianensis*, biopsiados nas Baías de Sepetiba e de Ilha Grande.
- ✓ Investigar possíveis diferenças entre as concentrações e a composição relativa dos compostos organoclorados no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza, *Sotalia guianensis*, biopsiados nas duas baías.
- ✓ Investigar possíveis diferenças entre as concentrações e a composição relativa dos compostos organoclorados no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza, *Sotalia guianensis*, encalhados ou capturados acidentalmente nas baías de Sepetiba e Guanabara, no Estado do Rio de Janeiro e Baía de Paranaguá, no Estado do Paraná.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Área de Estudo

#### 4.1.1 Baía de Sepetiba

A Baía de Sepetiba está localizada na latitude de 23ºS e longitude 44ºW, há uma distância de cerca de 60 km da capital, Rio de Janeiro. Tal baía é considerada um corpo de água semi-fechado, separado do Oceano Atlântico por um banco arenoso, chamado Restinga da Marambaia (Fig.8). A baía possui uma área de 447km<sup>2</sup>, a profundidade pode chegar aos 20 m no canal central, mas a sua média é de 6 m. A presença de pequenas ilhas permite uma divisão da baía em interna e externa (LACERDA et al., 2001).

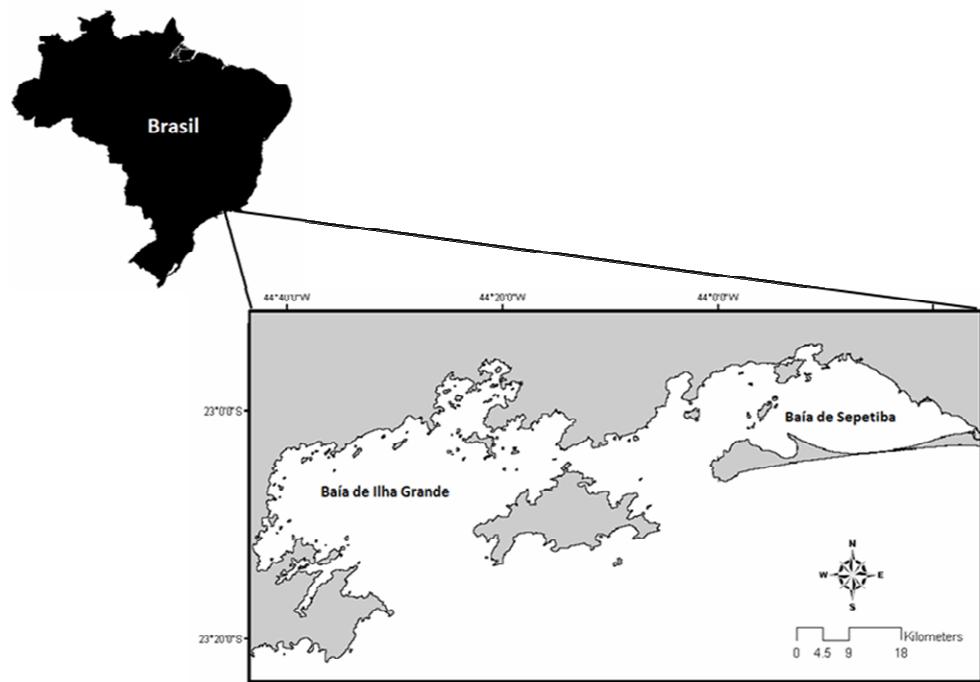
Sua bacia hidrográfica abrange uma área de 2711 km<sup>2</sup>, com cerca de 12 municípios, que abrigam uma população de aproximadamente 1,3 milhões de habitantes, com um esgotamento sanitário precário, intensa utilização de defensivos agrícolas e carrapaticidas; além de possuir o terceiro mais importante aterro sanitário da região metropolitana do Rio de Janeiro. Apresenta também um parque industrial composto por cerca de 400 empresas, de diferentes áreas como; metalurgia, química, têxtil, bebidas, minerais não metálicos e editorial/gráfico (SEMADS, 2001).

A contaminação da Baía de Sepetiba por metais traços já é amplamente conhecida e estudada (por exemplo: LACERDA et al. 1987; MARINS et al., 1998; GOMES et al., 2009). Já quanto à poluição por compostos organoclorados, a literatura ainda é escassa, só existindo um estudo em sedimentos, realizado por Japenga et al. (1988) e um estudo com o boto-cinza, realizado por Lailson-Brito et al. (2010). Mas este último tratou as Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande como um complexo estuarino integrando, portanto a poluição das duas baías.

#### **4.1.2 Baía de Ilha Grande**

A Baía de Ilha grande está localizada entre 22°50' - 23°20'S de latitude e 44°00' - 44°45'W de longitude, a uma distância de cerca de 150 km da capital, Rio de Janeiro. Juntamente com a Baía de Sepetiba, forma um sistema estuarino (Fig.8). A Baía de Ilha Grande possui uma área de cerca de 650 km<sup>2</sup>, abrigando os municípios de Angra dos Reis e Paraty, que possuem cerca de 177 mil habitantes. Devido à beleza paisagística da região, o turismo é sua principal atividade econômica. Mas ainda existem outros empreendimentos de grande porte, como um terminal de petróleo, um porto comercial, um terminal de minério, um estaleiro e duas usinas nucleares (MMA /SBF, 2007).

Alguns estudos analisando metais nos compartimentos bióticos e abióticos vem sendo realizados (por exemplo: DE SOUZA LIMA et al., 2002 e FRERET-MEURER et al., 2010), mas o único trabalho que tratou da poluição por compostos organoclorados na Baía de Ilha Grande foi Lailson-Brito et al. (2010), que determinou tais compostos no boto-cinza.



**Figura 8:** Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande, Rio de Janeiro.

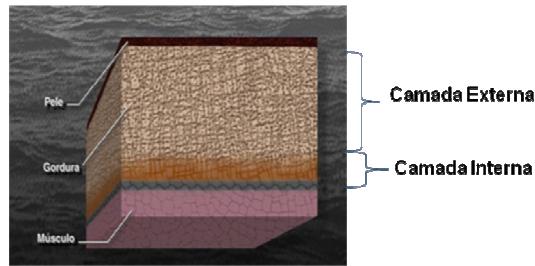
## 4.2 Amostragem

### 4.2.1 Amostragem de tecido adiposo subcutâneo de boto-cinza capturados acidentalmente em redes de pesca e/ou encalhados.

Com a finalidade de verificar possíveis diferenças entre as concentrações e a composição relativa dos compostos organoclorados nas camadas interna e externa do tecido adiposo subcutâneo do boto-cinza, *Sotalia guianensis*, exemplares de boto-cinza encalhados e/ou capturados acidentalmente na Baía de Sepetiba foram coletados. Os indivíduos de *S. guianensis* encontrados mortos foram medidos externamente e fotografados. Os dados referentes aos exemplares foram anotados em planilhas específicas. A identificação da espécie foi realizada por características morfológicas externas ou por exame do esqueleto, segundo literatura especializada (DA SILVA; BEST, 1996).

Em seguida foi efetuada a necropsia do animal de acordo com Geraci & Lounsbury (1993). Em campo foram coletadas alíquotas do tecido adiposo subcutâneo retirado abaixo e a esquerda da nadadeira dorsal (GERACI; LOUNSBURY, *op. cit.*), com massa em torno de 200g, sendo envolvidas em papel laminado. Posteriormente, em laboratório, as massas foram reduzidas para aproximadamente 100g, e armazenadas em freezer a - 20°C.

Esse tipo de amostragem não foi possível ser realizado nos animais da Baía de Ilha Grande devido ao fato da decomposição das amostras não permitir a separação dos diferentes estratos do tecido adiposo subcutâneo.



**Figura 9:** Tecido adiposo subcutâneo, com a camada externa e a camada interna.

Posteriormente em laboratório as amostras foram separadas em camada externa, porção próxima à pele e camada interna, porção próxima ao músculo, sendo as duas analisadas separadamente (Fig.9). As amostras coletadas, seus dados biológicos e as datas de coleta estão apresentados na tabela 1.

**Tabela 1:** Comprimento total (CT) em centímetros, data de encalhe e sexo dos botos-cinza encalhados, na Baía de Sepetiba-RJ.

Código	CT (cm)	SEXO	Data
Sg#01	188	M	28/01/2007
Sg#02	186	M	24/04/2007
Sg#03	181	M	08/06/2007
Sg#04	187	M	17/05/2008
Sg#05	125	M	21/06/2008
Sg#06	181	M	10/07/2008
Sg#07	165	M	10/07/2008
Sg#08	132	M	28/08/2008
Sg#09	176	M	22/09/2008
Sg#10	190	M	03/10/2008
Sg#11	186,5	M	03/10/2008
Sg#12	192	M	06/12/2008
Sg#13	157	M	05/06/2009
Sg#14	135	F	30/03/2007
Sg#15	176,5	F	24/04/2007
Sg#16	168,3	F	02/06/2009
Sg#17	183	F	09/02/2010

#### **4.2.2 Amostragem de tecido adiposo subcutâneo de boto-cinza através de biópsia remota**

Com a finalidade de determinar as concentrações, a composição e as relações dos compostos organoclorados no tecido adiposo subcutâneo do boto-cinza, *Sotalia guianensis*, da Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande, biópsias remotas de botos-cinza foram realizadas nas Baías de Sepetiba e de Ilha Grande.

Tal procedimento foi conduzido a partir de uma embarcação de pequeno porte, a uma distância de 4 a 10 metros, utilizando uma balestra com pressão de 120 libras, com um dardo cilíndrico de metal na ponta de cada flecha. O cilindro com dimensões de 8 X 25 mm, possui as pontas afiadas a fim de facilitar a penetração, e foi regulado para penetrar 15mm no corpo dos animais.

A profundidade de penetração do dardo, assim como a liberação do mesmo após a coleta, é determinada pela presença de um anteparo de borracha injetada localizada atrás do cilindro. A parte interna do dardo apresenta farpelas o que permite que o tecido coletado fique retido. O dardo foi direcionado à região dorso-lateral posterior a nadadeira dorsal conforme metodologia aplicada em outros pequenos cetáceos (IWC, 1991).

A técnica da biópsia vem sendo utilizada em diversas espécies de cetáceos em todo o mundo, e os autores mostraram que não houve alteração na distribuição dos grupos, e os danos causados pela presente técnica são mínimos (AGUILAR; NADAL, 1984; MARSILI; FOCARDI, 1996). A fim de avaliar os efeitos imediatos da biópsia sobre os indivíduos, as reações comportamentais foram monitoradas (KRÜTZEN et al., 2002).

Após a coleta, a amostra foi retirada do dardo, armazenada em papel alumínio e guardada em recipiente com sacos de gel congelado, para manter a temperatura baixa. Em laboratório a pele e o tecido adiposo subcutâneo foram separados. A gordura foi armazenada em papel alumínio em temperaturas abaixo dos -20°C para posterior análise dos compostos organoclorados. A pele foi preservada em solução de DMSO (AMOS; HOELZEL, 1990), para sexagem e futuros estudos de genética.

As amostras coletadas, seus dados biológicos e as datas de coleta estão apresentados na tabela 2.

**Tabela 2:** Amostras do tecido adiposo subcutâneo de espécimes do boto-cinza, *Sotalia guianensis*, sexo (F=fêmea; M=macho), local e data de coleta de biópsias remota de botos-cinza nas Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande.

Código	SEXO	Local de Coleta	Data da coleta
SEP#01	F	Baía de Sepetiba	22/04/2007
SEP#02	M	Baía de Sepetiba	18/06/2007
SEP#03	M	Baía de Sepetiba	25/08/2007
SEP#04	F	Baía de Sepetiba	11/12/2007
SEP#05	F	Baía de Sepetiba	16/12/2007
SEP#06	F	Baía de Sepetiba	09/01/2008
SEP#07	M	Baía de Sepetiba	09/01/2008
SEP#08	M	Baía de Sepetiba	09/01/2008
SEP#09	F	Baía de Sepetiba	29/01/2008
SEP#10	F	Baía de Sepetiba	23/02/2008
SEP#11	M	Baía de Sepetiba	23/02/2008
SEP#12	M	Baía de Sepetiba	23/02/2008
SEP#13	F	Baía de Sepetiba	21/05/2008
BIG#01	ND	Baía de Ilha Grande	10/01/2008
BIG#02	M	Baía de Ilha Grande	10/01/2008
BIG#03	M	Baía de Ilha Grande	10/01/2008
BIG#04	M	Baía de Ilha Grande	14/01/2008
BIG#05	F	Baía de Ilha Grande	14/01/2008
BIG#06	M	Baía de Ilha Grande	29/04/2008
BIG#07	M	Baía de Ilha Grande	27/02/2009
BIG#08	F	Baía de Ilha Grande	27/02/2009
BIG#09	F	Baía de Ilha Grande	30/03/2009
BIG#10	ND	Baía de Ilha Grande	30/03/2009
BIG#11	ND	Baía de Ilha Grande	30/03/2009

ND – não determinado

#### **4.3 Sexagem molecular**

O DNA genômico foi extraído das amostras de pele através do procedimento padrão com fenol-clorofórmio (SAMBROOK et al., 1989), após digestão com proteinase K por 3h a 55°C, usando o tampão de lise de Palsbøll et al. (1992) (1% SDS; 0,15M NaCl; 1mM EDTA; 0,1mg/mL proteinase K; em 10mM Tris-HCl (pH=8.0).

As regiões sexo-específicas ZFX/ZFY e SRY foram amplificadas pela reação em cadeia da polimerase (PCR), em reações separadas, usando os primers ZFXY582F, ZFX923R e ZFY767R (BÉRUBÉ; PALSBOLL, 1996) e SRY953F e SRY764R (CUNHA; SOLÉ-CAVA, 2007). As amplificações foram feitas em reações de 15 µL, contendo 1 U de *Taq* polimerase; 0,20mM dNTPs; 2mM MgCl<sub>2</sub> e 0,5µM de cada primer. Em todos os experimentos foram incluídos controles negativos. Um termociclador automático executou o seguinte programa: 3 min. a 94°C; 38 ciclos de 1 min. a 92°C, 1 min. a 50°C e 1 min. a 72°C; mais 5 min. a 72°C. Os produtos de PCR foram misturados antes de serem separados por eletroforese em gel de agarose 2%.

A presença das bandas relativas aos fragmentos presentes nos cromossomos X e Y (ZFX, ZFY e SRY) indicou que a amostra provém de um macho, enquanto nas fêmeas só foi observada a banda referente ao ZFX (já que possuem duas cópias do cromossomo X). A fim de distinguir entre falhas na amplificação e ausência dos fragmentos, somente foram consideradas bem sucedidas as sexagens de indivíduos que amplificaram o ZFX (controle interno).

#### **4.4 Análises químicas dos compostos organoclorados**

##### **4.4.1 Descontaminação dos materiais**

Toda a vidraria utilizada foi previamente lavada com detergente a fim de retirar os resíduos orgânicos. Com a mesma finalidade, foram colocadas em banho de imersão de Extran neutro a 20% por um tempo mínimo de 24h. Posteriormente, foram lavadas com água destilada até que todo o detergente tivesse sido retirado.

As vidrarias não volumétricas eram então colocadas em forno mufla com uma rampa de 10°C por minuto, com a temperatura final de 450°C, onde permaneciam

por 5 horas. Já as vidrarias volumétricas foram lavadas com acetona, e depois, duas vezes com a mistura de n-hexano e diclorometano (1:1) e secaram a temperatura ambiente.

#### **4.4.2 Reagentes**

A fim de minimizar a presença de interferentes nas análises, foram utilizados reagentes e solventes com alto grau de pureza: Acetona P.A. - Tédia® ( $C_3H_6O$ ), n-hexano P.A - Tédia® ( $C_6H_{14}$ ), diclorometano P.A - Tédia® ( $CH_2Cl_2$ ), isoctano, água deionizada (Milli-Q Water Sistem®), sulfato de sódio P.A. - Merck® ( $Na_2SO_4$ ) e ácido sulfúrico 95% P.A. – Tédia ® ( $H_2SO_4$ ).

#### **4.4.3 Tratamento do Sulfato de Sódio**

O sulfato de sódio P.A. da Merck foi colocado em forno mufla a 400°C durante 5h na véspera de sua utilização. Este procedimento garantiu a eliminação de interferentes e ainda tornou o sulfato de sódio anidro.

#### **4.4.4 Soluções padrões dos compostos organoclorados**

As soluções padrões utilizadas no presente estudo foram adquiridas do laboratório internacional AccuStandard®.

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

Foram utilizadas 2 soluções de PCBs. A primeira foi a *WHO/NIST/NOAA Congener List*, possui 28 compostos: PCB 8, 18, 28, 44, 52, 66, 77, 81, 101, 105, 114, 118, 123, 126, 128, 138, 153, 156, 157, 167, 169, 170, 180, 187, 189, 195, 206 e 209 com 99 a 100 % de pureza e concentração de 10 µg.mL<sup>-1</sup> de cada composto em isoocitano.

A segunda foi a solução, *PCB Congener Mix for West Coast Fish Studies* possui 24 compostos: PCB 31, 33, 49, 56, 60, 70, 87, 95, 97, 99, 110, 132, 141, 151, 156, 158, 174, 177, 194, 201, 203, 183, 74 com 99 a 100% de pureza e concentração de 25 µg.mL<sup>-1</sup> de cada composto em isoocitano.

Como padrões internos foram utilizados o PCB 198 (2,2',3,3',4,5,5',6-Octachlorobiphenyl Individual Congener, com 100% de pureza, 5 mg) e o PCB 103 (2,2',4,5'6-Pentachlorobiphenyl Individual Congener, com 100% de pureza, 10 mg), além do TCMX (Surrogate Standard Mix, com 96% de pureza e concentração de 1000 µg.mL<sup>-1</sup>.

A partir desses padrões foram preparadas 4 soluções: a solução dos PCBs com 51 compostos e a solução dos pesticidas com 25 compostos, com a concentração de 1 µg.mL<sup>-1</sup>; a solução do padrão interno (PI), que continha 2 compostos, o PCB 103 e o PCB 198 e a solução do padrão interno cromatográfico (PI-CG), que continha o TCMX (2,3,5,6-tetracloro-m-xileno), com a concentração de 0,1 µg.mL<sup>-1</sup>. Para os padrões internos PCB 103 e PCB 198, foram aceitas somente recuperações na faixa de 85 a 115%.

#### **4.4.5 Condições cromatográficas**

As análises dos compostos organoclorados foram realizadas em um cromatógrafo de fase gasosa com detector de captura de elétrons (CG-DCE), da marca *Agilent Technologies*, modelo 7890, com fonte radioativa de <sup>63</sup>Ni, acoplado ao injetor automático da *Agilent Technologies*, modelo 7683B. A coluna capilar de sílica fundida utilizada foi a DB-5 da *Agilent Technologies* (5 (5% de difenil e 95% de dimetilpolisiloxano),, com 30 m de comprimento; 0,25 mm de diâmetro interno e 1µm de espessura de filme.

Foram injetados 2 $\mu$ L de amostra com o injetor operando sem divisão de fluxo (*splitless*) por 30 segundos, com a temperatura de 280°C. O gás de arraste foi o hidrogênio ultra puro (99,999% de pureza), com pressão constante de 13 psi na coluna. A temperatura do detector foi de 320°C e o nitrogênio ultra puro (99,999% de pureza) foi utilizado como gás auxiliar (*make-up*) com um fluxo de 60 mL·min<sup>-1</sup>.

O programa de aquecimento utilizado na separação dos compostos permaneceu a 70°C por 1 min, aumentaram 40°C·min<sup>-1</sup> até 170°C, depois 1,5°C·min<sup>-1</sup> até 240°C e por fim elevou-se até 300°C, a 15°C·min<sup>-1</sup>, mantendo-se estável nessa temperatura por 11 min, totalizando 65,167 min.

#### **4.4.5.1 Identificação e quantificação dos analitos**

Para a integração dos cromatogramas, identificação e quantificação das concentrações do analito foi utilizado o programa *Ezchrom 3.2.1*.

A identificação dos compostos organoclorados foi baseada em seus respectivos tempos de retenção, obtidos a partir das soluções padrões. Enquanto a quantificação foi feita com base nas áreas dos picos de cada composto no cromatograma, corrigidos pela recuperação do PI, PCB 103.

#### **4.4.6 Curva analítica**

A partir das soluções padrões foram construídas as curvas analíticas. Para a construção da curva de cada analito foram utilizados 10 concentrações esperadas das amostras: 2, 5, 10, 20, 50, 80, 100, 150, 200 e 250  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>. Todos os pontos possuíam o padrão interno e o padrão interno cromatográfico na concentração de 100  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>.

Para as curvas de cada analito foi considerado um coeficiente de correlação maior ou igual a 99,5% ( $r=0,995$ ).

#### **4.4.7 Procedimento de Extração**

O procedimento analítico utilizado no presente estudo foi baseado em Sericano (1998), Yogui et al. (2003) e Lailson-Brito et al. (2010).

##### *Extração com homogeneizador Ultra Turrax*

Antes da utilização o *Ultra Turrax* passava por procedimento de limpeza, onde primeiramente agitava-se por cerca de 1 minuto em 200 mL de água destilada, depois por mais 1 minuto em 200 mL de acetona e por último, mais 1 minuto em 200 mL da mistura n-hexano/diclorometano (1:1). Essa limpeza foi realizada também ao final da extração de cada amostra.

Para as amostras de animais encalhados, foi utilizada cerca de 1g de tecido adiposo subcutâneo. Já para as biópsias, toda a massa de tecido adiposo subcutâneo obtido foi utilizada. Nesse caso, as massas variaram de 0,04 a 0,53g. A todas as amostras foram adicionados os padrões internos PCB 103 e PCB 198.

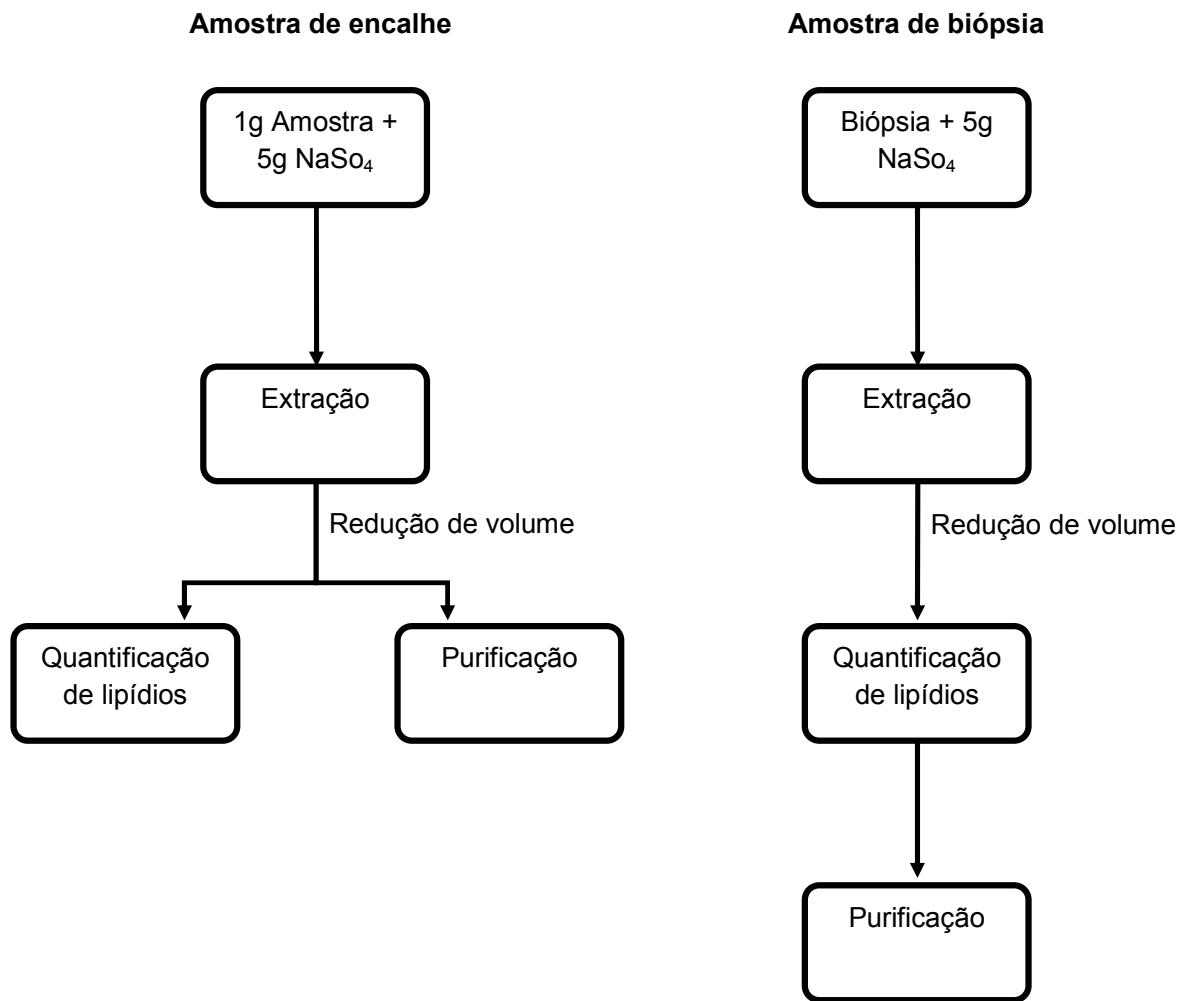
A amostra foi homogeneizada com cerca de 5g de sulfato de sódio com o auxilio de um gral e pistilo, para que o excesso de água fosse retirado, ambos foram transferidos para um balão volumétrico de 125 mL. A extração se deu com o uso do homogeneizador *Ultra Turrax* com 40 mL da mistura de n-hexano e diclorometano (1:1) por 4 minutos, sendo o extrato transferido para outro recipiente. Posteriormente, foram adicionados mais 30 mL da mistura de solventes ao balão, e homogeneizado por mais 3 minutos, por mais 2 vezes. O extrato final, cerca de 100mL, foi reduzido em evaporador rotativo até cerca de 5 mL.

#### **4.4.8 Quantificação do conteúdo lipídico**

A quantificação do conteúdo lipídico foi determinada gravimetricamente. No caso das biópsias, devido à reduzida massa disponível de cada amostra e com o objetivo de que fosse possível detectar os compostos organoclorados acima de seu limite de detecção, toda a massa disponível foi utilizada para a determinação de seu conteúdo lipídico e a seguir a quantificação dos compostos organoclorados. Já para as amostras dos animais encalhados, ¼ do extrato total foi destinado à quantificação do conteúdo lipídico.

Para isso, depois do processo de redução de seu volume em evaporador rotativo, o extrato foi transferido para um tubo de vidro previamente pesado e armazenado em dessecador. Após a total evaporação dos solventes, o tubo foi novamente pesado e a diferença entre a pesagem do tubo vazio e a pesagem após a evaporação foi utilizada para o cálculo da porcentagem de lipídios.

$$\% \text{ lipídios} = \frac{(\text{Peso após evaporação} - \text{Peso do tubo})}{\text{Massa da amostra}} \times 100$$



**Figura 10:** Fluxograma dos tratamentos para amostras provenientes de animais encalhados e de animais biopsiados.

#### **4.4.9 Purificação**

A fim de se retirar possíveis interferentes, em especial a matéria orgânica nas suas mais diversas formas, a purificação das amostras se deu através do tratamento ácido.

O tratamento ácido, no entanto, faz com que alguns compostos sofram transformações e não possam ser quantificados. Porém, diversos grupos de compostos organoclorados não sofrem degradação com esse tratamento e podem ser quantificados, dentre eles estão os PCBs, DDTs, HCHs, HCB e Mirex (BERNAL, et al., 1992).

Para a purificação, foram adicionados 5 mL de ácido sulfúrico concentrado ao extrato, sendo agitados durante 5 minutos. Os extratos foram colocados em centrífuga, *Nova Técnica modelo NT812*, a 3000 rpm até que a fase hexânica fosse completamente separada do ácido.

Após essa etapa, a fase hexânica foi retirada e a fase ácida foi lavada com 2 mL de n-hexano, sendo novamente agitado e centrifugado. As fases hexânicas foram então unidas e o extrato foi reduzido a 0,25 mL em fluxo contínuo de nitrogênio. Após essa etapa foi adicionado 0,25 mL do padrão interno cromatográfico TCMX.

A identificação e quantificação dos compostos foi realizada através de um cromatógrafo de fase gasosa com detector de captura de elétrons (CG-DCE), conforme descrito no item 3.4.6.

#### **4.4.10 Limite de Detecção do método**

O Limite de detecção do método (LDM) é a concentração mínima de uma substância que pode ser determinada com 99% de confiança de que esse valor é maior que zero (EPA, 1995).

Neste trabalho o cálculo do LDM foi de três vezes o desvio padrão de replicatas da injeção das frações de trabalho ( $n=7$ ). Os valores do limite de detecção estão na Tabela 3.

**Tabela 3:** Limite de detecção dos compostos organoclorados analisados.

<b>Composto</b>	<b>LDM</b>	<b>Composto</b>	<b>LDM</b>
HCB	0,33	PCB 138	0,60
b-HCH	0,46	PCB 141	0,48
g-HCH	0,43	PCB 151	0,28
d-HCH	0,40	PCB 153	0,55
op-DDE	0,27	PCB 158	0,56
pp-DDE	0,29	PCB 170	0,98
op-DDD	0,36	PCB 174	0,53
pp-DDD	0,89	PCB 177	0,55
pp-DDT	0,32	PCB 180	0,69
Mirex	0,52	PCB 183	0,44
PCB 28	0,37	PCB 187	0,39
PCB 44	0,40	PCB 194	1,68
PCB 49	1,77	PCB 195	1,07
PCB 52	0,27	PCB 199	0,60
PCB 97	0,36	PCB 203	0,72
PCB 101	0,28	PCB 206	1,15
PCB 105	1,04	PCB 209	1,08
PCB 132	0,57		

#### **4.4.11 Validação da metodologia**

Com o intuito de validar a metodologia aqui utilizada para a determinação de compostos organoclorados em tecido adiposo subcutâneo de cetáceos, foram utilizados os materiais de referência SRM 1588a e SRM 1945 do *National Institute of Standards and Technology* (NIST). Sendo o primeiro um óleo de fígado de bacalhau, e o segundo tecido adiposo subcutâneo de baleia.

A análise dos compostos organoclorados nos materiais de referência foi conduzida de acordo com a metodologia aplicada as amostras. Os critérios para validação utilizados foram baseados em Wade; Cantillo (1994), em que são aceitas concentrações entre 65 e 135% daquelas fornecidas pelo laboratório de referência. A tabela 4 apresenta os compostos certificados assim como suas porcentagens de recuperação.

**Tabela 4:** Porcentagem média de recuperação dos compostos certificados pelos materiais de referência.

Compostos	Recuperação (%)	Compostos	Recuperação (%)
<i>o,p'</i> -DDE	87,74	PCB 138	125,16
<i>p,p'</i> -DDE	67,02	PCB 141	111,66
<i>p,p'</i> -DDD	83,06	PCB 151	108,04
<i>p,p'</i> -DDT	124,14	PCB 153	90,89
<i>g</i> -HCH	99,47	PCB 156	89,96
<i>a</i> -HCH	71,04	PCB 158	108,31
HCB	76,36	PCB 170	116,93
Mirex	105,99	PCB 174	128,16
PCB 28	68,89	PCB 177	107
PCB 44	101,81	PCB 180	109,83
PCB 49	79,69	PCB 183	84,36
PCB 52	83,61	PCB 187	103,58
PCB 97	68,28	PCB 194	131,32
PCB 101	105,94	PCB 195	131,79
PCB 105	100,12	PCB 199	119,03
PCB 118	109,7	PCB 206	104,26
PCB 132	114,56	PCB 209	116,92

Portanto, os compostos determinados pela presente metodologia são:

- 27 PCBs (PCB 8, 28, 44, 49, 52, 97, 101, 105, 118, 132, 138, 141, 151, 153, 158, 170, 174, 177, 180, 183, 187, 194, 195, 199, 203, 206 e 209);
- O  $\Sigma$ DDT, possui o o,p'-DDE, p,p'-DDT, p,p'-DDE e p,p'-DDD;
- O  $\Sigma$ HCH possui o a-HCH, b-HCH, d-HCH e g-HCH;
- Além do Mirex e do HCB.

Como um controle de qualidade e para garantirmos que as amostras não estavam sendo contaminadas ao longo do processo, brancos foram analisados em todas as baterias de extração, passando por todas as etapas assim como as amostras.

#### **4.5 Testes estatísticos**

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa *Statistic* 6.0. A estatística descritiva foi empregada para a determinação dos valores de média, mediana, desvio padrão e coeficiente de variação. O teste *W* de *Shapiro-Wilk* foi aplicado ao conjunto de dados para a verificação da normalidade dos mesmos. O teste apontou que a maioria dos compostos não apresentava uma distribuição normal. Portanto, optamos pela utilização de testes estatísticos não-paramétricos.

O teste de correlação de Sperman ( $r_s$ ) foi aplicado para investigar a existência de correlação entre as concentrações dos diferentes compostos. A fim de se verificar a significância das diferenças das concentrações dos compostos organoclorados analisados entre as diferentes camadas, as diferentes áreas e os sexos foi utilizado o teste *U* não-paramétrico de *Mann-Whitney*.

A análise discriminante foi utilizada para investigar a existência de diferença do padrão de acumulação de organoclorados entre os botos-cinza machos encalhados da Baía de Sepetiba, e dos machos da Baía de Guanabara, no Estado do Rio de Janeiro; e Baía de Paranaguá, no Estado do Paraná. Os dados das últimas duas localidades são provenientes do estudo realizado por Lailson-Brito et al. (2010). Foram utilizados somente machos com comprimento total superior a 150 cm.

## 5 RESULTADOS

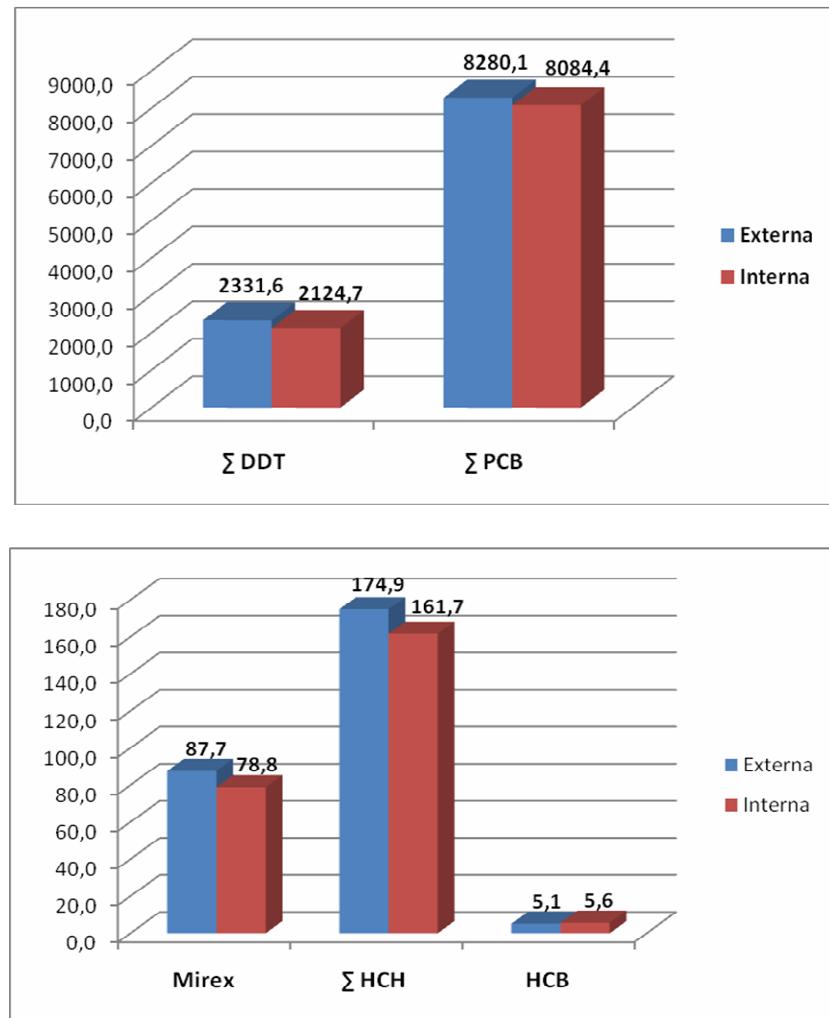
### 5.1 Compostos organoclorados nas camadas externa e interna do tecido adiposo subcutâneo de *Sotalia guianensis*

Na tabela 5 é apresentado um resumo das concentrações dos compostos organoclorados em  $\text{ng.g}^{-1}$  lipídio, nas camadas externa e interna do tecido adiposo subcutâneo do boto-cinza capturados accidentalmente na Baía de Sepetiba.

As maiores concentrações médias foram observadas na camada externa do tecido adiposo subcutâneo, com exceção do HCB (Fig. 11). Mas nenhum dos 37 compostos analisados foi estatisticamente diferente entre a camada externa e a camada interna do tecido adiposo subcutâneo (teste *U Mann-Whitney*,  $p > 0,05$ ). O mesmo teste foi realizado para machos e fêmeas separadamente, a fim de verificar se os sexos imprimiam diferenças no tecido adiposo subcutâneo, mas em nenhum caso houve diferenças (teste *U Mann-Whitney*,  $p > 0,05$ ).

**Tabela 5:** Média, desvio padrão, valores mínimos e máximos das concentrações dos compostos organoclorados ( $\text{ng.g}^{-1}$  lipídio) das camadas externa e interna de tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza ( $n=17$ ) da Baía de Sepetiba.

	Mirex	HCB	$\Sigma$ DDT	$\Sigma$ HCH	$\Sigma$ PCB
<b>Machos (n = 13)</b>					
Camada externa	$98,3 \pm 33,3$ 54,7 - 172,4	$5,5 \pm 3,2$ <LD - 10,4	$2247,3 \pm 1642,2$ 550,7 - 5751,9	$192,3 \pm 51,9$ 105,4 - 304,9	$9796,6 \pm 6998,3$ 2093 - 23985,5
Camada Interna	$84,8 \pm 28,4$ 24,0 - 127,0	$6,0 \pm 2,6$ 1,6 - 11,2	$1951,6 \pm 1302,2$ 483,3 - 4784,4	$175,8 \pm 58,1$ 85,3 - 293,9	$9354,25 \pm 5271,9$ 2708,9 - 18182,5
<b>Fêmeas (n = 4)</b>					
Camada Externa	$53,0 \pm 5,4$ 47,7 - 59,9	$3,8 \pm 2,6$ 0,4 - 6,1	$2605,6 \pm 3804,9$ 346,7 - 8299,1	$118,4 \pm 26,0$ 87,3 - 145,0	$3351,2 \pm 1287,4$ 1467,2 - 4332,0
Camada Interna	$59,6 \pm 5,2$ 54,4 - 66,7	$4,3 \pm 1,0$ 3,1 - 5,4	$2687 \pm 3923,7$ 540,7 - 8566,0	$116,0 \pm 19,3$ 93,8 - 140,8	$3957,5 \pm 919,6$ 2975,3 - 4747,5
<b>Todos (n = 17)</b>					
Camada Externa	$87,7 \pm 35,1$ 47,7 - 172,4	$5,1 \pm 3,1$ <LD - 10,5	$2331,6 \pm 2182,1$ 346,7 - 8299,1	$174,9 \pm 56,5$ 87,3 - 304,9	$8280,1 \pm 6707,1$ 1467,2 - 23985,5
Camada Interna	$78,8 \pm 27,1$ 24,0 - 127,0	$5,6 \pm 2,4$ 1,6 - 11,2	$2124,7 \pm 2064,4$ 483,3 - 8566,0	$161,7 \pm 57,3$ 85,3 - 293,9	$8084,4 \pm 5154,7$ 2708,9 - 18182,5

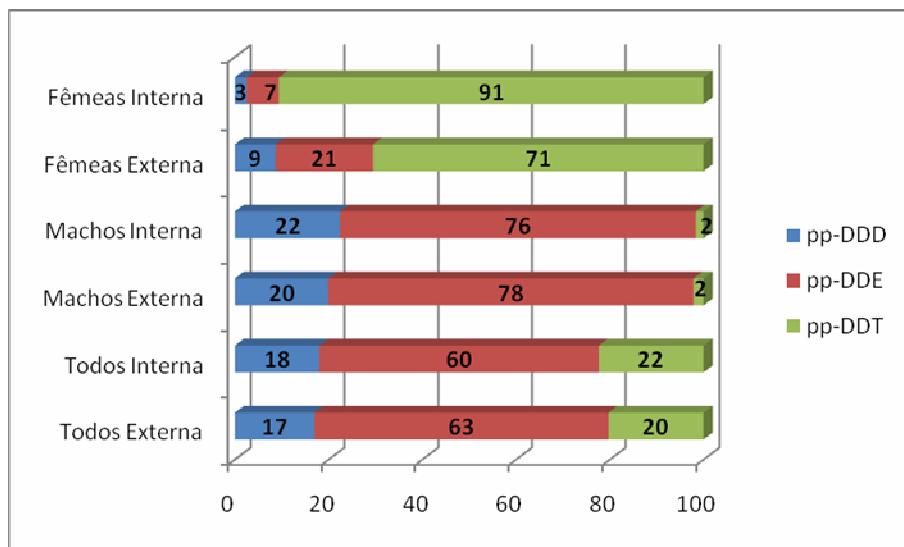


**Figura 11:** Comparação entre médias (ng.g<sup>-1</sup> lipídio) das concentrações de organoclorados nas camadas externa e interna de tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza ( n= 17 ) da Baía de Sepetiba.

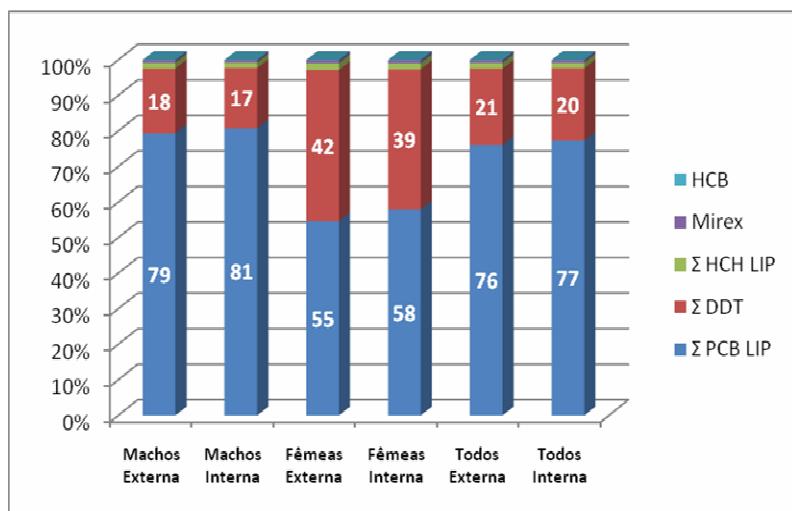
As relações *p,p'*-DDE/ΣDDT e ΣDDT/ΣPCB são de grande importância para estudos de compostos organoclorados, já que permitem verificar a cronologia de entrada do DDT no ambiente e avaliar a fonte de maior importância, respectivamente. Portanto, foi testada a diferença de tais relações entre as camadas externa e interna do tecido adiposo subcutâneo dos botos-cinza.

A relação *p,p'*-DDE/ΣDDT não foi estatisticamente diferente entre as duas camadas, seja quando todos os indivíduos são considerados (teste *U Mann-Whitney*,  $p=0,59$ ), ou quando os sexos são tratados separadamente (teste *U Mann-Whitney*, machos:  $p=0,98$  e fêmeas:  $p=0,15$ ) (Fig.12). Já a relação ΣDDT/ΣPCB, foi

estatisticamente diferente entre as camadas (teste *U Mann-Whitney*,  $p=0,02$ ) quando todos os indivíduos são considerados, apesar das médias serem semelhantes; mas quando os sexos são tratados separadamente, não foram observadas diferenças estatísticas (teste *U Mann-Whitney*, machos:  $p=0,06$  e fêmeas:  $p=0,15$ ) (Fig.13).



**Figura 12:** Porcentagem do *p,p'*-DDT e de seus metabólitos *p,p'*-DDE e *p,p'*-DDD no  $\Sigma$ DDT no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza (  $n= 17$ ; machos = 13; fêmeas = 4) da Baía de Sepetiba.



**Figura 13:** Distribuição relativa dos percentuais de organoclorados ( $\Sigma$ PCB,  $\Sigma$ DDT,  $\Sigma$ HCH, Mirex e HCB) nos estratos do tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza ( $n=17$ ) da Baía de Sepetiba.

## 5.2 Compostos organoclorados em biópsias e em animais encalhados da Baía de Sepetiba, RJ.

A fim de verificar se existiam diferenças entre as concentrações de compostos organoclorados em animais encalhados e animais biopsiados na Baía de Sepetiba, o teste *U* de *Mann-Whitney* foi aplicado às amostras da camada externa do tecido adiposo subcutâneo de machos encalhados na Baía de Sepetiba juntamente com biópsias remotas de machos da mesma baía. E os seguintes compostos organoclorados foram estatisticamente diferentes: α-HCH, β-HCH, γ-HCH, δ-HCH, Mirex, PCB 105 e PCB 174.

Foram ainda testados os perfis das amostras de machos encalhados e machos biopsiados. E os seguintes compostos organoclorados foram estatisticamente diferentes: α-HCH, β-HCH, γ-HCH, PCB 28, PCB 49, PCB 101, PCB 97, PCB 151, PCB 118 e PCB 141.

**5.3 Bioacumulação de compostos organoclorados em *Sotalia guianensis* da Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande, Rio de Janeiro.**

Nas tabelas 6 e 7 são apresentadas as concentrações dos compostos organoclorados ( $\Sigma$ DDT,  $\Sigma$ PCB,  $\Sigma$ HCH, HCB e Mirex) em ng.g<sup>-1</sup>lip. nos exemplares de boto-cinza da Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande respectivamente.

**Tabela 6:** Concentrações de organoclorados ( $\Sigma$ DDT,  $\Sigma$ PCB,  $\Sigma$ HCH, HCB e Mirex) em ng.g<sup>-1</sup>lip, nos exemplares de boto-cinza da Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro.

Espécime	Sexo	$\Sigma$ DDT	$\Sigma$ PCB	$\Sigma$ HCH	Mirex	HCB
SEP#01	M	4713	23434	546	465	<LD
SEP#02	M	3287	9607	1746	895	<LD
SEP#03	M	7597	26956	316	331	4
SEP#04	M	11345	4486	1196	483	<LD
SEP#05	M	4869	19782	319	216	3
SEP#06	M	2899	13183	445	142	35
SEP#07	F	3729	<LD	1535	708	<LD
SEP#08	F	1675	3688	1553	868	<LD
SEP#09	F	814	3140	517	297	<LD
SEP#10	F	935	5283	269	186	<LD
SEP#11	F	867	2137	1203	464	<LD
SEP#12	F	1618	1889	2296	868	<LD
SEP#13	F	4987	22819	1556	631	<LD
<b>Média ± DP</b>		<b>3795 ± 3039</b>	<b>11367 ± 9454</b>	<b>1038 ± 671</b>	<b>504 ± 269</b>	<b>11 ± 16</b>
<b>Mediana</b>		<b>3287</b>	<b>7445</b>	<b>1196</b>	<b>465</b>	<b>4</b>

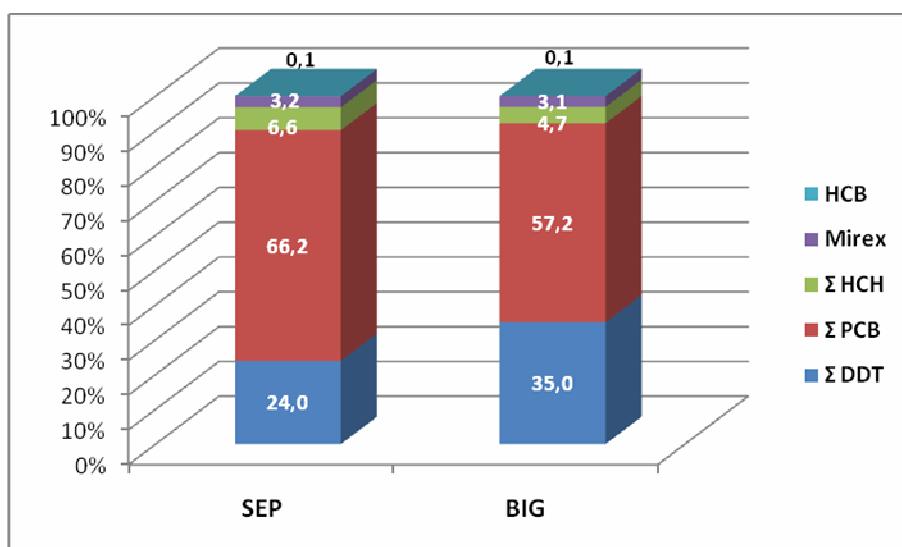
<LD – Abaixo do Limite de Detecção

**Tabela 7:** Concentrações de organoclorados ( $\Sigma$ DDT,  $\Sigma$ PCB,  $\Sigma$ HCH, HCB e Mirex) em ng.g<sup>-1</sup>lip, nos exemplares de boto-cinza da Baía de Ilha Grande, Rio de Janeiro.

Espécime	Sexo	$\Sigma$ DDT	$\Sigma$ PCB	$\Sigma$ HCH	Mirex	HCB
BIG#01	M	<LD	10357	302	428	3
BIG#02	M	2296	8644	3215	1817	<LD
BIG#03	M	<LD	3851	<LD	110	5
BIG#04	M	43	2919	1388	623	<LD
BIG#05	M	26621	60195	618	1088	10
BIG#06	F	<LD	256	1023	942	<LD
BIG#07	F	10703	22756	383	609	17
BIG#08	F	656	2343	403	268	<LD
BIG#09	ND	<LD	273	695	329	<LD
BIG#10	ND	<LD	10635	<LD	403	<LD
BIG#11	ND	2219	5196	511	246	20
<b>Média ± DP</b>		<b>7090 ± 10318</b>	<b>11584 ± 17367</b>	<b>949 ± 918</b>	<b>624 ± 495</b>	<b>11 ± 7</b>
<b>Mediana</b>		<b>2258</b>	<b>5196</b>	<b>618</b>	<b>428</b>	<b>9,8</b>

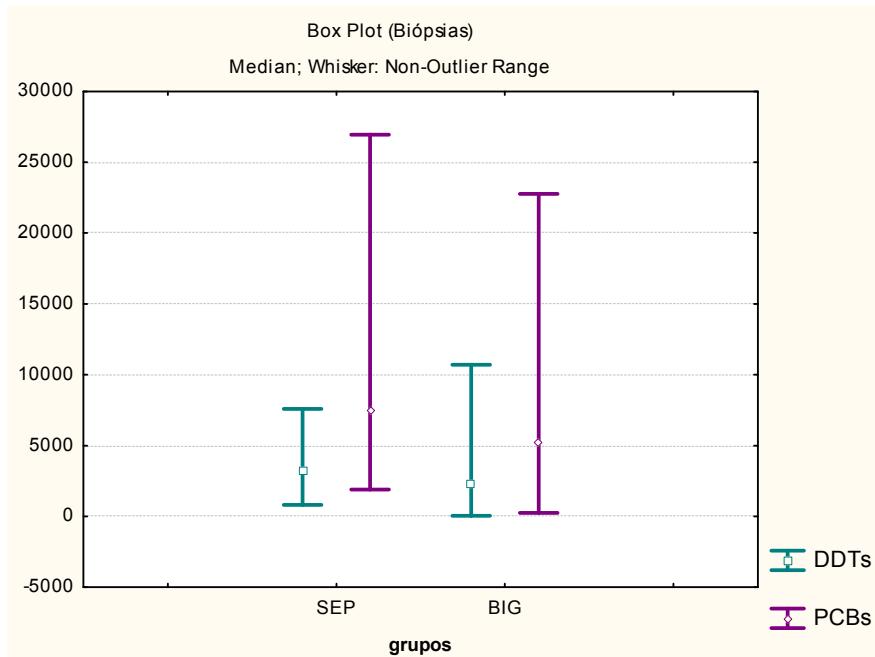
<LD – Abaixo do Limite de Detecção; ND – não determinado

A contribuição relativa dos principais grupos de compostos organoclorados foi semelhante entre as duas baías em questão. Nos botos da Baía de Sepetiba e da Baía de Ilha Grande, predominam as concentrações de PCBs, seguidos pelas concentrações de DDTs, HCHs, Mirex e por fim de HCB. (Fig. 14).



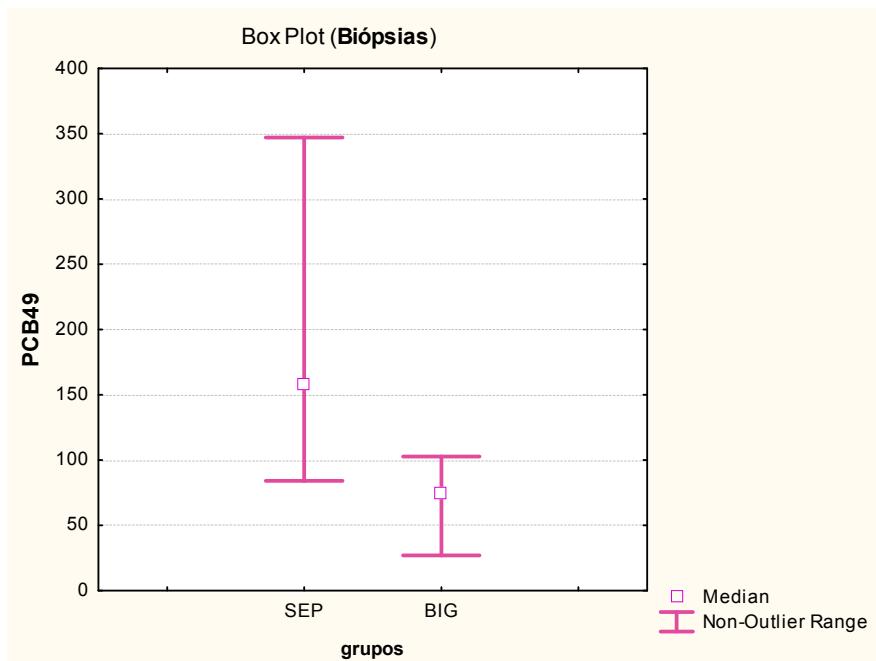
**Figura 14:** Distribuição relativa dos percentuais de organoclorados ( $\Sigma$ PCB,  $\Sigma$ DDT,  $\Sigma$ HCH, Mirex e HCB) em botos-cinza (n = 24) da Baía de Sepetiba (SEP, n=13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n=11).

Para o  $\Sigma$ DDT a maior mediana foi verificada para os botos da Baía de Ilha Grande ( $7089,7 \pm 10317,7 \text{ ng.g}^{-1}\text{lip.}$ ), enquanto a mediana foi maior para a Baía de Sepetiba ( $3787,4 \text{ ng.g}^{-1}\text{lip.}$ ) (Fig. 15). Mas as concentrações do  $\Sigma$ DDT e de cada um de seus metabólitos ( $\text{o,p}'\text{-DDE}$ ,  $\text{p,p}'\text{-DDT}$ ,  $\text{p,p}'\text{-DDE}$  e  $\text{p,p}'\text{-DDD}$ ) não foram estatisticamente diferentes entre as duas baías analisadas (teste *U Mann-Whitney*,  $p>0,05$ ).



**Figura 15:** Mediana e valores mínimos e máximos das concentrações do  $\Sigma$ PCB e  $\Sigma$ DDT no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP,  $n = 13$ ) e Baía de Ilha Grande (BIG,  $n = 11$ ), RJ.

A concentração média do  $\Sigma$ PCB foi maior na Baía de Ilha Grande ( $11584 \pm 17367 \text{ ng.g}^{-1}\text{lip.}$ ), enquanto a mediana foi mais elevada na Baía de Sepetiba ( $7445 \text{ ng.g}^{-1}\text{lip.}$ ) (Fig. 15). Mas o  $\Sigma$ PCB não apresentou diferença estatística entre as duas baías. E dentre seus isômeros e congêneres, somente o PCB 49 (teste *U Mann-Whitney*,  $p= 0,008$ ) foi estatisticamente diferente entre as duas baías (Fig.16). Sendo este o único composto, dentre todos analisados a apresentar diferença entre a Baía de Sepetiba e a Baía de Ilha Grande quando todos os espécimes são analisados.

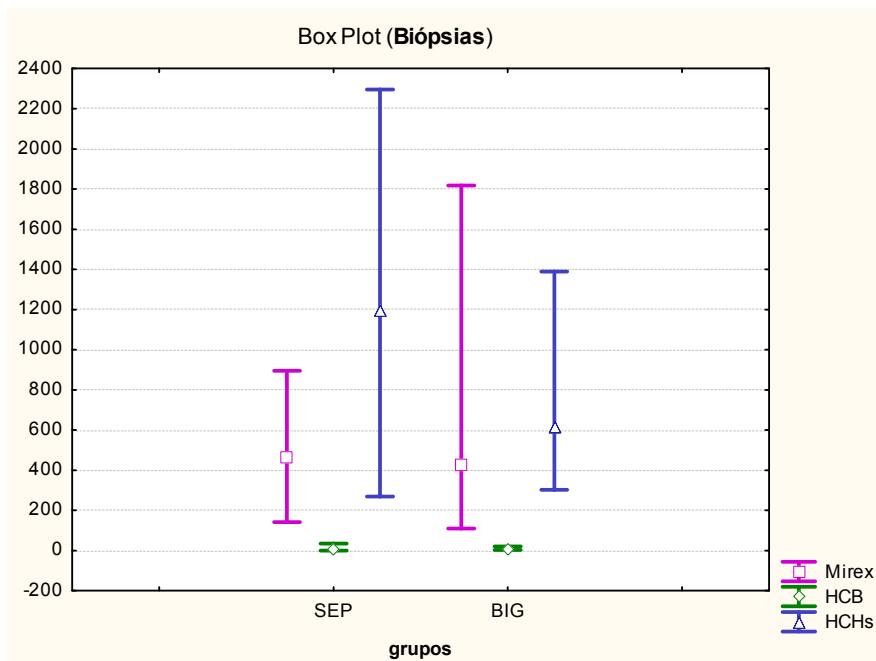


**Figura 16:** Mediana e valores mínimos e máximos das concentrações do PCB 49 no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP, n = 13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n = 11), RJ.

Para o  $\Sigma\text{HCH}$  tanto a média das concentrações quanto a mediana, apresentaram valores mais elevados na Baía de Sepetiba ( $1038,1 \pm 671,4 \text{ ng.g}^{-1}\text{lip.}$  e  $1195,9 \text{ ng.g}^{-1}\text{lip.}$ , respectivamente) do que na Baía de Ilha Grande ( $948,7 \pm 917,6 \text{ g.g}^{-1}\text{lip.}$  e  $618,3 \text{ ng.g}^{-1}\text{lip.}$ , respectivamente) (Fig. 17), mas esses valores não foram significativos (teste *U Mann-Whitney*,  $p>0,05$ ).

O Mirex apresentou a maior média na Baía de Ilha Grande ( $623,9 \pm 494,7 \text{ ng.g}^{-1}\text{lip.}$ ) e a mediana mais elevada na Baía de Sepetiba ( $465,2 \text{ ng.g}^{-1}\text{lip.}$ ) (Fig. 17) mas esses valores não foram significativos (teste *U Mann-Whitney*,  $p>0,05$ ).

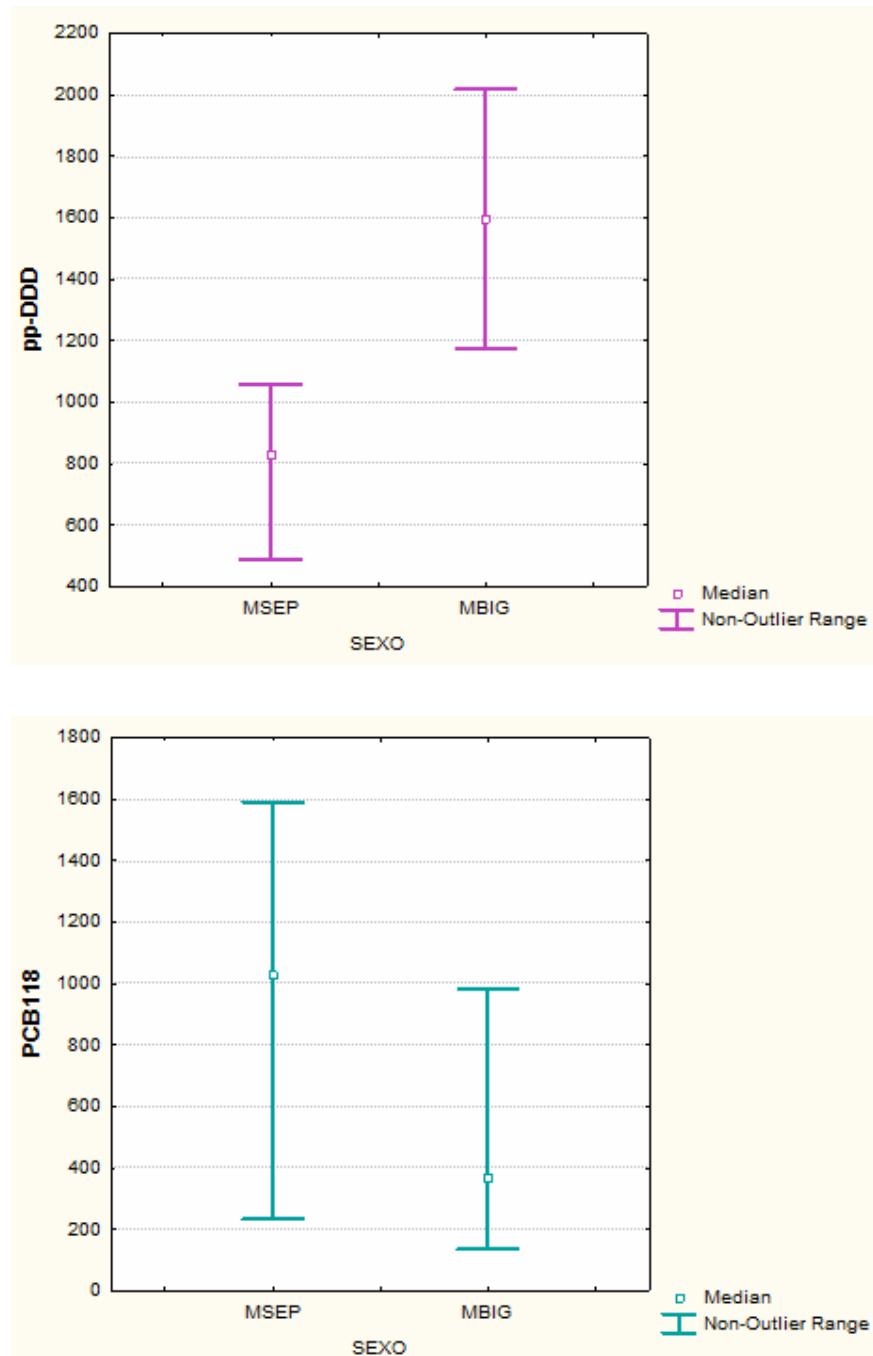
O HCB foi o composto que apresentou as menores concentrações médias nas duas baías. Na Baía de Ilha Grande os valores médios foram superiores aos encontrados na Baía de Sepetiba ( $11,0 \pm 7,2 \text{ ng.g}^{-1}\text{lip.}$  e  $9,8 \text{ ng.g}^{-1}\text{lip.}$ , respectivamente) (Fig. 17), mas não estatisticamente diferentes (teste *U Mann-Whitney*,  $p>0,05$ ).



**Figura 17:** Mediana e valores mínimos e máximos das concentrações do  $\Sigma$  HCH, HCB e Mirex no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP, n = 13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n = 11), RJ.

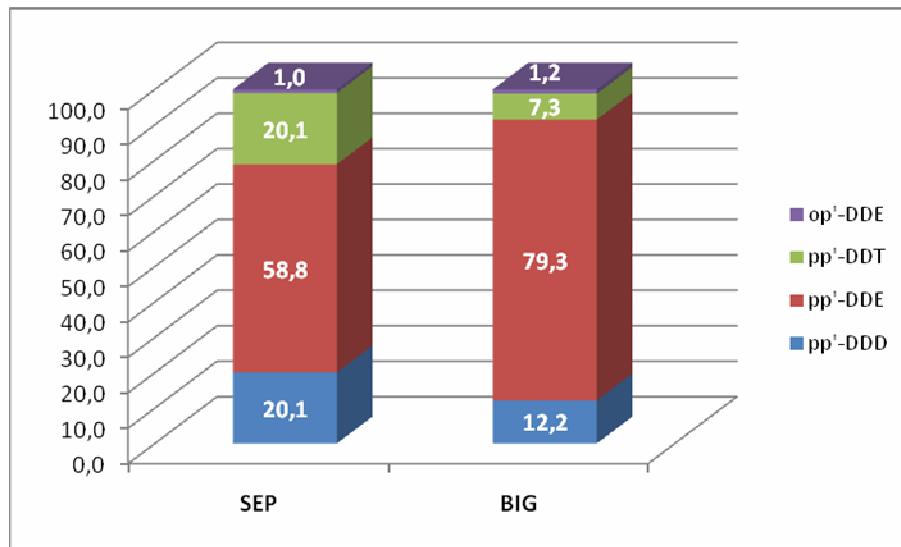
Quando os sexos são tratados separadamente, é observada diferença significativa para o *p,p'*-DDD ( $p=0,045$ ) e o PCB 118 ( $p=0,045$ ) entre os machos das Baías de Sepetiba e Ilha Grande (Fig.18). Mas quando apenas fêmeas são consideradas, nenhum composto apresenta diferença significativa entre as duas baías estudadas.

A razão entre as concentrações de  $\Sigma$ DDT e  $\Sigma$ PCB tem sido utilizada para caracterizar a magnitude das fontes de origem agrícola (ou de controle de vetores de doenças) sobre as fontes de origem industrial. Tal razão foi maior para a Baía de Ilha Grande (0,61) que para de Sepetiba (0,36).



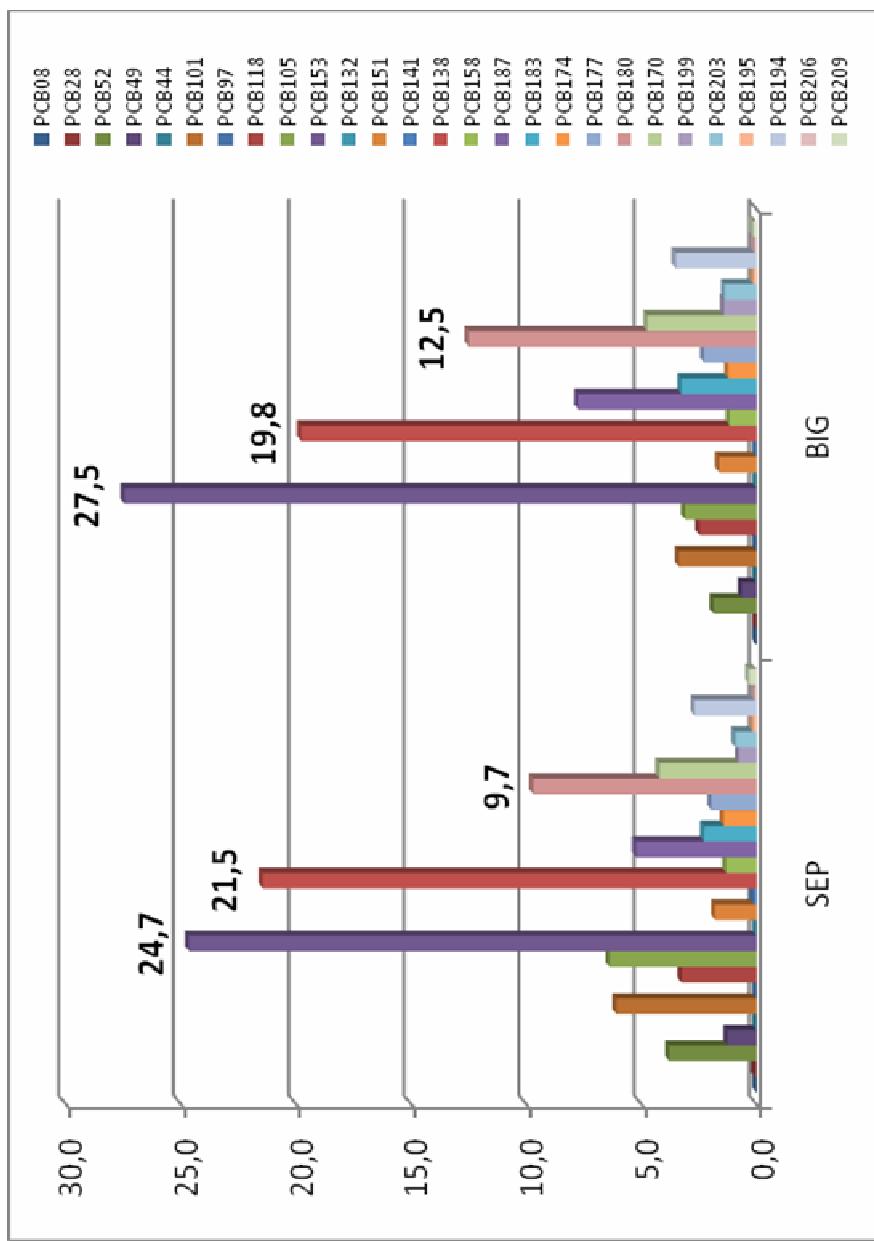
**Figura 18:** Mediana e valores mínimos e máximos das concentrações do *p,p'*-DDD e no PCB 118 no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza machos da Baía de Sepetiba (SEP, n = 13 ) e Baía de Ilha Grande (BIG, n = 11), RJ.

Em relação ao DDT, nas duas baías houve o predomínio de *p,p'*-DDE. Sendo a distribuição percentual na Baía de Ilha Grande a seguinte: *p,p'*-DDE> *p,p'*-DDD> *p,p'*-DDT> *o,p'*-DDE. Na Baía de Sepetiba: *p,p'*-DDE> *p,p'*-DDD= *p,p'*-DDT> *o,p'*-DDE (Fig. 19).



**Figura 19:** Contribuição relativa do *o,p'*-DDE, *p,p'*-DDD, *p,p'*-DDE e *p,p'*-DDT no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP, n= 13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n = 11), RJ.

A razão do *p,p'*-DDE com o somatório do *p,p'*-DDT, *p,p'*-DDD e *p,p'*-DDE é utilizada para se determinar a cronologia de entrada do DDT no ambiente. Na média, os botos da Baía de Ilha Grande apresentaram a razão mais elevada (0,80) que os animais da Baía de Sepetiba (0,59).

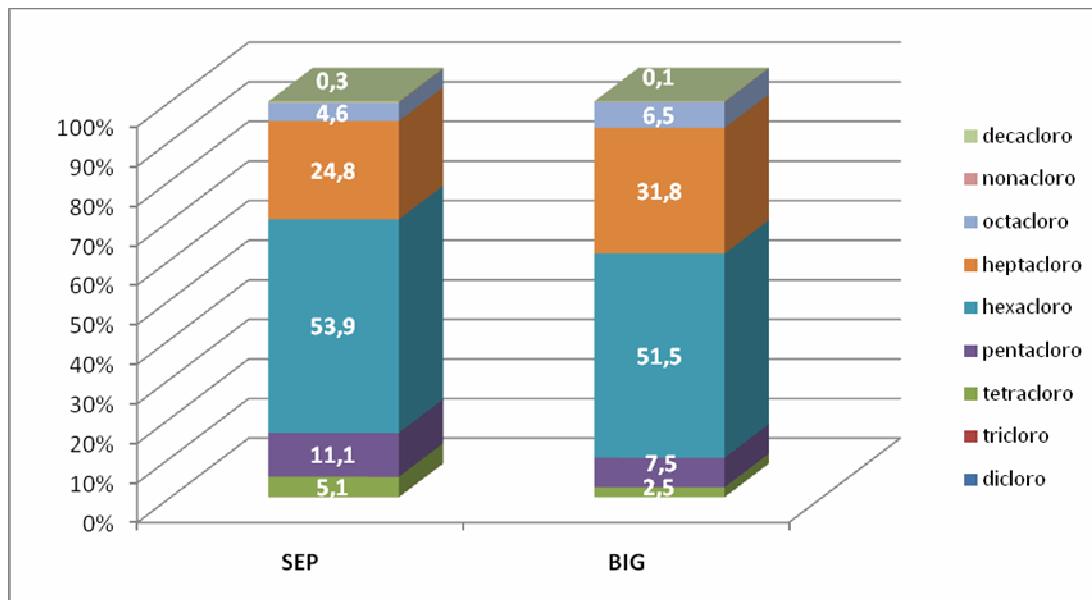


**Figura 20:** Contribuição relativa média (%) dos diferentes congêneres e isômeros para o  $\sum$ PCB no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP, n=13) e Baía de Ilha Grande (BIG, n=11).

Os diferentes congêneres e isômeros de PCB tiveram contribuições relativas (%) variáveis (Fig.20). Nas duas baías houve o predomínio do PCB 153, seguido pelo PCB 138 e PCB 180. Ao compararmos a razão entre os PCBs mais leves (2,3 e 4 cloros) e os mais pesados (6,7,8,9 e 10 cloros) (Fig. 21) verificamos o valor mais elevado para a Baía de Sepetiba (Tab.8).

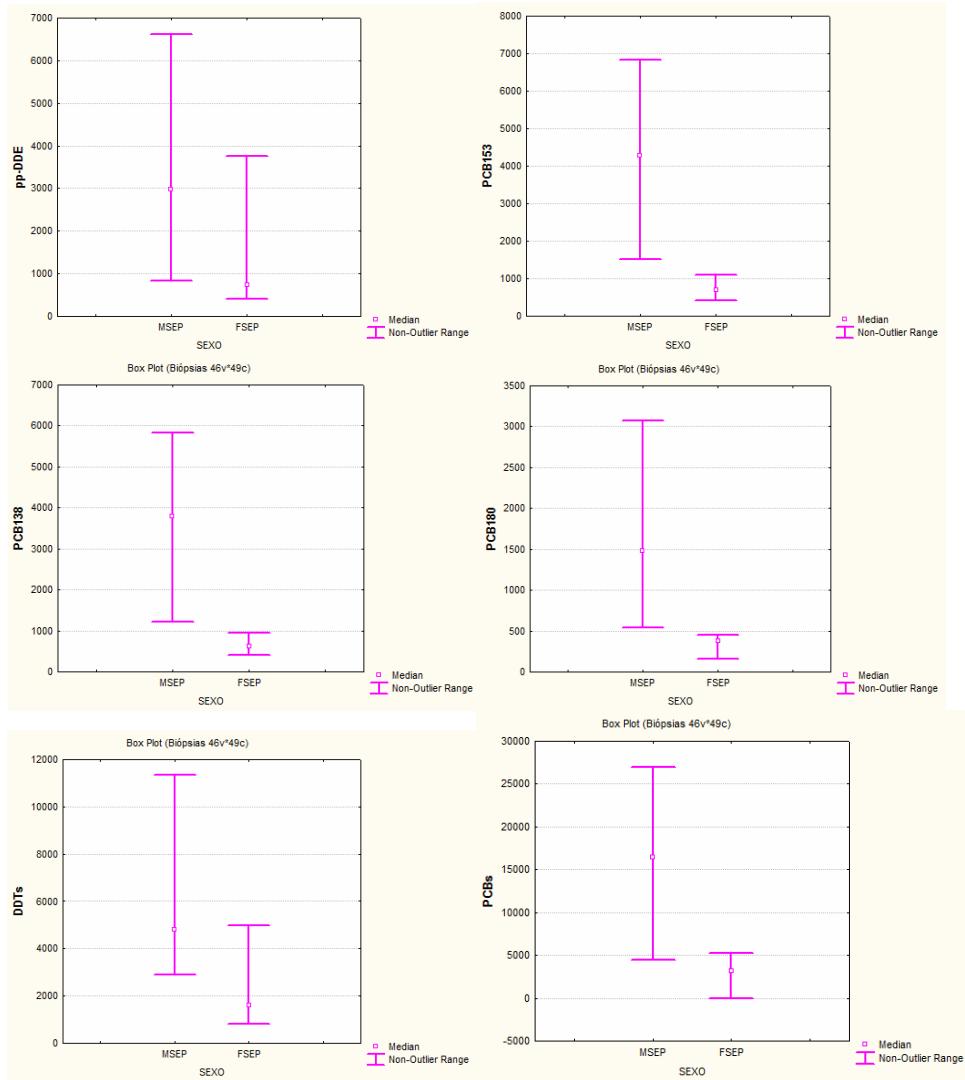
**Tabela 8:** Razão entre a contribuição relativa (%) de PCBs de baixa cloração (2,3 e 4 Cl) e os PCBs de alta cloração (6,7,8,9 e 10 Cl) no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba ( $n = 13$ ) e Baía de Ilha Grande ( $n=11$ ), RJ.

Baía	Razão PCB $(2+3+4\text{ Cl})/(6+7+8+9+10\text{ Cl})$
Sepetiba	0,06
Ilha Grande	0,03



**Figura 21:** Contribuição relativa média (%) dos PCBs agrupados pelo número de cloros presentes na molécula para o  $\sum$ PCB no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP,  $n = 13$ ) e Baía de Ilha Grande (BIG,  $n = 11$ ), RJ.

Foram encontradas diferenças significativas (Teste U de *Mann Whitney*) entre machos e fêmeas da Baía de Sepetiba para o *p,p'*-DDE ( $p=0,046$ ), PCB 153 ( $p=0,037$ ), PCB 138 ( $p=0,025$ ), PCB 180 ( $p=0,025$ ),  $\Sigma$ DDT ( $p=0,032$ ) e  $\Sigma$ PCB ( $p=0,037$ ) (Fig. 22). Já para a Baía de Ilha Grande não foram observadas diferenças significativas (Teste U de *Mann Whitney*) entre machos e fêmeas para nenhum composto ( $p>0,05$ ).



**Figura 22:** Mediana e valores mínimos e máximos das concentrações do *p,p'*-DDE, PCB 153, PCB 138, PCB 180,  $\Sigma$ DDT e  $\Sigma$ PCB no tecido adiposo subcutâneo de machos (n = 6) e fêmeas (n= 7) de botos-cinza da Baía de Sepetiba (SEP), RJ.

Como a comparação entre animais encalhados e biopsiados possui restrições, a análise discriminante foi realizada para testar a existência de diferença do padrão de acumulação de organoclorados entre os espécimes machos de botos-cinza encalhados da Baía de Sepetiba ( $n=12$ ), Baía de Guanabara ( $n=4$ ), no Estado do Rio de Janeiro; e Baía de Paranaguá ( $n=7$ ), no Estado do Paraná. Os dados dos dois últimos locais foram obtidos do estudo realizado por Lailson-Brito et al. (2010).

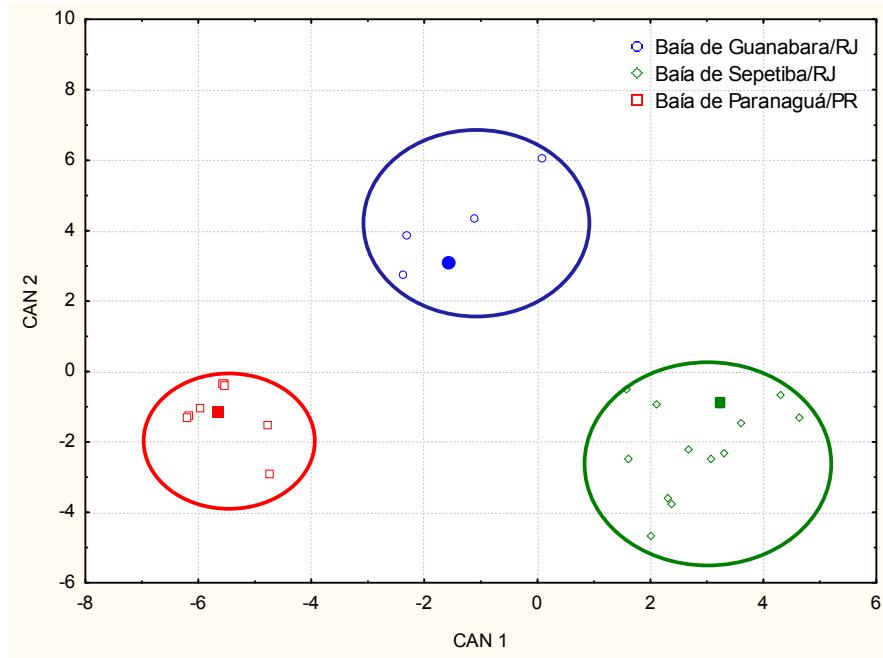
Sendo assim, a função discriminante indicou a existência de diferenças entre os três grupos (*Wilks Lambda*= 0,01130;  $F (26,24)=7,7601$   $p< ,00001$ . Dos 26 compostos (DDTs, PCBs, HCB e g-HCH) que eram comuns aos dois estudos, 13 entraram no modelo. Os compostos que mais forçaram a separação dos grupos no eixo 1 foram: positivamente – PCB 105; *p,p'*-DDD; PCB 28 e PCB 183; e negativamente – PCB 52; PCB 49 e *o,p'*-DDE. Já no eixo 2 foram: positivamente – *p,p'*-DDE, PCB 105 e PCB 28, ; e negativamente – PCB 52, PCB 49 e HCB.

A maior distância ( $D^2 - Mahalanobis$ ) foi observada entre a Baía de Sepetiba e a Baía de Paranaguá. O percentual correto de classificação foi de 97,95%, o que indica que apenas 2,05% dos compostos possuem concentrações similares entre as regiões.

Através da representação gráfica das duas primeiras variáveis canônicas (Fig. 23) podemos notar os três agrupamentos populacionais em posições bem distintas.

**Tabela 9:** Resultados da Análise de Discriminante (Valor de F, Distância de *Mahalanobis* ( $D^2$ ) e nível de significância), utilizada para a comparação no padrão de acumulação de organoclorados em tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza de diferentes localidades: Baía de Guanabara ( $n= 4$ ), Baía de Sepetiba ( $n= 12$ ), e Baía de Paranaguá ( $n = 7$ ), dados a partir da análise discriminante.

Localidade X Localidade	Valor de F	Distância de <i>Mahalanobis</i> ( $D^2$ )	Valor de p
B. de Guanabara X B. de Sepetiba	7,20	51,87	0,0008
B. de Guanabara X B. de Paranaguá	4,09	33,09	0,0101
B. de Sepetiba X B. de Paranaguá	21,21	103,69	<0,0001



**Figura 23:** Representação gráfica das variáveis canônicas para o boto-cinza da Baía de Guanabara ( $n=4$ ), Baía de Sepetiba ( $n=12$ ) e Baía de Paranaguá ( $n=7$ ). Os pontos cheios representam os valores médios para cada área.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Compostos organoclorados nas camadas externa e interna do tecido adiposo subcutâneo de *Sotalia guianensis*

O tecido adiposo subcutâneo nos cetáceos possui como principais constituintes os lipídios, representando de 30 a 80% do peso. Porém, a quantidade e a composição dos lipídios apresentam uma estratificação vertical no tecido adiposo subcutâneo de cetáceos, fazendo com que tal tecido possua duas camadas com distintas funções (AGUILAR; BORRELL, 1990). A camada externa, próxima a pele, possui como função o isolamento térmico corporal, sendo pouco afetada por variações nutricionais. Já a camada interna, próxima ao músculo, funciona como reserva energética, podendo sofrer flutuações devido à necessidade energética do animal, em momentos com baixa disponibilidade de alimentos ou durante o período gestacional (AGUILAR; BORRELL, 1990).

Os organoclorados são lipofílicos, mas os diferentes compostos podem ter uma maior afinidade por lipídios de determinado grupo e se esses lipídios não possuem uma distribuição vertical homogênea, acredita-se que tais organohalogenados talvez não sejam igualmente distribuídos ao longo da profundidade do tecido adiposo subcutâneo (AGUILAR; BORRELL, 1990). Porém, o presente estudo mostrou que para o boto-cinza, *Sotalia guianensis*, nenhum dos 37 compostos analisados apresentaram diferenças entre as concentrações da porção externa e da porção interna do tecido adiposo subcutâneo, assim como o conteúdo lipídico.

A homogeneidade dos compostos organoclorados no tecido adiposo subcutâneo do boto-cinza parece ser uma característica fisiológica da espécie. A investigação da distribuição dos compostos organoclorados no tecido adiposo de cetáceos vem sendo realizadas em diversas espécies, sendo que alguns autores observaram diferenças na distribuição dos organoclorados (AGUILAR; BORRELL, 1991; TILBURY et al., 1997), enquanto outros autores não reportaram diferenças (GAUTHIER et al., 1997; HANSEN et al., 2004; KRAHN et al., 2004).

Dentre os estudos que observaram diferenças na distribuição dos clorados no tecido adiposo de cetáceos, está o realizado por Aguilar; Borrel (1991), que encontraram maiores níveis de todos os compostos organoclorados analisados na porção externa do tecido adiposo subcutâneo de baleias-sei (*Balaenoptera borealis*) e de baleias-fin (*Balaenoptera physalus*) no Leste do Atlântico Norte. Os autores associam tal achado às diferenças nas funções dos estratos do tecido adiposo subcutâneo dos cetáceos. Por outro lado, Tilbury et al. (1997) relataram que a região mais interna da camada adiposa subcutânea do golfinho-do-porto (*Phocoena phocoena*), no Leste do Atlântico Norte, a primeira a ser remobilizada, apresentou as maiores concentrações de xenobióticos em dois indivíduos, mas no terceiro espécime não houve diferenças entre os estratos. Os autores acreditam ser consequência do estado nutricional e fisiológico de cada animal.

Dentre os estudos que não observaram diferenças na distribuição dos clorados no tecido adiposo de cetáceos, está o realizado por Gauthier et al. (1997), que observaram tal achado para a baleia-minke (*Balaenoptera acutorostrata*) e para a baleia-azul (*Balaenoptera musculus*) no Canadá. Os autores acreditam que seja consequência da farmacocinética dos compostos lipofílicos, já que a partir de testes com animais em cativeiro, foi verificado que tais compostos atingem o equilíbrio no sangue e nos órgãos em poucas horas. Os autores ainda sugerem que quando as reservas lipídicas sofrem redução, por exemplo, durante a migração, os compostos organoclorados são redistribuídos por toda a espessura da camada adiposa. O estudo realizado por Hansen et al. (2004) descreve que concentrações mais elevadas foram encontradas na porção externa do tecido adiposo de carcaças de golfinho-nariz-garrafa ( $n=3$ ) no Atlântico Norte, nos Estados Unidos. Embora tal diferença seja pequena e ainda tenha sido observada uma variação entre os indivíduos. Ainda no mesmo trabalho, os autores compararam as concentrações de compostos organoclorados em amostras de tecido adiposo obtidas através de biópsias cirúrgicas, onde o animal vivo é capturado e toda a profundidade do tecido adiposo subcutâneo é retirado, com amostras de tecido adiposo obtidas através de biópsias remotas, onde dificilmente a camada mais interna é obtida. Embora a comparação estatística tenha sido impossibilitada devido a utilização de apenas uma biópsia remota, as concentrações dos compostos organoclorados foram comparáveis as determinadas em biópsias cirúrgicas. Através da análise de ACP

(Análise de Componentes Principais), os autores verificaram que o animal biopsiado remotamente apresentou um perfil de contaminação por compostos organoclorados semelhante aos reportados para animais biopsiados cirurgicamente no mesmo local. Comparação semelhante foi realizada por Hobbs et al. (2003) para belugas (*Delphinapterus leucas*) do Canadá, sendo que tal comparação foi realizada entre amostras de biópsias remota e amostras de animais encalhados. Através da análise multivariada, os autores descrevem que os padrões foram semelhantes. A mesma espécie foi investigada por Krahn et al. (2004), que assim como para orcas (*Orcinus orca*) dos Estados Unidos, observaram que as classes de lipídios e as concentrações dos organoclorados de biópsias foram semelhantes as reportadas para os animais encalhados. Oposto ao observado para o percentual lipídico. Sendo assim, os autores acreditam que os resultados obtidos através de biópsias trazem importantes informações, mas devem ser vistos com cuidado e avaliados juntamente com amostras que englobe toda a profundidade do tecido adiposo.

## **6.2 Compostos organoclorados em biópsias remota e em animais encalhados da Baía de Sepetiba**

Alguns compostos foram estatisticamente diferentes entre os animais encalhados e os biopsiados da Baía de Sepetiba. Além disso, alguns compostos ( $\alpha$ -HCH,  $\delta$ -HCH, HCB, PCB 28, PCB 44, PCB 97) que ficaram acima do limite de detecção para as amostras de animais encalhados foram detectados em pouquíssimas amostras de biópsia remota. Como as amostras foram obtidas da mesma população, tal fato evidencia que existe uma restrição no uso de biópsias remotas, que provavelmente está ligada a baixa massa coletada. No presente estudo a massa coletada variou entre 0,04g e 0,54g, o que em alguns casos representou 4%, não ultrapassando 54% da massa utilizada para a determinação dos organoclorados nas amostras dos animais encalhados. Portanto, a não detecção de alguns compostos pode ser consequência do limite de detecção do método, e também demonstrando que o volume final utilizado (0,5 mL) não é o ideal para este tipo de amostra.

Sendo assim, apesar das camadas do tecido adiposo subcutâneo do boto-cinza não ter apresentado diferenças estatísticas para os compostos organoclorados, a comparação entre animais encalhados e biopsiados deve ser

vista com cuidado, já que a ferramenta da biópsia remota possui tais restrições. Portanto, pode ser recomendado que a comparação entre as concentrações de compostos organoclorados obtidas através de biópsias remotas e de animais encalhados, só seja realizada para compostos que não ficaram próximos aos limites de detecção.

### **6.3 Bioacumulação de compostos organoclorados em *Sotalia guianensis* da Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande, Rio de Janeiro.**

#### **6.3.1 Padrão de acumulação da Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande**

Os botoes-cinza das duas baías costeiras apresentaram o mesmo padrão de acumulação de compostos organoclorados ( $\Sigma\text{PCB} > \Sigma\text{DDT} > \Sigma\text{HCH} >$  Mirex > HCB). As maiores concentrações medianas de  $\Sigma\text{PCB}$ ,  $\Sigma\text{DDT}$ ,  $\Sigma\text{HCH}$  e Mirex foram observadas na Baía de Sepetiba, o que pode estar relacionado ao maior aporte que tal região recebe, já que em sua bacia de drenagem estão presentes cerca de 1,5 milhões de habitantes, cerca de 400 indústrias, e o uso de defensivos agrícolas foi amplo (SEMADS, 2001). Já na Baía de Ilha Grande, a principal atividade econômica é o turismo, e poucas indústrias estão presentes, além da população em sua bacia de drenagem ser de cerca de 177 mil habitantes (MMA /SBF, 2007), o que explicaria a menor contaminação. Na baía de Guanabara, ainda na costa do Estado do Rio de Janeiro, Lailson-Brito et al. (2010) encontraram um padrão semelhante, porém, tal estudo não analisou  $\Sigma\text{HCH}$  e Mirex. Yogui et al. (2003) encontraram para o boto-cinzinho do Estuário de Cananéia um padrão distinto ( $\Sigma\text{DDT} > \text{PCB} > \text{Mirex} > \Sigma\text{HCH} > \text{HCB}$ ), os autores sugerem que as altas concentrações de DDT e Mirex, sejam devido ao extensivo uso na região que possui forte característica agrícola. Já Kajiwara et al (2004) verificaram um padrão semelhante a Yogui et al. (2003) para a mesma espécie no Paraná e São Paulo ( $\Sigma\text{DDT} > \text{PCB} > \text{HCB} > \Sigma\text{HCH}$ ), os autores sugerem que tais Estados possuem séria contaminação por DDT e PCB.

A razão  $\Sigma\text{DDT}/\Sigma\text{PCB}$  vem sendo utilizada para caracterizar a fonte de maior importância, podendo ser agrícola (ou de controle de vetores de doenças) ou industrial (AGUILAR et al., 1999). A menor razão foi observada para Baía de Sepetiba (0,36) refletindo a predominância das concentrações de PCB, mostrando o

caráter industrial de sua bacia de drenagem, além da forte presença da população humana. Os valores observados no presente estudo foram semelhantes aos reportados por Lailson-Brito et al. (2010) para a Baía de Guanabara, mostrando que as baías costeiras do Estado do Rio de Janeiro recebem maior descarga de compostos organoclorados de origem industrial. Entretanto, todos os outros estudos realizados com o boto-cinza, seja no Paraná, em São Paulo ou no Suriname, reportaram tal razão superior a 1, mostrando que as fontes de origem agrícolas possuem maior importância (Yogui et al., 2003; Kajiwara et al., 2004; Koeman et al., 1972). O Estado do Rio de Janeiro, em especial as baías de Sepetiba e Guanabara, apresentam forte presença de aglomerados humanos e indústria em suas bacias de drenagem e áreas marginais (IFIAS, 1998; SEMADS, 2001). Comparando com outras espécies de hábitos costeiros percebemos que o perfil é bem variável. Por exemplo, Borrell; Aguilar (2007) observaram para o *Tursiops truncatus* do Mar Sul da China, relação alta de  $\Sigma$ DDT/ $\Sigma$ PCB (6,3), mostrando que as fontes agrícolas (ou de controle de vetores de doenças) possuem forte importância na região. Enquanto que para a mesma espécie, no Golfo do México, Salata et al. (1995), observaram uma relação semelhante (0,42) as observadas nas baías costeiras do Estado do Rio de Janeiro, mostrando que para a região estudada, as fontes de origem industriais são as de maior importância quando a contaminação de compostos organoclorados é considerada.

Tratando exclusivamente do  $\Sigma$ DDT, o *p,p'*-DDE foi o composto que apresentou a maior contribuição para o somatório. O *p,p'*-DDE é um produto de degradação do *p,p'*-DDT, composto esse predominante nas formulações comerciais. Sendo assim, a razão *p,p'*-DDE/ $\Sigma$ DDT vem sendo utilizada para determinar a cronologia de entrada de tal biocida no ambiente. Tais resultados mostram que o DDT, provavelmente foi utilizado mais recentemente na bacia de drenagem da Baía de Sepetiba (0,59) do que na bacia de drenagem da Baía de Ilha Grande (0,79). A razão observada na Baía de Sepetiba foi semelhante à observada para a Baía de Paranaguá (Lailson-Brito et al., 2010). O mencionado fato pode ser explicado pela utilização mais recente do DDT no controle de vetores de doenças, além da presença de diversos cultivos na bacia de drenagem da Baía de Sepetiba, em especial no passado; enquanto na Baía de Ilha Grande a principal atividade

econômica sempre esteve relacionada a atividades turísticas, pesca e mais recentemente, atividades termoelétricas e petroleiras (MMA /SBF, 2007).

Em relação ao  $\Sigma$ PCB, os congêneres e isômeros que apresentaram as maiores contribuições foram PCB 153, PCB 138 e PCB 180. Tais compostos vêm sendo reportados como os mais abundantes em mamíferos marinhos de diversas localidades do mundo (WESTGATE et al., 1997; PARSONS et al., 1999; BECKER 2000; ANDERSEN et al., 2001; WEISBROD et al., 2001; BORREL et al., 2004). A maior contribuição dos mencionados congêneres está relacionada à predominância nas misturas comerciais, além da elevada resistência a degradação, consequentemente, a maior persistência no ambiente (AGUILAR, 1987; BORREL et al., 2006).

Os congêneres e isômeros de PCB com menor cloração (2 e 3 cloros) tiveram maior importância para a Baía de Sepetiba do que para a Baía de Ilha Grande. O mesmo padrão foi observado para a Baía de Guanabara, sendo que para esta, os compostos de menor cloração tem importância ainda maior que para as baías do presente estudo (LAILSON-BRITO et al., 2010). Os autores atribuem tal fato a diferenciação na remoção dos compostos organoclorados na coluna d'água, associados a características físico-químicas do corpo d'água. Estudos têm mostrado que os compostos mais hidrofóbicos possuem maior afinidade com o material particulado em suspensão, reduzindo assim o tempo de residência de tais compostos na coluna d'água, e consequentemente sua biodisponibilidade, fazendo com que a contribuição dos compostos menos hidrofóbicos se eleve (TASUKAWA; TANABE, 1984; BOER; WESTER, 1991). Quando comparada a Baía de Ilha Grande, a Baía de Sepetiba possui grande descarga de esgoto doméstico não tratado, além da descarga de importantes rios, tendo, portanto, elevadas taxas de material particulado em seu corpo d'água (SEMADS, 2001).

As concentrações de  $\Sigma$ HCH observadas em ambas as baías foram superiores as observadas por Kajiwara et al.(2004) para o boto-cinza do Norte do Paraná e Sul de São Paulo e por Yogui et al.(2003) para a mesma espécie no estuário de Cananéia. Indicando que o uso do inseticida HCH provavelmente teve uma maior expressão para as baías de Sepetiba e Ilha Grande do que para as demais localidades. Entretanto, tais concentrações não foram superiores as reportadas para

espécies costeiras de regiões temperadas, como o golfinho-nariz-de-garrafa na Espanha (BORRELL et al., 2006). O que pode ser explicado pela alta pressão de vapor do HCH, fazendo com que o composto seja mais volátil, reduzindo a sua expressão próximo a área fonte. Yogui et al. (2003) observaram a predominância do  $\beta$ -HCH em relação aos demais compostos, contrário ao que foi observado pelo presente estudo em que o  $\gamma$ -HCH foi o composto predominante. A predominância de tal composto pode estar relacionada a sua maior abundância nas misturas comerciais.

As maiores concentrações medianas de Mirex foram observadas para a Baía de Sepetiba. As concentrações médias das baías do presente estudo foram superiores as reportadas Yogui et al. (2003) para o boto-cinza do estuário de Cananéia. O Mirex foi um composto amplamente utilizado no combate a formigas, sendo assim é possível que na Baía de Sepetiba o uso de tal produto tenha sido mais intenso que na Baía de Ilha Grande e no estuário de Cananéia. Acredita-se que a persistência ambiental de tal composto seja devido ao elevado número de átomos de cloro presentes em sua molécula.

O composto que apresentou as menores concentrações dentro deste estudo, para ambas as baías, foi o HCB. Os valores reportados no presente estudo foram inferiores aos reportados por Yogui et al. (2003), Kajiwara et al.(2004) e Lailson-Brito et al. (2010) para *Sotalia guianensis*. O que pode ser reflexo não só da alta volatilidade já demonstrada para o composto, mas também indicando que para a Baía de Sepetiba e Baía de Ilha Grande sua utilização pode ter tido pouca expressão.

Diferenças na composição e concentração dos compostos organoclorados entre machos e fêmeas de mamíferos marinhos vêm sendo reportadas, e são relacionadas às transferências mãe-feto e mãe-filhote pela via placenta e via amamentação, respectivamente, tendo a última uma maior importância (AGUILAR, 1987; WESTGATE et al., 1997; WELLS et al., 2005; YLITALO et al., 2009). Para a Baía de Ilha Grande não foi observada diferença significativa para nenhum dos compostos analisados, o que pode ser consequência do reduzido número de fêmeas analisadas ( $n=3$ ) ou ao fato de serem fêmeas que ainda não haviam alcançado a maturidade sexual. Já para a Baía de Sepetiba, onde os sexos estão igualmente

representados, 4 compostos foram significativamente diferentes (*p,p'*-DDE, PCB 153, PCB 138 e PCB 180) além dos somatórios de DDT e PCB. Segundo Aguilar (1987), o metabolismo e as taxas de excreção dos organoclorados serão maiores naqueles compostos que possuírem as maiores concentrações, o que se aplica ao *p,p'*-DDE, PCB 153, PCB 138 e PCB 180 no presente estudo, e como possuem as maiores contribuições dentre os grupos aos quais pertencem, o  $\sum$ DDT e o  $\sum$ PCB também apresentaram diferenças entre machos e fêmeas. Yogui et al. (2003) não verificaram diferenças significativas entre os sexos, mas os autores acreditam que seja consequência do reduzido número amostral de fêmeas. Já Kajiwara et al. (2004), verificaram que as fêmeas apresentaram as menores concentrações de organoclorados.

### **6.3.2 Diferenciação geográfica**

As análises estatísticas apontaram que o *p,p'*-DDD e PCB 118 apresentam concentrações distintas para os machos das baías de Sepetiba e Ilha Grande. Tal resultado corrobora com o que já vem sendo observado através de estudos que utilizaram isótopos estáveis e parâmetros acústicos dos assobios, que concluíram que as populações de boto-cinza das referidas baías, são agregações ecologicamente distintas (BISI, em fase de elaboração; ANDRADE, 2010). As maiores concentrações medianas do *p,p'*-DDD observadas para a Baía de Ilha Grande aponta para uma degradação preferencial do DDT através de processos abióticos ou em ambientes anaeróbicos (STRNDBERG et al., 1998). Entretanto as informações sobre a caracterização dos ambientes das duas baías são escassas.

Além de fatores ecológicos, essa separação pode também ser consequência de características hidrográficas e comportamentos hidrodinâmicos, que apesar da proximidade das baías, são bastante distintos (FRAGOSO, 1999). A Baía de Sepetiba é fortemente influenciada pela descarga de rios, e devido a Restinga da Marambaia, as trocas de água com o oceano são restritas. Enquanto a Baía de Ilha Grande recebe maior influência de águas oceânicas, frias e com salinidade mais elevada, devido a sua maior profundidade e abertura mais franca para o oceano (SIGNORINI, 1980 a,b). Um fato marcante na circulação entre as baías é a presença de um giro ciclônico ao redor da Ilha Grande, com o fluxo unidirecional no sentido oeste-leste no canal formado entre o continente e a ilha. Mesmo durante a mudança

nos níveis de marés, esse fluxo não é invertido (IKEDA; STEVENSON, 1982). Acredita-se que as águas mais salinas da plataforma entrariam pela porção oeste da Baía de Ilha Grande circulariam ao redor da ilha, provavelmente misturando-se com as águas menos salgadas da Baía de Sepetiba, saindo para o oceano pelo lado leste da baía (SIGNORINI, 1980 a,b). Tal padrão de circulação mostra que apesar das baías de Sepetiba e Ilha Grande serem adjacentes, suas águas, e por suposto os compostos organoclorados, não sofrem grandes processos de mistura, o que não permitiria a homogeneização da poluição, tendo, portanto reflexo direto sobre a biota local.

Os compostos organoclorados vêm sendo utilizados como uma ferramenta auxiliar para diferenciações de populações de mamíferos marinhos. Sendo assim, o presente estudo utilizando uma análise multivariada observou que os machos encalhados na Baía de Sepetiba-RJ, Baía de Guanabara-RJ e Baía de Paranaguá-PR apresentaram padrões distintos na acumulação dos compostos organoclorados. Lailson-Brito et al. (2010) havia tratado as agregações de boto-cinza das baías de Sepetiba e Ilha Grande, como uma única população, devido ao reduzido número amostral. A diferença observada entre as agregações de boto-cinza parece ter uma maior influência dos PCBs de baixa cloração, podendo ser reflexo das distintas fontes, das taxas de entradas de tais compostos no ambiente marinho, de características físico-químicas dos sistemas e das diferentes dietas.

Alguns estudos vêm utilizando os compostos organoclorados como ferramenta auxiliar para a diferenciação de agregações de cetáceos. Borrell et al. (2006) verificaram que os golfinhos-nariz-de-garrafa do Atlântico, nas áreas próximas a Portugal e Espanha, são grupos distintos dos animais do Mar Mediterrâneo. Os autores ainda verificaram que os animais de Catalunha e Valênci, parecem ser uma única população, já que o padrão foi idêntico. Hobbs et al. (2001) observaram dois distintos estoque de baleia-fin no Atlântico canadense. Bruhn et al.(1999) verificaram que as populações de *Phocoena phocoena* do Mar Norte e Mar Báltico são distintas. Hansen et al. (2004) verificaram distintas agregação para *Tursiops truncatus* da costa dos Estados Unidos.

## 7 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo mostram que as populações de boto-cinza das baías de Sepetiba e Ilha Grande estão expostas a elevados níveis de organoclorados, em especial PCBs e DDTs.

Pode-se utilizar toda a massa da biópsia independente da proporção em que os diferentes estratos estejam representados, visto que não foram observadas diferenças estatísticas entre os estratos do tecido adiposo subcutâneo do boto-cinza.

A comparação da contaminação por compostos organoclorados entre animais encalhados e biopsiados deve ser realizada com cuidado, pois foram observadas diferenças nos compostos organoclorados detectados entre os diferentes tipos de amostra. Portanto, pode ser recomendado que a comparação entre as concentrações de compostos organoclorados obtidas através de biópsias remotas e de animais encalhados, só seja realizada para compostos que não ficaram próximos aos limites de detecção.

As concentrações de compostos organoclorados nas biópsias remotas apresentaram diferenciação entre a Baía de Sepetiba e a Baía de Ilha Grande, mostrando que podem se tratar de duas agregações distintas, ou que exista baixo fluxo de indivíduos entre elas.

As agregações de boto-cinza da Baía de Guanabara, Baía de Sepetiba, no Estado do Rio de Janeiro, assim como da Baía de Paranaguá, no Estado do Paraná, apresentam padrões distintos de acumulação de compostos organoclorados. Portanto, tais agregações devem ser tratadas distintamente no manejo com vistas à conservação da espécie.

A biópsia remota é uma importante ferramenta para o monitoramento das concentrações de compostos organoclorados e pode ser utilizada para o monitoramento ambiental ao longo da costa brasileira, na área de distribuição da espécie.

## 8 RECOMENDAÇÕES DA DISSERTAÇÃO

- Considerando os problemas analíticos observados para a determinação dos compostos organoclorados em baixas concentrações, recomenda-se que haja adequação, como a maior concentração do extrato final ou o aumento da massa de biópsias remotas.
- Recomenda-se que sejam testadas ferramentas para a determinação de idade de indivíduos biopsiados através do uso de ácidos graxos, permitindo uma melhor comparação entre amostras de animais encalhados e biopsiados.
- Recomenda-se que seja realizado um esforço de biopsias remotas ao longo da costa brasileira, na área de distribuição do boto-cinza, com vistas a traçar um perfil da contaminação da zona costeira por compostos organoclorados, e outros contaminantes lipofílicos (p.ex. organobromados), entre Santa Catarina e o Amapá.

## REFERÊNCIAS

- AGUILAR A. Using organochlorine pollutants to discriminate marine mammal populations: a review and critique of the methods. *Marine Mammal Science*, Lawrence, v. 3, p. 242-62., 1987.
- AGUILAR, A.; NADAL, J. 1984. Obtención de biopsias hipodérmicas de cetáceos en libertad. *Investigación Pesquera* **48**(1):23-29.
- AGUILAR, A.; BORREL, A. 1990. Patterns of lipid content and stratification in the blubber of fin whales (*Balaenoptera physalus*). *Journal of Mammalogy* **71**:544-554.
- AGUILAR, A.; BORREL, A. 1991. Heterogeneous Distribution of Organochlorine Contaminants in the Blubber of Baleen Whales: Implications for Sampling Procedures. *Marine Environmental Research* **31**: 275-286.
- AGUILAR, A.; BORRELL, A. 1994. Abnormally high polychlorinated biphenyl levels in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) affected by the 1990–1992 Mediterranean epizootic. *Science of Total Environmental* **154**: 237–247.
- AGUILAR, A.; BORREL, A.; PASTOR, T. 1999. Biological factors affecting variability of persistent pollutant levels in cetaceans. In: REIJNDERS, P.J.H.; AGUILAR, A.; DONOVAN, G.P. (Ed). **Chemical Pollutants and Cetaceans**. Journal Cetacean Research Management (Special Issue 1), p. 83-116.
- AMOS, B & HOELZEL, A. R. 1990. DNA fingerprinting cetacean biopsy samples for individual identification. In: Individual Recognition of Cetaceans: Use of Photo-identification and other techniques to Estimate Population Parameters - Report of the International Whaling Commission, Special Issue **12**, P.S. Hammond, S.A. Mizroch e G.P. Donovan (eds.). Cambridge.
- ANDERSEN, G.; KOVACS, K.; LYDERSEN, C; SKAARE, J.; GJERTZ, I.; JENSSSEN, B. 2001. Concentrations and patterns of organochlorine contaminants in white whales (*Delphinapterus leucas*) from Svalbard, Norway. *Science of Total Environmental* **264** (3): 267-281.
- ARAÚJO, A. C.; LIMA, I. M. S.; MELO, C. L. C.; AZEVEDO, A. F.; BARBOSA, L. A.; BIANCHI, I.; BASSOI, M.; LAILSON-BRITO, J. Jr.; DORNELES, P. R. 2008. Peixes as dieta de *Sotalia guianensis*, Van Benédén, 1864 (Cetacea: Delphinidae) no litoral do Estado do Espírito Santo. *III Congresso Brasileiro de Oceanografia*.
- ARAÚJO, A.C.; MELO, C.L.C.; LIMA, I.M.S.; FLACH, L.; BISI, T.; SANTOS, R.; BASSOI, M.; LAILSON-BRITO, J.JR; DORNELES, P.R.; AZEVEDO, A.F. 2009. Dieta do boto-cinza (*Sotalia guianensis* Van Benédén, 1864) (Cetacea:

- delphinidae) na região da Baía de Sepetiba (RJ): Resultados preliminares. *Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil*.
- ATSDR (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY). 2002a. Toxicological profile for DDT, DDE and DDD. Atlanta, GA: U.S. *Department of Health and Human Services, Public Health Service*.
- ATSDR (AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY). 2002b. Toxicological profile for Hexachlorobenzene. Atlanta, GA: U.S. *Department of Health and Human Services, Public Health Service*.
- AZEVEDO, A. F., LAILSON-BRITO, J. JR., CUNHA, H. A.; VAN SLUYS. 2004. A note on site fidelity of marine tucuxis (*Sotalia fluviatilis*) in Guanabara Bay, southeastern Brazil. *Journal of Cetacean Research and Management* **6**(3): 265–268.
- AZEVEDO, A.F.; OLIVEIRA, A.M.; VIANA, S.C.; VAN SLUYS, M. 2007. Habitat use by marine tucuxis (*Sotalia guianensis*) (Cetacea: Delphinidae) in Guanabara Bay, south-eastern Brazil. *Journal Marine Biological Association of the United Kingdom* **87**: 201–205.
- AZEVEDO E SILVA, C.E.; TORRES, J.PM. & MALM,O. 2007. Toxicologia das bifenilas policloradas. *Oecologia Brasiliensis* **11** (2): 179-187.
- BALLSCHMITER, K. & ZELL, M. 1980. Analysis of Polychlorinated Biphenyls (PCB) by Glass Capillary Gas Chromatography, *Fresenius Journal Analytical Chemistry* **302**: 20 – 31.
- BECKER, P. 2000. Concentration of chlorinated hydrocarbons and heavy metals in Alaska Arctic marine mammals *Marine Pollution Bulletin* **40**(10): 819-829.
- BERNAL, J. L.; DEL NOZAL, M. J.; JIMÉNEZ, J.J. 1992. Some observations on clean-up procedures using sulphuric acid and florisil. *Journal of Chromatography* **607**: 303-309.
- BÉRUBÉ, M.; PALSBOLL, P.J. 1996. Identification of sex in cetaceans by multiplexing three ZFX and ZFY specific primers. *Molecular Ecology* **5**:283-287.
- BOER, J.; WESTER, P. 1991. Chlorobiphenyls and Organochlorine Pesticides in Various Sub- Antarctic Organisms. *Marine Pollution Bulletin* **22**(9): 441-447.
- BORREL, A.; AGUILAR, A. 2007. Organochlorine Concentrations declined during 1987–2002 in western Mediterranean bottlenose dolphins, a coastal top predator. *Chemosphere* **66**: 347–352.
- BORREL, A.; AGUILAR, A.; CANTOS, G.; LOCKYER, C.; HEIDE-JORGENSEN, M; JENSEN, J. 2004. Organochlorine residues in harbour porpoises from southwest Greenland. *Environmental Pollution* **128**(3): 381-391.

- BORREL, A.; AGUILAR, A.; TORNERO, V.; SEQUEIRA, M.; FERNANDEZ, G.; ALIS, S. 2006. Organochlorine compounds and stable isotopes indicate bottlenose dolphin subpopulation structure around the Iberian Peninsula. *Environment International* **32** (4): 516-523.
- BOSSART, G. D. 2006. Marine Mammals as Sentinel Species for Oceans and Human Health. *Oceanography*, **19** (2): 134-137.
- BRHUN, R.; KANNAN, N.; PETRICK, G.; SCHULZ-BULL, D.E.; DUINKER, J.C. 1999. Persistent chlorinated organic contaminants in harbor porpoises from the North Sea, the Baltic Sea and Arctic waters. *Science of the Total Environmental* **237**:351–361.
- CARSON, R. 1962. **Silent Spring**. Houghton Mifflin Company, New York.
- CHIEN, L.C; HUNG, T.C; CHOANG, K.Y; YEH, C.Y; MENG, P.J; SHIEH, M.J. & HAN, B.C. 2002. Daily intake of TBT, Cu, Zn, Cd and As for fishermen in Taiwan. *Science of the Total Environmental* **285**: 177-185.
- CLARK, R.B. 2001. **Marine Pollution**. 5th Edition. *Oxford University Press*. 172p.
- CUNHA, H. A.; DA SILVA, V. M. F.; LAILSON-BRITO, J. Jr.; SANTOS, M.C.O.; FLORES, P.A.C.; MARTIN, A.R.; AZEVEDO, A.F.; FRAGOSO, A.B.L.; ZANELATTO, R.C. & SOLE-CAVA, A.M. 2005. Riverine and marine ecotype of *Sotalia* dolphin are different species. *Marine Biology*, **148** (2): 449-457.
- CUNHA AH, SOLE-CAVA AM. 2007. Molecular sexing of *Sotalia fluviatilis* (Cetacea: Delphinidae), using samples from biopsy darting and decomposed carcasses. *Genetics and Molecular Biology* **30**: 1186-1188.
- DA SILVA, V.M.F.; BEST, R.C. Tucuxi, *Sotalia fluviatilis* (Gervais, 1853). **Handbook of marine mammals**. Londres : Academic Press, 1994.
- DA SILVA, V.M.F.; BEST, R. 1996. *Sotalia fluviatilis*. *Mammals Species* **527**: 1-7.
- DE SOUZA LIMA, R.G.; ARAÚJO, F.G.; MAIA, M,F, & PINTO, A.S.S.B. 2002. Evaluation of Heavy Metals in Fish of the Sepetiba and Ilha Grande Bays, Rio de Janeiro, Brazil. *Environmental Research Section A* **89**: 171-179.
- DIAS, L.A.; HERZING, D.; FLACH, L. 2009. Aggregations of Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*) in Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, south-eastern Brazil: distribution patterns and ecological characteristics. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **89**(5): 967–973.
- DI BENEDITTO, A.P.M.; SICILIANO, S. 2007. Stomach contents of the marine tucuxi dolphin (*Sotalia guianensis*) from Rio de Janeiro, South-eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **87**, 253–254.

- DORNELES, P.R.; LAILSON-BRITO,J.; SANTOS, R.A.; COSTA, P.A.; MALM, O.; AZEVEDO, A.F.; TORRES, J.P.M. 2007. Cephalopods and cetaceans as indicators of offshore bioavailability of cadmium off Central South Brazil Bight. *Environmental Pollution* **148**: 352-359.
- DORNELES, P.R.; LAILSON-BRITO,J.; FERNANDEZ, M.A.S.; VIDAL, L.G.; BARBOSA, L.A.; AZEVEDO, A.F.; FRAGOSO,A.B.L.; TORRES,J.P.M.; MALM, O. 2008a. Evaluation of cetacean exposure to organotin compounds in Brazilian waters through hepatic total tin concentrations. *Environmental Pollution* **156**: 1268–1276.
- DORNELES, P.R.; LAILSON-BRITO,J.; AZEVEDO, A.F.; MEYER, J.; VIDAL, L.G.; FRAGOSO,A.B.L.; TORRES, J.P.M.; MALM, O.; BLUST, R.; DAS,K. 2008b. High Accumulation of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) in Marine Tucuxi Dolphins (*Sotalia guianensis*) from the Brazilian Coast. *Environmental Science Technology* **42**: 5368–5373.
- DORNELES, P.R.; LAILSON-BRITO,J.; DIRTU, A.C.; WEIJS, L.; AZEVEDO, A.F.; TORRES, J.P.M.; MALM, O.; NEELS, H. BLUST, R.; DAS, K.; COVACI, A. 2010. Anthropogenic and naturally-produced organobrominated compounds in marine mammals from Brazil. *Environment International* **36**: 60–67
- Environmental Protection Agency (EPA).Guidance for assessing chemical contaminant data for use in fish advisories: fish sampling and analysis second edition. EPA publication N°. EPA 823-R-95-007, September 1995 Vol. 1. *Environmental Protection Agency* (EPA).
- Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO). 1992. **Evaluation of some pesticide residues in food.**
- FLACH, L.; FLACH, P.; CHIARELLO, A. 2008. Aspects of behavioral ecology of *Sotalia guianensis* in Sepetiba Bay, southeast Brazil. *Marine Mammals Science* **24**(3): 503-515.
- FLORES, P.A.C. 2002. Tucuxi *Sotalia fluviatilis*, p. 1267-1269. In: W.F. PERRIN; B. WÜRSIG & J.G.M. THEWISSEN (Eds). **Encyclopedia of marine mammals**. Cambridge, Academic Press, 1414p.
- FLORES, P.A.C.; BAZZALO, M. 2004. Home ranges and movement patterns of the marine tucuxi dolphin, *Sotalia fluviatilis*, in Baía Norte, southern Brazil. *The Latin American Journal of Aquatic Mammals* **3**(1): 37-52.
- FLORES,P.A.C. & DA SILVA. 2009. Tucuxi and Guiana Dolphin *Sotalia fluviatilis* and *S. guianensis*. In: **Encyclopedia of marine mammals**, 2nd Ed. (Perrin WF, Würsig B, Thewissen JGM, eds.) Academic Press, Amsterdam, pp. 1188-1192.

- FRAGOSO, M.R. 1999. **Estudo Numérico da Circulação Marinha da Região das Baías de Sepetiba e Ilha Grande (RJ).** Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, 136 P.
- FRERET-MEURER, N.V.; ANDREATA, J.V.; MEURER, B.C.; MANZANO, F.V.; BAPTISTA, M.G.S.; TEIXEIRA, D.E.; LONGO, M.M. 2010. Spatial distribution of metals in sediments of the Ribeira Bay, Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Pollution Bulletin* **60**: 627–629.
- GAUTHIER, J.M.; METCALFE, C.D.; SEAR, R. 1997. Validation of the Blubber Biopsy Technique for Monitoring of Organochlorine Contaminants in Balaenopterid Whales. *Marine Environmental Research* **43**(3):157-179.
- GERACI, J.R.; LOUNSBURY, V.J. Marine Mammals Ashore. 1993. **A field Guide for Strandings.** Baltimore, National Aquarium in Baltimore.
- GOMES, F.C.; GODOY, J.M.; GODOY, M.L.D.P.; CARVALHO, Z.L.; LOPES, R.L.; SANCHEZ-CABEZA, J.A.; LACERDA, L.D. & WASSERMAN, J.C. 2009. Metal concentrations, fluxes, inventories and chronologies in sediments from Sepetiba and Ribeira Bays: A comparative study. *Marine Pollution Bulletin* **59**: 123–133.
- GUIMARÃES. 2010. Assobios do boto-cinza, *Sotalia guianensis* (Cetacea, Delphinidae): uma comparação entre três áreas de concentração no Estado do Rio de Janeiro.
- HANSEN, L.J.; SCHWACKE, L.H.; MITCHUM, G.B.; HOHN, A.A., RANDALL, S.W.; ZOLMAN, E.S. & FAIR, P.A. 2004. Geographic variation in Polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide concentrations in the blubber of bottlenose dolphins from the US Atlantic coast. *Science of the Total Environment* **319**: 147–172.
- HARRISON, R. & BRYDEN, M.M. 1988. **Whales, Dolphins and Porpoises.** Intercontinental Publishing Corporation Limited. Hon Kong.
- HOBBS, K.E.; MUIR, D.C.G.; MITCHELL, E. 2001. Temporal and biogeographic comparisons of PCBs and persistent organochlorine pollutants in the blubber of fin whales from eastern Canada in 1971-1991. *Environmental Pollution* **114**: 243-254.
- HOBBS, K.E.; MUIR, D.C.G.; MICHAUD, R.; BÉLAND, P.; LETCHER, R.J. & NORTROM, R.J. 2003. PCBs and organochlorine pesticides in blubber biopsies from free-ranging St. Lawrence River Estuary beluga whales (*Delphinapterus leucas*), 1994–1998. *Environmental Pollution*, **122**: 291–302.
- HOIVIK, D. J.; SAFE, S. H. 1998. **Polychlorinated Biphenyls.** Environ. and Occup. Medic., Third Edition. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia.

- IBAMA. 2001. Mamíferos Aquáticos do Brasil - Plano de ação - Versão II. M.M.A. Brasília, 61p.
- IFIAS. 1988. Sepetiba Bay Management Study: Workplan. Rio de Janeiro: International Federation of Institutes for Advanced Study. (Technical report). 72p.
- IKEDA, Y. & STEVENSON, M.R. 1982. Seasonal Characteristics of Hydrography, Turbulence and Dispersion Near Ilha Grande (RJ), Brazil, Based on R/V "Prof. W. Besnard" Data. Boletim Instituto Oceanográfico, **31**(1): 11-32.
- IWC, International Whaling Commission. 1991. Genetic Ecology of Whales and Dolphins A. R. Hoelzel e G. P. Donovan (eds). Report of the International Whaling Commission, Special Issue 13. Cambridge.
- JAPENGA, J.; WAGENAAR, W.J.; SALOMONS,W.; LACERDA,L.D.; PATCHINEELAM,S.R. AND FIHO,C.M. 1988. Organic micropollutants in the Rio de Janeiro coastal region, Brazil. *Science of the Total Environmental* **75**:249-259.
- KAJIWARA, N.; MATSUOKA, S.; IWATA, H.; TANABE, S.; ROSAS, F.C.W.; FILLMANN, G.; READMAN, J.W. 2004. Contamination by Persistent Organochlorines in Cetaceans Incidentally Caught Along Brazilian Coastal Waters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **46**(1): 124-134.
- KENNISH, MJ. 1997. **Pratical Handbook of Estuarine and Marine Pollution**. Boca Raton, Florida. CRC Press Inc. 524 p.
- KEHRIG, T.G.; SEIXAS, E.A.; PALERMO, E.A.; DI BENEDITTO, A.P.M.; SOUZA, C.M.M.; MALM, O. 2008. Different Species of Mercury in the Livers of Tropical Dolphins. *Analytical Letters* **41**: 1691–1699.
- KOEMAN, J.H.; PETERS, W.H.M.; SMIT, C.J.; TIJOE, P.S.& DE GOEIJ, J.J.M. 1972. Persistent chemicals in marine mammals. *TNO Nieuws* **27**: 570-578.
- KORN, M.G.; SANTOS, G.L.; ROSA, S.M.; TEIXEIRA, L.S.G.; OLIVEIRA, P.V. 2010. Determination of cadmium and lead in cetacean Dolphinidae tissue from the coast of Bahia state in Brazil by GFAAS. *Microchemical Journal* **96**: 12–16
- KRAHN, M.M.; HERMAN, D.P.; YLITALO, G.M.; SLOAN, C.A.; BURROWS, D.G.; HOBBS, R.C.; MAHONEY, B.A.; YANAGIDA, G.K.; CALAMBOKIDIS, J.; MOORE, S.E. 2004. Stratification of lipids, fatty acids and organochlorine contaminants in blubber of white whales and killer whales. *Journal of Cetacean Research and Management* **6**(2):175–189.

- KRÜTZEN, M; BARRÉ, L. M.; MÖLLER, L. M.; HEITHAUS, M. R., SIMMS, C. & SHERWIN, W. B. 2002. A biopsy system fro small cetaceans: darting success and wound helaing in *Tursiops* spp. *Marine Mammals Science* **18**: 863-878.
- KUNITO, T.; NAKAMURA, S.; IKEMOTO, T.; ANAN, Y.; KUBOTA, R.; TANABE,S.; ROSAS, F.C.W.; FILLMANN,G.; READMAN,J.W. 2004. Concentration and subcellular distribution of trace elements in liver of small cetaceans incidentally caught along the Brazilian coast. *Marine Pollution Bulletin* **49**: 574-587.
- LACERDA, L.D.; MALM, O. 2008. Contaminação por mercúrio em ecossistemas aquáticos: uma análise das áreas críticas. *Estudos Avançados* **22** (63): 173-190.
- LACERDA, L.D.; MARINSA, R.V.; PARAQUETTA, H.H.M.; MOUNIERB, S.; BENAIMB, J.; FEVRIER, D.; 2001. Mercury Distribution and Reactivity in Waters of a Subtropical Coastal Lagoon, Sepetiba Bay, SE Brazil. *Journal of Brazilian Chemical Society* **12**: 93-98.
- LACERDA, L.D.; REZENDE, C.E.; SILVA, C.A.R.; 1987. Metalic composition of sediments from mangroves of the SE Brazilian coast. *International Conference Heavy Metals in the Environment*, New Orleans, 464-466.
- LAILSON-BRITO, J; DORNELES, P.R.; AZEVEDO-SILVA, C.E.; AZEVEDO, A.F.; VIDAL, L.G.; LOZINSKI, C.P.C.; AZEREDO, A.; FRAGOSO, A.B.L.; CUNHA, H.A.; TORRES, J.P.M.; MALM, O. 2010. High organochlorine accumulation in blubber of Guiana dolphin, *Sotalia guianensis*, from Brazilian coast and its use to establish geographical differences among populations. *Environmental Pollution* **158** :1800–1808.
- LAMPARELLI, M.C.; COSTA, M.P.; PRÓSPERI, V.A.; BEVILACQUA, J.E.; ARAÚJO, R.P.A.; EYSINK, G.G.J. & POMPÉIA, S. 2001. Sistema Estuarino de Santos e São Vicente. *Relatório Técnico CETESB*, São Paulo, 183p.
- LODI, L. 2003. Tamanho e composição de grupo dos botos-cinza, *Sotalia guianensis* (van Bénédén, 1864) (Cetacea, Delphinidae), na Baía de Paraty, Rio de Janeiro, Brasil. *Atlântica, Rio Grande* **25**(2): 135-146.
- MARINS, R.V.; LACERDA, L.D.; PARAQUETTI, H.H.M.; PAIVA, E.C.; VILLAS-BOAS, R.C.; 1998. Geochemistry of Mercury in Sediments of a Sub-Tropical Coastal Lagoon, Sepetiba Bay, Southeastern Brazil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **61**: 57-64.
- MARSILI, L. & FOCARDI, S. 1996. Organochlorine levels in subcutaneous blubber biopsies of fin whales (*Balaenoptera physalus*) and striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Mediterranean Sea. *Environmental Pollution* **91** (1):1-9.

- MELO, C.L.C.; SANTOS,R.; BASSOI, M.; ARAÚJO, A.C.; LIMA, I.; LAILSON-BRITO, J.; DORNELES,P.R.; AZEVEDO, A.F. 2009. Hábito alimentar do boto-cinza (*Sotalia guianensis*, Van Beneden 1864)(Cetacea:Delphinidae) na Baía da Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro. *II Congresso Brasileiro de Biologia Marinha*.
- METCALFE, D.E.; ZUKOVSKY, G.; MACKAY, D.; PATTERSON, S. 1986. Polychlorinated Biphenyls (PCBs), physical and chemical property data. Hazards, decontamination and replacement of PCB: a comprehensive guide. *Environmental Science Research* **37**: 3-34.
- Ministério do Meio Ambiente (MMA). 2007. Biodiversidade marinha da Baía de Ilha Grande. 40p.
- MONTEIRO-FILHO, E. L. A.; MONTEIRO, L. R. & REIS, S.F. 2002. Skull shape and size divergence in dolphins of the genus *Sotalia*: a tridimensional morphometrics analysis. *Journal of Mammalogy* **83**(1): 125-134.
- MONTEIRO-NETO, C.; VINHAS ITAVO, R.; DE SOUZA MORAES, L.E. 2003. Concentrations of heavy metals in *Sotalia fluviatilis* (Cetacea: Delphinidae) off the coast of Ceará, northeast Brazil. *Environmental Pollution* **123**: 319-324.
- O'SHEA, T.J. 1999. Environmental contaminants and marine mammals In: **Biology of marine mammals**. Ed. Reynolds III, J.E. & Rommel, S.A. Smithsonian Institution Press, Whashington, pp: 485-563.
- PALSBOLL, P.J.; VADER, A.; BAKKE, I. & RAAFAT EL-GEWELY, M. 1992. Determination of gender in cetaceans by the polymerase chain reaction. *Canadian Journal of Zoology*. **70**: 2166-2170.
- PARSONS, E.; CHAN, H.; KINOSHITA, R. 1999. Trace Metal and Organochlorine Concentrations in a Pygmy Bryde's Whale (*Balaenoptera edeni*) from the South China Sea. *Marine Pollution Bulletin* **38**(1): 51-55.
- PENTEADO, J.C.P; VAZ, J.M. 2001. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). *Química Nova* **24**(3): 390-398.
- SALATA, G. G.; WADE, T. L.; SERICANO, J. L.; DAVIS, J. W.; BROOKS, J. M. 1995. Analysis of Gulf of Mexico bottlenose dolphins for organochlorine pesticides and PCBs. *Environmental Pollution* **88**:167-175.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F. & MANIATIS, T.; 1989. **Molecular Cloning: a Laboratory Manual**. 2<sup>nd</sup> edition. Cold Spring Harbor Lab. Press, New York.
- SANTOS, M. C. de O. ; ACUÑA, L.; ROSSO, S. 2001. Insights on site fidelity and calving intervals of the marine tucuxi dolphin (*Sotalia fluviatilis*) in southeastern Brazil. *Journal Of the Marine Biological Association Of the United Kingdom* **81**: 1049-1052.

- SEIXAS, E.A.; KEHRIG, T.G.; PALERMO, E.A.; DI BENEDITTO, A.P.M.; SOUZA, C.M.M.; MALM, O. MOREIRA, I. 2009. Essential (Se, Cu) and non-essential (Ag, Hg, Cd) elements: What are their relationships in liver of *Sotalia guianensis* (Cetacea, Delphinidae)? *Marine Pollution Bulletin* **58**: 601–634.
- SEMADS, 2001. Bacias Hidrográficas e Recursos Hídricos da Macrorregião 2 - Bacia da Baía de Sepetiba. SEMADS (Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável), p. 79. Sustentável), S.S.d.E.d.M.A.e.D., 2001. Bacias Hidrográficas e Recursos Hídricos da Macrorregião 2 - Bacia da Baía de Sepetiba. p. 79.
- SERICANO, J. L. 1998. **Quantitative determination of chlorinated hydrocarbons by gas chromatography/electron capture detection.** Geochemical and Environmental Research Group, Standard Operating Procedures (SOP-9810), 21p.
- SIGNORINI, S.R., 1980a. A Study of The Circulation in Bay of Ilha Grande and Bay of Sepetiba Part I, A Survey of the Circulation Based on Experimental Field Data. *Boletim do Instituto Oceanográfico* **29**(1): 41-55.
- SIGNORINI, S.R., 1980b. A Study of the Circulation in Bay of Ilha Grande and Bay of Sepetiba Part II, An Assessment to the Tidally and Wind-Driven Circulation Using a Finite Element Numerical Model. *Boletim do Instituto Oceanográfico* **29**(1): 57-68.
- SMITH, A.G. & GANGOLLI, S.D. 2002. Organochlorine chemicals in seafood: occurrence and health concerns. *Food and Chemical Toxicology* **40** (6):767-779.
- TABOR, G.M. & AGUIRRE, A.A. 2004. Ecosystem Health and Sentinel Species: Adding an Ecological Element to the Proverbial “Canary in the Mineshaft”. *EcoHealth*, **1**:226-228.
- TATSUKAWA, R. & TANABE, S. 1984. Environmental monitoring: geochemical and biochemical behavior of PCBs in the open ocean environment. In *Proceedings of PCB Seminar* (M. C. Barros, H. 257 Marine Pollution Bulletin Koemann & R. Visser, eds), pp. 343-372. Ministry of Housing, Physical Planning and Environment, The Netherlands.
- TILBURY, K. L.; STEIN, J.E.; MEADOR, J.P.; KRONE, C.A. & CHAN,S.L. 1997. Chemichal contaminants in habor porpoise (*Phocoena phocoena*) from the North Atlantic coast: tissue concentrations and intra- and inter- organ distribution. *Chemosphere*, **34** (9110):2159-2181.
- TOXICOLOGICAL profile for DDT, DDE, and DDD. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR); Department of Health and Human Services, Public Health Services. Atlanta, GA: 2002a. 403 p.

TOXICOLOGICAL profile for Hexachlorobenzene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, GA: 2002b.

TOXICOLOGICAL profile for polychlorinated biphenyls (Update). Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR); Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, GA: 1998. 532 p.

YLITALO, G.M.; BAIRD, R.W.; GLADYS, K.Y.; WEBSTER, D.L.; CHIVERS, S.J.; BOLTON, J.L.; GREGORY, S.S.; MCSWEENEY, D.J. 2009. High levels of persistent organic pollutants measured in blubber of island-associated false killer whales (*Pseudorca crassidens*) around the main Hawaiian Islands. *Marine Pollution Bulletin* **58**: 1922–1952.

YOGUI, G.T.; SANTOS, M.C.O.; MONTONE, R. C. 2003. Chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls in marine tucuxi dolphins (*Sotalia fluviatilis*) from the Cananéia estuary, southeastern Brazil. *Science of the Total Environment* **312**: 67-78.

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

VORKAMP, K.; RIGET, F.; GLASIUS, M.; PÉCSELI, M.; LEBEUF, M.; MUIR, D. 2004. Chlorobenzenes, chlorinated pesticides, coplanar chlorobiphenyls and others organochlorine compounds in Greenland biota. *Science of the Total Environment* **331**: 157-175.

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

WALKER, C.H.; HOPKIN, S.P.; SIBLY, R.M. & PEAKALL, D.B. 1997. **Principles of Ecotoxicology.** London:Taylor & Francis, 321p.

WANIA, F. & MACKAY, D. 1996. Tracking the distribution of persistent organic pollutants. *Environmental Science & Technology* **30** (9): 3-9.

WEBER, R. R. 1992. Sistemas costeiros e oceânicos. *Química Nova* **15**(2): 137-143.

WEBER, R. R.; MONTONE, R. C. 1990. Distribution of organochlorines in the atmosphere of the South Atlantic and Antarctic oceans. In: KURTZ D. A. (Ed.). **Long range transport of pesticides.** Lewis Publishers, Chelsea, Michigan, USA, pp. 185-197.

WEISBROD, A.; SHEA, D.; LEBLANC, G.; MOORE, M.; STEGEMAN, J.2001. Organochlorine bioaccumulation and risk for whales in a Northwest Atlantic food web. *Marine Environmental Research* **50**(1): 440.

WELLS, R.S.; TORNERO, V.; BORREL, A.; AGUILAR, A.; ROWLES, T.K.; HOWARD, L.R.; HOFMANN, S.; JARMAN, W.M.; HOHN, A.A.; SWEENEY, J.C. 2005. Integrating life-history and reproductive success data to examine potential relationships with organochlorine compounds for bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Sarasota Bay, Florida. *Science of the Total Environment* **349**: 106– 119.

WESTGATE, A.; MUIR, D.; GASKIN, D.; KINGSLEY, M. 1997 Concentrations and accumulation patterns of organochlorine contaminants in the blubber of harbour porpoises, *Phocoena phocoena*, from the coast of Newfoundland, the Gulf of St. Lawrence and the bay of Fundy/Gulf of Maine *Environmental Pollution* **95**:(1): 105-119.

World Health Organization (WHO). **DDT and its Derivatives**. Environmental Health Criteria. Geneva, 1979, vol. 9. 194p.

World Health Organization (WHO). **DDT and its Derivatives - Environmental Aspects**. Environmental Health Criteria Geneva, 1989, vol. 83. 98p.

World Health Organization (WHO). **Polychlorinated Biphenyls And Terphenyls (Second Edition)**. Environmental Health Criteria. Geneva; 1992; vol. 140.

World Health Organization (WHO). **Polychlorinated Biphenyls: Human Health Aspects**. Concise International Chemical Assessment Document, Geneva, 2003, vol. 55.