



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro de Tecnologia e Ciências

Faculdade de Oceanografia

Juliana Aguiar Brião

**Botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba – RJ, Brasil: Variação temporal da bioacumulação de compostos organoclorados e sua possível influência no evento de mortalidade atípica associado ao morbilivírus**

Rio de Janeiro

2020

Juliana Aguiar Brião

**Botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba – RJ, Brasil: Variação temporal da bioacumulação de compostos organoclorados e sua possível influência no evento de mortalidade atípica associado ao morbilivírus**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Processos oceanográficos na interfase continente-oceano.

Orientador: Prof. Dr. José Lailson Brito Junior

Rio de Janeiro

2020

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC/C

B858 Brião, Juliana Aguiar.

Botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba – RJ, Brasil: Variação temporal da bioacumulação de compostos organoclorados e sua influência no evento de mortalidade atípica associado ao morbilivírus. / Juliana Aguiar Brião. – 2020. 108 f.: il.

Orientadora: José Lailson Brito Junior.

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

1. Oceanografia biológica – Aspectos ambientais – Teses. 2. Poluentes orgânicos aquáticos – Persistentes – Sepetiba, Baía de (RJ) – Teses. 3. Poluição marinha – Doenças emergentes – Sepetiba, Baía de (RJ) – Teses. 4. Efeitos da poluição da água – Boto (Mamífero aquático) – Sepetiba, Baía de (RJ) – Teses. 5. *Sotalia guianensis* – Teses. I. Brito Junior, José Lailson. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Oceanografia. III. Título.

CDU 551.46(815.3)

Bibliotecária responsável: Fernanda Lobo / CRB-7: 5265

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

---

Assinatura

---

Data

Juliana Aguiar Brião

**Botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba – RJ, Brasil: Variação temporal da bioacumulação de compostos organoclorados e sua possível influência no evento de mortalidade atípica associado ao morbilivírus**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Processos oceanográficos na interfase continente-oceano.

Aprovada em 26 de novembro de 2020.

**Banca Examinadora:**

---

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

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Tatiana Lemos Bisi  
Faculdade de Oceanografia – UERJ

---

Prof. Dr. Rodrigo Ornellas Meire  
Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

Rio de Janeiro

2020

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Dr. José Lailson Brito Junior por ter aberto as portas do MAQUA lá atrás quando tudo era areia e eu ainda nem imaginava trabalhar e fazer mestrado aqui. Agradeço às diversas oportunidades desde que vim para o laboratório, e agradeço imensamente por acreditar no meu trabalho desde o início. Zé, obrigada pelas dicas e ensinamentos durante esses quase três anos, certamente serão para além da academia, mas pra vida. Admiro o profissional que você é, que não mede esforços para a conservação dos mamíferos aquáticos.

Aos professores do MAQUA, José Lailson, Alexandre Azevedo, Tatiana Bisi e Haydée Cunha, obrigada por proporcionar a estrutura impar do laboratório e principalmente pelo desenvolvimento de uma pesquisa de alta qualidade para conservação dos mamíferos aquáticos. Sem a dedicação de vocês, nada disso seria possível. Parabéns a vocês por todo o esforço de manter o laboratório ativo, não é a toa que é referência no Brasil. Obrigada pelas valiosas conversas e contribuições ao longo desses anos.

Aos meus colegas do MAQUA por dividir momentos felizes e de desespero também! Desde arrumação da câmara fria, necropsias, bancada, almoços, jantas e finais de relatório no laboratório, até altas horas é claro! Agradeço a toda equipe do PMP: Rafael, Joana, Emi, Raissa, Gian, Guilherme, Leonardo Flach, Thaís, Letícia e Daniel, pelos recolhimentos, necropsias e coleta das amostras, o trabalho de vocês é essencial! Um agradecimento em especial aos meus colegas de equipe do TAC. Neto, Carol Dias, Mariana, Kadu, Carlos e Bárbara, obrigada por entenderem meus momentos de ausência e por estarem sempre dispostos a fazer mais pelo projeto e pelos botos! A experiência de trabalhar com pessoas tão diferentes e tão incríveis foi enriquecedora, e com certeza vou levar a amizade de vocês para vida toda.

A todo pessoal da Ecotox, Carol Castro, Monizze, Bárbara, Nara, Samara, Lucas, Fernanda e Larissa, por toda ajuda e conversas ao longo das análises. Em especial ao Neto, por ser incansável em responder todas minhas dúvidas ao longo do processo, também pelas discussões e dicas. Tenho uma grande admiração pela pessoa que você é, e pelo profissional

excepcional. À Emi e Neto pela ajuda nas idades, Kadu pelo mapa da área de estudo, Neto, Lorena e Bárbara pela ajuda nas análises dos orgânicos. Obrigada!

À minha família, meu pai Renê, minha mãe Clenice, meu irmão Thiago e minha cunhada Mariana, que mesmo de longe sempre me apoiaram em cada decisão, me incentivando a ir atrás dos meus sonhos e vontades! Amo vocês e foi difícil terminar essa etapa sem vocês por perto! Gostaria de agradecer também a minha tia Cleiva pela ajuda nas leituras da dissertação e por sempre estar presente.

À minha amiga Emi, que divide a vida comigo desde que cheguei ao Rio. Obrigada por todo apoio e por me aguentar nessa reta final, que sei que não foi fácil. À minha amiga Mariana, obrigada pelas conversas, cervejas e discussões estatísticas. Alice, obrigada por estar sempre presente pra me ouvir e me ajudar. Ao meu amigo não humano, Lepivaldo. O gato mais capeta e amoroso que me acompanhou nas noites de escrita.

À galera do bar e forró, Mariana, Emi, Alice, Carol Castro, Lorena e André, obrigado por estarem sempre prontos pra tomar uma cerveja! A amizade de vocês foi mais que essencial para terminar essa etapa. Amo vocês!

Aos meus amigos do Cassinão! Henrique, Manu, Ana, Fabi e Larissa, não tenho palavras para agradecer todo o apoio de vocês, desde momentos de risada até choradeira. Amo vocês demais!

Aos meus colegas da FURG e do ECOMEGA, agradeço imensamente a todos vocês, por todos os ensinamentos, ajudas na estatística e a grande amizade que construí com vocês ao longo desses anos, mesmo que agora de longe.

Ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia. Aos professores pelos ensinamentos e ao secretário André, sempre disponível para ajudar!

Ao CNPQ e FAPERJ pelos recursos financeiros a pesquisa.

Ao “Programa de conservação dos botos-cinza (*Sotalia guianensis*) e outros cetáceos das baías da Ilha Grande e de Sepetiba: proteção, avaliação de riscos e educação ambiental” (INEA, TRANSPETRO, SEAS, Associação Cultural e de Pesquisa Noel Rosa, UERJ e Governo do Estado do Rio de Janeiro). TAC – 4600012708.

À vida e às pessoas boas que cruzam o nosso caminho.

The ocean is large and resilient, but it is not too big to fail. What we are taking out of the sea, what we are putting into the sea are actions that are undermining the most important thing the ocean delivers to humankind – our very existence.

*Sylvia Earle*

## RESUMO

BRIÃO, Juliana Aguiar. **Botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba – RJ, Brasil: variação temporal da bioacumulação de compostos organoclorados e sua possível influência no evento de mortalidade atípica associado ao morbilivírus.** 2020. 114 f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) – Faculdade de Oceanografia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2020.

Os compostos organoclorados são poluentes orgânicos persistentes capazes de causar alterações nos sistemas imunológico e endócrino e, por suas características físico-químicas, estão presentes no ambiente até os dias atuais. Elevadas concentrações desses compostos estão relacionadas a uma maior susceptibilidade a doenças infecciosas, e animais longevos e de elevado nível trófico, como os cetáceos odontocetos, tendem a apresentar elevadas concentrações. Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo investigar o padrão de bioacumulação de compostos organoclorados em tecido adiposo subcutâneo de 85 botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba – RJ antes, durante e pós o evento de mortalidade atípica (EMA) associado ao morbilivírus dos cetáceos. Assim como a influência dos parâmetros biológicos na acumulação, transferência materna e por fim, a variação temporal nas concentrações de compostos organoclorados entre os anos de 2007 e 2019. As concentrações de compostos organoclorados estão na base lipídica e variaram de 978,86 – 738827,55 ng/g de  $\Sigma$ PCB; 82,44 – 130385,66 ng/g de  $\Sigma$ DDT; <LD – 4555,70 ng/g de Mirex; <LD – 1776,72 ng/g de  $\Sigma$ HCH e <LD – 157,97 ng/g de HCB. As concentrações não diferiram entre os períodos analisados para os indivíduos imaturos, machos maduros (teste de *Kruskal-Wallis*,  $p > 0.05$ ) e fêmeas maduras (teste de *Mann-Whitney*,  $p > 0.05$ ) para a maioria dos compostos organoclorados, com exceção do PCB 28 que apresentou maiores concentrações nas fêmeas maduras durante o EMA. As concentrações encontradas para 76% dos indivíduos imaturos, 100% dos machos maduros e 28% das fêmeas maduras, excederam os limites tóxicos estimados de  $\Sigma$ PCB capazes de causar efeitos imunossupressores em mamíferos marinhos. As concentrações dos compostos organoclorados nas fêmeas maduras de botos-cinza foram significativamente menores (teste de *Kruskal-Wallis*,  $p < 0.05$ ) que as concentrações de indivíduos imaturos e machos maduros, que apresentaram correlação significativa e negativa com a idade (*Spearman*,  $p < 0.05$ ). As concentrações entre indivíduos imaturos e machos maduros não diferiu (teste de *Kruskal-Wallis*,  $p > 0.05$ ), no entanto foi observada correlação significativa e positiva com a idade dos animais (*Spearman*,  $p < 0.05$ ). A partir da análise de função discriminante, foi observada diferença significativa no padrão de acumulação dos compostos organoclorados entre fêmeas maduras e machos maduros. Em relação à transferência placentária, os *p,p'*-DDE e *p,p'*-DDD tiveram as maiores razões de transferência. Para 75% dos neonatos as concentrações do  $\Sigma$ PCB transferidas das fêmeas, principalmente durante a lactação, excederam as concentrações limite estimadas responsáveis por uma menor sobrevivência de filhotes. Foi observado um aumento significativo ( $p < 0.05$ ) das concentrações de compostos organoclorados entre 2007 a 2019 nos botos-cinza, assim como uma mudança significativa no padrão de acumulação dos compostos entre os períodos analisados. Os resultados do presente estudo apontam a grande ameaça que a população de botos-cinza da Baía de Sepetiba está exposta devido às elevadas concentrações de compostos organoclorados, sendo importante o desenvolvimento de medidas de conservação para mitigar os impactos causados pela contaminação nesta região.

Palavras-chave: POPs. Doenças emergentes. Delphinidae. Transferência materna. Poluição.

## ABSTRACT

BRIÃO, Juliana Aguiar. **Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*) from Sepetiba Bay – RJ, Brazil:** temporal variation in the bioaccumulation of organochlorine compounds and their possible influence on the atypical mortality event associated with morbillivirus. 2020. 114 f. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) – Faculdade de Oceanografia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2020.

Organochlorine compounds are persistent organic pollutants capable of causing damage in the immune and endocrine systems, and due to their physical and chemical characteristics they are present in the environment until today. High concentrations of these compounds are related to a greater susceptibility to infectious diseases, and long-lived animals with a high trophic level, like cetacean's odontocetes, tend to have high concentrations. Therefore, the present study aimed to investigate the bioaccumulation pattern of organochlorine compounds in subcutaneous adipose tissue of 85 Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*) from Sepetiba Bay - RJ before, during and after the unusual mortality event (UME) associated to cetacean morbillivirus, as well as the influence of biological parameters on accumulation, maternal transfer and finally, the temporal variation in the concentrations of organochlorine compounds between the years 2007 and 2019. The concentrations of organochlorine compounds are in lipid based, and ranged from 978.86 - 738827, 55 ng/g  $\Sigma$ PCB; 82.44 - 130385.66 ng/g  $\Sigma$ DDT; <LD - 4555.70 ng/g from Mirex; <LD - 1776.72 ng/g from HCH and <LD - 157.97 ng/g from HCB. The concentrations did not differ between the periods analyzed for immature, mature males (Kruskal-Wallis test,  $p > 0.05$ ) and mature females (Mann-Whitney test,  $p > 0.05$ ) for most organochlorine compounds, with the exception of PCB 28, which showed higher concentrations in mature females during UME. The concentrations found for 76% of immature individuals, 100% of mature males and 28% of mature females, exceeded the threshold estimated of  $\Sigma$ PCB capable of causing immunosuppressive effects in marine mammals. The concentrations of organochlorine compounds in mature females of Guiana dolphins were significantly lower (Kruskal-Wallis test,  $p < 0.05$ ) than the concentrations of immature and mature males, and showed significant and negative correlation with age (Spearman,  $p < 0.05$ ), and between immature individuals and mature males there was no significant difference (Kruskal-Wallis test,  $p > 0.05$ ); however, a significant and positive correlation was observed with the age of the animals (Spearman,  $p < 0.05$ ). From the discriminant function analysis, a significant difference was observed in the accumulation pattern of organochlorine compounds between mature females and mature males. Regarding placental transfer, the major ratio were for *p,p'*-DDE and *p,p'*-DDD. For 75% of the neonates the  $\Sigma$ PCB concentrations transferred from the females, mainly during lactation, exceeded the threshold estimated for less calves survival. There was a significant increase ( $p < 0.05$ ) in organochlorine compounds concentrations between the years 2007 to 2019 in the Guiana dolphins, as well as a significant change in the pattern of accumulation of the compounds between the periods analyzed. The results of the present study demonstrated a great threat that the Guiana dolphins' population of Sepetiba Bay is exposed due to the high concentrations of organochlorine compounds, and it is important to develop conservation measures to mitigate the impacts caused by contamination in this region.

Key words: POPs. Emerging disease. Delphinidae. Maternal transfer. Pollution.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estrutura química do composto PCB 153 com seis átomos de cloro na molécula.....	25
Figura 2 –	Estrutura química do composto diclorodifeniltricloroetano ( <i>p.p'</i> -DDT).....	27
Figura 3 –	Estrutura química $C_6H_6Cl_6$ do $\gamma$ -HCH ou Lindano.....	28
Figura 4 –	Estrutura química ( $C_6Cl_6$ ) do hexaclorobenzeno (HCB).....	29
Figura 5 –	Estrutura química ( $C_{10}C_{12}$ ) do Mirex.....	30
Figura 6 –	Fêmea e filhote de boto-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) na Baía de Sepetiba.....	31
Figura 7 –	Mapa do local de encalhe dos botos-cinza da Baía de Sepetiba analisados no presente estudo.....	40
Figura 8 –	Corte histológico de dente de boto-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) com as principais estruturas utilizadas para a leitura da idade.....	41

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Mediana , percentis 25% e 75%, mínimo e máximo das concentrações do ΣPCB em imaturos, fêmeas maduras e machos maduros de boto-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) antes, durante e pós EMA .....	55
Gráfico 2 –	Mediana, percentis 25% e 75%, mínimo e máximo das concentrações do ΣDDT em imaturos, fêmeas maduras e machos maduros de boto-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) antes, durante e pós EMA.....	55
Gráfico 3 –	Mediana, percentis 25% e 75%, mínimo e máximo das concentrações do Mirex em imaturos, fêmeas maduras e machos maduros de boto-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) antes, durante e pós EMA.....	56
Gráfico 4 –	Mediana, percentis 25% e 75%, mínimo e máximo das concentrações do HCB em imaturos, fêmeas maduras e machos maduros de boto-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) antes, durante e pós EMA.....	56
Gráfico 5 –	Mediana, percentis 25% e 75%, mínimo e máximo das concentrações do ΣHCH de imaturos, fêmeas maduras e machos maduros de boto-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) antes, durante e pós EMA.....	57
Gráfico 6 –	Perfil dos diferentes congêneres de PCBs separados pelo grau de cloração em indivíduos imaturos, fêmeas maduras e machos maduros, antes, durante e pós EMA.....	58
Gráfico 7 –	Perfil do ΣDDT em indivíduos imaturos, fêmeas maduras e machos maduros, antes, durante e pós EMA.....	59

Gráfico 8 –	Variação das concentrações de <i>p.p'</i> - DDE, $\Sigma$ DDT, PCB 153, PCB 138, PCB 180 e $\Sigma$ PCB em relação à idade de indivíduos imaturos e fêmeas maduras de botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) da Baía de Sepetiba.....	64
Gráfico 9 –	Variação das concentrações de <i>p.p'</i> - DDE, $\Sigma$ DDT, PCB 153, PCB 138, PCB 180 e $\Sigma$ PCB em relação à idade de indivíduos imaturos e machos maduros de botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) da Baía de Sepetiba.....	65
Gráfico 10 –	Representação das variáveis canônicas dos machos maduros, indivíduos imaturos sexualmente e fêmeas maduras. Média de cada grupo nos pontos preenchidos.....	67
Gráfico 11 –	Contribuição percentual de cada grupo de congêneres no $\Sigma$ PCB para as mães e fetos de botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) da Baía de Sepetiba.....	70
Gráfico 12 –	Contribuição percentual de cada metabólito no $\Sigma$ DDT para as mães e fetos de botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) da Baía de Sepetiba.....	70
Gráfico 13 –	Mediana , percentis 25% e 75%, mínimo e máximo das concentrações do $\Sigma$ PCB de mãe, fetos e neonatos de boto-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) antes, durante e pós o EMA .....	72
Gráfico 14 –	Perfil do somatório de PCB separado por grau de cloração dos congêneres e Perfil do somatório de DDT em indivíduos neonatos antes e durante evento de mortalidade atípica (EMA).....	73
Gráfico 15 –	Relação das concentrações logaritmizadas do $\Sigma$ PCB ao longo dos anos pela multivariada GAM para machos e fêmeas.....	76
Gráfico 16 –	Relação das concentrações logaritmizadas do $\Sigma$ DDT ao longo dos anos pela multivariada GAM em machos e fêmeas maduros e imaturos.....	77

Gráfico 17 – Representação das variáveis canônicas de indivíduos imaturos sexualmente entre os anos amostrados.....	78
---	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) coletados entre os anos de 2011 e 2019 na Baía de Sepetiba, Brasil.....	38
Tabela 2 –	Compostos organoclorados validados e respectivas taxas de recuperação.....	43
Tabela 3 –	Limite de detecção instrumental expresso em ng/mL e limite de detecção do método para os compostos organoclorados expresso em ng/g.....	44
Tabela 4 –	Parâmetros biológicos e concentrações de HCB, ΣHCH, Mirex, ΣDDT e ΣPCB em ng/g lip de botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) analisados antes, durante e pós o evento de mortalidade atípica (EMA) na Baía de Sepetiba, Brasil.....	51
Tabela 5 –	Resultado (p-valor) dos testes de <i>Mann-Whitney</i> para fêmeas maduras e <i>Kruskal-Wallis</i> para os indivíduos imaturos e machos maduros dos botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) antes, durante e após o evento de mortalidade atípica (EMA) causada pelo morbilivírus dos cetáceos.....	53
Tabela 6 –	Resultados do teste <i>Kruskal-Wallis</i> e teste <i>a posteriori</i> de comparações múltiplas entre indivíduos imaturos sexualmente, fêmeas maduras e machos maduros de botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) da Baía de Sepetiba, Brasil.....	60
Tabela 7 –	Resultados da correlação de <i>Spearman</i> .....	62
Tabela 8 –	Resultados da análise de função discriminante.....	66
Tabela 9 –	Percentual de classificação entre os grupos de fêmeas maduras, machos maduros e imaturos e neonatos de botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) da Baía de Sepetiba, Brasil.....	66

Tabela 10 –	Parâmetros biológicos e as concentrações de HCB, $\Sigma$ DDT, Mirex e $\Sigma$ PCB das fêmeas e fetos de botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) da Baía de Sepetiba, Brasil.....	67
Tabela 11 –	Razão das concentrações de feto e mãe para cada composto analisado nos botos-cinza da Baía de Sepetiba, Brasil.....	68
Tabela 12 –	Concentrações de HCB, $\Sigma$ HCH, Mirex, $\Sigma$ DDT e $\Sigma$ PCB em ng/g lip de botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) neonatos antes EMA e durante EMA analisados na Baía de Sepetiba, Brasil.....	71
Tabela 13 –	Estrutura do modelo GAM, valores de desvio (deviance) e valor de AIC.....	74
Tabela 14 –	Resultados da análise de função discriminante. Valor de F, distância de <i>Mahalanobis</i> ( $D_2$ ) e p-valor dos botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) entre os principais anos amostrados na Baía de Sepetiba, Brasil.....	78
Tabela 15 –	Percentual de classificação entre os grupos de botos-cinza ( <i>Sotalia guianensis</i> ) da Baía de Sepetiba, Brasil.....	78

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATDRS	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i>
CeMv	Morbilivírus dos cetáceos
Code	Código de decomposição
CT	Comprimento Total
DDD	Diclorodifenildicloroetano
DDE	Diclorodifenildicloroetileno
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DMV	<i>Dolphin morbillivirus</i>
EMA	Evento de mortalidade atípica
EUA	Estados Unidos da América
F	Fêmea
FEEMA	Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente
GAM	<i>Generalized additive models</i>
GD-Mv	<i>Guiana dolphin morbilivírus</i>
GLG	<i>Growth Layer Groups</i>
HCB	Hexaclorobenzeno
HCH	Hexaclorociclohexano
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
ID	Identificação
INEA	Instituto Estadual do Ambiente
IUCN	<i>International Union for Conservation of Nature's</i>
<i>Koc</i>	Coeficiente de partição água-solo
<i>Kow</i>	Coeficiente de partição n-octanol-água
L	Leste
LD	Limite de detecção
M	Macho
MAQUA	Laboratório de Mamíferos Aquáticos e Bioindicadores
MMA	Ministério do Meio Ambiente

N	Norte
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
O	Oeste
OCs	<i>Organic compounds</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
PCB	Bifenilas policloradas
PI	Padrão Interno
PMV	<i>Porpoise morbillivírus</i>
POPs	Poluentes orgânicos persistentes
ppm	Partes por milhão
PWMV	<i>Pilot whale morbillivirus</i>
S	Sul
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
WHO	<i>World Health Organization</i>

## LISTA DE SIMBOLOS

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
cm	Centímetros
Cl	Cloro
%Lip	Conteúdo Lipídico
$\delta$	Delta
$\gamma$	Gama
g	Gramma
°C	Graus Celsius
psi	Libra-força por polegada quadrada
$\pm$	Mais ou menos
<	Menor
>	Maior
m	Metros
$\mu$ g	Micrograma
$\mu$ L	Microlitro
$\mu$ m	Micrômetro
mL	Mililitro
mm	Milímetros
ng	Nanograma
%	Porcentagem
kg	Quilograma
km	Quilômetros
$\Sigma$	Somatório

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	19
1	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	21
1.1	<b>Compostos organoclorados</b> .....	21
1.1.1	<u>Bifenilas Policloradas (PCBs)</u> .....	24
1.1.2	<u>Pesticidas orgânicos</u> .....	26
1.1.2.1	Diclorodifeniltricloroetano (DDT).....	26
1.1.2.2	Hexaclorocicloexano (HCHs).....	27
1.1.2.3	Hexaclorobenzeno (HCB).....	28
1.1.2.4	Mirex.....	29
1.3	<b>O boto-cinza <i>Sotalia guianensis</i> (Van Bénéden, 1864)</b> .....	30
1.4	<b>Morbilivírus dos cetáceos e o boto-cinza</b> .....	33
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	34
2.1	<b>Objetivo geral</b> .....	34
2.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	34
3.	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	36
3.1	<b>Área de estudo</b> .....	36
3.2	<b>Amostragem</b> .....	37
3.3	<b>Estimativa de idade e maturidade sexual</b> .....	40
3.4	<b>Análise dos compostos organoclorados</b> .....	42
3.4.1	<u>Descontaminação da vidraria e reagentes</u> .....	42
3.4.2	<u>Pureza dos reagentes e gases</u> .....	43

3.4.3	<u>Certificação da metodologia</u> .....	43
3.4.4	<u>Limite de detecção do equipamento</u> .....	44
3.4.5	<u>Solução padrão dos compostos organoclorados</u> .....	45
3.4.6	<u>Extração</u> .....	45
3.4.7	<u>Purificação do extrato</u> .....	46
3.4.8	<u>Condições cromatográficas</u> .....	46
3.4.9	<u>Curva analítica</u> .....	47
3.4.10	<u>Determinação do conteúdo lipídico</u> .....	48
3.5	<b>Análise estatística</b> .....	48
4	<b>RESULTADOS</b> .....	50
4.1	<b>Evento de mortalidade atípica (EMA)</b> .....	50
4.2	<b>Influência dos parâmetros biológicos na acumulação de compostos organoclorados</b> .....	59
4.3	<b>Influência da idade e sexo na acumulação de compostos organoclorados</b> .....	61
4.3.1	<u>Análise de função discriminante</u> .....	66
4.4	<b>Transferência materna: Placentária e lactacional</b> .....	67
4.5	<b>Variação temporal de compostos organoclorados nos botos-cinza da Baía de Sepetiba</b> .....	73
4.5.1	<u>Modelo aditivo generalizado (GAM)</u> .....	73
4.5.2	<u>Análise de função discriminante</u> .....	77
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	79
5.1	<b>Evento de mortalidade atípica (EMA)</b> .....	79
5.2	<b>Perfil de contaminação por compostos organoclorados</b> .....	84
5.3	<b>Influência dos parâmetros biológicos na acumulação dos compostos organoclorados</b> .....	87

5.4	<b>Transferência materna.....</b>	89
5.5	<b>Variação temporal das concentrações de compostos organoclorados nos botos-cinza da Baía de Sepetiba.....</b>	92
	<b>CONCLUSÕES.....</b>	95
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	97
	<b>RECOMENDAÇÕES.....</b>	99
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	101
	<b>APÊNDICE - Parâmetros biológicos e concentrações de HCB, ΣHCH, Mirex, ΣDDT e ΣPCB em ng/g lip de botos-cinza (<i>Sotalia guianensis</i>) imaturos, fêmeas maduras e machos maduros da Baía de Sepetiba, Brasil.....</b>	114

## INTRODUÇÃO

Alguns compostos organoclorados que fazem parte do grupo dos poluentes orgânicos persistentes (POPs) são capazes de biomagnificar ao longo das teias tróficas, culminando em elevadas concentrações em animais topo de cadeia (PRINCE et al., 2020). Tais compostos apresentam alta persistência, devido à baixa degradação química e biológica, além da alta capacidade de transporte a longas distâncias (JONES & VOOGT, 1999; MREMA et al., 2013; KALLENBORN et al., 2015).

Mesmo diante da proibição de diversos POPs na década de 1980, como as bifenilas policloradas (PCBs) e o diclorodifeniltricloroetano (DDTs), distúrbios ambientais, como inundações e suspensão de sedimentos, podem fazer com que haja a remobilização e consequente entrada secundária destes poluentes (CAGNAZI et al., 2020; TORRES et al., 2009). Ademais, o aumento da temperatura, precipitação e velocidade do vento como resultado das mudanças climáticas constitui outra potencial fonte desses contaminantes para os ecossistemas (TERAN et al., 2012).

Dentro desse contexto, organismos de topo de teia trófica têm sido apontados como o grupo mais críticos no que se refere à exposição aos POPs. Os cetáceos, especialmente os delfinídeos, podem ocupar elevadas posições nas teias alimentares, além de apresentarem longo tempo de vida e espessa camada de gordura, podendo acumular elevadas concentrações destes compostos lipofílicos (GRAY et al., 2002; KO et al., 2014). Tais contaminantes são reconhecidos como interferentes dos sistemas endócrino e imunológico (MURPHY et al., 2015; DESFORGES et al., 2016), e a preocupação acerca dos impactos a longo prazo causados tem se mostrado crescente nos últimos anos.

Estudos sugerem um papel importante dos POPs nas alterações dos padrões de manutenção e declínio das populações de cetáceos (HALL et al., 2018; DESFORGES et al., 2018) especialmente quando essas populações são expostas a um patógeno (HALL et al., 2018). As altas concentrações encontradas em golfinhos ao redor do mundo chamam atenção para o problema (JEPSON et al., 2016; KRATOFIL et al., 2020). Assim, os POPs parecem estar fortemente relacionados à maior susceptibilidade a doenças emergentes (ROSS et al., 2002; JEPSON et al., 1999; VAN BRESSEM et al., 2009).

Nas populações de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) do sudeste do Brasil, a cepa específica de morbilivírus dos cetáceos (*Guiana dolphin* “GD-MV”) causou o primeiro evento de mortalidade atípica (EMA) no Oceano Atlântico Sul (GROCH et al., 2014; 2018). O vírus afetou primeiramente a população de botos-cinza residentes da Baía da Ilha Grande, e em seguida se dispersou para a população de botos-cinza da Baía de Sepetiba. Estima-se que entre novembro de 2017 a março de 2018 pelo menos 277 animais morreram. Estas duas populações apresentaram uma resposta distinta ao morbilivírus, na qual o contingente de mortes entre as duas baías foi de 6% da população da Baía da Ilha Grande, em contraponto com 20% da população da Baía de Sepetiba (CUNHA et al., 2020 – no prelo).

Essa diferença pode estar relacionada ao estado de preservação dessas baías costeiras. A Baía de Sepetiba está localizada em um *hot spot* de contaminação por compostos organoclorados no Oceano Atlântico Sul (GIRONES et al., 2020). Além disso, o grande adensamento populacional na sua bacia de drenagem, indústrias e portos, pode ser um contribuinte para o impacto à saúde dessa população de botos-cinza, que apresenta uma elevada fidelidade de sítio a região (NERY et al., 2008). Estudos anteriores já sugeriam que a população poderia estar imunossuprimida, por apresentar infecção pelo Pox vírus, principalmente por consequência dos impactos ambientais (VAN BRESSEM et al., 2007; 2009b). Neste mesmo contexto local, está a Baía de Guanabara no Rio de Janeiro, onde a potencial contaminação do ambiente, em conjunto com outros estressores ambientais teve um papel fundamental para levar a população de botos-cinza ao declínio em poucas décadas (AZEVEDO et al., 2009; 2017).

Visto o impacto que os compostos organoclorados apresentam para as populações de cetáceos, principalmente quando são expostas a um patógeno (HALL et al., 2018), o presente estudo teve como objetivo investigar a bioacumulação dos compostos organoclorados (PCBs, DDTs, HCB, HCHs e Mirex); verificar se o evento de mortalidade provocado pelo morbilivírus modificou os padrões de acumulação dos POPs; e avaliar se houveram alterações na magnitude da acumulação de POPs ao longo de uma série temporal de 12 anos, que pudessem explicar uma maior ou menor susceptibilidade dos botos-cinza à patógenos, trazendo consequências à saúde dos botos-cinza residentes da Baía de Sepetiba.

## 1 REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1 Compostos organoclorados

O aumento populacional e o desenvolvimento de novas tecnologias para suprir as necessidades da sociedade, fizeram com que houvesse grandes esforços para a criação de substâncias químicas, principalmente destinadas à manutenção do setor industrial, controle de vetores transmissores de doenças e de pragas no setor agrícola (ATSDR, 2000; ATSDR, 2002). A partir da revolução industrial, no século XVIII a produção em grande escala necessitou de novos insumos químicos que suportassem a maior eficiência da produção. No entanto, tais substâncias foram produzidas sem o conhecimento do real efeito à saúde do ambiente, dos organismos e, principalmente, a grave consequência no equilíbrio ecológico (WHO, 1992).

Ao longo do tempo, devido ao uso massivo desses insumos químicos, a contaminação de peixes e aves começou a despertar a suspeita da sua toxicidade. Em 1962, o livro “Primavera Silenciosa” publicado pela cientista e escritora Rachel Carson alertou sobre a utilização de pesticidas agrícolas e a contaminação de aves. Em 1972, a ONU (Organização das Nações Unidas) convocou a primeira Conferência das Nações Unidas sobre o Ambiente Humano em Estocolmo, e desde então diversas conferências foram realizadas, principalmente para elaborar e designar diretrizes de uma melhor relação entre o meio ambiente e o desenvolvimento sustentável (ONU, 1972). A fim de estabelecer medidas de controle na produção, utilização e descarte adequado dos POPs, protocolos foram elaborados, em destaque, a Convenção de Estocolmo (STOCKHOLM CONVENTION, 2018).

A Convenção de Estocolmo, reconhecida mundialmente, é um dos protocolos de maior relevância no controle dos POPs. No Brasil, a convenção foi aprovada em maio de 2004 e o texto promulgado pelo Decreto Executivo nº 5.472, em junho de 2005 (BRASIL, 2005). O documento visa à responsabilização dos países a desenvolverem medidas para a redução ou eliminação das emissões e descargas dessas substâncias químicas, assim como prevê que sejam desenvolvidas novas tecnologias que evitem a fabricação de novos POPs, objetivando a eliminação total desses contaminantes (BRASIL, 2005; MMA, 2015; STOCKHOLM CONVENTION, 2018).

Para os diferentes compostos que fazem parte dos POPs, três principais normativas foram adotadas: Eliminar; restringir; e para emissões não intencionais, reduzir. As medidas para os bifenilas policloradas (PCBs) e Mirex, por exemplo, foram de eliminação total; já para os diclorodifeniltricloroetano (DDTs) foi recomendada a restrição no uso (STOCKHOLM CONVENTION, 2018). No primeiro texto da convenção constavam 12 principais POPs (Aldrin, Clordano, Dieldrin, Endrin, Heptacloro, Hexaclorobenzeno, Mirex, Toxafeno, PCBs, DDTs, Dibenzo-p-dioxinas e Dibenzonofuranos policlorinados). Já em 2009 foram inseridos outros nove POPs: Clordecona, Hexabromobifenil, Alfa e Beta Hexaclorociclohexano, Lindano, Éter tetrabromodifenílico e Éter pentabromodifenílico, Éter hexabromodifenílico e Éter heptabromodifenílico, Ácido perfluoractano sulfônico e seu sais e Fluoreto de perfluoroctano sulfonila e, por último, Pentaclorobenzeno. Em 2011 foi inserido o Endossulfam, em 2013, o Hexabromociclododecano, e em 2015, Hexaclorobutadieno, Pentaclorofenol, e seus sais e éteres (PeCP) e Naftalenos policlorados. Em 2017 foram incluídos o Éter de decabromodifenil (c-deca-BDE) e Parafinas cloradas de cadeia curta (SCCP). Por último, em 2020, foram incluídos novos POPs, o Dicofol, e os PFOA e seus sais (MMA, 2015; STOCKHOLM CONVENTION, 2020). Atualmente existem mais sete produtos químicos em revisão propostos para entrada listagem da convenção, são exemplos o Declorane Plus, Metoxicloro e Ácidos Carboxílicos Perfluorados de cadeia longa (STOCKHOLM CONVENTION, 2020).

Dentro do grupo dos POPs, estão os compostos organoclorados (*organic compounds* - OCs). Esses compostos químicos foram sintetizados principalmente devido ao crescimento demográfico, tanto para o setor industrial, como também urbano, sendo utilizados em capacitores e transformadores elétricos, assim como para o setor agrícola, em pesticidas. Os POPs são agrupados devido as suas características físico-químicas de semi-volatilidade, persistência no ambiente, hidrofobia, lipofílicidade, bioacumulação e toxicidade (JONES & VOOGT, 1999). A semi-volatilidade, capacidade dos POPs de passar para a fase gasosa em temperatura ambiente (BREIVIK et al., 2004), possibilita o seu transporte pela atmosfera, inclusive por longas distâncias das áreas fonte. Diante desse aspecto é evidenciado que estes compostos tendem a ter ampla distribuição, comportamento que é chamado de destilação global (GOUIN et al., 2004). Os compostos semi-voláteis evaporam em baixas latitudes (principalmente regiões tropicais), condensam e são passíveis ao transporte em longas distancias, atingindo até mesmo zonas polares, que é evidenciado principalmente pela presença destes compostos onde não há uso de tais poluentes (BEYER et al., 2000; HUNG et al., 2016).

Além da sua ampla distribuição na atmosfera, outro fator importante é a forma com que tais compostos entram em outros compartimentos abióticos e bióticos. Estes apresentam alta aderência a sedimentos e material particulado em relação à água, o que é demonstrado pelo coeficiente de partição água-solo ( $K_{oc}$ ). Quanto maior os valores de  $K_{oc}$ , maior aderência pelo material particulado e sedimento (SPARLING, 2016). No que tange a entrada nos meios bióticos, em diferentes escalas, apresentam grande solubilidade em gorduras e óleos. A afinidade desses compostos é expressa pelo coeficiente n-octanol-água ( $K_{ow}$ ), em que valores de coeficiente maiores que 3,5 tem maior solubilidade em n-octanol do que em água. Assim, devido a essa particularidade, são considerados lipofílicos e hidrofóbicos (JONES & VOOGT, 1999).

Uma vez que os POPs atingem o ambiente e os organismos, a sua retirada é lenta, devido sua alta resistência física, química e biológica (BORJA, et al., 2005; MREMA et al., 2013). Essas características os fazem ter uma alta resistência à degradação, estando passíveis de bioacumulação pelos organismos. Animais de vida longa, em específico vertebrados, como os mamíferos marinhos apresentam elevadas concentrações de compostos organoclorados. Ao longo da vida, principalmente por meio da dieta, incorporam e acumulam contaminantes em maior quantidade que sua capacidade de eliminação (TANABE, 1988; NEWMAN, 2015).

Já é conhecido em teias tróficas marinhas a biomagnificação dos compostos organoclorados. Esse processo se caracteriza pelo aumento das concentrações destas substâncias desde consumidores primários até os animais de topo de cadeia (GRAY, 2002; PRINCE et al., 2020). Assim, são reportadas baixas concentrações em organismos de menor nível trófico, como zooplâncton e concentrações maiores em animais de maior nível trófico, como mamíferos marinhos e humanos (BORGA et al., 2001; KELLY et al., 2007).

Em mamíferos marinhos, devido ao fato de ocuparem elevado nível trófico, ter longo tempo de vida e possuírem espessa camada de gordura, distúrbios endócrinos, imunológicos e neurológicos são reportados por consequência das elevadas concentrações de POPs (BELAND et al., 1993; DESFORGES et al., 2016; MURPHY et al., 2018). Efeitos deletérios no sistema imune puderam ser observados em estudos *in vitro* com golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*), beluga (*Delphinapteras leucas*) e em foca-do-porto (*Phoca vitulina*). Para esses animais, foi evidenciada a diminuição da síntese de células do sistema imunológico como, por exemplo, linfócitos incluindo células B, causando problemas nas funções chave do sistema adaptativo, como secreção de anticorpos em resposta a patógenos (revisado por DESFORGES et al., 2016).

Pelo visto até o momento, os POPs contribuem para a contaminação de espécies marinhas, em especial os cetáceos. Como demonstrado, existe uma grande variedade de compostos organoclorados, e estes correspondem cada qual com sua especificidade química, assim sendo, serão abordados separadamente a seguir.

### 1.1.1 Bifenilas Policloradas (PCBs)

As bifenilas policloradas, em inglês *polychlorinated biphenyls* “PCB” são químicos orgânicos que foram sintetizados unicamente para fins comerciais. Devido à capacidade dielétrica, estabilidade térmica e química, esses compostos foram amplamente utilizados como isolantes térmicos, fluidos de transferência de calor, lubrificantes em transformadores e capacitores, entre outros equipamentos elétricos, além de tintas, adesivos e plastificantes (WHO, 1992; ATSDR, 2000; ATSDR, 2014). Tais compostos foram fabricados por quase 50 anos nos Estados Unidos, Alemanha e em outros países do hemisfério norte, principalmente entre o início da década de 1930 e final da década de 1970. Estima-se que mais de dois milhões de toneladas de PCBs tenham sido fabricadas ao longo desses anos (FIEDLER et al., 2001).

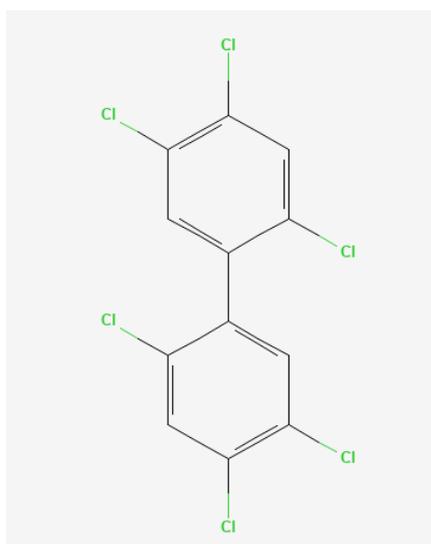
As misturas de PCBs receberam diversas denominações, como por exemplo, “Araclor®” fabricado pela Monsanto nos Estados Unidos e “Clophen®” fabricado pela Bayer na Alemanha. No Brasil, é conhecido como Askarel® (ATSDR, 2000) e não há registro da fabricação desses produtos nacionalmente, sendo unicamente importados para o uso na indústria. O recebimento desses produtos só foi cessado com a Portaria Interministerial N° 19, de 2 de janeiro de 1981 (PENTEADO & VAZ, 2001). No entanto, mesmo após a proibição da fabricação dos PCBs, estes continuaram sendo inseridos no ambiente. Uma das vias de entrada é a direta, pelo vazamento de equipamentos que não foram substituídos, ou indireta pela disponibilização desses compostos no ambiente. Nesse segundo caso, os PCBs volatizam e ficam disponíveis em forma de vapor na atmosfera, com posterior deposição em águas superficiais e no sedimento (BREIVIK et al., 2004; ATSDR, 2014).

Os PCBs foram formulados a partir da cloração de um radical bifenil com a utilização de catalisadores (p. ex. ferro) e condições favoráveis de calor e pressão (SAFE, 1984). A estrutura dos PCBs é composta de dois anéis aromáticos ou fenil (por isso a nomeação bifenil) com uma ligação simples carbono-carbono e até 10 átomos de cloro, sendo

que para cada átomo de cloro incorporado na molécula, um átomo de hidrogênio é removido. Sua formulação geral é  $C_{12}H_{10-n}Cl_n$  onde  $n$  é o número de cloros presentes na molécula. As 10 posições que podem ser incorporados aos átomos de cloro são denominadas pelas posições dos átomos de carbono, sendo: 2, 6, 2' e 6' *ortho*, 3,5,3' e 5' *meta*, e 4 e 4' *para* (Figura 1) (SAFE, 1984).

Devido a essa variedade de posicionamentos de cloro na molécula, são conhecidos pelo menos 209 congêneres de PCBs; no entanto, cerca de 130 foram mais utilizados em misturas comerciais (WHO, 1992). Tais congêneres não diferem em estrutura, mas na posição e quantidade de átomos de cloro. Assim, a nomenclatura dos PCBs é seguida pelo número de cloros na molécula, como por exemplo: monoclórobifenílicos, moléculas que apresentam somente um átomo de cloro; diclorobifenílicos, com dois átomos de cloro; triclorobifenílicos com três átomos de cloro; e assim sucessivamente até os decaclórobifenílicos com 10 átomos de cloro (BALLSCHMITER & ZELL, 1992). São chamados de homólogos os PCBs com o mesmo grau de cloração (p. ex. diclorobifenílicos com dois átomos de cloro) e dentre os homólogos, que diferem nas posições dos átomos de cloro, são os chamados de isômeros (ATSDR, 2000). Os PCBs são pouco solúveis em água, e isso é determinado principalmente pelo seu *Kow* que dentre os congêneres varia de 4,4 a 8,1 e quanto maior o número de substituições de cloros, menos solúvel é o PCB (WHO, 1992).

Figura 1 – Estrutura química do composto PCB 153 com seis átomos de cloro na molécula.



Fonte: NCBI, 2021.

### 1.1.2 Pesticidas orgânicos

#### 1.1.2.1 Diclorodifeniltricloroetano (DDT)

O diclorodifeniltricloroetano mais conhecido como DDT e seus derivados é um pesticida com principal aplicação no controle de insetos, tanto na agricultura, quanto em vetores de doenças (p. ex. malária e tifo) (ATSDR, 2002). A propriedade inseticida do DDT foi descoberta em 1939 quando se deu início a sua ampla utilização (SPARLING, 2016). Uma das utilizações reportadas do DDT foi em soldados, durante a segunda guerra mundial, a fim de prevenir o tifo, uma doença transmitida por mosquitos. Enquanto a utilização deste químico era comemorada em relação a sua eficácia contra vetores de doenças e como praguicida em lavouras, a primeira manifestação pública sobre as propriedades tóxicas do DDT foi publicada. Rachel Carson em seu livro “Primavera Silenciosa” associou o uso extensivo do DDT e a sua bioacumulação nos organismos com a drástica diminuição de aves nos EUA (CARSON, 1962).

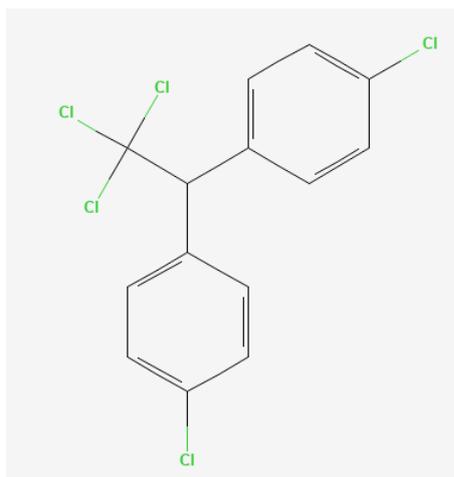
Após a repercussão da obra e o entendimento do potencial risco à saúde humana, em 1972, o uso DDT foi banido nos EUA. No Brasil, apesar de ser restringido como inseticida em 1971, a proibição da comercialização, uso e distribuição de agrotóxicos organoclorados na agropecuária ocorreu somente em 1985 com a Portaria nº 329/85 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1985). Em outros países, entretanto, o uso de DDT foi proibido somente como inseticida na agricultura, mantendo-o no controle de vetores como o mosquito transmissor da malária. Por não existir outro inseticida eficiente, o DDT ainda é usado em locais onde há altos índices de transmissão da doença (WHO, 2011).

Quanto à formulação química geral do DDT, representa-se como  $C_{14}H_9Cl_5$  havendo modificações entre os seus derivados e isômeros (Figura 2). Além do DDT, o DDD também foi utilizado, mas em menor escala. Levando em conta as diferenças nas posições e quantidade de cloros na molécula de DDT, conformam-se os isômeros que podem ser *p.p'*-DDT e *o.p'*-DDT, assim como nos seus metabólitos; *p.p'*-DDE, *o.p'*-DDE, *p.p'*-DDD e *o.p'*-DDD (ATSDR, 2002).

Recentemente, foi incluído no Anexo A da Convenção de Estocolmo o Dicofol, que é um pesticida orgânico usado no controle de ácaros em plantações de frutas, vegetais e flores.

O Dicofol é um composto químico relacionado ao DDT sendo este composto um dos intermediários na sua fabricação, podendo ainda permanecer na sua composição como impureza (FIT/CETESB, 2020; STOCKHOLM CONVENTION, 2020).

Figura 2 – Estrutura química do composto diclorodifeniltricloroetano (*p.p'*- DDT).



Fonte: NCBI, 2021.

#### 1.1.2.2 Hexaclorocicloexano (HCHs)

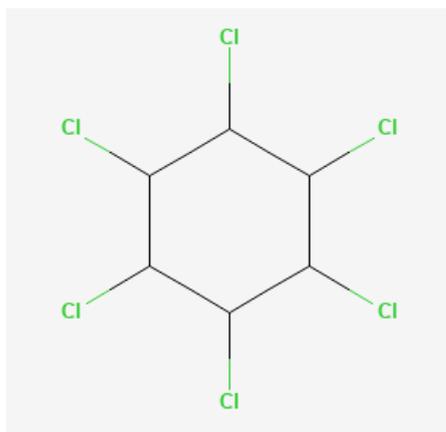
O Hexaclorocicloexano (HCH) é um inseticida sintético utilizado tanto na agricultura em frutas, vegetais e culturas florestais, quanto em humanos e outros animais, em casos de ácaros e piolhos (ATSDR, 2005). A mistura de HCH inclui até oito isômeros, que são denominados por letras gregas. Os principais isômeros são o alfa, beta, gama, delta e epsilon ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  e  $\epsilon$  respectivamente). Dentre esses cinco, o isômero que contém componente inseticida é o gama, mais conhecido pelo nome de Lindano (Figura 3). Nas formulações de HCH os isômeros que estão em maior quantidade são respectivamente: alfa 60-70%, beta 5-12%, gama 10-12%, delta 6-10% e épsilon 3-4% com pequenas porcentagens dos demais isômeros (ATSDR, 2005).

A fabricação de misturas técnicas de HCH foi banida nos EUA em 1976, mas continuou sendo importado de outros países. Uma das condições impostas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para a fabricação e uso do Lindano, era que o composto deveria ter

99% de pureza, apenas com o isômero gama. No entanto, para a formulação de uma tonelada de Lindano, são produzidas entre 6 a 10 toneladas de resíduos dos outros isômeros (WHO, 1991). No Brasil o Lindano foi banido no uso na agricultura pela Portaria N° 11 de 08 de janeiro de 1998, entretanto, continua sendo utilizado na preservação de madeiras (ANVISA, 2015). Há o caso da Cidade dos Meninos, na região de Duque de Caxias, no Estado do Rio de Janeiro, onde uma antiga fábrica de pesticidas foi desativada, deixando uma grande quantidade de resíduos tóxicos a céu aberto, tanto de Lindano, como também de DDT (HERCULANO, 2002; OLIVEIRA, 2008).

Os HCHs apresentam uma alta volatilidade, por serem compostos relativamente leves com  $K_{ow}$  de 3.7 (SPARLING, 2016). Em comparação com outros pesticidas orgânicos o HCH pode ser mais solúvel em água e por esta característica, tende a ter uma maior evaporação, podendo então, ser transportado por longas distâncias.

Figura 3 – Estrutura química  $C_6H_6Cl_6$  do  $\gamma$ -HCH ou Lindano.



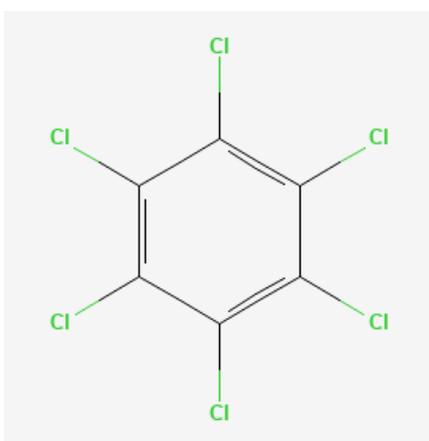
Fonte: NCBI, 2021.

#### 1.1.2.3 Hexaclorobenzeno (HCB)

O hexaclorobenzeno (HCB) é um produto químico sólido cristalino, atualmente oriundo de impurezas da formulação de compostos orgânicos como, por exemplo, o pentaclorofenol, bem como também da emissão de forma não intencional a partir da queima de outros compostos organoclorados (BAILEY, 2001; GONG et al., 2017). Sua fabricação nos EUA cessou na década de 1970, e até 1984 era utilizado com fungicida em sementes de cebola, trigo e outros grãos (WHO, 1997; IARC, 2001). O HCB também foi utilizado em

composições pirotécnicas para fins militares, fabricação de corantes e conservantes de madeira (ATSDR, 2015). O *Kow* é de log 5.7, caracterizando o composto como insolúvel em água, e com afinidade em gorduras, estando passível a bioacumulação nos organismos. O HCB tem alta toxicidade no fígado e pode acarretar problemas hormonais relacionados à reprodução e crescimento, além de potencial carcinogênico (IARC, 2001; STAREK-SWIECHOWICZ et al., 2017) (Figura 4).

Figura 4 – Estrutura química ( $C_6Cl_6$ ) do hexaclorobenzeno (HCB).



Fonte: NCBI, 2021.

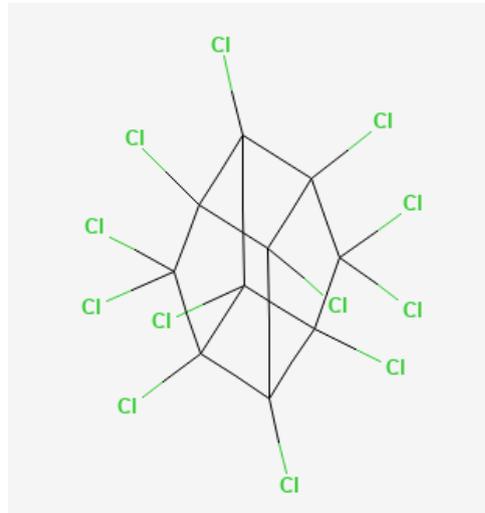
#### 1.1.2.4 Mirex

O Mirex é um composto sintético produzido a partir da dimerização do hexaclorociclopentadieno com o uso de cloreto de alumínio como catalizador (SITTIG, 1980) (Figura 5). Um dos nomes comerciais mais conhecidos para o Mirex é o Dechlorane® fabricado pela *Allied Chemical Company* e introduzido primariamente nos EUA em 1959 para uso em formulações pesticidas, como também na indústria em retardantes de chamas, principalmente em plásticos, tinta e eletrônicos (ATSDR, 1995).

Na década de 1960 foi amplamente utilizado no controle de formigas de fogo em plantações, vindo a ser banido em 1978. No entanto, continuou sendo utilizado enquanto ainda havia estoque. A relação n-octanol-água do Mirex é de 6,9 (SPARLING, 2016), indicando que o composto tem alta afinidade por tecidos gordurosos e óleos. No Brasil, a importação e uso do Mirex foi proibido em 1985 para uso agropecuário, mas só em 1993 foi

proibido para uso como formicida (BORTOLETO, 1993). Após a proibição, o Mirex foi substituído nas formulações por sulfluramida e é vendido no Brasil como Mirex-S® (MMA, 2015).

Figura 5 – Estrutura química (C<sub>10</sub>C<sub>12</sub>) do Mirex.



Fonte: NCBI, 2021.

## 1.2 O boto-cinza *Sotalia guianensis* (Van Bénéden, 1864)

O gênero *Sotalia* engloba duas espécies de pequenos cetáceos pertencentes à família Delphinidae. O tucuxi (*Sotalia fluviatilis*) de hábito fluvial e o boto-cinza (*Sotalia guianensis*) de hábito marinho (CUNHA et al., 2005; CABALLERO et al., 2007). O boto-cinza é uma espécie com distribuição restrita às águas do Oceano Atlântico Sul Ocidental, e ocorre desde a Baía norte de Florianópolis, no Estado de Santa Catarina (27°35'S; 48°34'W) (SIMÕES-LOPES, 1988), sul do Brasil até *La Mosquitia*, em Honduras (14°00'N; 83°20'O) (EDWARDS & SCHNELL, 2001) na América Central. A espécie é caracterizada por sua ocupação costeira e utiliza principalmente baías, estuários e áreas protegidas, apresenta hábito gregário e grande fidelidade de sítio (AZEVEDO et al., 2007; ROSSI-SANTOS et al., 2007; NERY et al., 2008).

O boto-cinza é a menor espécie dentre os delfinídeos, atingindo no máximo 220 cm de comprimento. Apresenta coloração na região dorsal, desde o cinza claro, ao cinza escuro e na região ventral, cinza claro ou branco, podendo ser levemente rosado. Seu rostro é alongado

com 30-36 pares de dentes (BASTIDA et al., 2018) e a nadadeira dorsal é pequena e triangular (Figura 6) (FLORES & DA SILVA, 2002).

No Estado do Rio de Janeiro existem três populações distintas de botos-cinza, que apresentam grande fidelidade de sítio. Na Baía de Sepetiba, a população de botos-cinza é de aproximadamente 1043 indivíduos. Já na Baía da Ilha Grande a população é estimada em 1469 indivíduos (QUINTANA, 2020). A menor população está a da Baía de Guanabara, com estimativa de aproximadamente 40 indivíduos em 2015 (AZEVEDO et al., 2017).

Figura 6 – Fêmea e filhote de boto-cinza (*Sotalia guianensis*) na Baía de Sepetiba.



Fonte: MAQUA/UERJ.

Para os indivíduos da Baía de Sepetiba no sul do Estado do Rio de Janeiro, foi estimado que a maturidade sexual das fêmeas é atingida aos 6,5 anos de idade, com comprimento total entre 171 e 176 cm, e para os machos aos 7,3 anos de idade, com comprimento total de 183 a 188 cm. A gestação é estimada em 12 meses e os filhotes nascem com aproximadamente 96 cm de comprimento (SANTOS-NETO, 2017). Em relação à longevidade da espécie, os indivíduos podem alcançar entre 30 e 35 anos de idade (FLORES & DA SILVA, 2002).

Durante a vida, a espécie é principalmente piscívora alimentando-se de clupeídeos e cianídeos, e alimenta-se em menor número de cefalópodes e alguns crustáceos como camarões e caranguejos (FLORES & DA SILVA, 2002; ARAUJO, 2012). A dieta do boto-cinza na região da Baía de Sepetiba é composta por uma grande variedade de presas, sendo as mais importantes os peixes sardinha-boca-torta (*Cetengraulis edentulus*), corvina

(*Micropogonias furnieri*), tainha (*Mugil spp.*), palombeta (*Chloroscombrus chrysurus*), goete (*Cynoscion jamaicensis*), cangoá (*Stellifer sp.*) e o cangatá (*Sciadeichthys luniscutis*) (ARAÚJO, 2012). O cefalópode mais importante predado pelo boto-cinza é a lula (*Doryteuthis plei*) (ARAÚJO, 2012).

O boto-cinza por se tratar de um delfínídeo costeiro, é fortemente impactado por distúrbios ambientais. Perda de habitat (REEVES, 2003), poluição química (LAILSON-BRITO et al., 2010; BISI et al., 2012; SANTOS-NETO et al., 2014), poluição sonora (ANDRADE et al., 2015; BITTENCOURT et al., 2016) e interações com atividades pesqueiras (FLACH, 2015) são alguns dos impactos que a espécie está exposta. Pela *International Union for Conservation of Nature's* (IUCN) o boto-cinza é classificado como “quase ameaçado” (SECCHI, 2018), já pelo livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção do ICMBio a espécie é classificada como vulnerável (ICMBIO, 2016).

No Brasil as pesquisas sobre a contaminação por compostos organoclorados (COs) em botos-cinza se restringem a região sul e sudeste do país, principalmente nos Estados do Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro (LAILSON-BRITO et al., 2010; YOGUI et al., 2003, KAJIWARA et al., 2004) com um único trabalho na região nordeste (SANTOS-NETO et al., 2012). Em 26 botos-cinza coletados na região norte do Estado do Paraná e sul do Estado de São Paulo as maiores concentrações de compostos organoclorados foram PCBs e dos DDTs apresentando valores máximos de 79.000 e 150.000 ng.g<sup>-1</sup> de peso lipídico (PL) respectivamente (KAJIWARA et al., 2004). Já para a região da Baía de Paranaguá no Estado do Paraná, um estudo com 15 indivíduos demonstrou concentrações menores, de 14.333ng.g<sup>-1</sup> PL de PCBs e 23.555ng.g<sup>-1</sup> PL de DDTs (LAILSON-BRITO et al., 2010).

Para o Estado do Rio de Janeiro os estudos são direcionados às regiões das baías de Guanabara, Sepetiba e Ilha Grande, que abrangem três populações distintas de botos-cinza, divergindo tanto acusticamente, geneticamente e espacialmente (ANDRADE, 2010; HOLLATZ et al, 2011; BISI et al., 2013). Vidal (2010) verificou através da análise de compostos organoclorados em indivíduos encalhados e capturados incidentalmente em redes de pesca, que as populações da Baía de Sepetiba e Guanabara apresentam padrões distintos de acumulação, assim, como também os indivíduos das Baías de Sepetiba e Ilha Grande. Tais baías apresentam diferentes estados de conservação e conseqüentemente de contaminação ambiental. Os botos-cinza residentes da Baía de Guanabara apresentam as maiores concentrações de compostos organoclorados, seguido pelos indivíduos da Baía de Sepetiba, e por último os indivíduos da Baía da Ilha Grande (TORRES et al., 2006; LAILSON-BRITO et al., 2010).

### 1.3 Morbilivírus dos cetáceos e o boto-cinza

Eventos de mortalidade em massa têm sido registrados em populações de cetáceos ao redor do mundo (MOORE et al, 2018), sendo parte desses eventos ocasionada por surtos de infecção pelo morbilivírus (VAN BRESSEM *et al.*, 2014). O morbilivírus dos cetáceos CeMV (família *Paramyxoviridae*, gênero *Morbillivirus*) é causador de uma doença infecciosa com alto potencial contagioso entre esses animais, transmitido principalmente pelas vias respiratórias (JO et al., 2018). O morbilivírus é bem conhecido no que diz respeito às cepas isoladas de golfinho-do-porto, *Phocoena phocoena* (PMV – *porpoise morbillivirus*), de golfinhos-listrados, *Stenella coeruleoalba* (DMV – *dolphin morbillivirus*) e de baleias-piloto-de-nadadeira-longas, *Globicephala melas* (PWMV – *pilot whale morbillivirus*) (revisado por VAN BRESSEM et al., 2009). Em 2010 foi registrada a morte de um boto-cinza, na região de Guriri (Espírito Santo/Brasil) onde foi evidenciada uma nova cepa de morbilivírus específica do boto-cinza (GD-MV *guiana dolphin morbillivirus*) (GROCH *et al.*, 2014).

As populações residentes de botos-cinza das baías da Ilha Grande e de Sepetiba, no final do ano de 2017 e início do ano de 2018, passaram pelo primeiro evento de mortalidade atípica (EMA) causada pela cepa específica de GDMV no Oceano Atlântico Sul (GROCH et al., 2018; CUNHA et al., 2020 – no prelo). Nesse evento, o vírus atingiu primeiramente a população da Baía da Ilha Grande, em que uma parcela de 6% da população veio a óbito. Em seguida, o vírus se espalhou para a população da Baía de Sepetiba, onde um contingente maior de indivíduos morreu, chegando a aproximadamente 23% da população, totalizando entre as duas regiões, pelo menos, 277 mortes (CUNHA et al., 2020 – no prelo). Na maioria dos indivíduos encontrados mortos durante o período de surto de morbilivirose, os achados macroscópicos evidenciavam pneumonia verminosa, edema pulmonar e lesões cutâneas (GROCH et al., 2018; DIAZ-DELGADO et al., 2019; GROCH et al., 2020).

Doenças infecciosas, como o CeMV, apresentam uma maior taxa de virulência em indivíduos da população que estão imunologicamente debilitados (ROSS, 2002; VAN BRESSEM et al., 2014). Animais expostos a diversos tipos de estressores ambientais, principalmente contaminantes, podem apresentar distúrbios no funcionamento do sistema imunológico relacionados à proliferação celular, fagocitose, entre outros (DESFORGES et al., 2016). Assim, diversos estudos vêm tentando relacionar a infecção do morbilivírus dos cetáceos, com os altos níveis de contaminantes ambientais (KANNAN et al., 1993; AGUILAR & BORRELL, 1994; MAZZARIOL et al., 2012).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

O presente estudo teve como objetivo caracterizar a bioacumulação de compostos organoclorados (PCBs, DDTs, HCHs, HCB e Mirex) em tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza, *Sotalia guianensis*, durante um evento recente de mortalidade atípica associado ao morbilivírus dos cetáceos na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil:

### 2.2 Objetivos específicos

- a) Verificar a influência do morbilivírus dos cetáceos na acumulação e no perfil dos compostos organoclorados em tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza, (*Sotalia guianensis*) em indivíduos encalhados antes, durante e pós o evento de mortalidade atípica (EMA) na Baía de Sepetiba;
- b) comparar a acumulação de compostos organoclorados em tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba em relação ao sexo e maturidade sexual;
- c) verificar a influência da idade e sexo dos indivíduos de boto-cinza (*Sotalia guianensis*) na acumulação dos compostos organoclorados;
- d) averiguar a transferência placentária e lactacional de compostos organoclorados de fêmeas para fetos e neonatos de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba;

- e) verificar a variação temporal nas concentrações de compostos organoclorados entre os anos de 2007-2019 em indivíduos de botos-cinza da Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Área de estudo

A Baía de Sepetiba ( $22^{\circ}54' - 23^{\circ}04'S$ ;  $43^{\circ}34' - 44^{\circ}10'O$ ) está localizada na região sul da cidade do Rio de Janeiro, é um corpo d'água semifechado com  $520 \text{ km}^2$  e perímetro de aproximadamente 170 km. Apresenta profundidade que varia entre dois e 12 metros, com exceção do canal central que tem profundidade acima de 30 metros (SEMADS, 2001). A baía é isolada do mar ao sul pela Restinga da Marambaia, um cordão de areia com 40 km de extensão e 5 metros de largura, e a oeste pela Ilha Grande. Os principais canais de ligação com o mar são: o canal central, localizado entre a Ponta Grossa na Ilha da Marambaia e a Ponta dos Castelhanos, na Ilha Grande; o canal entre o continente e as ilhas de Jaguanum e Itacuruça; e o canal na Barra de Guaratiba, no final da Restinga da Marambaia.

Com 49 ilhas e ilhotas, a Baía de Sepetiba pode ser dividida em duas principais regiões: interna, a leste, e externa, a oeste. A ilha de Jaguanum está localizada no meio da baía e delimita essas áreas (PESSANHA & ARAÚJO, 2003). Tais regiões apresentam diferenças em suas características, principalmente em virtude da circulação da água e sedimento. A região externa apresenta maior circulação em consequência à maior proximidade com o Oceano Atlântico e possui sedimento principalmente arenoso. Já na região interna, onde a circulação de água do mar é menor e tem um grande aporte dos rios que desembocam na baía, o sedimento é predominantemente lamoso (FEEMA, 2006; TUBBS-FILHO et al., 2012). O tempo de residência e renovação da água na baía é de aproximadamente 4 dias, sendo o regime de marés o principal fator para a circulação das águas, assim como os ventos e a descarga dos rios que compõem a bacia de drenagem da Baía de Sepetiba (SEMADS, 2001).

Fazem parte da bacia da Baía de Sepetiba diversos rios que drenam efluentes de pelo menos 12 cidades que estão integralmente ou não na área da bacia. Essas cidades são: Itaguaí, Japeri, Mangaratiba, Miguel Pereira, Nova Iguaçu, Queimados, Rio Claro, Seropédica, Pirai, Paracambi, Engenheiro Paulo de Frontin, e Rio de Janeiro. O Rio Guandu e o canal de São Francisco são os principais provedores de águas fluviais para Baía de Sepetiba. Em 1950 quando houve a transposição do Rio Paraíba do Sul (SEMADS, 2001; MACEDO, 2004),

diversas modificações foram observadas na Baía de Sepetiba, como por exemplo, o assoreamento da Praia de Sepetiba (MONTEZUMA, 2007), isso pelo aumento do fluxo de água e o aporte de sedimentos na região (MOLISANI et al., 2006).

A partir da década de 1970, com o aumento industrial e com o desenvolvimento portuário, os impactos ambientais se intensificaram, principalmente em relação à contaminação do meio abiótico e biótico (MOLISANI et al, 2004; FERREIRA et al., 2010). O censo realizado pelo IBGE em 2010 contabilizou pelo menos sete milhões de habitantes nos municípios que fazem parte da bacia de drenagem da Baía de Sepetiba (IBGE, 2013) e as principais atividades econômicas dessa região são o comércio, indústrias e agropecuária (SEMADS, 2001). Estudos relatam elevadas concentrações de contaminantes como metais pesados (ROCHA et al., 2010; MOREIRA, 2015), e também compostos organoclorados (LAILSON-BRITO et al., 2010; ROCHA et al., 2010; FERREIRA et al., 2010; FERREIRA, 2012; FERREIRA & WERMELINGER, 2013) na água, sedimento, peixes, aves e mamíferos marinhos. Galvão e colaboradores (2014) observaram a presença de compostos organoclorados em diferentes matrizes na Baía de Sepetiba, desde sólidos em suspensão, sedimento e em invertebrados filtradores. Tal estudo indica que a contaminação pelos compostos organoclorados está presente na base da teia trófica, o que pode vir a ser um grave problema para animais de elevado nível trófico como o boto-cinza.

### 3.2 Amostragem

A amostragem do presente estudo foi realizada a partir da coleta de 85 indivíduos de botos-cinza, *Sotalia guianensis*, encontrados encalhados ou boiados na região da Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Sudeste do Brasil entre os anos de 2011 e 2019 (Tabela 1; Figura 7). Assim que recolhidos, foram levados para realização da necropsia no Laboratório de Mamíferos Aquáticos e Bioindicadores “Profª Izabel M.G. do N. Gurgel” (MAQUA/UERJ). Os indivíduos foram fotografados e medidos externamente para obtenção do comprimento total (CT). As amostras foram coletadas de animais em estágio de decomposição *Code 2* (morte recente) e *Code 3* (decomposição moderada) (GERACI & LOUNSBURY, 2005). O sexo dos botos-cinza foi determinado por meio da análise das gônadas durante as necropsias.

Os dados dos anos de 2007-2008 que fazem parte das análises de variação temporal foram utilizados de Vidal (2010). É importante ressaltar que a preparação e análise dos compostos organoclorados seguiram os mesmos protocolos do presente estudo.

As amostras de tecido adiposo subcutâneo, para a análise de compostos organoclorados, foram coletadas com uso de bisturi de aço inoxidável. O tecido, contendo o tamanho de aproximadamente 5x5 cm foi retirado da região logo abaixo da nadadeira dorsal, na lateral esquerda dos indivíduos. Após coletadas, as amostras foram envoltas em papel alumínio e acondicionadas a -20°C em freezer, até o momento da análise. Para a estimativa de idade dos botos-cinza, foram coletados aproximadamente 5 dentes da mandíbula esquerda. Foram escolhidos os dentes mais retilíneos e menos gastos, a fim de minimizar erros na análise (DIETZ et al., 1991). Os dentes foram macerados em água para retirada do tecido mole e armazenados em sacos *ziplock* até o momento da análise.

Tabela 1- Botos-cinza (*Sotalia guianensis*) coletados entre os anos de 2011 e 2019 na Baía de Sepetiba, Brasil. (Continua)

ID	Code	Ano	Sexo	ID	Code	Ano	Sexo
Sg#1a	3	2011	F	Sg#44	2	2017	F
Sg#2a*	2	2011	M	Sg#45	3	2017	M
Sg#3	3	2014	M	Sg#46	3	2017	F
Sg#4	3	2014	F	Sg#47	2	2017	M
Sg#5	3	2014	M	Sg#48	2	2017	M
Sg#6	3	2014	M	Sg#49	3	2017	M
Sg#7	2	2014	M	Sg#50*	2	2017	M
Sg#8	2	2014	F	Sg#51	3	2017	F
Sg#9	3	2014	M	Sg#52	2	2017	F
Sg#10	2	2014	F	Sg#53	3	2017	F
Sg#11	2	2014	F	Sg#54	3	2017	M
Sg#12	3	2014	F	Sg#55	3	2017	M
Sg#13b	2	2014	F	Sg#56	3	2017	F
Sg#14b*	2	2014	F	Sg#57	3	2017	M
Sg#15	3	2014	F	Sg#58	3	2017	F
Sg#16	2	2014	M	Sg#59	2	2017	M
Sg#17	3	2014	M	Sg#60	3	2017	M
Sg#18	3	2014	F	Sg#61	3	2017	F
Sg#19	3	2014	M	Sg#62	3	2017	M
Sg#20	3	2014	F	Sg#63	3	2017	M
Sg#21	3	2014	M	Sg#64	3	2017	M
Sg#22	3	2014	M	Sg#65	3	2017	M
Sg#23	3	2014	M	Sg#66	3	2017	F
Sg#24	3	2014	M	Sg#67	3	2017	F
Sg#25	3	2014	M	Sg#68	3	2018	F

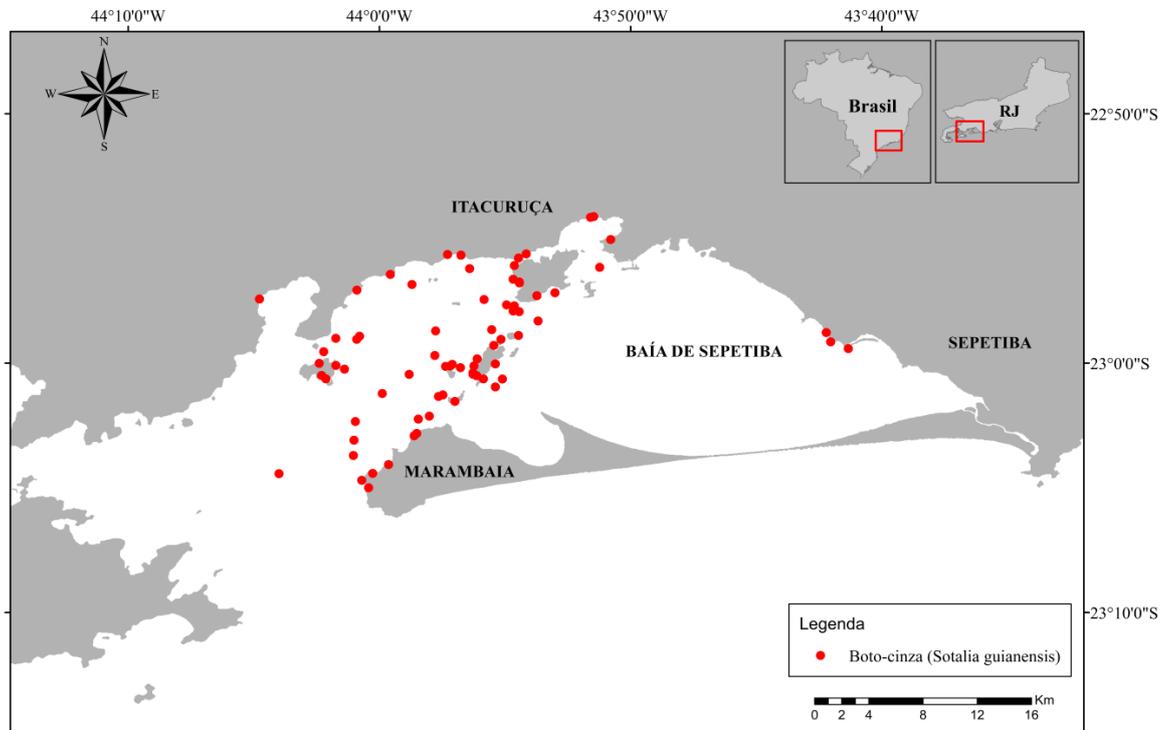
Tabela 1- Botos-cinza (*Sotalia guianensis*) coletados entre os anos de 2011 e 2019 na Baía de Sepetiba, Brasil. (Conclusão)

ID	Code	Ano	Sexo	ID	Code	Ano	Sexo
Sg#26	3	2014	F	Sg#69	3	2018	M
Sg#27	3	2014	M	Sg#70	2	2018	F
Sg#28	3	2015	F	Sg#71	2	2018	F
Sg#29	3	2015	F	Sg#72	3	2018	F
Sg#30	2	2015	M	Sg#73	2	2018	F
Sg#31c	3	2015	F	Sg#74	2	2018	F
Sg#32c*	2	2015	M	Sg#75	2	2018	F
Sg#33d	3	2015	F	Sg#76	2	2018	M
Sg#34d*	2	2015	F	Sg#77	3	2018	F
Sg#35	2	2016	M	Sg#78	2	2018	M
Sg#36	2	2016	M	Sg#79	3	2018	F
Sg#37	2	2016	M	Sg#80	3	2018	F
Sg#38	2	2017	F	Sg#81	3	2018	M
Sg#39	3	2017	F	Sg#82	3	2018	M
Sg#40	3	2017	F	Sg#83	3	2018	M
Sg#41	3	2017	M	Sg#84	2	2018	M
Sg#42	3	2017	M	Sg#85	2	2019	F
Sg#43	3	2017	F				

Legenda: (ID) Identificação, (Code) Código de decomposição, ano de coleta e sexo (F) fêmeas e (M) machos. Letras iguais correspondem a mães e fetos. Fetos identificados com \*

Fonte: A autora, 2020.

Figura 7 – Mapa do local de encalhe dos botos-cinza da Baía de Sepetiba analisados no presente estudo.



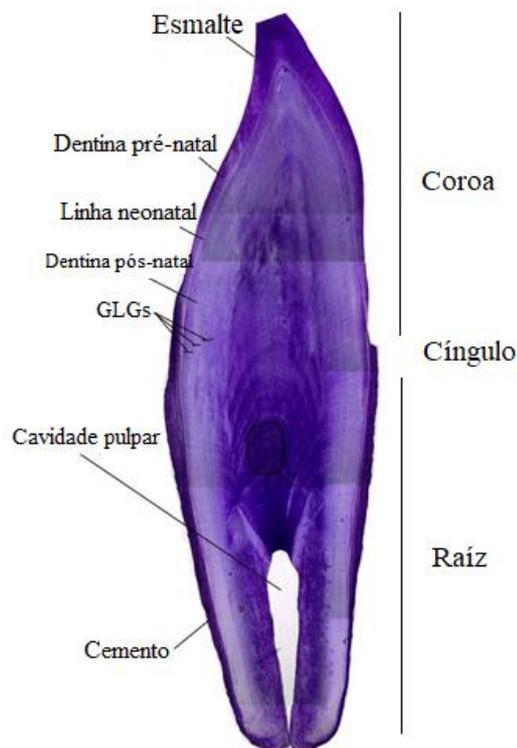
Fonte: A autora, 2020.

### 3.3 Estimativa de idade e maturidade sexual

A idade de 80 indivíduos amostrados foi estimada por meio da contagem dos grupos de camadas de crescimento (*Growth Layer Groups*, GLGs) presentes na dentina dos dentes (DIETZ et al., 1991;). Para cada indivíduo, foi selecionado preferencialmente o dente central da mandíbula inferior esquerda, para ser cortado em sua região central, desde a base até o ápice, utilizando-se serra metalográfica de baixa rotação (Buehler®) com lâmina de borda diamantada série 15HC. Este segmento foi imerso em formol 10% por 6 horas e, em seguida, lavado em água corrente, para posterior imersão em descalcificador comercial RDO® por mais 6 horas. Após a descalcificação, o dente foi cortado em lâminas com 25 µm de espessura utilizando micrótomo de deslizamento (Leica SM2000) conectado a um sistema de congelamento (Physitemp®). Os cortes foram corados com hematoxilina de Mayer, após

intensificação da cor por meio da imersão em amônia diluída, e imersão em glicerina para fixação e montagem em lâminas histológicas. Estas foram observadas e fotografadas em microscópio óptico sob aumento de 40x (Olympus) para que identificação e contagem das GLGs (Figura 8). O processo de contagem das GLGs foi realizado por dois leitores independentes, de maneira a obter a idade estimada de cada indivíduo. Quando ocorreu divergência entre a contagem dos dois leitores, um terceiro leitor realizou a leituras das GLGs.

Figura 8 – Corte histológico de dente de boto-cinza (*Sotalia guianensis*) com as principais estruturas utilizadas para a leitura da idade.



Fonte: A autora, 2020.

A maturidade sexual de parte dos indivíduos (#Sg1 - #Sg38) do presente estudo foi determinada a partir da análise histológica das gônadas dos machos, e análise visual das gônadas das fêmeas (Santos-Neto, 2017). Já para os indivíduos restantes (#Sg39 - #Sg85) a maturidade sexual foi realizada com análise visual das gônadas. Os animais que não foram determinados com análise visual seguiram as estimativas de Santos-Neto (2017) onde a maturidade sexual estimada para os botos-cinza residentes da Baía de Sepetiba é de 7,3 anos

(comprimento total entre 171 e 176 cm) para os machos, e 6,5 anos (comprimento total entre 183 e 188 cm) para as fêmeas.

### 3.4 Análise dos compostos organoclorados

#### 3.4.1 Descontaminação da vidaria e reagentes

Toda vidraria utilizada no presente estudo foi previamente descontaminada a fim de não haver interferentes químicos na análise. As vidrarias foram lavadas com detergente neutro, enxaguadas em água corrente e rinsadas com água destilada. As vidrarias não volumétricas foram colocadas em forno mufla (*Jung, modelo 010*) com rampa de aquecimento do forno de 10°C por minuto, com temperatura final de 450°C e ciclo de 6 horas. Já as vidrarias volumétricas foram deixadas em banho com Extran neutro (20%) por 48 horas. Assim que retiradas do banho e enxaguadas com água destilada, foram, por fim, rinsadas com acetona e mistura 1:1 de diclorometano e n-hexano e deixadas em temperatura ambiente até secar. Todo material após descontaminação foi envolto em papel alumínio. Assim como as vidrarias não volumétricas, o sulfato de sódio anidro foi descontaminado em forno mufla com a mesma rampa de aquecimento. Os filtros de papel utilizados na extração foram descontaminados com mistura 1:1 de diclorometano e n-hexano durante 8 horas em sistema *soxhlet*.

### 3.4.2 Pureza dos reagentes e gases

Os reagentes utilizados no presente estudo apresentavam alto grau de pureza a fim de minimizar a contaminação. Acetona P.A. (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O) - Tedia®, n-Hexano HPLC e P.A. (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) - Tedia®, Merck® e JTBaker®, Diclorometano HPLC e P.A. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) - Tedia® e Merck®. Sulfato de Sódio Anidro P.A. (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) Biograde e Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) - Tedia® e Merck®. Os gases utilizados (Nitrogênio e Hidrogênio) apresentavam grau de pureza de 99,9%.

### 3.4.3 Certificação da metodologia

A validação da metodologia foi feita a partir de padrão certificado de tecido adiposo de baleia-piloto (SRM 1945, do *National Institute of Standards and Technology* – NIST) com critérios baseado em Wade & Cantillo (1994) aceitando concentrações entre 65% e 135% das recuperações dos padrões internos (PI) (PCB 103 + PCB 198). As recuperações para cada um dos compostos analisados estão dispostas na Tabela 2.

Tabela 2 – Compostos organoclorados validados e respectivas taxas de recuperação.

Composto	Recuperação	Composto	Recuperação	Composto	Recuperação	Composto	Recuperação
HCB	76,36	Mirex	105,99	PCB 141	111,66	PCB 199	119,03
α - HCH	71,04	PCB 8	70,65	PCB 138	125,16	PCB 195	131,79
β - HCH	70,05	PCB 28	68,89	PCB 158	108,31	PCB 194	131,32
γ - HCH	99,47	PCB 44	101,81	PCB 187	103,58	PCB 206	104,26
δ - HCH	70,98	PCB 101	105,94	PCB 183	84,36	PCB 209	116,92
<i>p,p'</i> - DDE	67,02	PCB 151	105,04	PCB 177	107		
<i>p,p'</i> - DDD	83,06	PCB 118	109,7	PCB 180	109,83		
<i>p,p'</i> - DDT	124,14	PCB 153	90,89	PCB 170	116,93		

Fonte: A autora, 2020.

Para o presente estudo foram validados 21 congêneres de PCBs (8, 28, 44, 101, 118, 151, 153, 141, 138, 158, 187, 183, 177, 180, 170, 199, 203, 195, 194, 206 e 209), três isômeros de DDT (*p,p'* - DDT, *p,p'* - DDD, *p,p'* - DDE), quatro isômeros de HCH ( $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH e  $\delta$ -HCH), HCB e Mirex.

#### 3.4.4 Limite de detecção instrumental

O limite de detecção do equipamento foi calculado a partir do desvio padrão multiplicado por três de cinco injeções do ponto de 80 ng/mL da curva analítica (item 3.4.9). Os valores do limite de detecção instrumental estão dispostos na tabela 3. Já o limite de detecção do método para quantificação das amostras foi realizado a partir do limite de detecção instrumental dividido pelo peso lipídico médio das amostras (0,24).

Tabela 3– Limite de detecção instrumental expresso em ng/mL e limite de detecção do método para os compostos organoclorados expresso em ng/g.

Composto	LDI	LDM	Composto	LDI	LDM	Composto	LDI	LDM	Composto	LDI	LDM
HCB	0,33	1,37	Mirex	0,52	2,16	PCB 141	0,48	2,00	PCB 199	0,6	2,50
$\alpha$ -HCH	0,48	2,00	PCB 8	2,2	9,16	PCB 138	0,6	2,50	PCB 195	1,07	4,45
$\beta$ -HCH	0,46	1,91	PCB 28	0,37	1,54	PCB 158	0,56	2,33	PCB 194	1,68	2,83
$\gamma$ -HCH	0,43	1,79	PCB 44	0,4	1,66	PCB 187	0,39	1,62	PCB 206	1,15	4,79
$\delta$ -HCH	0,40	1,66	PCB 101	0,28	1,16	PCB 183	0,44	1,83	PCB 209	1,08	4,50
<i>p,p'</i> -DDE	0,29	1,20	PCB 151	0,28	1,16	PCB 177	0,55	2,29			
<i>p,p'</i> -DDD	0,89	3,70	PCB 118	0,31	1,29	PCB 180	0,69	2,87			
<i>p,p'</i> -DDT	0,32	1,33	PCB 153	0,55	2,29	PCB 170	0,98	4,08			

Legenda: (LDI) Limite de detecção instrumental, (LDM) Limite de detecção do método.

Fonte: A autora, 2020.

### 3.4.5 Solução padrão dos compostos organoclorados

As soluções padrão utilizadas no presente trabalho foram adquiridas do laboratório Internacional AccuStandard®. A solução para os compostos organoclorados pesticidas foi a *Pesticide Mix* e foi utilizada como padrão para os pesticidas *p,p'* - DDT, *p,p'*- DDD, *p,p'* - DDE,  $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH e  $\delta$ -HCH, HCB e Mirex. Já para os PCBs foram utilizados dois padrões, o *WHO/NIST/NOAA Congener List* para os congêneres de PCBs (8, 28, 44, 101, 118, 138, 153, 170, 180, 187, 195, 206 e 209) e o *PCB Congener Mix for West Coast Fish Studies* para os congêneres (PCB 151, 141, 158, 177, 194, 199, 183).

Os padrões internos utilizados foram o PCB 198 (2,2',3,3',4,5,5',6-Octachlorobiphenyl *Individual Congener*, com 100% de pureza), PCB 103 (2,2',4,5'6-Pentachlorobiphenyl *Individual Congener*, com 100% de pureza) e o TCMX (*Surrogate Standard Mix*, com 96% de pureza). Todas as amostras no momento da extração foram fortificadas com 100 ng/mL de PI (PCB 103 + PCB 198) e no fim da análise, com o mesmo volume final de TCMX. No presente trabalho as recuperações aceitas foram do PI entre 70% e 130%, sendo a média das amostras de 93.47%  $\pm$  8.03.

### 3.4.6 Extração

O procedimento analítico usado para a determinação de compostos organoclorados foi uma adaptação do método sugerido por Lailson-Brito (2010) e Santos-Neto (2014). Uma alíquota de aproximadamente 0,5g de tecido adiposo subcutâneo foi homogeneizada utilizando gral e pistilo com 3,0g de sulfato de sódio anidro (NO<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e transferido para um filtro de papel previamente descontaminado. Em seguida, foi adicionado padrão interno de PCB 103 e PCB 198 (100 ng/mL), que seguiu para extração contínua em soxhlet com 100ml de n-hexano e diclorometano 1:1 por 8 horas. Após a extração, o volume total foi transferido para um balão volumétrico de 100mL e avolumado com mistura de diclorometano e n-hexano

1:1 e homogeneizado. 5mL do extrato foi retirado para a determinação do conteúdo lipídico (Item 3.4.10).

#### 3.4.7 Purificação do extrato

O extrato foi concentrado em sistema de rota-evaporação, a fim de diminuir o volume da amostra, para em seguida adição de 5mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Por 5min foi realizada a agitação manual do extrato e este foi centrifugado por 1 hora a 2800 rpm até a separação das fases. A fase hexânica foi retirada e adicionado 3mL de n-hexano e repetido o processo de agitação e centrifugação. Após a lavagem com n-hexano, o extrato foi reduzido em fluxo de nitrogênio e transferido para um *vial* e adicionado 1000µL de padrão interno TCMX.

#### 3.4.8 Condições cromatográficas, integração e quantificação dos analitos

A determinação das concentrações foi realizada em um cromatógrafo de fase gasosa (*Agilent Technologies 7890*) com detector de captura de elétrons NI<sup>63</sup> e injetor automático (*Agilent Technologies 7683B*). A temperatura do injetor e detector foi de 280°C e 320°C respectivamente. Foi usada uma coluna capilar de sílica fusionada DB-5 (*Agilent Technologies*, 30m x 0,25 id.mm e espessura de filme de 1µm). A temperatura da coluna foi programada para começar em 70°C por 1 min, aumentou em uma taxa de 40°C por minuto até chegar a 170°C, posteriormente a taxa de aquecimento foi de 1,5°C por min até chegar em 240°C, e por último a temperatura aumentou em uma taxa de 15°C por min até chegar em 300°C. Foram injetados 2µL de amostra com o injetor operando sem divisão de fluxo

(*splitless*) por 30 segundos. Hidrogênio (99,999% de pureza) foi utilizado como gás carreador a 13 psi, e nitrogênio como gás auxiliar.

Para aquisição, integração e cálculo dos dados foi utilizado o software *Ezchrom* 3.2.1. A identificação dos compostos foi realizada a partir dos tempos de retenção reconhecidos das soluções padrão. Já a quantificação foi realizada a partir da área dos picos corrigidos pela área do PI (PCB 103). Brancos analíticos foram analisados junto com cada bateria de amostras, e os valores subtraídos do valor dos compostos na quantificação. A recuperação aceita para os brancos foi a mesma que para as amostras, de 70% a 130% do PI.

A confirmação dos picos de cada composto foi realizada a partir da injeção de amostras de indivíduos imaturos e maduros sexualmente de cada sexo em Cromatógrafo de Fase Gasosa (*Agilent Technologies* modelo 6890) acoplado a espectrômetro de massas (*Agilent Technologies* modelo 5975), com injetor automático (*Agilent Technologies* modelo 7683B) e analisador Quadrupólo no modo impacto de elétrons (IE). A fonte operou em modo SIM (*Selected Ion Monitoring*) e o método *Scan* foi utilizado para detecção dos compostos a fim de monitorar os íons primários e secundários de cada molécula preferencial dos compostos organoclorados.

#### 3.4.9 Curva analítica

A curva analítica foi preparada com base nas soluções padrões. Para a construção da curva para cada analito, foram preparadas 10 concentrações esperadas (2, 5, 10, 20, 50, 80, 100, 150, 200 e 250 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Para cada composto foi aceito um percentual de correlação entre os pontos de 99,5% ou  $r=0,995$ .

### 3.4.10 Determinação do conteúdo lipídico

A determinação do conteúdo lipídico foi realizada por meio de gravimetria, pelo método adaptado de Yogui (2003) que consistiu na retirada de 5mL do conteúdo após a extração. A alíquota foi transferida para um *vial* previamente pesado e colocado em estufa a 40°C, para total evaporação do solvente. Após a evaporação, o *vial* foi novamente pesado, a fim de ter o valor do *vial* antes e depois, para determinação do peso lipídico da amostra. O cálculo do percentual lipídico foi realizado a partir da fórmula a seguir:

$$\%Lip = (vial\ depois - vial\ antes * 20) / massa * 100$$

Onde: %Lip, é o conteúdo lipídico;

*Vial* antes, é o *vial* depois de ter ido para estufa;

*Vial* depois, é o *vial* com 5ml do extrato;

Massa, peso de amostras utilizada.

### 3.5 **Análise estatística**

Todos os resultados foram testados em relação à normalidade, a partir do teste de Shapiro-Wilk. O teste apontou normalidade para os dados de percentual lipídico dos indivíduos, assim foi utilizado teste-t de *Student*. Já os dados de concentração dos compostos organoclorados não apresentam normalidade, portanto foram usados testes não paramétricos. Para averiguar as diferenças entre os indivíduos que morreram antes, durante e pós o evento de mortalidade atípica (EMA) pelo morbilivírus dos cetáceos, foram utilizados os testes de *Mann-Whitney* e de *Kruskal-Wallis*, seguido do teste *a posteriori* de comparações múltiplas. O teste de *Mann-Whitney* foi utilizado para verificar a diferença de gênero entre indivíduos neonatos (até dois anos de idade) e imaturos sexualmente e o teste *Kruskal-Wallis* foi

utilizado para averiguar as diferenças entre sexo e maturidade dos botos-cinza na Baía de Sepetiba seguido do teste *a posteriori* de comparações múltiplas. Para verificar a correlação da concentração dos compostos organoclorados em relação à idade dos indivíduos, foi utilizada a correlação de *Spearman* ( $r_s$ ).

A fim de compreender se o padrão de acumulação dos compostos organoclorados difere entre indivíduos imaturos sexualmente, fêmeas maduras e machos maduros foi utilizada a análise de função discriminante. Todas as análises foram realizadas no software *Statistica 7.0*. Para modelar a variação de concentrações de compostos organoclorados nos botos-cinza foi utilizado modelo GAM (*generalized additive models*) com função de ligação logarítmica e distribuição Gamma, usando o pacote “mgcv” na versão 4.0 do software R (R development core, 2020). O modelo final foi selecionado levando em consideração menor valor de Akaike (AIC).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Evento de mortalidade atípica (EMA)

Os resultados descritivos dos parâmetros biológicos e das concentrações dos compostos organoclorados analisados no tecido adiposo subcutâneo de botos-cinza da Baía de Sepetiba estão dispostos na Tabela 4. Os indivíduos foram separados em três momentos: antes do EMA, que constou com animais encalhados de janeiro 2011 a novembro de 2017; durante EMA, animais encalhados entre dezembro de 2017 a março de 2018; e pós EMA animais encalhados entre abril de 2018 até maio de 2019. Todos os valores estão expressos com base no peso lipídico e em ng/g. O congênere PCB 8 apresentou concentrações abaixo do limite de detecção para mais de 50% dos animais analisados, e por isso, foi excluído do ΣPCB.

Tabela 4 – Parâmetros biológicos e concentrações de HCB, ΣHCH, Mirex, ΣDDT e ΣPCB em ng/g lip de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) analisados antes, durante e pós o evento de mortalidade atípica (EMA) na Baía de Sepetiba, Brasil. (Continua)

Maturidade	Período	n	CT	Idade	%Lip	HCB	ΣHCH	Mirex	ΣDDT	ΣPCB
Imaturos	Antes EMA	17	171 ± 9	5 ± 2	35,02 ± 17,59	27,92 ± 32,48	86,333 ± 174,22	314,39 ± 546,36	7338,91 ± 6994,57	59025,41 ± 66257,13
			154 - 186	3 - 9	11,64 - 71,45	<LD - 144,24	<LD - 675,23	<LD - 2177,82	636,69 - 24321,74	6619,20 - 255695,93
			172	5	31,09	23,29	0,58	184,47	6374,90	38897,38
	Durante EMA	6	167 ± 6	5 ± 1	44,26 ± 12,61	26,80 ± 9,89	136,64 ± 104,51	84,84 ± 76,20	3288,941 ± 1223,18	29988,10 ± 14029,96
			160 - 176	4 - 7	27,04 - 61,14	17,27 - 42,81	19,01 - 301,33	<LD - 190,20	1731,39 - 4737,26	15378,52 - 44886,97
			166	5	45,29	24,8	136,44	95,26	3650,96	26644,42
	Pós EMA	2	173 ± 2	8 ± 1	19,42 ± 6,60	21,28 ± 5,53	24,73 ± 1,62	229,03 ± 43,35	5379,14 ± 404,65	77501,99 ± 10457,06
			171 - 174	7 - 8	14,75 - 24,09	17,37 - 25,19	23,58 - 25,87	198,37 - 259,68	5093,00 - 5665,27	70107,73 - 84896,24
			173	8	19,42	21,28	24,73	229,03	5379,14	77501,99
Fêmeas maduras	Antes EMA	14	185 ± 5	13 ± 4	41,17 ± 13,33	9,75 ± 11,18	52,88 ± 131,58	104,37 ± 93,56	1320,69 ± 1523,48	12844,51 ± 15044,55
			178 - 195	5 - 18	16,23 - 65,78	<LD - 32,66	<LD - 479,04	<LD - 290,32	82,44 - 5737,13	979,86 - 50609,49
			185	13	42,18	6,93	0,58	88,86	723,73	5823,92
	Durante EMA	7	184 ± 5	19 ± 8	30,67 ± 20,94	5,12 ± 5,49	25,16 ± 42,61	147,71 ± 342,84	1224,62 ± 1147,36	16032,57 ± 20165,43
			176 - 190	10 - 28	1,88 - 55,35	<LD - 13,41	4,56 - 121,20	<LD - 924,36	91,93 - 2845,41	1766,67 - 57517,17
			185,00	16	37,86	3,20	9,38	21,17	794,77	8539,55
Machos maduros	Antes EMA	10	192 ± 6	13 ± 6	30,59 ± 18,08	27,61 ± 26,40	72,29 ± 103,31	763,43 ± 1365,15	8500,81 ± 6533,47	72308,55 ± 49656,69
			183 - 202	7 - 23	10,27 - 54,57	<LD - 83,72	<LD - 262,87	<LD - 4555,70	2505,52 - 23832,16	19044,66 - 171406,30
			194	12	23,12	18,44	4,15	279,66	6054,1	53707,81

Tabela 4 – Parâmetros biológicos e concentrações de HCB, ΣHCH, Mirex, ΣDDT e ΣPCB em ng/g lip de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) analisados antes, durante e pós o evento de mortalidade atípica (EMA) na Baía de Sepetiba, Brasil.(Conclusão)

	Período	n	CT	Idade	%Lip	HCB	ΣHCH	Mirex	ΣDDT	ΣPCB
Machos maturados	Durante EMA	5	185 ± 13	15 ± 6	29,77 ± 25,19	67,27 ± 56,04	484,02 ± 764,19	448,35 ± 635,91	50370,31 ± 59368,50	279514,67 ± 333000,12
			162 - 195	7 - 21	1,81 - 56,19	9,12 - 157,97	<LD - 1766,72	<LD - 1455,74	1769,82 - 130385,66	20191,53 - 738827,55
			190,00	18	41,43	56,19	39,39	80,73	15102,60	58277,58
	Pós EMA	3	188 ± 4	18 ± 12	33,70 ± 19,32	16,05 ± 9,20	35,23 ± 17,12	362,36 ± 446,87	8144,37 ± 9275,88	71917,99 ± 59727,46
			184 - 192	11 - 31	13,71 - 52,27	5,96 - 23,98	17,92 - 52,16	76,02 - 877,27	1467,99 - 18735,93	18145,92 - 136204,46
			188	11	35,11	18,21	35,61	133,78	4229,20	61403,60

Legenda: (n) número amostral, (CT) comprimento total em centímetros, (%Lip) conteúdo lipídico, (<LD) abaixo do limite de detecção, dados de média e desvio padrão, valores mínimos – máximos e mediana.

Para nenhum dos grupos foi encontrada diferença entre o percentual lipídico de antes, durante e pós EMA (*Student* p-valor>0.05). Para os indivíduos imaturos sexualmente, as concentrações não diferiram entre os períodos antes, durante e pós EMA (teste de *Kruskal-Wallis* p-valor >0.05) (Tabela 5). As fêmeas de antes e durante o evento não demonstraram diferença na maioria das concentrações de PCBs, DDTs, HCB, HCHs e Mirex (teste *U* de *Mann-Whitney* p>0,05, Gráficos 1, 2, 3, 4 e 5), com exceção do PCB 28 em que as concentrações foram maiores durante o EMA (*Mann-Whitney* p<0,05) (Tabela 5). Também para os machos maduros, não houve diferença nas concentrações do antes, durante e pós EMA para nenhum dos compostos organoclorados (teste de *Kruskal-Wallis* p>0,05) (Tabela 5; Gráfico 1). Durante o evento de mortalidade, dois indivíduos machos apresentaram percentual lipídico de 1,81% e 3,83%, expressando as maiores concentrações para todos os compostos (Gráficos 1, 2, 3, 4 e 5).

Tabela 5 – Resultado (p-valor) dos testes de *Mann-Whitney* para fêmeas maduras e *Kruskal-Wallis* para os indivíduos imaturos e machos maduros dos botos-cinza (*Sotalia guianensis*) antes, durante e após o evento de mortalidade atípica (EMA) causada pelo morbilivírus dos cetáceos. (Continua)

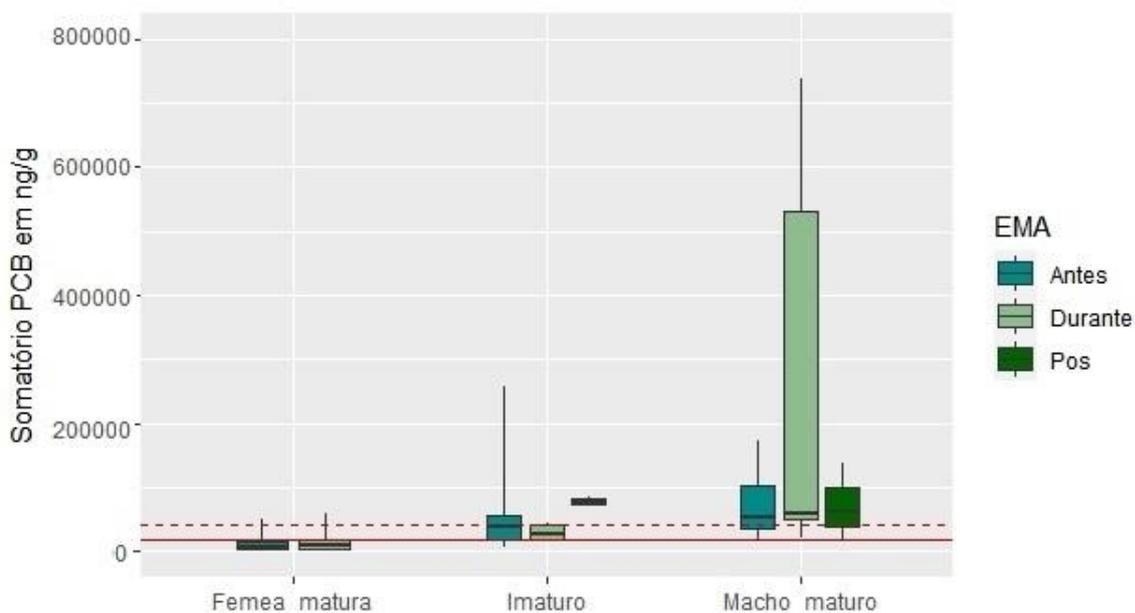
	<b>Imaturos</b>	<b>Fêmeas maduras</b>	<b>Machos maduros</b>
	Antes/Durante/Após	Antes /Durante	Antes/Durante/Pós
HCB	H <sub>2,25</sub> =0,44 p =0,80	0,82	H <sub>2,18</sub> =2,85 p =0,24
α - HCH	H <sub>2,25</sub> =3,35 p =0,18	0,52	H <sub>2,18</sub> =0,32 p =0,85
β - HCH	H <sub>2,25</sub> =2,45 p =0,29	0,22	H <sub>2,18</sub> =2,64 p =0,26
γ - HCH	H <sub>2,25</sub> =4,13 p =0,12	0,12	H <sub>2,18</sub> =0,55 p =0,75
δ - HCH	H <sub>2,25</sub> =1,02 p =0,59	0,08	H <sub>2,18</sub> =4,56 p =0,10
ΣHCH	H <sub>2,25</sub> =4,07 p =0,13	0,12	H <sub>2,18</sub> =4,68 p =0,09
Mirex	H <sub>2,25</sub> =3,34 p =0,18	0,18	H <sub>2,18</sub> =0,88 p =0,64
PCB 28	H <sub>2,25</sub> =2,17 p =0,33	<b>0,04</b>	H <sub>2,18</sub> =2,63 p =0,26
PCB 44	H <sub>2,25</sub> =1,23 p =0,54	0,20	H <sub>2,18</sub> =0,66 p =0,71
PCB 101	H <sub>2,25</sub> =1,78 p =0,40	0,77	H <sub>2,18</sub> =1,64 p =0,44
PCB 151	H <sub>2,25</sub> =2,58 p =0,27	0,60	H <sub>2,18</sub> =0,36 p =0,83
PCB 118	H <sub>2,25</sub> =3,30 p =0,19	0,23	H <sub>2,18</sub> =0,02 p =0,98
PCB 153	H <sub>2,25</sub> =2,86 p =0,23	0,94	H <sub>2,18</sub> =0,79 p =0,67
PCB 141	H <sub>2,25</sub> =2,20 p =0,33	0,65	H <sub>2,18</sub> =1,16 p =0,55
PCB 138	H <sub>2,25</sub> =3,90 p =0,14	0,82	H <sub>2,18</sub> =0,70 p =0,70
PCB 158	H <sub>2,25</sub> =2,19 p =0,33	0,71	H <sub>2,18</sub> =0,78 p =0,67
PCB 187	H <sub>2,25</sub> =2,98 p =0,22	0,76	H <sub>2,18</sub> =0,34 p =0,84
PCB 183	H <sub>2,25</sub> =2,00 p =0,36	0,77	H <sub>2,18</sub> =0,73 p =0,69
PCB 177	H <sub>2,25</sub> =2,58 p =0,27	0,23	H <sub>2,18</sub> =0,90 p =0,63
PCB 180	H <sub>2,25</sub> =4,42 p =0,10	0,55	H <sub>2,18</sub> =0,88 p =0,64
PCB 170	H <sub>2,25</sub> =0,02 p =0,98	0,60	H <sub>2,18</sub> =1,30 p =0,52
PCB 199	H <sub>2,25</sub> =2,76 p =0,25	0,88	H <sub>2,18</sub> =1,35 p =0,50
PCB 203	H <sub>2,25</sub> =3,36 p =0,18	0,77	H <sub>2,18</sub> =0,45 p =0,79
PCB 195	H <sub>2,25</sub> =3,41 p =0,18	0,46	H <sub>2,18</sub> =0,70 p =0,70

Tabela 5 – Resultado (p-valor) dos testes de *Mann-Whitney* para fêmeas maduras e *Kruskal-Wallis* para os indivíduos imaturos e machos maduros dos botos-cinza (*Sotalia guianensis*) antes, durante e após o evento de mortalidade atípica (EMA) causada pelo morbilivírus dos cetáceos. (Conclusão)

	<b>Imaturos</b>	<b>Fêmeas maduras</b>	<b>Machos maduros</b>
	Antes/Durante/Após	Antes /Durante	Antes/Durante/Pós
PCB 194	$H_{2,25} = 2,97$ p =0,22	0,88	$H_{2,18} = 0,80$ p =0,67
PCB 206	$H_{2,25} = 4,20$ p =0,12	0,12	$H_{2,18} = 1,55$ p =0,45
PCB 209	$H_{2,25} = 0,28$ p =0,86	0,62	$H_{2,18} = 0,20$ p =0,86
$\Sigma$ PCB	$H_{2,25} = 2,97$ p =0,22	0,82	$H_{2,18} = 0,54$ p =0,76
<i>p.p'</i> - DDE	$H_{2,25} = 3,48$ p =0,17	0,71	$H_{2,18} = 2,05$ p =0,35
<i>p.p'</i> - DDD	$H_{2,25} = 0,12$ p =0,94	0,94	$H_{2,18} = 2,40$ p =0,30
<i>p.p'</i> - DDT	$H_{2,25} = 3,44$ p =0,17	0,33	$H_{2,18} = 3,67$ p =0,15
$\Sigma$ DDT	$H_{2,25} = 2,03$ p =0,36	1,00	$H_{2,18} = 1,71$ p =0,42

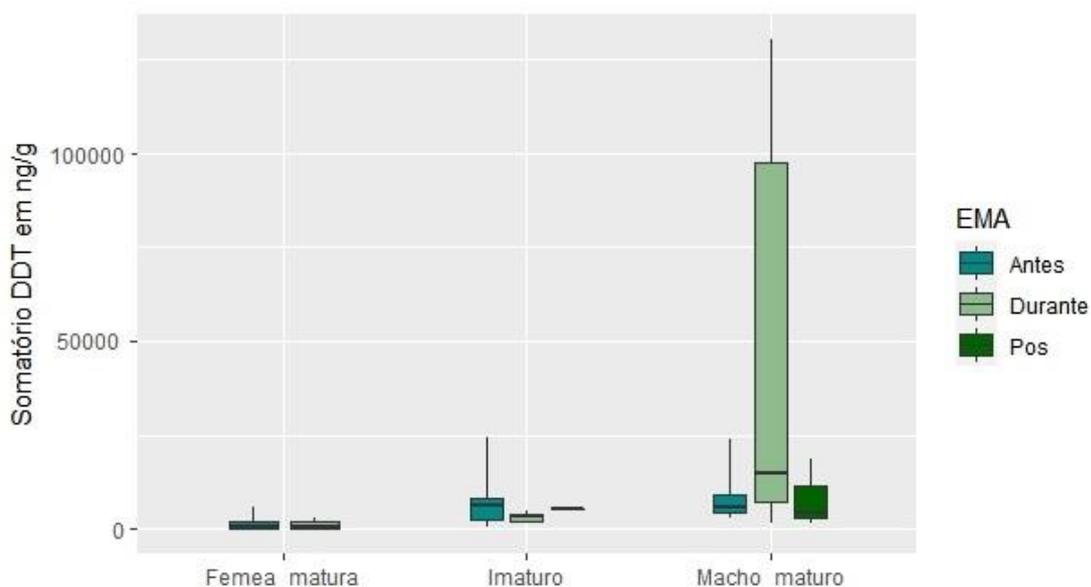
Para muitos botos-cinza, os níveis de PCBs excederam os limites tóxicos conhecidos para mamíferos marinhos. Em 100% dos machos maduros (18 de 18), 28% das fêmeas maduras (6 de 21) e 76% (19 de 25) tiveram a concentração de  $\Sigma$ PCB acima do limite proposto por Kannan e colaboradores (2000) de 17000 ng/g lip que é responsável por efeitos deletérios no sistema imunológico e reprodutivo de mamíferos marinhos. O limite superior de 41000 ng/g lip  $\Sigma$ PCB proposto por Helle e colaboradores (1976) foi excedido em 72% dos machos maduros (13 de 18), 9% das fêmeas maduras (2 de 21) e 48% (12 de 25) de indivíduos sexualmente imaturos, incluindo machos e fêmeas (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Mediana (linha contínua), percentis 25% e 75%, mínimo e máximo das concentrações do  $\Sigma$ PCB em imaturos, fêmeas maduras e machos maduros de boto-cinza (*Sotalia guianensis*) antes, durante e pós EMA. Na linha vermelha sólida limite tóxico de 17000 ng/g lip e em vermelho tracejado o limite tóxico de 41000 ng/g lip.



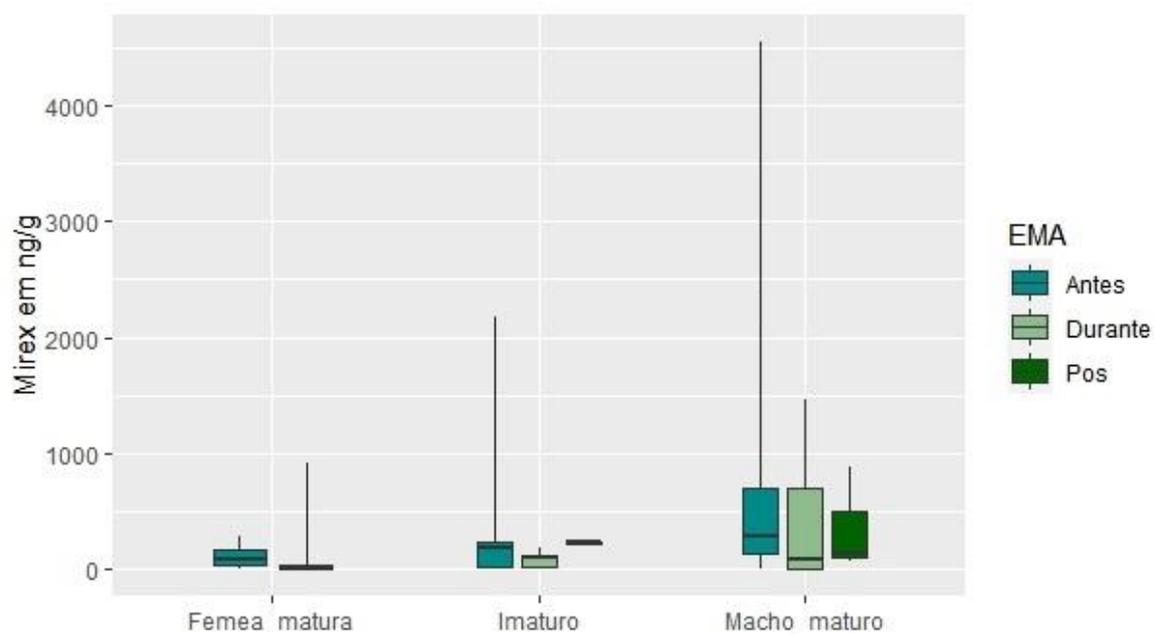
Fonte: A autora, 2020.

Gráfico 2 – Mediana (linha contínua), percentis 25% e 75%, mínimo e máximo das concentrações do  $\Sigma$ DDT em imaturos, fêmeas maduras e machos maduros de boto-cinza (*Sotalia guianensis*) antes, durante e pós EMA.



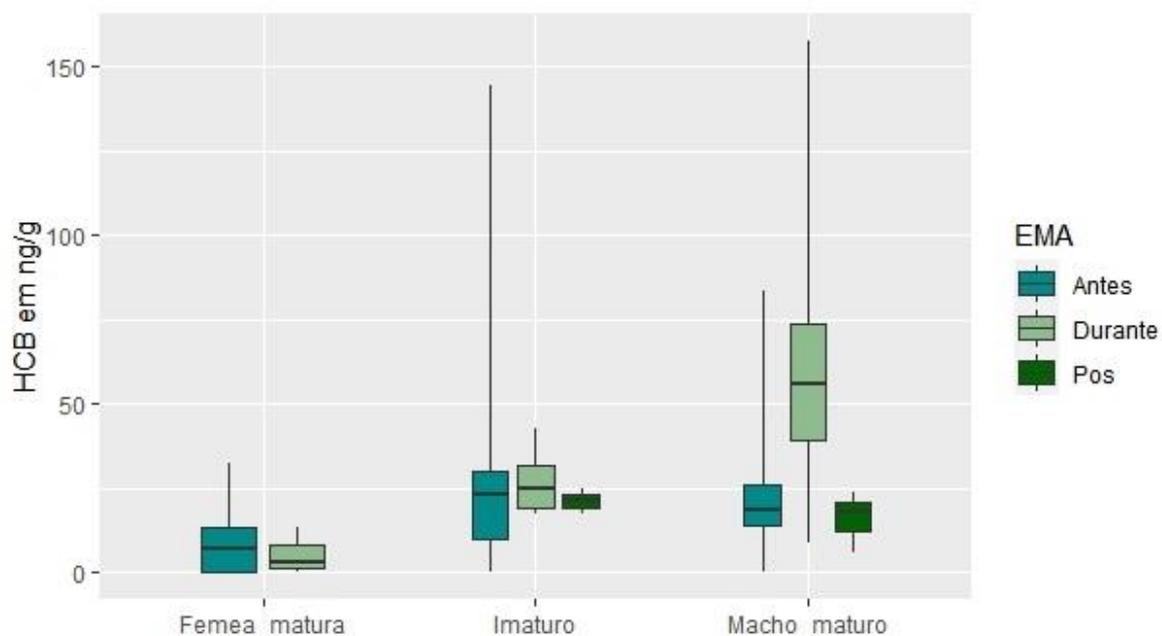
Fonte: A autora, 2020.

Gráfico 3 – Mediana, percentis 25% e 75%, mínimo e máximo das concentrações do Mirex em imaturos, fêmeas maduras e machos maduros de boto-cinza (*Sotalia guianensis*) antes, durante e pós EMA.



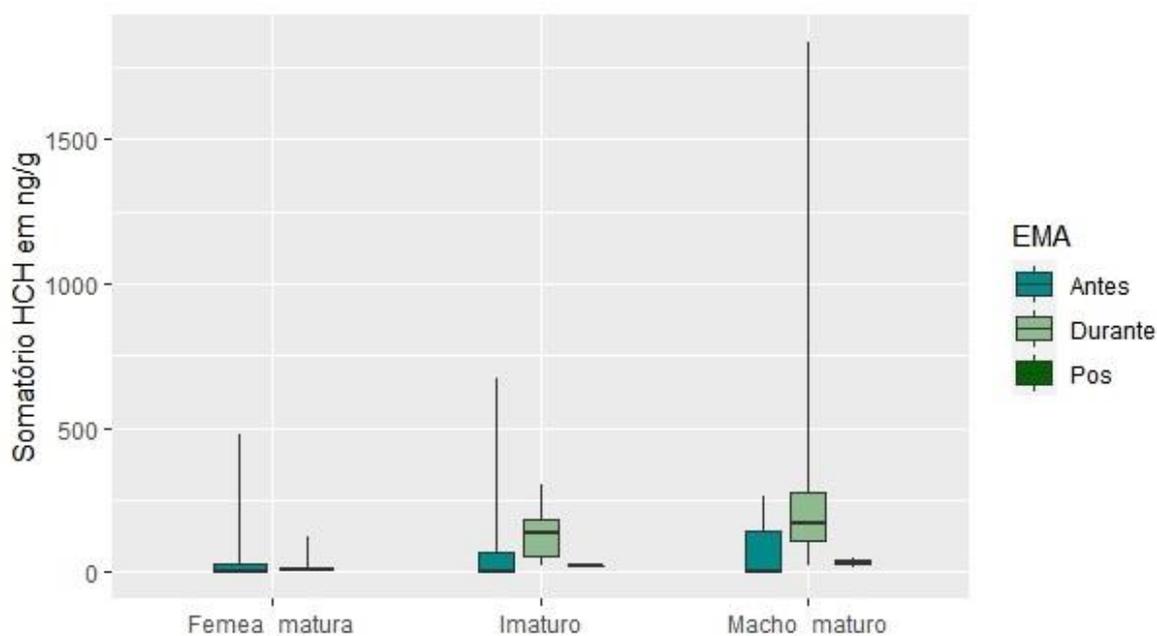
Fonte: A autora, 2020.

Gráfico 4 – Mediana, percentis 25% e 75%, mínimo e máximo das concentrações do HCB em imaturos, fêmeas maduras e machos maduros de boto-cinza (*Sotalia guianensis*) antes, durante e pós EMA.



Fonte: A autora, 2020.

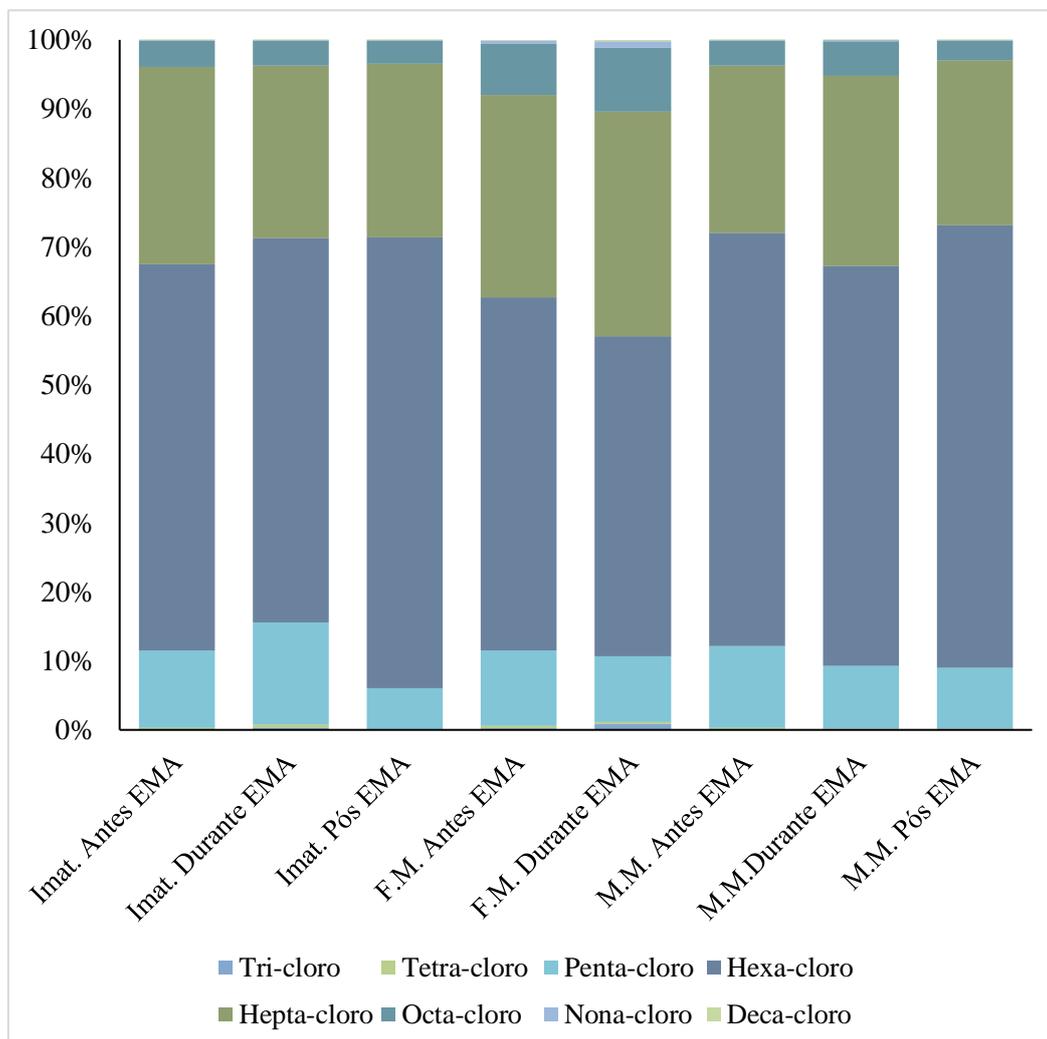
Gráfico 5 – Mediana, percentis 25% e 75%, mínimo e máximo das concentrações do ΣHCH de imaturos, fêmeas maduras e machos maduros de boto-cinza (*Sotalia guianensis*) antes, durante e pós EMA.



Fonte: A autora, 2020.

O perfil de contribuição para indivíduos imaturos antes, durante e pós EMA em relação aos PCBs mais clorados permaneceu igual, no entanto com um perfil diferente em relação aos PCBs mais leves tri, tetra e penta-cloro. Além disso, os indivíduos imaturos durante o EMA apresentam um maior percentual desses compostos que indivíduos de antes do EMA (Gráfico 6). Fêmeas maduras durante o evento exibiram um maior percentual de PCBs pesados em relação às fêmeas antes do evento, assim como também os PCBs leves tri-cloro. O perfil de PCBs hexa, hepta, octa e nona permaneceram similares (Gráfico 6). Já para os machos maduros o perfil de PCBs permaneceu similar. O perfil dos DDTs e seus metabólitos só teve alteração nos indivíduos imaturos e machos maduros pós EMA, com uma maior contribuição do metabólito *p.p'*-DDE (Gráfico 7).

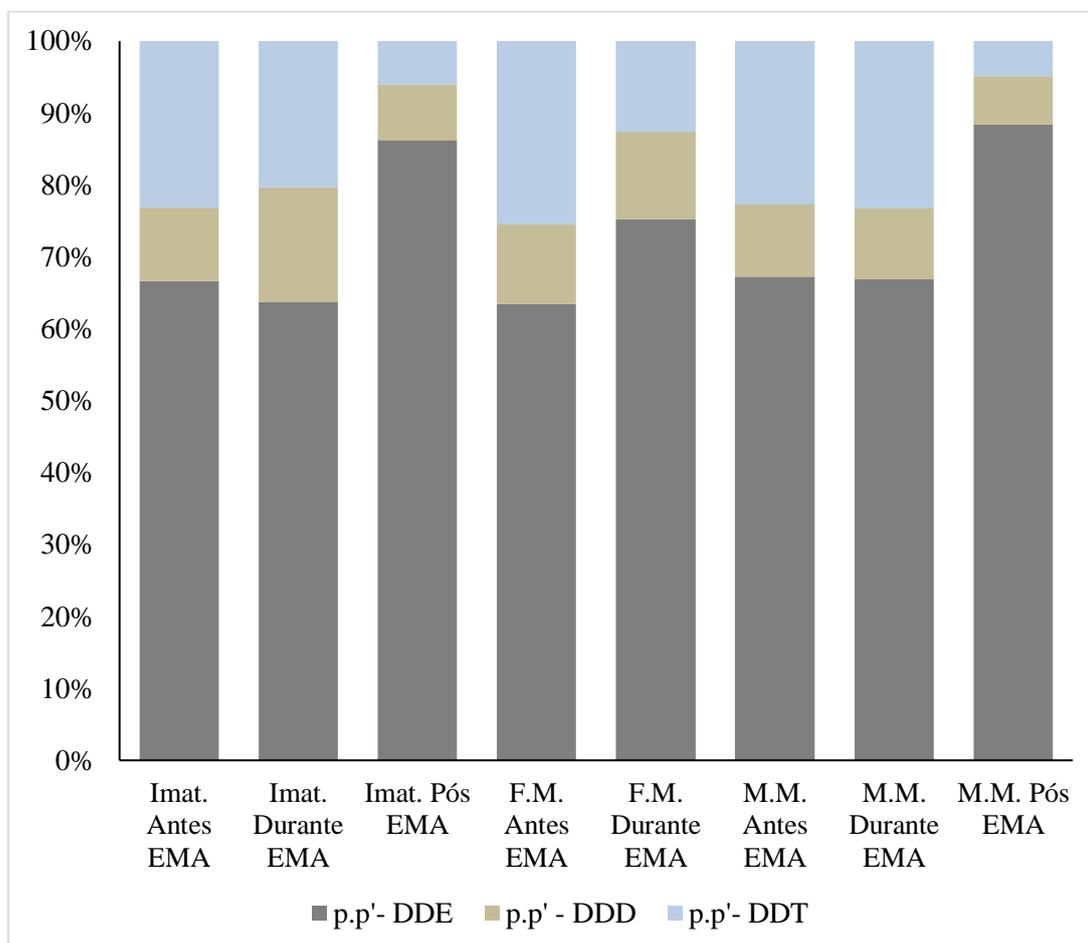
Gráfico 6 – Perfil dos diferentes congêneres de PCBs separados pelo grau de cloração em indivíduos imaturos, fêmeas maduras e machos maduros, antes, durante e pós o EMA.



Legenda: Imat. (Imaturos); F.M. (Fêmeas maduras) e M.M. (Machos maduros).

Fonte: A autora, 2020.

Gráfico 7 – Perfil do ΣDDT em indivíduos imaturos, fêmeas maduras e machos maduros, antes, durante e pós EMA.



Legenda: Imat. (Imaturos); F.M. (Fêmeas maduras) e M.M. (Machos maduros).

Fonte: A autora, 2020.

#### 4.2 Influência dos parâmetros biológicos na acumulação de compostos organoclorados

Para a análise dos parâmetros biológicos foram considerados indivíduos sexualmente imaturos, fêmeas maduras e machos maduros. Ambos os grupos não demonstraram diferença nas análises antes, durante e pós o evento de mortalidade, sendo então considerado um grupo único. Os indivíduos imaturos contaram com animais a partir

de três anos de idade, excluindo então indivíduos de 0 a 2 anos, que compuseram o grupo dos neonatos, analisados separadamente. Indivíduos machos e fêmeas foram agrupados por não haver diferença significativa entre suas concentrações (*Mann-Whitney*  $p > 0,05$ ). Os resultados descritivos estão dispostos no Apêndice.

Para todos os compostos, indivíduos imaturos sexualmente e machos maduros não tiveram diferença estatística em relação às concentrações (teste de *Kruskal-Wallis*  $p > 0,05$ ; Tabela 6). Nos isômeros de HCH (alfa, beta, gama e delta),  $\Sigma$ HCH, PCB 28, 206 e 209 não foi encontrada diferença significativa entre os três grupos. Para o Mirex e PCB 44 os indivíduos imaturos foram iguais às fêmeas maduras e aos machos maduros (Tabela 6). Para o restante dos compostos, as fêmeas foram estatisticamente diferentes dos imaturos e machos maduros, apresentando as menores concentrações (Tabela 6).

Tabela 6 – Resultados do teste *Kruskal-Wallis* e teste *a posteriori* de comparações múltiplas entre indivíduos imaturos sexualmente, fêmeas maduras e machos maduros de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba, Brasil. (Continua)

	Teste <i>Kruskal-Wallis</i>	Teste <i>a posteriori</i> de comparações múltiplas		
		Imaturos	Fêmeas maduras	Machos Maduros
HCB	$H_{2,64} = 17,06$ $p = 0,0002$	a	b	a
$\alpha$ - HCH	$H_{2,64} = 0,54$ $p = 0,7$	a	a	a
$\beta$ - HCH	$H_{2,64} = 4,4$ $p = 0,1$	a	a	a
$\gamma$ - HCH	$H_{2,64} = 1,3$ $p = 0,52$	a	a	a
$\delta$ - HCH	$H_{2,64} = 2,62$ $p = 0,2$	a	a	a
$\Sigma$ HCH	$H_{2,64} = 3,9$ $p = 0,13$	a	a	a
Mirex	$H_{2,64} = 5,9$ $p = 0,05$	ac	ab	c
PCB 28	$H_{2,64} = 0,78$ $p = 0,67$	a	a	a
PCB 44	$H_{2,64} = 10,3$ $p = 0,005$	ac	ab	c
PCB 101	$H_{2,64} = 26,9$ $p = 0,0001$	a	b	a
PCB 151	$H_{2,64} = 27,34$ $p = 0,0001$	a	b	a
PCB 118	$H_{2,64} = 22,6$ $p = 0,0001$	a	b	a
PCB 153	$H_{2,64} = 26,8$ $p = 0,0001$	a	b	a
PCB 141	$H_{2,64} = 14,3$ $p = 0,0008$	a	b	a
PCB 138	$H_{2,64} = 29,0$ $p = 0,0001$	a	b	a
PCB 158	$H_{2,64} = 30,50$ $p = 0,0001$	a	b	a
PCB 187	$H_{2,64} = 19,7$ $p = 0,0001$	a	b	a
PCB 183	$H_{2,64} = 23,9$ $p = 0,0001$	a	b	a
PCB 177	$H_{2,64} = 27,0$ $p = 0,0001$	a	b	a
PCB 180	$H_{2,64} = 22,9$ $p = 0,0001$	a	b	a

Tabela 6 – Resultados do teste *Kruskal-Wallis* e teste *a posteriori* de comparações múltiplas entre indivíduos imaturos sexualmente, fêmeas maduras e machos maduros de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba, Brasil. (Conclusão)

	Teste <i>Kruskal-Wallis</i>	Teste <i>a posteriori</i> de comparações múltiplas		
		Imaturos	Fêmeas maduras	Machos Maduros
PCB 170	$H_{2,64} = 21,0$ <b>p = 0,0001</b>	a	b	a
PCB 199	$H_{2,64} = 14,6$ <b>p = 0,0007</b>	a	b	a
PCB 203	$H_{2,64} = 16,8$ <b>p = 0,0002</b>	a	b	a
PCB 195	$H_{2,64} = 16,6$ <b>p = 0,0002</b>	a	b	a
PCB 194	$H_{2,64} = 14,5$ <b>p = 0,0007</b>	a	b	a
PCB 206	$H_{2,64} = 6,6$ <b>p = 0,03</b>	a	a	a
PCB 209	$H_{2,64} = 0,96$ p = 0,61	a	a	a
$\Sigma$ PCB	$H_{2,81} = 27,6$ <b>p = 0,0001</b>	a	b	a
p.p' DDE	$H_{2,64} = 30,7$ <b>p = 0,0001</b>	a	b	a
p.p' DDD	$H_{2,64} = 24,8$ <b>p = 0,0001</b>	a	b	a
p.p' DDT	$H_{2,64} = 14,5$ <b>p = 0,007</b>	a	b	a
$\Sigma$ DDT	$H_{2,64} = 30,9$ <b>p = 0,0001</b>	a	b	a

Legenda: Letras iguais (sem diferença significativa) letras diferentes (diferença significativa).

Fonte: A autora, 2020.

#### 4.3 Influência da idade e sexo na acumulação de compostos organoclorados

Para as correlações de idade e sexo foi retirada da análise uma fêmea madura em que não foi possível estimar a idade. Para os indivíduos imaturos sexualmente e fêmeas maduras houve correlação negativa das concentrações com a idade, para os seguintes compostos: HCB,  $\Sigma$ PCB e para os congêneres PCBs 101, 151, 118, 153, 141, 138, 158, 187, 177, 180, p.p'- DDE, p.p'- DDD, p.p'- DDT e  $\Sigma$ DDT (Tabela 7 e Gráfico 8) demonstrando a diminuição desses compostos com o aumento da idade, ou seja, ao longo do tempo.

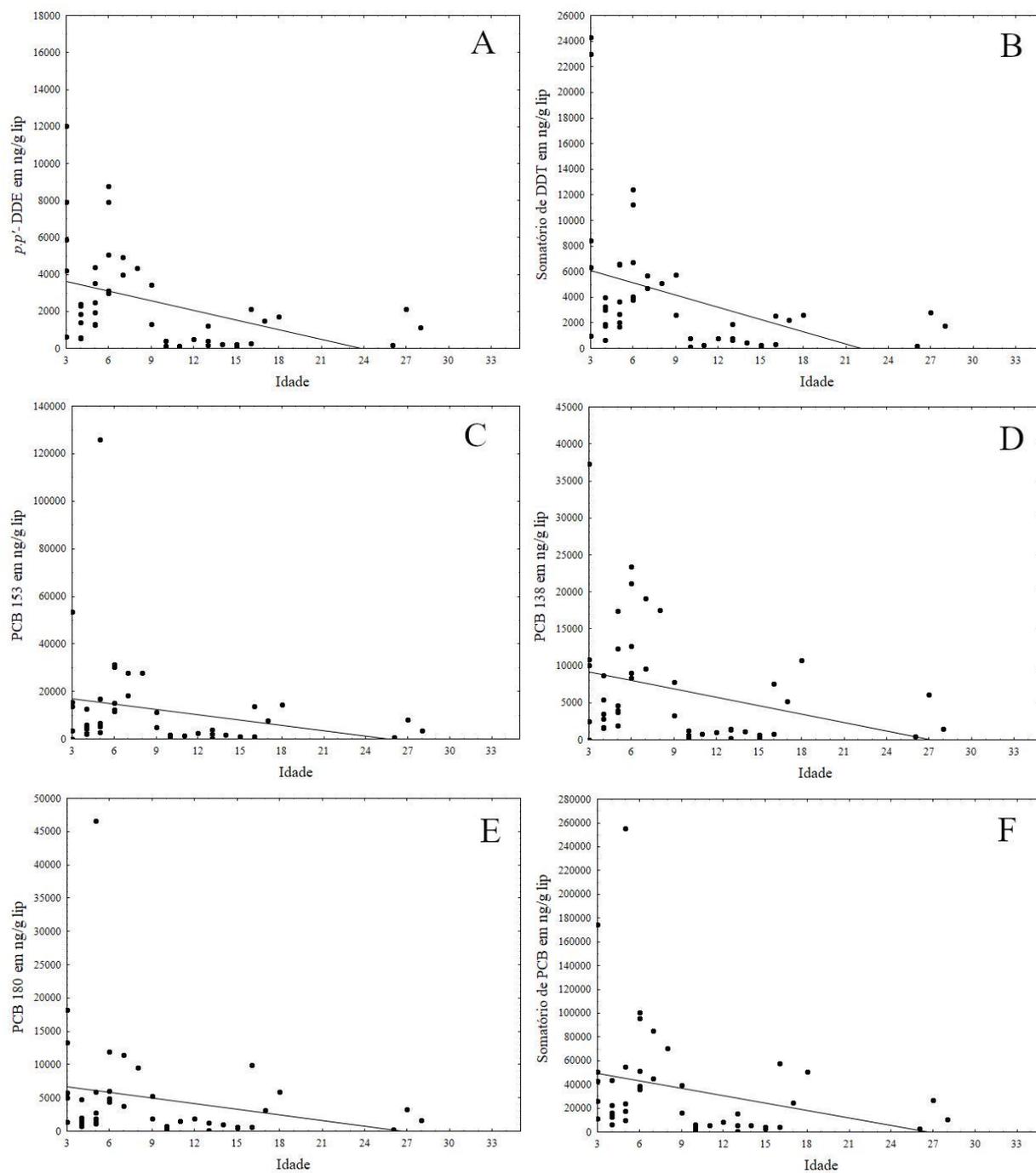
Tabela 7- Resultados da correlação de *Spearman*. Valores de r e do p-valor entre as concentrações de compostos organoclorados e a idade de indivíduos imaturos sexualmente e fêmeas maduras, e imaturos sexualmente e machos maduros de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba, Brasil.

Composto	Imaturos + Fêmeas maduras n=46		Imaturos + Machos maduros n=43	
	r	p-valor	r	p-valor
HCB	-0.39	0.01	0.06	0.69
$\alpha$ - HCH	-0.02	0.88	0.06	0.70
$\beta$ - HCH	-0.03	0.82	0.29	0.05
$\gamma$ - HCH	-0.11	0.45	-0.06	0.68
$\delta$ - HCH	-0.16	0.30	-0.15	0.33
$\Sigma$ HCH	-0.11	0.46	0.13	0.42
Mirex	-0.10	0.49	0.35	0.02
PCB 28	-0.01	0.97	0.02	0.88
PCB 44	-0.12	0.43	0.12	0.45
PCB 101	-0.37	0.01	0.37	0.01
PCB 151	-0.34	0.02	0.49	0.00
PCB 118	-0.43	0.00	0.26	0.09
PCB 153	-0.34	0.02	0.50	0.00
PCB 141	-0.56	0.00	-0.11	0.47
PCB 138	-0.38	0.01	0.53	0.00
PCB 158	-0.51	0.00	0.39	0.01
PCB 187	-0.43	0.00	0.34	0.03
PCB 183	-0.42	0.00	0.39	0.01
PCB 177	-0.47	0.00	0.42	0.01
PCB 180	-0.38	0.01	0.39	0.01
PCB 170	-0.26	0.09	0.44	0.00
PCB 199	-0.28	0.06	0.33	0.03
PCB 203	-0.21	0.16	0.44	0.00
PCB 195	-0.20	0.18	0.43	0.00
PCB 194	-0.20	0.18	0.42	0.01
PCB 206	0.19	0.21	0.50	0.00
PCB 209	0.19	0.21	0.08	0.62
$\Sigma$ PCB	-0.40	0.01	0.46	0.00
<i>p.p'</i> - DDE	-0.53	0.00	0.39	0.01
<i>p.p'</i> - DDD	-0.52	0.00	0.18	0.25
<i>p.p'</i> - DDT	-0.51	0.00	-0.08	0.63
$\Sigma$ DDT	-0.55	0.00	0.34	0.03

Fonte: A autora, 2020.

Para análise do grupo de imaturos sexualmente e machos maturos foram excluídos dois animais com percentual lipídico baixo (Sg#76 e Sg#78 1,81 e 3,83 %lip respectivamente). Para maioria dos PCBs houve correlação positiva das concentrações dos compostos organoclorados em relação a idade dos indivíduos (Tabela 7; Gráfico 9) demonstrando o aumento das concentrações com o aumento da idade. Para o *p.p'*- DDE houve correlação significativa e positiva das concentrações com a idade, diferente do *p.p'*- DDT e *p.p'*- DDD que não foi significativa. Para o HCB, HCHs e PCBs 28, 44, 118, 141 e 209 não houve correlação das concentrações com a idade dos indivíduos, demonstrando que para esse universo amostral tais compostos não tendem a acumular com o aumento da idade dos animais.

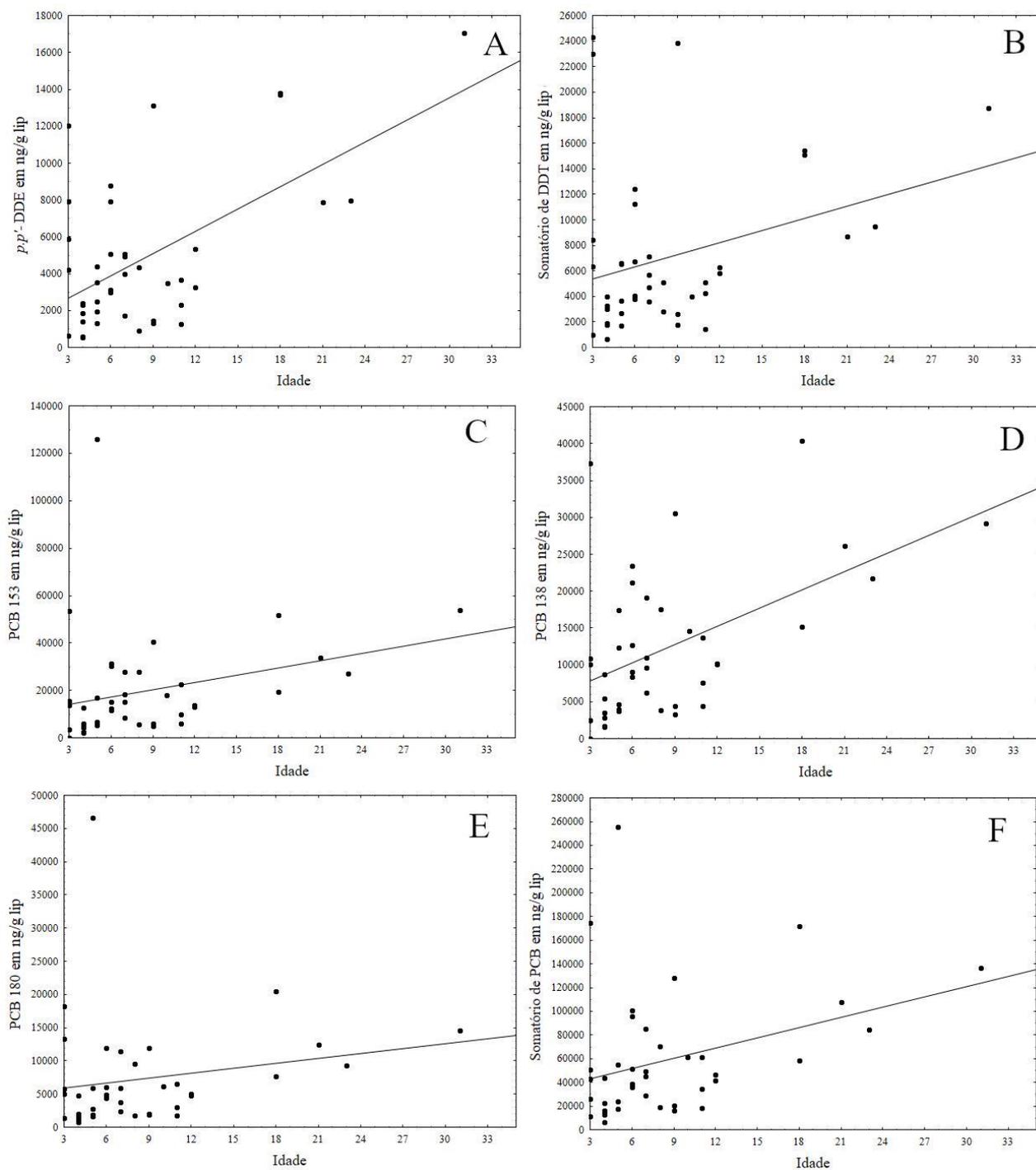
Gráfico 8 – Variação das concentrações de *p,p'*- DDE,  $\Sigma$ DDT, PCB 153, PCB 138, PCB 180 e  $\Sigma$ PCB em relação à idade de indivíduos imaturos e fêmeas maduras de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba.



Legenda: *p,p'*- DDE (A),  $\Sigma$ DDT (B), PCB 153 (C), PCB 138 (D), PCB 180 (E) e  $\Sigma$ PCB (F).

Fonte: A autora, 2020.

Gráfico 9 – Variação das concentrações de *p.p'*- DDE,  $\Sigma$ DDT, PCB 153, PCB 138, PCB 180 e  $\Sigma$ PCB em relação à idade de indivíduos imaturos e machos maduros de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba.



Legenda: *p.p'*- DDE (A),  $\Sigma$ DDT (B), PCB 153 (C), PCB 138 (D), PCB 180 (E) e  $\Sigma$ PCB (F).

Fonte: A autora, 2020.

#### 4.3.1 Análise de função discriminante

Foram encontradas diferenças significativas no perfil de machos maduros em relação às fêmeas maduras (*Wilks Lambda* = 0,39  $F(30,94) = 1,86$   $p=0,01$ ) (Tabela 8). Para o modelo, 14 variáveis foram aceitas (HCB, *p.p'*- DDE, *p.p'*- DDD, *p.p'*- DDT, PCBs, 28, 44, 101, 151, 118, 153, 141, 187, 170, 199 e 194) sendo somente o *p.p'*- DDE significativo. Os compostos que mais forçaram a separação na função discriminante 1 (CAN 1) foram: positivamente o PCB 153 e 199 e negativamente PCB 187 e *p.p'*- DDE. Já para a função discriminante 2 (CAN 2) foram: positivamente PCB 170 e 194 e negativamente PCB 151 e 187.

O grupo que mais diferiu em relação ao perfil de contaminação foram os machos maduros em relação às fêmeas maduras ( $D_2=6,52$ ), para indivíduos imaturos ( $D_2=2,75$ ) não houve diferença significativa, também não foi observada diferença significativa entre fêmeas e imaturos (Tabela 8). O percentual de classificação foi de 70%, sendo as fêmeas maduras o grupo que a classificação foi melhor 80,95% (Tabela 10).

Tabela 8 – Resultados da análise de função discriminante. Valor de F, distância de *Mahalanobis* ( $D_2$ ) e p-valor entre imaturos, fêmeas maduras e machos maduros de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba, Brasil.

	Valor de F	Distância de <i>Mahalanobis</i> ( $D_2$ )	p-valor
Machos maduros X Imaturos	1,48	2,75	0.15
Imaturos X Fêmeas maduras	1.47	2,52	0.15
Fêmeas maduras X Machos maduros	3,24	6,52	0.001

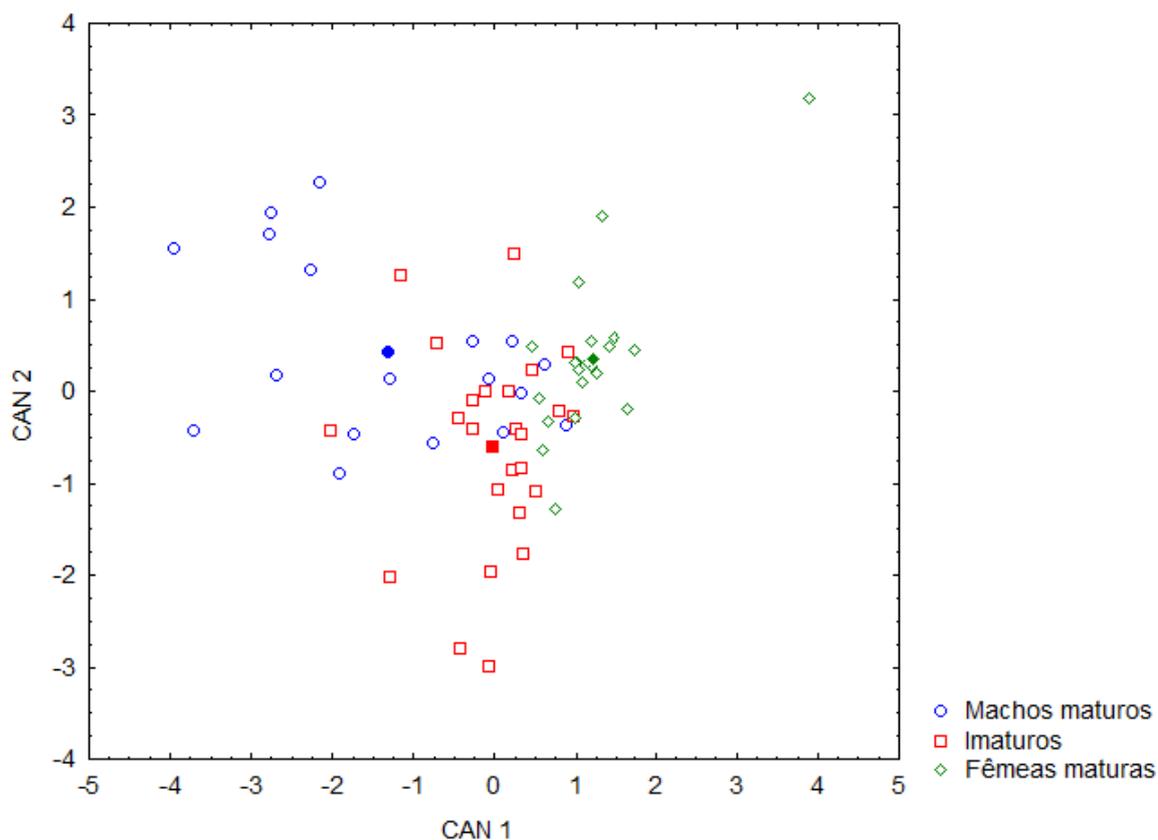
Fonte: A autora, 2020.

Tabela 9 – Percentual de classificação entre os grupos de fêmeas maduras, machos maduros e imaturos e neonatos de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba, Brasil.

Percentual de classificação	Percentual correto	Machos maduros	Imaturos	Fêmeas maduras
Machos maduros	55,5%	10	6	2
Imaturos	72%	3	18	4
Fêmeas maduras	80,95%	0	4	17
Total	70,31%	13	28	23

Fonte: A autora, 2020.

Gráfico 10 – Representação das variáveis canônicas dos machos maduros, indivíduos imaturos sexualmente e fêmeas maduras. Média de cada grupo nos pontos preenchidos.



Fonte: A autora, 2020.

#### 4.4 Transferência materna: Placentária e lactacional

Para averiguar a transferência placentária dos compostos organoclorados foi utilizada a razão feto/mãe. Na Tabela 10 estão dispostos os dados biológicos e as concentrações dos compostos organoclorados analisados. O tempo de gestação foi estimado com base em Santos-Neto (2017).

Tabela 10 - Parâmetros biológicos e as concentrações de HCB,  $\Sigma$ DDT, Mirex e  $\Sigma$ PCB das fêmeas e fetos de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba, Brasil. (Continua)

ID	CT	Idade (anos)	Tempo de gestação (meses)	%Lip	HCB	$\Sigma$ DDT	Mirex	$\Sigma$ PCB
Sg#1a	185	13		46,28	13,52	1903,32	102,42	15544,82
Sg#2a*	62	-	6.8	42,52	12,81	1369,33	<LD	6318,99
Sg#13b	182	10		65,78	8,37	801,91	75,31	6273,24

Tabela 10 - Parâmetros biológicos e as concentrações de HCB,  $\Sigma$ DDT, Mirex e  $\Sigma$ PCB das fêmeas e fetos de botos cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba, Brasil. (Conclusão)

ID	CT	Idade (anos)	Tempo de gestação (meses)	%Lip	HCB	$\Sigma$ DDT	Mirex	$\Sigma$ PCB
Sg#14b*	58	-	6.38	13,28	<LD	377,17	<LD	2109,58
Sg#31c	180	-		57,86	5,50	518,12	43,31	4630,78
Sg#32c*	60	-	6.6	58,30	<LD	154,59	11,41	1258,99
Sg#33d	189	15		30,80	<LD	82,44	<LD	2551,68
Sg#34d*	87	-	9.58	26,54	<LD	90,18	<LD	1747,44

Legenda: (ID) Identificação, letras iguais correspondem à mãe e feto. Feto identificado com \*. (CT) comprimento total, idade das mães, tempo de gestação em meses dos fetos, (%Lip) Percentual lipídico. (<LD) valores menores que o limite de detecção.

Fonte: A autora, 2020.

As maiores concentrações para todos os compostos analisados foram da fêmea e feto “a”, que ultrapassou o limite proposto por Hall e colaboradores (2006) capaz de causar uma menor sobrevivência de filhotes (Gráfico 13), enquanto as menores concentrações foram evidenciadas para a fêmea e feto “d”, as duas fêmeas tinham diferença de idade de apenas dois anos (Tabela 10). A fêmea “b” apresentou a menor idade do grupo amostral, sendo a segunda com maiores concentrações. Em relação à transferência de HCB só foi demonstrada para os fetos “a” e “b” enquanto somente o feto “c” apresentou concentrações de Mirex (Tabela 10).

Tabela 11 – Razão das concentrações de feto e mãe para cada composto analisado nos botos-cinza da Baía de Sepetiba, Brasil. (Continua)

Composto	Razão			
	a	b	c	d
<b>HCB</b>	0.9479	<LD	<LD	<LD
p.p'- DDE	0.7845	0.6830	0.5419	1.0943
p.p'- DDD	0.9519	1.2849	0.0073	<LD
p.p'- DDT	0.5082	<LD	<LD	<LD
<b><math>\Sigma</math>DDT</b>	0.7194	0.4703	0.2984	1.0939
<b>Mirex</b>	<LD	<LD	0.2635	<LD
PCB 28	<LD	0.0061	1212.9	<LD
PCB 44	<LD	0.0046	0.0202	<LD
PCB 101	0.5559	0.3289	0.1116	0.4022
PCB 151	0.3760	0.0005	5.6194	<LD
PCB 118	0.5355	0.3655	0.0794	1.2996
PCB 153	0.4173	0.3384	0.2349	0.9318
PCB 141	0.3661	0.3967	0.6291	1.1031
PCB 138	0.3932	0.3114	0.0532	1.1056
PCB 158	0.3526	0.5224	0.5190	1.1065
PCB 187	<LD	<LD	<LD	<LD
PCB 183	0.2030	0.1761	0.2036	0.3935

Tabela 11 – Razão das concentrações de feto e mãe para cada composto analisado nos botos-cinza da Baía de Sepetiba, Brasil. (Conclusão)

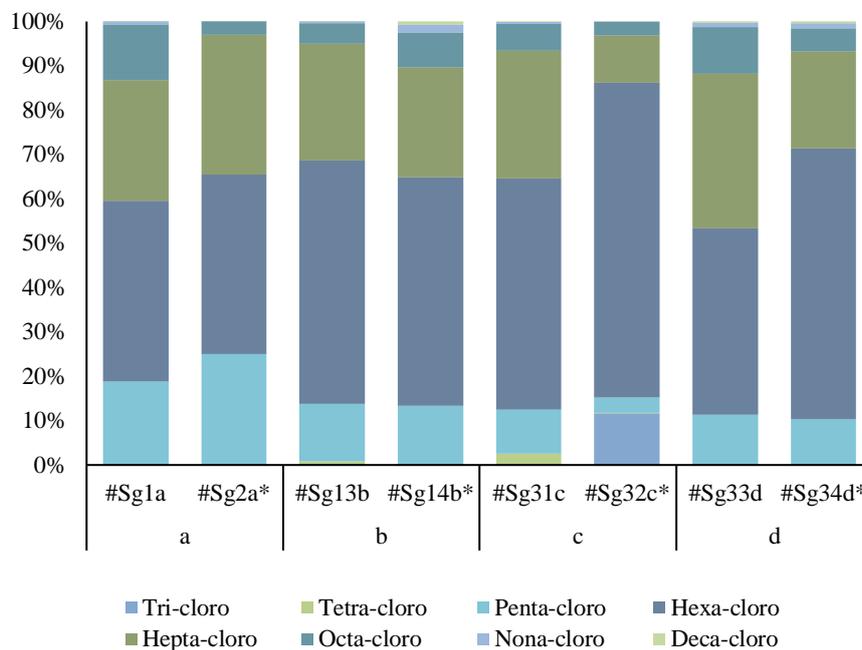
Composto	Razão			
	a	b	c	d
PCB 177	0.2410	0.2595	0.4674	0.7224
PCB 180	0.9801	0.3475	0.0390	0.4210
PCB 170	0.5651	0.3364	0.0723	0.5125
PCB 199	0.0940	0.8800	0.0040	0.4577
PCB 203	0.0644	0.4267	0.2206	0.2866
PCB 195	0.0036	1.1396	0.4268	0.6185
PCB 194	0.1178	0.5147	0.0227	0.3003
PCB 206	0.0034	1.5653	0.0207	0.8014
PCB 209	<LD	36.8217	0.0932	0.8311
<b>ΣPCB</b>	0.4065	0.3363	0.2719	0.6848

Legenda: (a) mãe e feto #Sg1a e #Sg2a\*, (b) mãe e feto #Sg13b e #Sg14b\*, (c) mãe e feto #Sg31c e #Sg32c\* e (d) mãe e feto #Sg33d e #Sg34d\*. (<LD) concentração abaixo do limite de detecção.

Fonte: A autora, 2020.

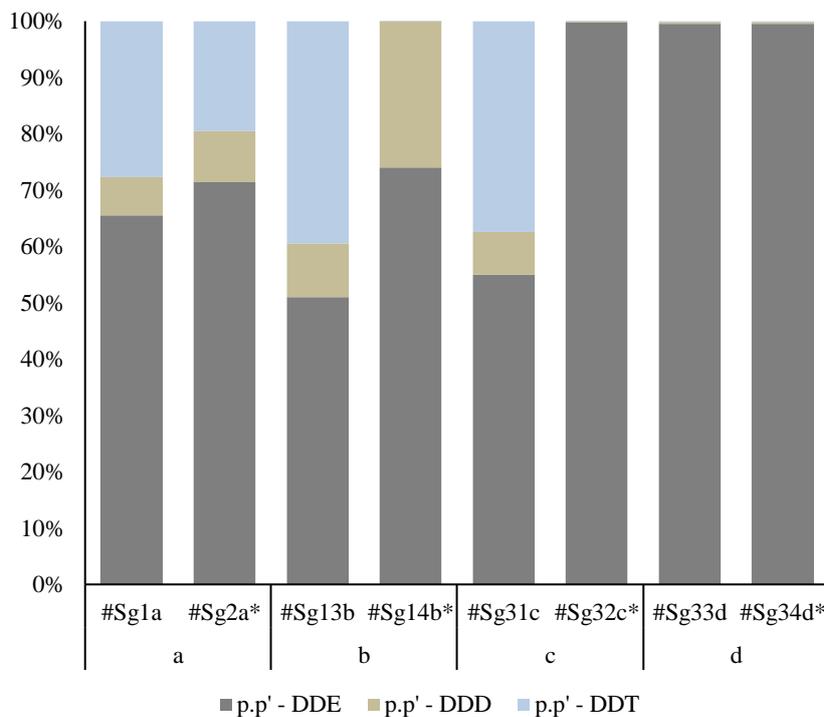
As maiores razões de transferência foram para o feto “d” em relação aos outros três fetos (Tabela 11). O feto “c” teve uma maior transferência de compostos leves como o PCB 28 e 151 em relação aos outros PCBs mais pesados. Em relação à transferência dos PCBs, variou entre 0,27 a 0,68. Houve uma transferência grande no feto “b” para o composto PCB 209 (Tabela 11). O perfil de contribuição dos congêneres de PCBs de mães e fetos foi similar com maiores contribuições de penta, hexa e hepta clorados (Gráfico 11) e em relação ao *p.p'*- DDT e seus metabólitos, o *p.p'*- DDE foi o que apresentou as maiores porcentagens de contribuição, enquanto uma fêmea só apresentou concentrações deste composto. Em três fetos não houve contribuição de *p.p'*- DDT nem de *p.p'*- DDD (Gráfico 12).

Gráfico 11 – Contribuição percentual de cada grupo de congêneres no  $\Sigma$ PCB para as mães e fetos de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba.



Fonte: A autora, 2020.

Gráfico 12 – Contribuição percentual de cada grupo de congêneres no  $\Sigma$ DDT para as mães e fetos de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba.



Fonte: A autora, 2020.

Para avaliar a transferência lactacional, foram agrupados indivíduos de 0 a 2 anos de idade como indivíduos neonatos por ainda refletirem em maior parte os níveis de compostos organoclorados transferidos da mãe pela gestação e em maior parte via lactação. A maior parte dos indivíduos neonatos coletados foram durante o EMA, assim os neonatos nesse item também foram separados entre indivíduos antes o EMA e durante o EMA.

Tabela 12 – Concentrações de HCB, ΣHCH, Mirex, ΣDDT e ΣPCB em ng/g lip de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) neonatos antes EMA e durante EMA analisados na Baía de Sepetiba, Brasil.

	Antes (n=4)	Durante (n=12)
CT	135 ± 13	132 ± 16
	119 – 152	102 - 156
	135	136
%Lip	54,67 ± 18,36	50,28 ± 17,73
	33,69 - 76,26	16,14 - 69,37
	54,36	55,02
HCB	44,44 ± 19,06	30,09 ± 26,70
	21,03 - 67,38	5,66 - 97,80
	44,68	18,56
ΣHCH	45,60 ± 35,56	97,13 ± 141,14
	11,26 - 83,80	4,94 - 457,29
	43,68	16,67
Mirex	470,91 ± 628,00	97,06 ± 211,54
	67,42 - 1395,76	0,17 - 749,71
	210,23	20,78
ΣDDT	3319,38 ± 1792,19	3671,08 ± 5381,77
	1256,52 - 5579,13	580,92 - 18673,44
	3220,93	1524,77
ΣPCB	40735,85 ± 19453,15	18442,81 ± 22458,50
	20320,99 - 67160,53	1134,82 - 79185,98
	37730,93	10829,92

Legenda: (CT) comprimento total em centímetros, (%Lip) percentual lipídico. Média ± desvio padrão, valores mínimos – máximos e mediana.

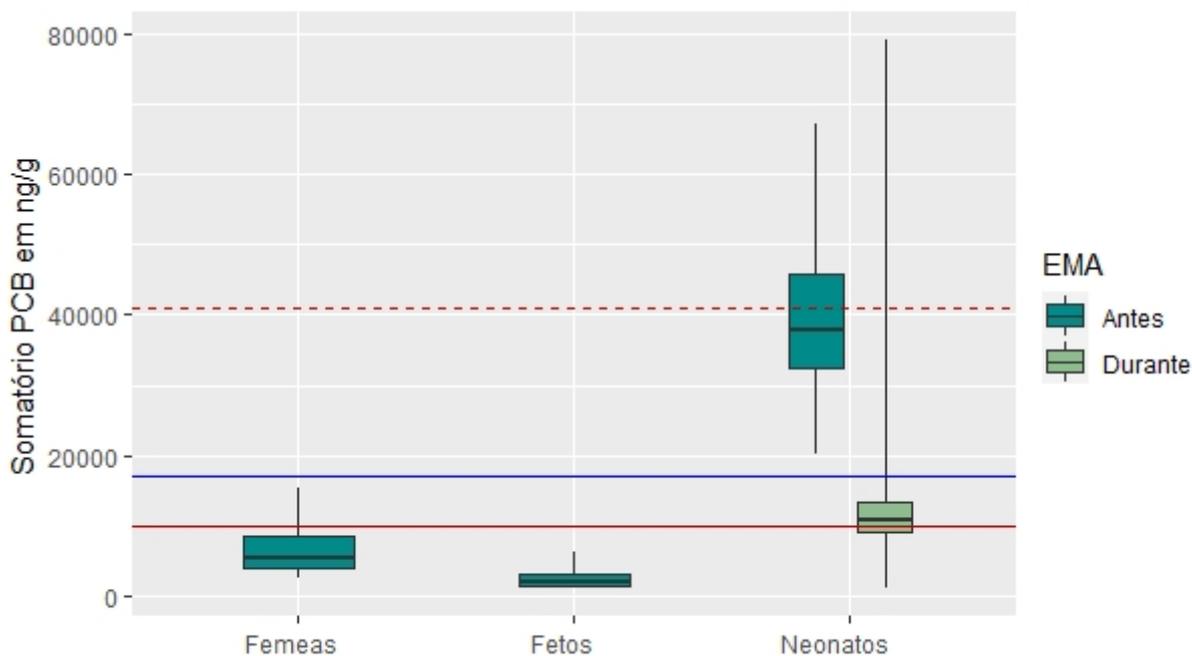
Fonte: A autora, 2020.

Os indivíduos neonatos que morreram antes do EMA apresentaram concentrações maiores que os neonatos durante o EMA para todos os compostos. No entanto, só houve diferença significativa (teste de *Mann-Whitney*  $p < 0,05$ ) entre o HCB, Mirex e PCBs. Dentre 21 PCBs analisados, 14 apresentaram concentrações significativamente maiores antes do EMA (PCB 44, 101, 151, 153, 141, 138, 158, 183, 177, 180, 199, 203, 194 e 209)

comparado com os indivíduos durante o EMA (Tabela 12; Gráfico 13). Para ambos os períodos, houve neonatos que ultrapassaram os limites de 10000 ng/g lip de  $\Sigma$ PCB sugerido por acarretar em uma menor sobrevivência de filhotes de golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) (Hall et al., 2006). Assim como ultrapassaram os limites sugeridos por Kannan e colaboradores (2000) de 17000 ng/g de  $\Sigma$ PCB e apenas três indivíduos que ultrapassaram o limite proposto por Helle e colaboradores (1976) de 41000 ng/g lip de  $\Sigma$ PCB (Gráfico 13).

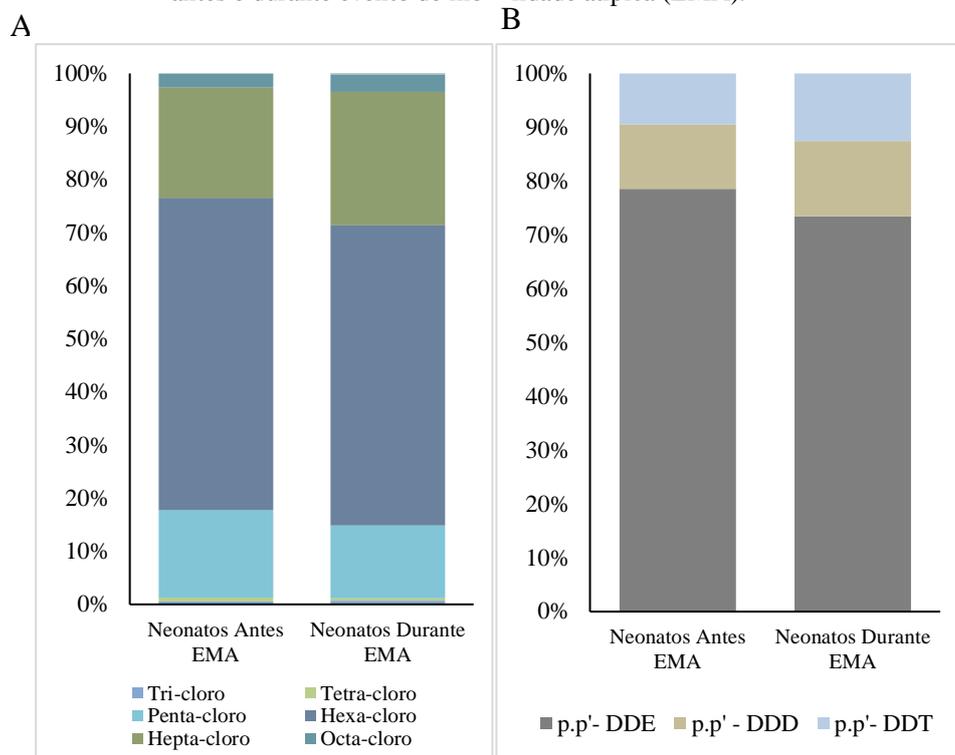
O perfil de contribuição dos congêneres de PCBs (Gráfico 14A) e do *p,p'*- DDT e seus metabólitos (Gráfico 14B) permaneceram iguais entre indivíduos neonatos de antes e durante o EMA.

Gráfico 13 – Mediana (linha contínua), percentis 25% e 75%, mínimo e máximo das concentrações do  $\Sigma$ PCB de mãe, fetos e neonatos de boto-cinza (*Sotalia guianensis*) antes, durante e pós EMA com limite tóxico de 10000 ng/g lip (linha vermelha contínua), limite tóxico de 17000 ng/g lip (linha azul contínua) 41000 ng/g lip (linha vermelha tracejada).



Fonte: A autora, 2020.

Gráfico 14 – (A) Perfil do somatório de PCB separado por grau de cloração dos congêneres e (B) Perfil do somatório de DDT em indivíduos neonatos antes e durante evento de mortalidade atípica (EMA).



Fonte: A autora, 2020.

## 4.5 Variação temporal de compostos organoclorados nos botos-cinza da Baía de Sepetiba

### 4.5.1 Modelo aditivo generalizado (GAM)

Foram utilizados dados coletados entre 2007 e 2019, totalizando 95 animais para a análise de variação temporal nas concentrações de compostos organoclorados nos botos-cinza da Baía de Sepetiba. Os dados dos anos de 2007-2008 foram utilizados de Vidal (2010). Os compostos que foram analisados são os pesticidas *p.p'*- DDE, *p.p'*- DDD e  $\Sigma$ DDT. E dentre os PCBs analisados foram os congêneres: PCB 101, PCB 118, PCB 153,

PCB 138, PCB 158, PCB 187, PCB 183, PCB 180 e PCB 170, além do  $\Sigma$ PCB. O modelo com menor valor de Akaike (AIC) incluiu o composto analisado, ano, sexo e maturidade. O CT foi uma variável não significativa. Para excluir a influência da maturidade sexual dos animais, foi realizado o modelo apenas com indivíduos imaturos em relação ao sexo e ano (Tabela 13). Os valores de desvio (deviance) melhor ajustados foram para os modelos incluindo somente os animais imaturos, enquanto que para os modelos com todos os animais, os melhores valores de desvio foram para o Somatório de PCB e o PCB 153 (Tabela 13).

Tabela 13 – Estrutura do modelo GAM, valores de desvio (deviance) e valor de AIC.

<b>Modelo Maturados + Imaturos (n = 95)</b>	Deviance	AIC
Somatório_PCB~Sexo + Ano+Sexo*Maturidade	48.10%	2097.10
PCB153~Sexo+Ano+Sexo*Maturidade	50.60%	1897.81
PCB101~Sexo+Ano+Sexo*Maturidade	38.70%	1610.66
PCB118~Sexo+Ano+Sexo*Maturidade	18.60%	1561.57
PCB138~Sexo+Ano+Sexo*Maturidade	46.80%	1827.22
PCB170~Sexo+Ano+Sexo*Maturidade	45.50%	1560.11
PCB158~Sexo+Ano+Sexo*Maturidade	48%	1343.52
PCB187~Sexo+Ano+Sexo*Maturidade	10.50%	1340.92
PCB183~Sexo+Ano+Sexo*Maturidade	41.40%	1472.93
PCB180~Sexo+Ano+Sexo*Maturidade	44.60%	1715.67
Somatório_DDT~Sexo +Ano+ Sexo*Maturidade	33.40%	1742.90
pp_DDE~Sexo + Ano+Sexo*Maturidade	35%	1674.31
<b>Modelo Imaturos (n = 47)</b>	Deviance	AIC
Somatório_PCB~Sexo + Ano	57.50%	1025.50
PCB153~Sexo+Ano	58.40%	927.99
PCB101~Sexo+Ano	58.10%	785.99
PCB118~Sexo+Ano	24.60%	775.49
PCB138~Sexo+Ano	54%	888.95
PCB170~Sexo+Ano	59.70%	762.71
PCB158~Sexo+Ano	61.40%	646.33
PCB187~Sexo+Ano	10.20%	656.45
PCB183~Sexo+Ano	54%	708.19
PCB180~Sexo+Ano	59.70%	831.27
Somatório_DDT~Sexo +Ano	33.30%	865.91
pp_DDE~Sexo + Ano	36.80%	823.51

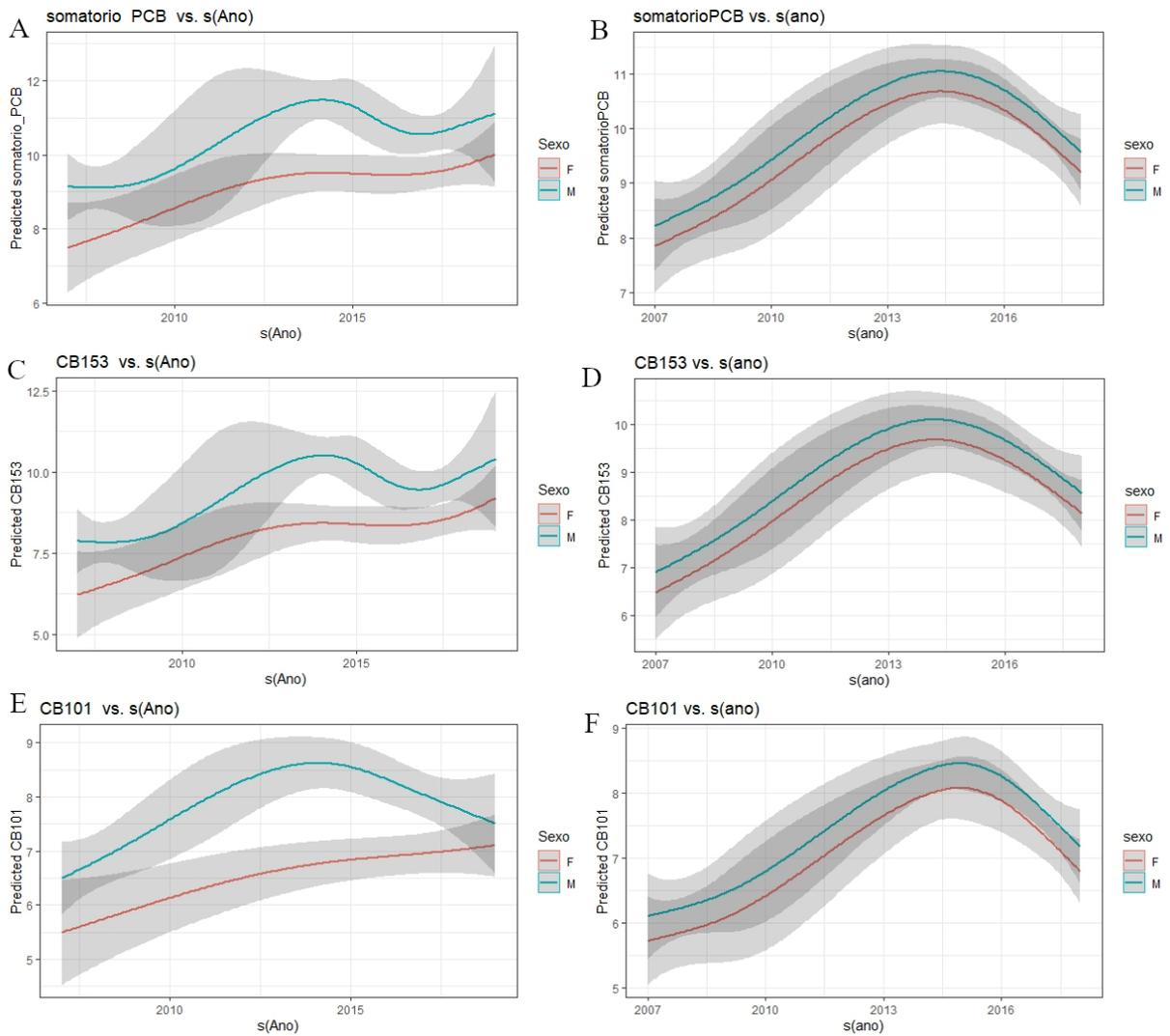
Fonte: A autora, 2020.

A análise da variação temporal demonstrou que houve um aumento das concentrações de compostos organoclorados nos botos-cinza da Baía de Sepetiba entre os anos de 2007 e 2019 (p-valor <0,05), com exceção do PCB 187 que não apresentou

aumento para golfinhos de ambos os sexos e do  $\Sigma$ DDT que não foi significativo para fêmeas considerando o modelo geral. O modelo considerando apenas indivíduos imaturos, para todos os compostos, foi significativo o aumento das concentrações em relação aos anos.

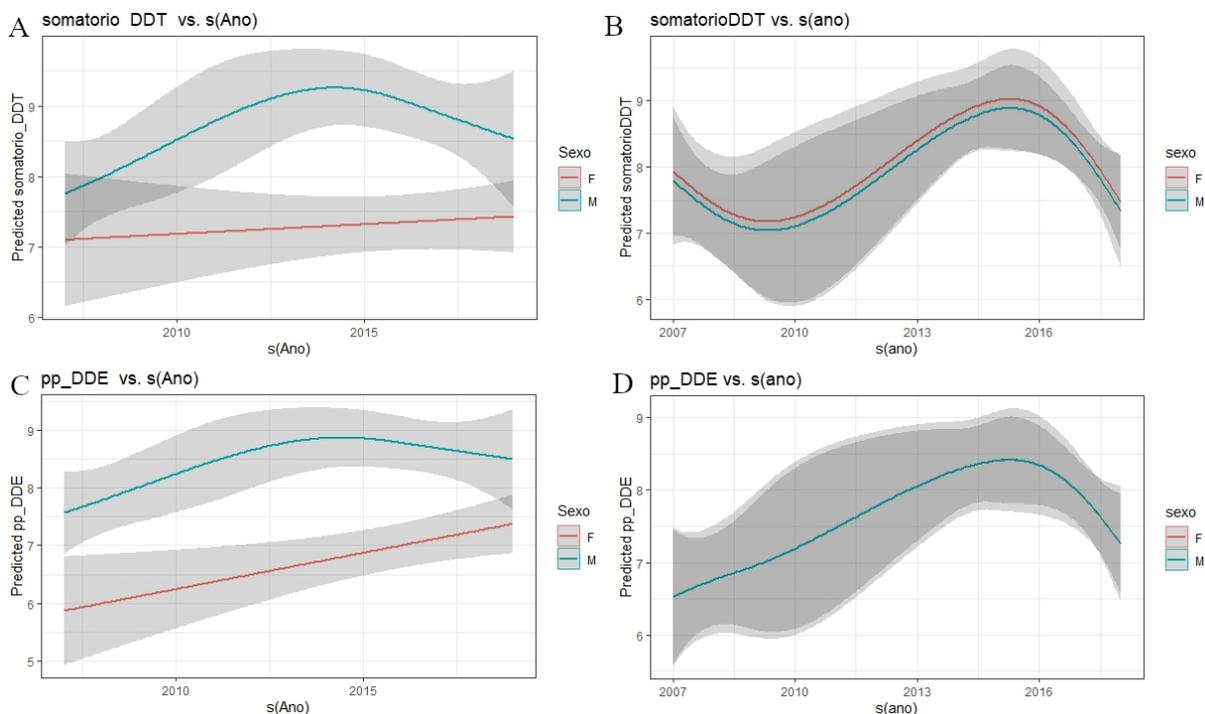
Para todos os compostos analisados houve um evidente aumento das concentrações entre os anos de 2013-2014, com diferentes perfis entre os modelos com todos os indivíduos e modelos apenas com imaturos. Para o  $\Sigma$ PCB a função suavizada foi similar às funções dos congêneres mais recalcitrantes (PCB 153, 138, 180, 170) pelo fato do somatório ser em maior parte constituído por estes compostos (Gráfico 15A e 15C). Já o PCB 101 apresentou um perfil distinto, de aumento entre os anos de 2013 e 2014 e depois um leve declínio para os machos em ambos os modelos, somente no modelo com todos os indivíduos as fêmeas tiveram um aumento nos últimos anos 2018-2019 (Gráfico 15E). Um perfil similar foi evidenciado para os pesticidas, no  $\Sigma$ DDT as concentrações dos machos e fêmeas imaturos tiveram uma subida em 2013-2014 seguido de um declínio, para as fêmeas no modelo geral as concentrações foram constantes ao longo do tempo sem diferença significativa em relação aos anos (p-valor  $<0,05$ ; Gráfico 16A). Já para o metabólito *p.p'*-DDE o aumento ao longo dos anos, foi significativo para ambos os sexos no modelo considerando todos os animais. No modelo somente com imaturos, houve um declínio nos anos de 2018-2019 (Gráfico 16D).

Gráfico 15 – Relação das concentrações logaritmizadas do  $\Sigma$ PCB ao longo dos anos pela multivariada GAM para machos e fêmeas esquerda maturos e imaturos (A, C e E) e somente imaturos à direita (B, D e F). Função suavizada na linha sólida e intervalo de confiança de 95% em cinza.



Fonte: A autora, 2020.

Gráfico 16 - Relação das concentrações logaritmizadas do  $\Sigma$ DDT e  $p.p'$ -DDE ao longo dos anos pela multivariada GAM em machos e fêmeas maduros e imaturos à esquerda (A e C) e somente imaturos à direita (B e D). Função suavizada na linha sólida e intervalo de confiança de 95% em cinza.



Fonte: A autora, 2020.

#### 4.5.2 Análise de função discriminante

Para essa análise foram utilizados apenas indivíduos imaturos sexualmente, para excluir a influência das diferenças entre maturidade sexual. Foram encontradas diferenças significativas no perfil de indivíduos imaturos em relação aos principais períodos amostrais ( $Wilks\ Lambda = 0,11\ F(22,68) = 5,97\ p = 0,0001$ ) (Tabela 14). Para o modelo, 11 variáveis foram aceitas ( $p.p'$ -DDE,  $p.p'$ -DDD,  $p.p'$ -DD, PCBs, 101, 118, 153, 138, 158, 187, 183 e 170) sendo o  $p.p'$ -DDD, PCB 158, 187 e 183 que apresentaram diferença significativa. Os compostos que mais forçaram a separação na função discriminante 1 (CAN 1) foram: positivamente PCB 183 e 118 e negativamente PCB 158 e PCB 170. Já para a função discriminante 2 (CAN 2) foram: positivamente PCB 183 e PCB 101 e negativamente PCB 138 e  $p.p'$ -DDD.

O grupo que mais diferiu em relação ao perfil de contaminação foram os indivíduos coletados entre 2007-2008 em relação aos coletados em 2011-2016 ( $D_2=15,25$ ). O percentual de classificação foi de 97,87% (Tabela 15).

Tabela 14 – Resultados da análise de função discriminante. Valor de F, distância de *Mahalanobis* ( $D_2$ ) e p-valor dos botos-cinza (*Sotalia guianensis*) entre os principais anos amostrados na Baía de Sepetiba, Brasil.

	Valor de F	Distância de <i>Mahalanobis</i> ( $D_2$ )	p-valor
2007-2008 X 2011-2016	6,25	15,25	0.0001
2011-2016 X 2017-2019	9,09	14,87	0.0001
2017-2019 X 2007-2008	3,59	7,33	0.001

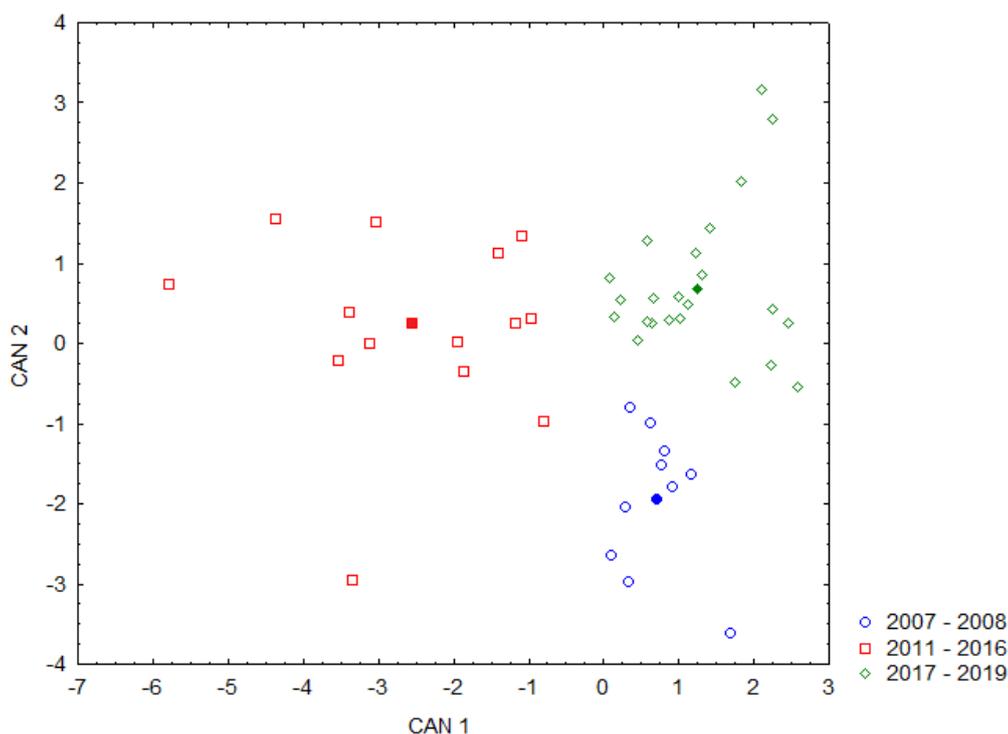
Fonte: A autora, 2020.

Tabela 15 – Percentual de classificação entre os grupos de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) da Baía de Sepetiba, Brasil.

Percentual de classificação	Percentual correto	2007-2008	2011-2016	2017-2019
2007-2008	100%	10	0	0
2011-2016	92%	1	13	0
2017-2019	100%	0	0	23
Total	97,87%	11	13	23

Fonte: A autora, 2020.

Gráfico 17 – Representação das variáveis canônicas de indivíduos imaturos sexualmente entre os anos amostrados.



Fonte: A autora, 2020.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Evento de mortalidade atípica (EMA)

Foram encontradas elevadas concentrações de compostos organoclorados nos botos-cinza da Baía de Sepetiba, tanto em animais antes, quanto durante e pós EMA, tais concentrações estão entre as maiores reportadas para a espécie em toda a sua distribuição (YOGUI et al., 2003; KAJIWARA et al., 2004; SANTOS-NETO et al., 2014; MANHÃES et al., 2018). As concentrações encontradas nos botos-cinza estão também na mesma faixa de odontocetos em regiões ambientalmente impactadas do hemisfério norte (BALMER et al., 2015; STRUNTZ et al., 2004; YORDY et al., 2010b). Estudos apontam que há uma associação das elevadas concentrações de POPs com a maior letalidade por doenças infecciosas (JEPSON et al., 1999; LAW et al., 2012; ROSS, 2002) principalmente devido ao seu potencial imunossupressor, que conseqüentemente afeta a saúde dos mamíferos marinhos (DESFORGES et al., 2016; LEVIN et al., 2016). Durante o EMA, foi observada uma alta mortalidade de botos-cinza na Baía de Sepetiba (CUNHA et al., 2020 – no prelo) e a hipótese de que indivíduos que morreram durante o evento de morbilivírose apresentariam maiores concentrações de compostos organoclorados foi rejeitada, por não haver diferença significativa nas concentrações dos indivíduos entre os períodos antes, durante e pós EMA.

Esse resultado já foi observado por Castrillon e colaboradores (2010) em golfinhos-listrado (*Stenella coeruleoalba*) no Mar Mediterrâneo, em um evento de morbilivírose em 2007. Entretanto, em um evento anterior nessa mesma população de golfinhos-listrados, foi atribuído aos elevados níveis de OCs (PCB e DDT) a alta mortalidade pelo morbilivírus, já que as concentrações dos indivíduos anteriores ao evento eram menores (KANNAN et al., 1993; AGUILAR & BORREL, 1994). Estes dois episódios de morbilivírose no Mar Mediterrâneo tiveram diferentes proporções de mortalidade; em 1990/1992 foram observadas maiores concentrações de OCs e uma maior letalidade dos indivíduos, já em 2007 foram observadas menores concentrações de OCs e uma menor letalidade (AGUILAR & BORREL, 1994; CASTRILLON et al., 2010). Assim,

foi sugerido pelos autores que os POPs não tiveram uma influência nesse segundo evento, uma vez que a população já apresentava imunidade prévia ao vírus.

Ambos os eventos no Mar Mediterrâneo apresentam semelhanças ao EMA nas duas populações de botos-cinza das baías costeiras do Rio de Janeiro. As concentrações de compostos organoclorados na população da Baía de Sepetiba são historicamente maiores que as concentrações da população da Baía da Ilha Grande (LAILSON-BRITO et al., 2010; VIDAL, 2010) e isto está principalmente relacionados aos impactos ambientais que a região está exposta (MOLISSANI et al, 2004). Durante o EMA houve uma mortalidade três vezes maior na Baía de Sepetiba (n=210) em comparação com a Baía da Ilha Grande (n=67) e a contaminação por OCs pode ter sido um grande interferente na saúde dos animais dessa população.

A imunossupressão dos botos-cinza da Baía de Sepetiba já foi relacionada anteriormente à contaminação ambiental pela infecção do Pox vírus a qual é caracterizada por lesões circulares na pele dos animais chamadas de *skin tattoo* (VAN BRESSEM et al. 2007, 2009b). Lesões similares foram observadas nos botos-cinza da Baía de Guanabara (SACRISTÁN et al., 2018), uma região altamente impactada e com elevadas concentrações de POPs (LAILSON-BRITO et al., 2010). Todavia, nos animais da Baía da Ilha Grande nunca foi registrado a presença de Pox vírus (MAQUA – dados não publicados). A imunossupressão causada pelos contaminantes também pode ser correlacionada à alta presença de parasitos (LAHVIS et al., 1995; MONTEIRO et al., 2016). Laudos de necropsia apontam uma maior carga parasitária no trato gastrointestinal e principalmente nos pulmões dos botos-cinza da Baía de Sepetiba em comparação com os botos-cinza da Baía da Ilha Grande (MAQUA – dados não publicados). Adicionalmente, durante o EMA, 79% (23 de 29) dos botos-cinza apresentaram uma grande quantidade de parasitos (GROCH et al., 2020a).

De fato, para 40% dos indivíduos amostrados antes, durante e pós EMA as concentrações do  $\Sigma$ PCB foram maiores que o limite tóxico de 41000 ng/g lip capaz de causar efeitos adversos em mamíferos marinhos (HELLE et al., 1976; JEPSON et al., 2016). Considerando o limite tóxico inferior, de 17000 ng/g lip  $\Sigma$ PCB, o qual desenvolve problemas imunológicos (KANNAN et al., 2000) essa porcentagem aumenta para 65% dos botos-cinza. Efeitos como a diminuição da capacidade de fagocitose e proliferação de linfócitos começam a ser observados em mamíferos marinhos a partir de concentrações de 1ppm de PCBs (aqui equivalente a 1000 ng/g). Assim considerando que essas são as

principais respostas imunes a infecções por patógenos (revisado por DESFORGES et al., 2016), os animais da Baía de Sepetiba podem estar imunologicamente mais susceptíveis com concentrações menores que os limites tóxicos estimados. Assim, uma das explicações para que não existisse diferença de concentração entre os períodos, é que os indivíduos estão altamente contaminados, em ambos os períodos (antes, durante e pós), e inclusive as menores concentrações já podem acarretar danos na saúde desses animais, tornando-os mais susceptíveis ao morbilivírus.

A partir de utilização de modelos preditivos, estudos propõem os possíveis efeitos na sobrevivência de filhotes e na imunidade de cetáceos em relação a trajetória de crescimento populacional devido às concentrações de compostos organoclorados (HALL et al., 2006; 2018). Em uma das predições, quando populações de golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) foram expostas ao acúmulo anual de 1000 – 2000 ng/g de PCBs e tiveram uma exposição de 20% da população a um patógeno, as tendências de decréscimo populacional foram elevadas (HALL et al., 2018). De fato, para os botos-cinza da Baía de Sepetiba foi estimado um tamanho populacional de 1090 indivíduos (QUINTANA, 2020) no período pós EMA, em contraponto com estimativas anteriores de 1269 indivíduos (FLACH, 2015).

O conhecimento a cerca de limites tóxicos para animais selvagens é limitado, e muitas vezes realizado a partir de estudos *in vitro* (KANNAN et al., 2000; LAHVIS et al., 1995) ou então utilizando modelos preditivos (HALL et al., 2006; 2018; DESFORGES et al., 2018) que podem não corresponder fielmente a realidade, mas fornecem um panorama da dose-resposta capaz de causar efeitos adversos aos cetáceos. Para este grupo, em maior parte é estimado o limite tóxico para os PCBs, no entanto para outros compostos como o DDT, HCB, HCHs e Mirex o conhecimento é restrito. Um estudo *in vitro* demonstrou para o *p.p'*- DDT e seu metabólito o *p.p'*- DDE, assim como para os PCBs uma correlação positiva com o aumento das concentrações e a diminuição de mitógenos que estimulam a proliferação e resposta de linfócitos, como a concanavalina A (Con A) e a fitohemaglutinina (PHA) (LAHVIS et al., 1995). Em resposta a concentrações de HCB, foi observado em ratos, um comprometimento nas defesas celulares no pulmão (SHERWOOD et al., 1989). Vale ressaltar que a maior parte dos botos-cinza acometidos pelo morbilivírus tinha um grande comprometimento pulmonar, exibindo um quadro patológico de pneumonia verminosa (GROCH et al., 2019; 2020a; DIAZ-DELGADO et al., 2019).

Durante o EMA houve uma maior mortalidade de fêmeas maduras, filhotes e imaturos com menos de seis anos de idade (CUNHA et al., 2020 –no prelo). Desta maneira, as seguintes hipóteses são sugeridas para uma maior mortalidade nesses grupos: a constante remobilização dos compostos organoclorados da camada de gordura das fêmeas, devido à intensa demanda energética durante a gestação e produção de leite; e as elevadas concentrações de compostos organoclorados nos filhotes, devido à gestação e amamentação. Como demonstrado no *item 4.2*, fêmeas durante a gestação e lactação transferem uma grande carga de contaminantes para os filhotes, os quais, por ainda estarem em processo de desenvolvimento do sistema imunológico, podem ser mais susceptíveis a doenças infecciosas pela elevada carga de contaminantes (JEPSON et al., 1999).

A questão ecológica dos animais também pode ter contribuído para essa maior mortalidade de filhotes e fêmeas maduras. Na Baía de Sepetiba os botos-cinza vivem em grandes agregações com mais de 100 indivíduos (FLACH et al., 2008a; DA SILVA et al., 2010). Além disso, é conhecido que estas agregações de botos-cinza têm maior presença filhotes que os pequenos grupos (DIAS et al., 2009), que facilita a maior transmissão do vírus a esse grupo de animais. Pela análise de função discriminante (*item 4.1.4*) foi possível observar que fêmeas maduras e imaturos não apresentaram diferença significativa entre os perfis de OCs, e que para parte dos machos maduros, foi observado um perfil distinto em relação aos outros grupos. Tal resultado sugere que possivelmente estes animais se alimentam de fontes distintas, achado também já reportado por Santos-Neto (2017). A hipótese para uma menor contaminação e morte nesse grupo pode ser explicada por consequência dos machos da população se afastar das grandes agregações em grupos menores, assim diminuindo o potencial de contágio do morbilivírus, visto que é uma doença altamente contagiosa (JO et al., 2018). Outra hipótese, como já mencionado sobre a remobilização dos compostos nas fêmeas e a disponibilidade deles durante a amamentação dos filhotes, é que na maioria dos machos maduros, os OCs estariam mobilizados na camada de gordura, apresentando uma menor circulação no organismo do animal, possivelmente deixando os animais menos suscetíveis.

Muitos indivíduos doentes observados em campo apresentavam condições corpóreas anormais, como por exemplo, escápulas e costelas evidentes, demonstrando emagrecimento (FLACH et al., 2018). Pelo menos 88% dos indivíduos recolhidos mortos estavam sem ingesta no trato gastrointestinal (CUNHA et al., 2020 – no prelo) uma característica já observada para golfinhos-listrado (*Stenella coeruleoalba*) com

morbilivírus no Mar Mediterrâneo (MARTÍNEZ-LOPES et al., 2019) já que as condições de saúde dos animais podem alterar a capacidade de forrageamento. Estudos demonstram que durante intensa demanda energética e inanição, reservas energéticas da camada de gordura podem ser remobilizadas para suprir as necessidades metabólicas dos indivíduos (MARKUSSEN, 1995; LUNDIN et al., 2016). Fêmeas maduras durante o EMA apresentaram concentrações maiores do PCB 28, que é um dos PCBs com menor número de cloros, tal resultado sugere que possa ter ocorrido uma remobilização deste composto. .

Ainda que em menor mortalidade de indivíduos machos (10,7%) durante o EMA (CUNHA et al., 2020 – no prelo), dois botos-cinza machos doentes chamaram atenção no universo amostral do presente estudo. Esses dois indivíduos morreram no final do evento (fevereiro-março), exibindo péssima condição corpórea e atrofia do músculo epaxial, o que pode sugerir uma infecção crônica pelo morbilivírus (de alguns meses). As concentrações de OCs foram as mais altas reportadas no trabalho (531144.51 e 738827.55 ng/g lip de  $\Sigma$ PCB), no entanto se deve avaliar o resultado com cautela, já que o percentual lipídico dos animais foi baixo (1,81 e 3,83 %lip; respectivamente).

Foi estimado que esses animais perderam em média 30 kg de massa muscular, chegando a 24% do peso total, além de uma diminuição da camada de gordura (MANHÃES et al., 2021). Ainda que as concentrações de compostos orgânicos sejam preferencialmente acumuladas na gordura, o músculo quando comparada a carga corpórea, é o segundo tecido com maiores concentrações (YORDY et al., 2010b). O catabolismo do músculo e consumo da camada de gordura em momentos de inanição pode disponibilizar grandes concentrações de OCs na corrente sanguínea, como também para outros órgãos vitais (YORDY et al., 2010a). Além do catabolismo do músculo, foram encontradas lesões ictéricas no fígado de alguns indivíduos durante o EMA (GROCH et al., 2020) patologia já descrita para animais com infecção por morbilivírus (DOMINGO et al., 1992) o que demonstra um grande dano ao órgão. O fígado é um órgão com grandes reservas lipídicas, e já foram reportadas elevadas concentrações para botos-cinza da região norte do Rio de Janeiro (LAVANDIER et al., 2015). Análises do fígado em animais com morbilivírus sugerem que há uma mobilização dos compostos organoclorados deste órgão para a corrente sanguínea (AGUILAR & BORREL 1994) o que possivelmente pode ter ocorrido com os botos-cinza que apresentavam essas lesões.

Apesar das concentrações encontradas nesses dois indivíduos não serem representativas de toda população, elas demonstram a severidade da infecção por um

patógeno nos animais, possivelmente disponibilizando elevadas concentrações de compostos organoclorados. Estas concentrações estão na mesma ordem de grandeza de orcas (*Orcinus orca*) e golfinhos-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) (JEPSON et al., 2016) que apresentam um tamanho corpóreo superior ao boto-cinza. Estudos a partir de modelagem preditiva nestas duas espécies de delfínídeos, demonstram um forte declínio das populações nos próximos 100 anos atrelado às elevadas concentrações de PCBs (DESFORGES et al., 2018) e principalmente quando há entrada de um patógeno na população (HALL et al., 2018). Ainda, recentemente outros casos de CeMV em baleia-franca-austral (*Eubalaena australis*) e orca (*Orcinus orca*) foram relatados no Brasil (GROCH et al., 2020b, 2019). É importante reconhecer a possibilidade ocorrer por outro evento de mortalidade nessa população de botos-cinza, como já foi relatado para outras populações de golfinhos (CASTRILLON et al., 2010; KECK et al., 2010; CASALONE et al., 2014). A elevada mortalidade de animais neste evento é um alerta para as diferentes fontes de impactos antrópicos, em destaque, a contaminação ambiental. Assim, é preocupante as elevadas concentrações de compostos organoclorados com potencial imunossupressor combinados ao EMA nos botos da Baía de Sepetiba, principalmente por terem o potencial de alterar a abundância dessa população.

## 5.2 Perfil de contaminação por compostos organoclorados

O perfil de contaminação dos botos-cinza permaneceu similar entre os animais coletados antes, durante e pós EMA, com pequenas modificações relacionadas à contribuição do metabólito *p.p'*-DDE nos animais imaturos e machos maduros pós o EMA, que apresentou maior porcentagem. A grande parte dos animais apresentou atrofia no músculo epaxial, ou seja, o músculo foi catabolizado mais rapidamente que a camada de gordura, o que pode não ter modificação do perfil de contribuição dos compostos organoclorados no tecido adiposo. A permanência do mesmo perfil de contaminação, sugere que a doença acometeu os animais de forma aguda.. É reportado que para focas-do-porto (*Phoca vitulina*) à resposta para momentos de inanição, seja a catabolização da

camada de gordura primariamente, onde 75% da energia usada é proveniente deste tecido (MARKUSSEN, 1995).

As maiores concentrações evidenciadas nos botos-cinza no presente estudo são para os PCBs e DDTs em comparação com os outros compostos analisados, que seguiu o padrão de Mirex em concentrações maiores que HCHs e com as menores concentrações, o HCB (Tabela 4). Sobretudo, dentre os dois compostos mais abundantes, os PCBs foram os mais representativos, apresentando concentrações pelo menos cinco vezes maior que os DDTs. Tais resultados evidenciam que a região sudeste está sob maior influência de indústrias e principalmente de um grande adensamento populacional (AGUILAR; BORREL, 1994). Em um estudo com botos-cinza no Suriname, as concentrações de PCBs foram abaixo do limite de detecção, sendo menores que 0,4 ng/g lip (KOEMAN et al., 1972). Assim como evidenciado para o golfinho-nariz-de-garrafa-indo-Pacífico (*Tursiops aduncus*) e golfinho-listrado (*Stenella longirostris*) na região leste da África (MWEVURA et al., 2009). Para ambos os estudos, os autores atrelaram a ausência de PCBs ao baixo desenvolvimento industrial da região. Em botos-cinza amostrados em Cananéia, São Paulo e Paranaguá no Paraná, o perfil encontrado foi de maiores concentrações de DDTs em relação aos PCBs, o que demonstra uma maior influência agrícola na região (YOGUI et al., 2003; LAILSON-BRITO et al., 2010) diferente dos botos-cinza da Baía de Sepetiba.

Em um estudo com sedimento, material particulado e bivalves filtradores na Baía de Sepetiba, foi evidenciada a presença de PCBs em maiores níveis comparado aos DDTs (GALVÃO et al., 2014). As concentrações encontradas nos bivalves filtradores são menores que dos botos-cinza, no entanto, uma vez que é conhecido o potencial de biomagnificação desses compostos (BORGA et al., 2001; GUI et al., 2014; CONSOLINI et al., 2017), as elevadas concentrações encontradas nos botos-cinza da Baía de Sepetiba reforçam o fato desses compostos aumentarem as concentrações ao longo da teia trófica (GRAY, 2002). Mesmo que os bivalves não sejam presas diretas do boto-cinza, esses indivíduos estão presentes na teia trófica da Baía de Sepetiba e com base em dados que corroboram no processo de biomagnificação de compostos organoclorados, é esperado que o mesmo possa ocorrer neste cenário, onde ao longo das relações tróficas, podem chegar até animais topo de cadeia como os botos-cinza.

Os PCBs tiveram sua principal fonte para a região por conta de formulações utilizadas no Brasil sobre a nomenclatura de Askarel®. Apesar da proibição do recebimento e utilização no Brasil, em 1981 (PENTEADO & VAZ, 2001), a sua alta

persistência no ambiente faz com que esses compostos ainda sejam encontrados em elevadas concentrações (JONES & VOOGT, 1999). O Askarel® apresentava em sua constituição, em maior parte, compostos hexa e hepta-clorados, ou seja, moléculas com seis e sete átomos de cloro. É conhecido que tais congêneres são de difícil degradação (BORJA et al., 2005) e apresentam alta aderência a sedimento e material particulado (SPARLING, 2016). Assim permanecem no ambiente por longos períodos de tempo, corroborando com os achados do presente estudo, onde se evidenciou uma maior contribuição de congêneres hexa e hepta-cloro no  $\Sigma$ PCB, variando de 80-85% de contribuição no percentual dos indivíduos analisados (Gráfico 6).

Tanto para botos-cinza, como para outros delfínídeos analisados na costa do Rio de Janeiro, o perfil de contaminação segue esse mesmo padrão, com maiores concentrações de compostos hexa e hepta, em destaque para os PCBs 153, 138 e 180 (LAILSON-BRITO et al., 2011; LAILSON-BRITO et al., 2012; OLIVEIRA-FERREIRA, 2020). Diferentemente dos botos-cinza analisados no presente trabalho, delfínídeos da região nordeste do Brasil como o golfinho-de-Fraser (*Lagenodelphis hosei*) e o golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*) apresentaram as maiores concentrações para o PCB 158. Os autores atrelaram essa diferença, principalmente a alta mobilidade dessas espécies e a grande área de forrageio, em maior parte na região da plataforma continental. Para os botos-cinza analisados no nordeste, o perfil foi similar, com maiores concentrações de hexa/hepta-clorados (PCBs 153, 138 e 180), uma vez que também ocupam a região costeira (SANTOS-NETO et al., 2014).

Em um estudo realizado nas baías costeiras do Rio de Janeiro, foi evidenciada a contaminação por PCBs na Baía de Sepetiba em sedimento de regiões de mangue e desembocadura de rios, em concentrações de até 20 ng/g, diferente das concentrações de DDT que ultrapassaram 100 ng/g. Essas altas concentrações de DDT e seus metabólitos apresentaram um perfil de contribuição diferente entre regiões da Baía de Sepetiba (JAPENGA et al., 1988). Os autores encontraram diferenças no perfil entre o ponto amostrado no canal (maior concentração de *p.p'*- DDT) e o ponto mais interno da baía (maior concentração de *p.p'*- DDE) e atribuíram principalmente as maiores concentrações de DDT pela entrada recente, já que o estudo foi feito na época que os DDTs haviam sido recentemente banidos, além de uma possível menor degradação biológica na área. O perfil dos botos-cinza é principalmente de maiores contribuições de *p.p'*-DDE, sendo a razão entre o *p.p'*-DDE/ $\Sigma$ DDT de 0,70 o que evidencia que esses compostos já sofreram

desidrocloração, ao longo desses anos disponíveis no ambiente. Aguilar e colaboradores (1984) atribuíram a razão de 0,60 como um indicativo de entrada antiga de DDT no ambiente, e como observado nos botos-cinza, possivelmente há pouca entrada recente de DDT nessa região.

Dentre os demais pesticidas clorados analisados no presente estudo, o perfil de contribuição nos botos-cinza foi de maiores concentrações de Mirex em relação aos HCHs e HCB. O Mirex é constituído de 12 cloros em sua molécula, o que o faz ter uma grande persistência no ambiente, e principalmente uma alta afinidade com tecidos gordurosos (ATSDR, 1995). Diferente dos HCHs e HCB que são compostos com seis átomos de cloros e apresentam uma menor lipoflicidade (ATSDR, 2015). Tais compostos são extremamente voláteis, e estão principalmente em maiores concentrações em regiões polares e temperadas, devido ao transporte atmosférico (GOUIN et al., 2004). Outro fator que pode ocasionar as menores concentrações desses compostos é a taxa de degradação e meia vida. Em regiões tropicais é conhecido para o HCB que a taxa de degradação é mais rápida (230 dias) que em regiões polares (2292 dias) (WANIA & MACKAY, 1995) principalmente pela fotodegradação que ocorre em regiões com maior incidência de luz.

### **5.3 Influência dos parâmetros biológicos na acumulação dos compostos organoclorados**

As maiores concentrações de compostos organoclorados nos machos maduros e indivíduos imaturos, bem como o aumento das concentrações com o aumento da idade, reportadas no presente estudo, corroboram com diversos trabalhos sobre bioacumulação de compostos organoclorados em cetáceos (AGUILAR & BORELL 1995; YORDY et al., 2010; KO et al., 2014). Machos acumulam esses micropoluentes ao longo da vida, ao contrário das fêmeas, que durante a gestação e lactação, transferem para seus filhotes grande parte de sua carga de contaminantes (KAJIWARA et al., 2008) como já reportado no item 4.2 e será discutido no próximo item (5.2). Não houve diferença entre as concentrações de compostos organoclorados dos botos-cinza imaturos sexualmente, sendo

machos e fêmeas imaturos, apresentando concentrações similares. Estes resultados são reportados na bibliografia, também para outras espécies de cetáceos (HICKIE et al., 2007; KRATOFIL et al., 2020). Em orcas (*Orcinus orca*), por exemplo, as concentrações de POPs começam a divergir a partir de 14 anos, com a maturação sexual (HICKIE et al., 2007). Nos botos-cinza, as concentrações começam a divergir, entre seis anos para fêmeas e sete anos para machos quando atingem a maturidade sexual (SANTOS-NETO, 2017).

Diferenças no perfil de contaminação dos botos-cinza da Baía de Sepetiba foram anteriormente relatados por Santos-Neto (2017). Ao analisar o perfil de contaminação por compostos organobromados, o autor evidenciou perfis distintos entre fêmeas e machos maduros, sugerindo que a área de forrageio dos animais pode ser diferente. Este fato corrobora com os achado do presente estudo, onde os machos tiveram um perfil distinto das fêmeas maduras. Em outro estudo, através da análise de isótopos estáveis, os autores observaram uma grande variação no  $\delta^{13}\text{C}$  em parte dos indivíduos amostrados, de ambos os sexos. Os autores e sugerem que parte dos animais, possam se alimentar de diferentes fontes alimentares, e que possivelmente alguns animais se alimentem fora da Baía de Sepetiba, enquanto outros se alimentam dentro da baía (BISI et al., 2013). Em consequência do padrão de circulação das águas da Baía de Sepetiba, a baía é dividida entre a região interna com características estuarinas, devido o aporte dos rios e região externa, com características oceânicas, em consequência das águas da plataforma continental (FEEMA, 2006; TUBBS et al., 2012). A frequência das avistagens do botos-cinza da Baía de Sepetiba é maior na entrada da baía que na região interior (FLACH et al., 2008) tais características ambientais podem modificar o padrão de contaminação da região, e consequentemente o perfil dos animais que se alimentam preferencialmente em cada área.

Além da utilização de área, a dieta dos botos-cinza da Baía de Sepetiba apresenta uma grande variedade de presas, algumas delas exclusivas de cada classe etária. Por exemplo, espécies como o bagre-amarelo (*C. spixii*), oveva (*L. breviceps*) e o robalo (*Centropomus* sp.) foram presas exclusivas dos machos maduros (ARAUJO, 2012). Outra diferença observada foi em relação ao índice de importância relativa (IIR) das presas entre as classes etárias. Machos maduros tiveram uma maior importância para espécies como a sardinha-boca-torta (*Cetengraulis edentulus*) e a corvina (*Micropogonias furnieri*), enquanto as fêmeas maduras, o bagre (*Sciadeichthys luniscutis*) e a tainha (*Mugil* sp.). Já

para os juvenis os mais importante foram o Goete (*Cynoscion jamaicensis*) e a corvina (*Micropogonias furnieri*) (ARAUJO, 2012).

O boto-cinza normalmente utiliza águas rasas, de 6-11 metros de profundidade (FLACH et al., 2008) e uma hipótese sugerida por Araujo (2012) é que fêmeas por estarem com seus filhotes e juvenis, tenham uma menor capacidade de mergulho e predem presas menores na superfície, diferentes dos machos, que podem realizar mergulhos mais profundos, e predam presas maiores. A predação de diferentes tamanhos de peixes, em diferentes faixas etárias pode influenciar nas diferenças de concentrações entre machos e fêmeas, visto que peixes também podem passar pelo processo de bioacumulação de compostos organoclorados ao longo da vida, e em geral apresentam maiores concentrações de POPs com o aumento do tamanho corpóreo (VIVES et al., 2005; DERIBE et al., 2011).

#### 5.4 Transferência materna

Quatro pares de fêmeas e fetos foram avaliados em relação à transferência placentária. O feto com maior razão de transferência tinha aproximadamente nove meses de gestação, equivalente a 75% do tempo total. Em contrapartida, os outros três fetos tinham aproximadamente seis meses, que representa metade do tempo de gestação dos botos-cinza (SANTOS-NETO, 2017), apresentaram uma menor taxa de transferência. Contudo, as elevadas concentrações reportadas para esse grupo de fetos é parte da depuração que ocorreria nos 12 meses de gestação dos botos-cinza. As menores concentrações foram de um feto de uma fêmea de 15 anos, a mais velha do grupo amostral de fêmeas/feto, o que pode sugerir, prováveis gestações anteriores e transferiu grande parte da sua carga de contaminantes nas primeiras gestações (COCKCROFT et al., 1989). Já as maiores concentrações foram de um feto de uma fêmea de 13 anos, que pode indicar ser uma fêmea primípara ou que teve poucas gestações (COCKCROFT et al., 1989; BORREL et al., 1995; SCHWACKE et al., 2002).

Esses resultados demonstram o grande impacto aos primeiros filhotes gerados, que recebem as maiores concentrações transferidas da fêmea. Nos fetos analisados, as

concentrações variaram de 6318,99 – 1747,44 ng/g lip para  $\Sigma$ PCB e 1369,33 – 90,18 ng/g lip para  $\Sigma$ DDT no tecido adiposo. Entretanto, conforme Wang e colaboradores (2012) em focas-do-Porto (*Phoca vitulina richardii*) PCBs transferidos para os fetos acumulam preferencialmente no fígado e cérebro, assim a carga de contaminantes que esses animais estão expostos na primeira fase de desenvolvimento pode ser ainda maior do que as concentrações presentes no tecido adiposo reportadas aqui.

Um dos fetos analisados apresentou concentrações três vezes maiores a um feto de boto-cinza analisado na Baía de Guanabara, que havia concentrações de 2620 ng/g lip de  $\Sigma$ PCB (DA SILVA et al., 2003). Este é o ambiente mais degradado de toda a distribuição do boto-cinza, onde a população diminuiu 37% entre os anos de 2000 e 2015 (AZEVEDO et al., 2009, 2017) onde as elevadas concentrações de PCBs já foram atreladas ao baixo sucesso reprodutivo de fêmeas dessa população (MANHÃES et al., 2018).

Os pesticidas *p.p'*- DDE e *p.p'*- DDD tiveram razões de transferência maiores próximas ou igual a 1, pela maior facilidade de transferência em consequência do número de cloros da sua molécula, que apresenta 4 cloros (BORREL & AGUILAR, 2005) em comparação com o *p.p'*- DDT que apresenta 5 cloros, e foi encontrado em apenas um feto. O perfil de contaminação de PCBs dos botos-cinza da Baía de Sepetiba tem pouca contribuição de compostos leves (bicloro, tricloro e tetracloro), sendo que as fêmeas analisadas apresentaram concentrações baixas destes compostos. Estudos apontam que tais congêneres são os mais facilmente remobilizados e transferidos das fêmeas para os filhotes principalmente pelo menor *kow* quando comparado a PCBs com maior grau de cloração, tendo uma menor afinidade com os lipídios (BORREL & AGUILAR, 2005; DESFORGES et al., 2012; HARAGUCHI et al., 2009). Apenas para um par de mãe e feto, as maiores razões de transferência foram para compostos tricloro. No restante, as maiores concentrações e as maiores razões de transferência para os PCBs foram dos compostos pentacloro, hexacloro e heptacloro, isso principalmente pelo perfil de contaminação da região. O Mirex teve pouca transferência das fêmeas para os fetos, presente em apenas um feto. Este composto é constituído de 12 átomos de cloro e um *Kow* alto (log 6,9) (SPARLING, 2016) o que pode dificultar a sua remobilização por ter grande afinidade com lipídeos e consequente transferência.

Além da gestação, grande parte da carga de contaminantes é transferida via lactação, o leite dos cetáceos rico em lipídeos, tem elevadas concentrações de compostos organoclorados, principalmente devido seu caráter lipofílico (ADDISON; BRODIE, 1987;

HARAGUCHI et al., 2009). Neonatos, ainda que com concentrações menores durante o EMA que os animais coletados antes do EMA, apresentavam níveis de OCs extremamente elevados (média de 18442.81 ng/g lip de  $\Sigma$ PCB e 3671.08 ng/g lip de  $\Sigma$ DDT). As menores concentrações encontradas nos neonatos durante o EMA podem refletir uma diminuição na amamentação desses filhotes em consequência da morte de suas mães, já que houve uma grande mortalidade de fêmeas durante o EMA (CUNHA et al., 2020 - no prelo). Ou ainda pode sugerir uma menor produção de leite nas fêmeas, por ser uma atividade que requer alta demanda energética (RECHSTEINER et al., 2013) e grande parte dos animais estavam sem se alimentar (CUNHA et al., 2020 – no prelo; GROCH et al., 2020a). No entanto, mesmo com os menores níveis encontrados, 50% dos neonatos analisados apresentaram concentrações de  $\Sigma$ PCB maiores que as reportadas de 17000 ng/g lip responsáveis por acarretar efeitos imunossupressores nos mamíferos marinhos adultos (KANNAN et al., 2000). Além de três neonatos que apresentaram concentrações maiores que o limite de 41000 ng/g lip  $\Sigma$ PCB (HELLE et al., 1976; JEPSON et al., 2016) nível elevado de concentrações capaz de causar efeitos adversos.

Um dos indivíduos neonatos dois anos apresentou  $\Sigma$ PCB de 79185,98 ng/g lip, assim, considerando que as concentrações de neonatos são quase que em totalidade da mãe, esses valores evidenciam concentrações elevadas de PCBs nas fêmeas, pelo fato de que mais de 80% da carga de contaminantes da fêmea ser transferida para os filhotes (COCKCROFT et al, 1989; KAJIWARA et al., 2008). Hall e colaboradores (2006) demonstram por meio de modelagem preditiva que concentrações acima de 10000 ng/g lip de  $\Sigma$ PCB na mãe acarretaria em uma menor sobrevivência dos filhotes nos primeiros seis meses de vida, 75% dos neonatos analisados ultrapassaram esse nível, contudo, esse limite é para fêmeas de golfinho-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) que apresentam um tamanho corpóreo maior (máximo 380 cm e 650 kg) do que o boto-cinza (*Sotalia guianensis*) (máximo 220 cm e 120 kg) (JEFFERSON et al., 2015). Assim, a dose-resposta capaz de interferir na sobrevivência dos filhotes de boto-cinza pode ser ainda menor. As elevadas concentrações observadas tanto para os fetos, quanto para os neonatos, são uma grande ameaça para a manutenção das populações de botos-cinza na Baía de Sepetiba, uma vez que o baixo sucesso de sobrevivência dos filhotes pode levar as populações de cetáceos ao declínio ao longo dos anos (DESFORGES et al, 2018; HALL et al., 2018).

### 5.5 Variação temporal das concentrações de compostos organoclorado nos botos-cinza da Baía de Sepetiba

Foi encontrado um aumento significativo das concentrações de compostos organoclorados nos botos-cinza da Baía de Sepetiba entre os anos de 2007 a 2019, isso para todos os cenários em que foram avaliados, incluindo animais maduros sexualmente ou não. Este padrão é o contrário do observado para cetáceos no hemisfério norte, em que as concentrações estão diminuindo ou permanecem estáveis (JEONG et al., 2019; JEPSON et al., 2016; LAW et al., 2012). Os autores destes trabalhos sugerem que sejam pelas medidas de proibição do uso desses contaminantes. No entanto, devido às características físico-químicas dos compostos organoclorados, principalmente relacionados à persistência e forte adsorção em sedimento e material particulado, estes podem ficar imobilizados no ambiente por longos períodos (WHO, 1992) e serem disponibilizados por algum distúrbio ambiental.

Os períodos de maiores concentrações observados no presente estudo podem estar fortemente correlacionados com alterações ambientais conhecidas na Baía de Sepetiba. Ao longo dos anos, com o desenvolvimento econômico, foram observadas diversas modificações ambientais na região (MOLISSANI et al., 2004; SILVA-FILHO & MAGRINI, 2016). O aumento da atividade portuária resultou em operações de dragagem, para aterramento, ou para manutenção do calado no canal de navegação (MOLISSANI et al., 2004; MONTEZUMA, 2007). Assim como também, a transposição do Rio Paraíba do Sul, que configura uma das maiores fontes de sedimento para a região (MOLISSANI et al., 2006; JORDÃO, 2017). Para o golfinho-corcunda-australiano (*Sousa sahulensis*) e Golfinho-de-heinsohn (*Orcaella heinsohni*) na Austrália, os autores atrelaram o aumento das concentrações de PCBs e DDTs nos últimos 15 anos também aos distúrbios ambientais, como inundações e erosões que disponibilizam sedimento e conseqüentemente contaminantes para a região de ocorrência dessas espécies (CAGNAZZI et al., 2020).

Entre os anos de 2011-2014 para a manutenção do canal de acesso ao porto foram dragados sete milhões de m<sup>3</sup> na região (RODRIGUES, 2019). Dados anteriores demonstraram que entre os anos de 2007-2008, 20 milhões de toneladas de sedimento foram retirados do fundo da baía para aterramento de empreendimentos portuários, assim

como em 2010, foi dragado 2,5 milhões de m<sup>3</sup> para a construção da ponte do terminal marítimo na Ilha Guaíba (BASTOS & BASSANI, 2012). Esse padrão com maiores concentrações para os anos 2007-2008 pode ser observado no modelo do  $\Sigma$ DDT nos indivíduos imaturos, no entanto, por limitação de dados prévios a esse período não é possível saber o quanto essas concentrações aumentaram. O declínio demonstrado pelo modelo nos anos de 2009-2010 pode ter sido influenciado por ser um ano de *gap* nos dados.

Estudos apontam que há uma redistribuição de contaminantes com a suspensão de sedimento e material particulado (VAN DEN BERG et al., 2001; MOLISSANI et al., 2004). Torres e colaboradores (2009) na região do porto de Santos, em São Paulo, encontraram uma maior contaminação de metais pesados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs) e PCBs nos sólidos suspensos dragados em relação ao sedimento natural, assim como também uma alta disponibilidade destes. Os compostos organoclorados de diferentes graus de cloração tiveram um comportamento distinto. Os compostos mais recalcitrantes (PCB 153, 138 e 180) que são heptaclorados demonstraram o mesmo comportamento com constante aumento nas concentrações, já para os compostos (PCB 101 e 118) e  $\Sigma$ DDT (para os machos) ambos penta clorados, o aumento foi marcado nos anos de 2013-2014, seguidos de uma diminuição. Estes resultados podem ser principalmente devido à diferença de adsorção desses compostos, pois conforme menor número de cloros é observado uma menor adsorção com o sedimento (WHO, 1992). Com isso, podem ser mais facilmente disponibilizados no ambiente durante a suspensão de sedimento.

Nos modelos incluindo fêmeas maduras, o aumento das concentrações do  $\Sigma$ PCB e dos congêneres demonstrou que mesmo as fêmeas transferindo grande carga desses compostos para os filhotes durante gestação e lactação, as concentrações continuam aumentando ao longo dos anos. Diferentemente do que ocorreu com o  $\Sigma$ DDT, que não demonstrou aumento para as fêmeas. Este resultado pode ser explicado pelas altas razões de transferências que foram próximas ou maior que 1 nas fêmeas e fetos do presente estudo. Ou ainda assim, a diminuição da carga desses contaminantes ao longo do tempo, pela menor entrada de *p.p'*- DDT e maior ocorrência do seu metabólito *p.p'*- DDE, que é resultado da degradação do *p.p'*- DDT (ATSDR, 2002).

A partir da análise de função discriminante em que foi utilizado apenas indivíduos imaturos, foi possível observar um perfil distinto entre os principais períodos amostrados.

Os resultados demonstrando que houve uma modificação ambiental, resultando em uma alteração de perfil dos animais. Os maiores valores de distância encontrados na análise de função discriminante foram encontrados nos indivíduos do período de 2011 a 2016, em relação aos outros períodos amostrais analisados. Contudo, outra hipótese para essa diferença de perfil, somada às dragagens e à transposição do Rio Paraíba do Sul, pode ter sido uma mudança na dieta dos botos-cinza. Araújo (2012) demonstrou que a presa preferencial dos animais da Baía de Sepetiba, no período amostrado de 2005-2011, foi a sardinha-boca-torta (*Cetengraulis edentulus*). Já uma análise no período de amostragem mais recente (2017-2020), demonstrou que a presa preferencial foi a corvina (*Micropogonias furnieri*) (MAQUA – dados não publicados). Apesar das duas espécies de presas serem os mais presentes na dieta do boto-cinza, a diferença no índice de importância e de biomassa consumida pode ter uma influência no perfil de contaminação dos indivíduos.

## CONCLUSÕES

Os botos-cinza analisados antes, durante e pós EMA não apresentaram diferenças nas concentrações da maioria dos compostos organoclorados, rejeitando a hipótese de que teriam maiores concentrações durante o EMA.

Para fêmeas maduras as concentrações do PCB 28 foram maiores durante o EMA sugerindo que houve a remobilização desse composto de outros tecidos.

As concentrações do  $\Sigma$ PCB para grande parte dos botos-cinza analisados, excedeu os limites tóxicos propostos que podem causar efeitos imunossupressores.

Machos maduros e indivíduos imaturos não apresentam diferença entre as concentrações de compostos organoclorados.

Existe aumento das concentrações de compostos organoclorados em machos com a idade.

Fêmeas maduras apresentam as menores concentrações de compostos organoclorados, principalmente devido a transferência durante a gestação e lactação.

Existe uma diminuição das concentrações de compostos organoclorados (HCB,  $\Sigma$ PCB, congêneres PCBs 101, 151, 118, 153, 141, 138, 158, 187, 177, 180, *p.p'*- DDE, *p.p'*- DDD, *p.p'*- DDT e  $\Sigma$ DDT) com o aumento da idade das fêmeas.

Há uma diferença no padrão da bioacumulação de compostos organoclorados entre fêmeas maduras e machos maduros, o que pode ser devido ao uso de habitat e alimentação em diferentes teias tróficas, como também a transferência materna.

Houve transferência placentária dos compostos organoclorados das fêmeas para os fetos. E as maiores razões de transferência foram para o feto com maior tempo de gestação.

Os compostos que tiveram as maiores razões de transferência das fêmeas para os fetos foram os pesticidas *p.p'*- DDD e *p.p'*- DDE.

Houve transferência lactacional dos compostos organoclorados das fêmeas para neonatos.

Neonatos antes do EMA apresentaram maiores concentrações de compostos organoclorados que indivíduos durante o EMA.

As concentrações do  $\Sigma$ PCB para 75% dos neonatos excederam os limites que prejudicam a sobrevivência de filhotes.

Houve aumento das concentrações de compostos organoclorados entre os anos de 2007 a 2019 para animais imaturos e maduros sexualmente.

Não houve aumento das concentrações de *p.p'*- DDT para fêmeas maduras durante os anos de 2007 a 2019.

Compostos organoclorados menos recalcitrantes (PCB 101 e 118) tiveram um evidente aumento durante os anos de 2013 e 2014.

Houve diferença no padrão de bioacumulação dos compostos organoclorados entre os anos de 2007-2008; 2011-2016 e 2017- 2019, evidenciando que houve um distúrbio ambiental que modificou o perfil de acumulação desses compostos nos botos-cinza da Baía de Sepetiba.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do presente estudo pode se verificar as elevadas concentrações de compostos organoclorados que os botos-cinza da Baía de Sepetiba estão expostos em todas as fases de vida e ao longo do tempo. Apesar das concentrações de compostos organoclorados nos indivíduos antes, durante e pós EMA causado pelo morbilivírus, não demonstrarem diferença significativa, é eminente a grande ameaça que a espécie está sendo exposta, incluindo esses poluentes como um fator potencial para a maior mortalidade de animais na Baía de Sepetiba, em comparação com a Baía da Ilha Grande. Para grande parte dos indivíduos analisados, as concentrações de compostos organoclorados como os PCBs foram maiores que limites tóxicos estimados capazes de acarretar efeitos deletérios em mamíferos marinhos (KANNAN et al., 2000; HELLE et al., 1976; JEPSON et al., 2016). Os dois indivíduos com as maiores concentrações do presente estudo, demonstram a severidade da infecção por um patógeno na saúde dos animais e a possível redistribuição de compostos organoclorados para a corrente sanguínea.

Fêmeas maduras apresentaram as menores concentrações de compostos organoclorados e machos maduros apresentaram as maiores concentrações, no entanto não foi encontrada diferença significativa entre os indivíduos imaturos e os machos maduros. Para esse grupo foram encontradas correlações significativas e positivas em relação à idade, enquanto que para as fêmeas maduras, as correlações foram significativas e negativas. Dentro desse contexto, se evidenciou altos níveis de compostos organoclorados em fetos e neonatos oriundos da transferência materna, a partir da gestação e lactação. Tal achado remete a uma grande preocupação com a manutenção desta população, visto que as elevadas concentrações estão acima dos limites propostos, que podem acarretar uma maior mortalidade de filhotes nos primeiros meses de vida (HALL et al., 2006).

Além disso, o indicativo do aumento das concentrações de compostos organoclorados de 2007 a 2019 em indivíduos imaturos e maduros, principalmente entre os anos de 2013 e 2014, em conjunto com os diferentes padrões de bioacumulação entre esses períodos amostrados, demonstrou que houve uma modificação ambiental, possivelmente em consequência dos processos antrópicos que a região da Baía de Sepetiba está sujeita. Os botos-cinza são considerados sentinelas da contaminação ambiental, e refletem a

biodisponibilidade de tais contaminantes. Assim a análise dos compostos organoclorados nos botos-cinza pôde elucidar como distúrbios ambientais podem refletir em todo ecossistema. É importante ressaltar que além das elevadas concentrações de compostos organoclorados encontradas nos boto-cinza da Baía de Sepetiba no presente estudo, esta população residente encontra-se exposta a um coquetel de outros poluentes, como compostos organobromados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, mercúrio, entre outros elementos traço (SANTOS-NETO, 2017; LAILSON-BRITO et al., 2010; BISI et al., 2012; MANHÃES et al., 2021; MAQUA – dados não publicados) o que pode tornar o efeito sinérgico desses contaminantes ainda mais danoso à saúde desta espécie de golfinho.

A entrada de um patógeno, como o morbilivírus dos cetáceos, na população de botos-cinza da Baía de Sepetiba juntamente com os diversos impactos negativos que a população está exposta, como por exemplo, tráfego de embarcações, poluição sonora, captura incidental (BITTENCOUT et al., 2020; FLACH, 2015) e principalmente a contaminação ambiental, podem constituir uma grande ameaça à manutenção da população. Visto isso, é importante o desenvolvimento de medidas de conservação para a espécie, como também a mitigação de impactos ambientais que possam disponibilizar compostos organoclorados na região.

## RECOMENDAÇÕES

A partir dos resultados do presente estudo, sugere-se a análise de compostos organoclorados nos botos-cinza da população da Baía da Ilha Grande, para futuras comparações. Nesse contexto, é de extrema importância o monitoramento *in situ* de ambas as populações, para a identificação de possíveis indícios que demonstrem um segundo surto de morbilivírose. Assim também como o monitoramento de outras doenças infecciosas que possam acometer os botos-cinza. É recomendada ainda a análise de biomarcadores de exposição e efeito dos compostos organoclorados, como também avaliar e quantificar parâmetros da imunidade dos botos-cinza, a fim de detectar os riscos à saúde dessa população.

Ademais, é importante a integração do conhecimento a respeito da ecologia dos botos-cinza da Baía de Sepetiba, como uso de habitat e análise de foto-identificação, para atrelar informações de indivíduos encontrados encalhados, com o registro das atividades em vida. É recomendada também a manutenção da rede de encalhes, que possibilita em longo prazo o conhecimento dos botos-cinza da Baía de Sepetiba, e oportuniza a realização de estudos como este, com um grande universo amostral de diferentes períodos. Além disso, é importante avaliar a coleta de biópsias dos botos-cinza da Baía de Sepetiba para mais estudos.

O entendimento da poluição da Baía de Sepetiba é extremamente importante quando atrelado a estudos com a biota, encoraja-se estudos que caracterizem as principais fontes de contaminantes no meio abiótico, o que inclui água, sedimento e atmosfera.

Sugere-se a análise de outros contaminantes ambientais nos indivíduos da população de botos-cinza da Baía de Sepetiba, como compostos organobromados, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, elementos-traço e poluentes emergentes, a fim de compreender como a sinergia destes contaminantes pode afetar a saúde desta espécie. Também é recomendado o monitoramento contínuo das concentrações de compostos organoclorados nos botos-cinza da Baía de Sepetiba, visto que diante dos impactos que a região vem sofrendo, a perspectiva é que as concentrações continuem aumentando ao longo dos anos. É importante suprir as lacunas de dados entre os anos de 2009, 2010 e

2012 da análise de variação temporal, para que o panorama do aumento das concentrações nessa população seja melhor explicado.

## REFERÊNCIAS

- ADDISON, R. F.; BRODIE, P. F. Transfer of organochlorine residues from blubber through the circulatory system to milk in the lactating grey seal *Halichoerus grypus*. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 44, n. 4, p. 782-786, 1987.
- AGUILAR, A.; BORRELL, A. Abnormally high polychlorinated biphenyl levels in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) affected by the 1990–1992 Mediterranean epizootic. **Science of the Total Environment**, v. 154, n. 2-3, p. 237-247, 1994.
- ANDRADE, L.G., Assobios do boto-cinza *Sotalia guianensis*, (Cetacea, Delphinidae) em três áreas de concentração na costa do Rio de Janeiro. Dissertação de mestrado (Pós-Graduação em Ecologia e Evolução). Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 2010.
- ANDRADE, L. G. de et al. High-frequency whistles of Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*) in Guanabara Bay, southeastern Brazil. **The Journal of the Acoustical Society of America**, v. 137, n. 1, p. EL15-EL19, 2015.
- ARAUJO, A. C. Dieta do boto-cinza (*Sotalia guianensis* Van Bénédén 1864) (Cetácea, Delphinidae) na Baía de Sepetiba (RJ). **Dissertação de mestrado** (Pós-graduação em Oceanografia), Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2012.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological Profile for polychlorinated biphenyls (PCBs) **U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service**. Atlanta, 2000.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological Profile for DDT, DDE and DDD. **U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service**. Atlanta, 2002.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological Profile alpha-, beta-, gamma-, and delta-hexachlorocyclohexane. **U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service**. Atlanta, 2005.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Case Studies in Environmental Medicine Polychlorinated Biphenyls (PCBs) Toxicity. **U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service**. 2014
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological Profile Hexachlorobenzene. **U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service**. Atlanta, 2015.
- AZEVEDO, A. F. et al. Habitat use by marine tucuxis (*Sotalia guianensis*) (Cetacea: Delphinidae) in Guanabara Bay, south-eastern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the UK**, v. 87, n. 1, p. 201. 2007.
- AZEVEDO, A. F. et al. Human-induced injuries to marine tucuxis (*Sotalia guianensis*) (Cetacea: Delphinidae) in Brazil. **Marine Biodiversity Records**, v. 2, 2009.

- AZEVEDO, A. F. et al. The first confirmed decline of a delphinid population from Brazilian waters: 2000–2015 abundance of *Sotalia guianensis* in Guanabara Bay, south-eastern Brazil. **Ecological Indicators**, v. 79, p. 1-10, 2017.
- BALLSCHMITER, K. et al. The determination of chlorinated biphenyls, chlorinated dibenzodioxins, and chlorinated dibenzofurans by GC-MS. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 15, n. 4, p. 260-270, 1992.
- BALMER, B. C. et al. Persistent organic pollutants (POPs) in blubber of common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) along the northern Gulf of Mexico coast, USA. **Science of the Total Environment**, v. 527, p. 306-312, 2015.
- BASTIDA, R. et al. Mamíferos Aquáticos da América do Sul e Antártica. 1° ed. **Vázquez Mazzini**. 368p. 2018.
- BASTOS, B. C.; BASSANI, C. A questão da expansão portuária como solução para o desenvolvimento econômico: o caso das dragagens e os impactos ambientais na baía de Sepetiba. **Simpósio de Excelência em Gestão e Tecnologia**, p. 17, 2012.
- BAILEY, Robert E. Global hexachlorobenzene emissions. **Chemosphere**, v. 43, n. 2, p. 167-182, 2001.
- BÉLAND, P. et al. Toxic compounds and health and reproductive effects in St. Lawrence beluga whales. **Journal of Great Lakes Research**, v. 19, n. 4, p. 766-775, 1993.
- BEYER, A. et al. Assessing long-range transport potential of persistent organic pollutants. **Environmental Science & Technology**, v. 34, n. 4, p. 699-703, 2000.
- BISI, T. L. et al. Trophic relationships and mercury biomagnification in Brazilian tropical coastal food webs. **Ecological Indicators**, v. 18, p. 291-302, 2012.
- BISI, T. L. et al. Trophic relationships and habitat preferences of delphinids from the southeastern Brazilian coast determined by carbon and nitrogen stable isotope composition. **Plos One**, v. 8, n. 12, p. e82205, 2013.
- BITTENCOURT, L. et al. Underwater noise in an impacted environment can affect Guiana dolphin communication. **Marine Pollution Bulletin**, v. 114, n. 2, p. 1130-1134, 2017.
- BITTENCOURT, L. et al. Anthropogenic noise influences on marine soundscape variability across coastal areas. **Marine Pollution Bulletin**, v. 160, p. 111648, 2020.
- BORGÅ, K.; GABRIELSEN, G. W.; SKAARE, J. U. Biomagnification of organochlorines along a Barents Sea food chain. **Environmental Pollution**, v. 113, n. 2, p. 187-198, 2001.
- BORJA, J. et al. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 6, p. 1999-2013, 2005.
- BORRELL, A.; AGUILAR, A. Mother-calf transfer of organochlorine compounds in the common dolphin (*Delphinus delphis*). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 75, n. 1, p. 149-156, 2005.
- BORRELL, A.; BLOCH, D.; DESPORTES, G. Age trends and reproductive transfer of organochlorine compounds in long-finned pilot whales from the Faroe Islands. **Environmental Pollution**, v. 88, n. 3, p. 283-292, 1995.

BORTOLETTO, M. E. Tóxicos, Civilização e Saúde. Contribuição à Análise de Sistemas de Informações Tóxico-Farmacológicas no Brasil. **Série Política de Saúde** n°12 Ed. CICT, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil. 1993.

BRASIL. Portaria N° 329, de 2 de setembro de 1985. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/mapa\\_gm/1985/prt0329\\_02\\_09\\_1985.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/mapa_gm/1985/prt0329_02_09_1985.html)>. Acessado em: 02 de nov. 2020.

BRASIL. Decreto n°. 5.472, de 20 de junho de 2005. Promulga o texto da Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes, adotada, naquela cidade, em 22 de maio de 2001. Brasília, DF, 20 de junho de 2005. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2005/Decreto/D5472.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2005/Decreto/D5472.htm)>. Acessado em: 02 nov. 2020.

BREIVIK, K. et al. Primary sources of selected POPs: regional and global scale emission inventories. **Environmental Pollution**, v. 128, n. 1-2, p. 3-16, 2004.

CABALLERO, S. et al. Taxonomic status of the genus *Sotalia*: species level ranking for “tucuxi” (*Sotalia fluviatilis*) and “costero” (*Sotalia guianensis*) dolphins. **Marine Mammal Science**, v. 23, n. 2, p. 358-386, 2007.

CAGNAZZI, D. et al. Geographic and temporal variation in persistent pollutants in Australian humpback and snubfin dolphins. **Ecological Indicators**, v. 111, p. 105990, 2020.

CARSON, R. Silent spring. **Houghton Mifflin Harcourt**, 1962. 2002.

CASALONE, C. et al. Cetacean strandings in Italy: an unusual mortality event along the Tyrrhenian Sea coast in 2013. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 109, n. 1, p. 81-86, 2014.

CASTRILLON, J. et al. PCB and DDT levels do not appear to have enhanced the mortality of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) in the 2007 Mediterranean epizootic. **Chemosphere**, v. 81, n. 4, p. 459-463, 2010.

COCKCROFT, V. G. et al. Organochlorines in bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* from the east coast of South Africa. **South African Journal of Marine Science**, v. 8, n. 1, p. 207-217, 1989.

CORSOLINI, S.; SARÀ, G. The trophic transfer of persistent pollutants (HCB, DDTs, PCBs) within polar marine food webs. **Chemosphere**, v. 177, p. 189-199, 2017.

CUNHA, H. A. et al. Riverine and marine ecotypes of *Sotalia* dolphins are different species. **Marine Biology**, v. 148, n. 2, p. 449, 2005.

CUNHA, H. A. et al. no prelo. Epidemiological features of the first Unusual Mortality Event linked to cetacean morbillivirus in the South Atlantic (Brazil, 2017-2018). **Marine Mammal Science**, 2020.

DA SILVA, A. M. F. et al. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in edible fish species and dolphins from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 70, n. 6, p. 1151-1157, 2003.

DA SILVA FILHO, L.C. R.; MAGRINI, A. desenvolvimento econômico-industrial e o impacto sobre a zona costeira: o caso Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro/Brasil. **Revista Augustus**, v. 21, n. 42, p. 93-105, 2017.

DERIBE, E. et al. Bioaccumulation of persistent organic pollutants (POPs) in fish species from Lake Koka, Ethiopia: the influence of lipid content and trophic position. **Science of the total environment**, v. 410, p. 136-145, 2011.

DESFORGES, J.P. W.; ROSS, P. S.; LOSETO, L. L. Transplacental transfer of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in arctic beluga whales (*Delphinapterus leucas*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 296-300, 2012.

DESFORGES, J. P. W., SONNE, C., LEVIN, M., SIEBERT, U., DE GUISE, S., & DIETZ, R. Immunotoxic effects of environmental pollutants in marine mammals. **Environment International**, 86, 126-139, 2016.

DESFORGES, J. et al. Predicting global killer whale population collapse from PCB pollution. **Science**, v. 361, n. 6409, p. 1373-1376, 2018.

DI GUARDO, G. et al. Morbillivirus infection in cetaceans stranded along the Italian coastline: pathological, immunohistochemical and biomolecular findings. **Research in Veterinary Science**, v. 94, n. 1, p. 132-137, 2013.

DÍAZ-DELGADO, J. et al. Comparative histopathologic and viral immunohistochemical studies on CeMV infection among Western Mediterranean, Northeast-Central, and Southwestern Atlantic cetaceans. **Plos one**, v. 14, n. 3, p. e0213363, 2019.

DIETZ, R. et al. Age determination of European harbour seal, *Phoca vitulina* L. **Sarsia**, v. 76, n. 1-2, p. 17-21, 1991.

DOMINGO, M. et al. Pathologic and immunocytochemical studies of morbillivirus infection in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). **Veterinary Pathology**, v. 29, n. 1, p. 1-10, 1992.

DORNELES, P. R. et al. Cephalopods and cetaceans as indicators of offshore bioavailability of cadmium off Central South Brazil Bight. **Environmental Pollution**, v. 148, n. 1, p. 352-359, 2007.

ECOLOGUS, Relatório de impacto ambiental. Terminal de granéis sólidos. CSN, **Companhia Siderúrgica Nacional**. 2014.

EDWARDS, H.; SCHNELL, G. Status and ecology of *Sotalia fluviatilis* in the Cayos Misquitos Reserve, Nicaragua. **Marine Mammal Science** 17(3): 445-472, 2001.

FEEMA. Projeto de recuperação gradual do ecossistema da Baía de Guanabara. **Fundação Estadual de Engenharia e Meio Ambiente - FEEMA**. Rio de Janeiro. 203 p., 1990.

FERREIRA, A. P.; HORTA, M. A. P.; DA CUNHA, C. L. N.. Avaliação das concentrações de metais pesados no sedimento, na água e nos órgãos de *Nycticorax nycticorax* (Garçada-noite) na Baía de Sepetiba, RJ, Brasil. **Revista de Gestão Costeira**

**Integrada-Journal of Integrated Coastal Zone Management**, v. 10, n. 2, p. 229-241, 2010.

FERREIRA, A. P. Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins (PCDDs), Polychlorinated Dibenzofurans (PCDFs), and Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Olivaceous Cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*) from Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Marine Science**. 2(4): 27-33, 2012.

FERREIRA, A. P.; WERMELINGER, E. D. Dioxins and polychlorinated biphenyls concentrations in *Larus dominicanus*. Case study: Marambaia island, Sepetiba bay, Rio de Janeiro State, Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 35, n. 3, p. 373-380, 2013.

FIEDLER, H. Global and local disposition of PCBs. **UNEP Chemicals**. In: PCBs-Recent Advances in the Environmental Toxicology and Health Effects, pp. 11-15, 2001.

FLACH, L.; et al. Density, abundance and distribution of the Guiana dolphin (*Sotalia guianensis* van Béneden, 1864) in Sepetiba Bay, Southeast Brazil. **Journal of Cetacean Research and Management**, v. 10, n. 1, p. 31-36, 2008a.

FLACH, L.; FLACH, P. A.; CHIARELLO, A. G. Aspects of behavioral ecology of *Sotalia guianensis* in Sepetiba Bay, southeast Brazil. **Marine Mammal Science**, v. 24, n. 3, p. 503-515, 2008b.

FLACH, L. Estimativa de parâmetros populacionais, área de vida, mortalidade e interações da atividade pesqueira sobre a população de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) (Van Béneden, 1864) (Cetacea, Delphinidae) na Baía de Sepetiba (RJ). Tese de Doutorado (Pós-Graduação em Ecologia e Evolução). Universidade do Estado do Rio de Janeiro, RJ. 2015.

FLACH, L. et al. Clinical signs in free-ranging Guiana dolphins *Sotalia guianensis* during a morbillivirus epidemic: case study in Sepetiba Bay, Brazil. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 133, n. 3, p. 175-180, 2019.

FLORES, P.A. & DA SILVA, V.M.F. Tucuxi and Guiana dolphin *Sotalia fluviatilis* and *Sotalia guianensis*. **Encyclopedia of Marine Mammals** 2nd ed., 1188-1192, 2002.

FRANZ, B. Comportamento dos metais Cd, Zn, Pb no material particulado em suspensão na zona de mistura do Canal de São Francisco (Baía de Sepetiba, RJ). Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Geoquímica Ambiental, Universidade Federal Fluminense. 103p, 2004.

GALVÃO, P. et al. Partition of organochlorine concentrations among suspended solids, sediments and brown mussel *Perna perna*, in tropical bays. **Chemosphere**, v. 114, p. 9-15, 2014.

GERACI, J. R.; LOUNSBURY, V. J. Marine mammals ashore: a field guide for strandings. **National Aquarium in Baltimore**. 2005

GIRONES, L. et al. Spatial Distribution and Ecological Risk Assessment of Residual Organochlorine Pesticides (OCPs) in South American Marine Environments. **Current Environmental Health Reports**, p. 1-14, 2020.

GOUIN, T. et al. Evidence for the “grasshopper” effect and fractionation during long-range atmospheric transport of organic contaminants. **Environmental Pollution**, v. 128, n. 1-2, p. 139-148, 2004.

GONG, W. et al. Emission factors of unintentional HCB and PeCBz and their correlation with PCDD/PCDF. **Environmental Pollution**, v. 230, p. 516-522, 2017.

GRAY, J. S. Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. **Marine Pollution Bulletin**, v. 45, n. 1-12, p. 46-52, 2002.

GROCH, K. R. et al. Novel cetacean morbillivirus in Guiana dolphin, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 3, p. 511, 2014.

GROCH, K. R. et al. Guiana dolphin unusual mortality event and link to cetacean morbillivirus, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 24, n. 7, p. 1349, 2018.

GROCH, K. R. et al. Cetacean morbillivirus in Southern right whales, Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 66, n. 1, p. 606-610, 2019.

GROCH, K. R. et al. The Pathology of Cetacean Morbillivirus Infection and Comorbidities in Guiana Dolphins During an Unusual Mortality Event (Brazil, 2017-2018). **Veterinary Pathology**, 2020a.

GROCH, K. R. et al. Cetacean Morbillivirus Infection in a Killer Whale (*Orcinus orca*) from Brazil. **Journal of Comparative Pathology**, v. 181, p. 26-32, 2020b.

GUI, D. et al. Bioaccumulation and biomagnification of persistent organic pollutants in Indo-Pacific humpback dolphins (*Sousa chinensis*) from the Pearl River Estuary, China. **Chemosphere**, v. 114, p. 106-113, 2014.

HALL, A. J., MCCONNELL, B. J., ROWLES, T. K., AGUILAR, A., BORRELL, A., SCHWACKE, L. & WELLS, R. S. Individual-based model framework to assess population consequences of polychlorinated biphenyl exposure in bottlenose dolphins. **Environmental Health Perspectives**, 114 (Suppl 1), 60-64. 2006.

HALL, A. J., MCCONNELL, B. J., SCHWACKE, L. H., YLITALO, G. M., WILLIAMS, R., & ROWLES, T. K. Predicting the effects of polychlorinated biphenyls on cetacean populations through impacts on immunity and calf survival. **Environmental Pollution**, 233, 407-418. 2018.

HARAGUCHI, K.; HISAMICHI, Y.; ENDO, T. Accumulation and mother-to-calf transfer of anthropogenic and natural organohalogens in killer whales (*Orcinus orca*) stranded on the Pacific coast of Japan. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 8, p. 2853-2859, 2009.

HELLE, E., OLSSON, M., JENSEN, S. PCB levels correlated with pathological changes in seal uteri. **Ambio**, 5 (5/6), 261-262, 1976.

HERCULANO, S. Exposição a riscos químicos e desigualdade social: o caso do HCH (hexaclorociclohexano) na Cidade dos Meninos, RJ. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 5, 2002.

- HICKIE, B. E. et al. Killer whales (*Orcinus orca*) face protracted health risks associated with lifetime exposure to PCBs. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 18, p. 6613-6619, 2007.
- HOLLATZ, C., FLACH, L., BAKER, C.S., SANTOS, F.R. Microsatellite data reveal fine genetic structure in male Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*) in two geographically close embayments at south-eastern coast of Brazil. **Marine biology**, v. 158, n. 4, p. 927-933, 2011.
- HUNG, H. et al. Temporal trends of Persistent Organic Pollutants (POPs) in arctic air: 20 years of monitoring under the Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP). **Environmental Pollution**, v. 217, p. 52-61, 2016.
- IARC. Hexachlorobenzene. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Lyon, France: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer 79: 493, 2001.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo 2010. Disponível em: <<https://censo2010.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 06 nov. 2020.
- ICMBIO. Livro vermelho da fauna Brasileira ameaçada de extinção. **Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade**. 2016.
- JEFFERSON, T. A.; WEBBER, M. A.; PITMAN, R. L. **Marine Mammals of the World a Comprehensive Guide to their Identificaton**. 2. ed. [S.l.] Academic Press, 608 p. 2015.
- JAPENGA, J. et al. Organic micropollutants in the Rio de Janeiro coastal region, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 75, n. 2-3, p. 249-259, 1988.
- JEONG, Y. et al. Accumulation and time trends (2003–2015) of persistent organic pollutants (POPs) in blubber of finless porpoises (*Neophocaena asiaeorientalis*) from Korean coastal waters. **Journal of Hazardous Materials**, v. 385, p. 121598, 2020.
- JEPSON, P. D. et al. Investigating potential associations between chronic exposure to polychlorinated biphenyls and infectious disease mortality in harbour porpoises from England and Wales. **Science of the Total Environment**, v. 243, p. 339-348, 1999.
- JEPSON, P. D. et al. PCB pollution continues to impact populations of orcas and other dolphins in European waters. **Scientific Reports**, v. 6, p. 18573, 2016.
- JO, W. K. et al. Evolutionary evidence for multi-host transmission of cetacean morbillivirus. **Emerging Microbes & Infections**, v. 7, n. 1, p. 1-15, 2018.
- JONES, K.C., DE VOOGT, P. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. **Environmental Pollution**, v. 100, n. 1-3, p. 209-221, 1999.
- JORDÃO, M. L. Influência da Transposição de Bacias do Paraíba do Sul-Piraí-Gandu na descarga de sólidos suspensos para a Baía de Sepetiba. Programa de Pós-graduação e pesquisa em Engenharia. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 255p. 2017.
- KAJIWARA, N. et al. Contamination by persistent organochlorines in cetaceans incidentally caught along Brazilian coastal waters. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 46, n. 1, p. 124-134, 2004.

- KALLENBORN, R.; HUNG, H.; BRORSTRÖM-LUNDÉN, E. Atmospheric long-range transport of persistent organic pollutants (POPs) into Polar regions. In: **Comprehensive Analytical Chemistry**. Elsevier, 2015. p. 411-432.
- KANNAN, K. et al. Isomer-specific analysis and toxic evaluation of polychlorinated biphenyls in striped dolphins affected by an epizootic in the western Mediterranean Sea. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 25, n. 2, p. 227-233, 1993.
- KANNAN, K. et al. Toxicity reference values for the toxic effects of polychlorinated biphenyls to aquatic mammals. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 6, n. 1, p. 181-201, 2000.
- KECK, N. et al. Resurgence of Morbillivirus infection in Mediterranean dolphins off the French coast. **Veterinary Record**, 2010.
- KELLY, B. C. et al. Food web-specific biomagnification of persistent organic pollutants. **Science**, v. 317, n. 5835, p. 236-239, 2007.
- KENNEDY, S. Morbillivirus infections in aquatic mammals. **Journal of Comparative Pathology**, v. 119, n. 3, p. 201-225, 1998.
- KO, F. Chi; WE, N. Y.; CHOU, L. S. Bioaccumulation of persistent organic pollutants in stranded cetaceans from Taiwan coastal waters. **Journal of Hazardous Materials**, v. 277, p. 127-133, 2014.
- KOEMAN, J. H. et al. Persistent chemicals in marine mammals. **TNO Nieuws Toegepast Natuurwetensch Onderz**, 1972.
- KRATOFIL, M. A. et al. Life history and social structure as drivers of persistent organic pollutant levels and stable isotopes in Hawaiian false killer whales (*Pseudorca crassidens*). **Science of the Total Environment**, p. 138880, 2020.
- LAHVIS, G. P. et al. Decreased lymphocyte responses in free-ranging bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) are associated with increased concentrations of PCBs and DDT in peripheral blood. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, n. suppl 4, p. 67-72, 1995.
- LAILSON-BRITO, J. et al. High organochlorine accumulation in blubber of Guiana dolphin, *Sotalia guianensis*, from Brazilian coast and its use to establish geographical differences among populations. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 5, p. 1800-1808, 2010.
- LAILSON-BRITO, J. et al. Organochlorine compound accumulation in delphinids from Rio de Janeiro State, southeastern Brazilian coast. **Science of the total environment**, v. 433, p. 123-131, 2012.
- LAVANDIER, R. et al. An assessment of PCB and PBDE contamination in two tropical dolphin species from the Southeastern Brazilian coast. **Marine Pollution Bulletin**, v. 101, n. 2, p. 947-953, 2015.

LAW, R. J. et al. Contaminants in cetaceans from UK waters: Status as assessed within the Cetacean Strandings Investigation Programme from 1990 to 2008. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 7, p. 1485-1494, 2012.

LEVIN, M. et al. Immunomodulatory effects of exposure to polychlorinated biphenyls and perfluoroalkyl acids in East Greenland ringed seals (*Pusa hispida*). **Environmental Research**, v. 151, p. 244-250, 2016.

LUNDIN, J. I. et al. Modulation in persistent organic pollutant concentration and profile by prey availability and reproductive status in Southern Resident killer whale scat samples. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 12, p. 6506-6516, 2016.

MACEDO, G.R.; PIMENTEL, R.F. Conflito e integração na Transposição de Aguas do Rio Paraíba do Sul para o Gandu. **Relatórios de Pesquisa em Engenharia de Produção** – V. 4, 2004.

MANHÃES, B.R. et al. High organochlorine concentrations in a threatened Guiana dolphin population. **Organohalogen Compounds**, 2018.

MANHÃES, B. M. R. et al. Changes in mercury distribution and its body burden in delphinids affected by a morbillivirus infection: Evidences of methylmercury intoxication in Guiana dolphin. **Chemosphere**, v. 263, p. 128286. 2021.

MARKUSSEN, N. H. Changes in metabolic rate and body composition during starvation and semistarvation in harbour seals. In: **Developments in Marine Biology**. Elsevier Science, p. 383-391, 1995.

MARTÍNEZ-LÓPEZ, E. et al. Trace metals in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) stranded along the Murcia coastline, Mediterranean Sea, during the period 2009–2015. **Chemosphere**, v. 229, p. 580-588, 2019.

MAZZARIOL, S. et al. Dolphin Morbillivirus and *Toxoplasma gondii* coinfection in a Mediterranean fin whale (*Balaenoptera physalus*). **BMC Veterinary Research**, v. 8, n. 1, p. 20, 2012.

MMA - Ministério do Meio Ambiente. Plano Nacional de Implementação Brasil: Convenção de Estocolmo. Brasília: 192 p. 2015.

MOLISANI, M. M. et al. Environmental changes in Sepetiba bay, SE Brazil. **Regional Environmental Changgoue**, v. 4, n. 1, p. 17-27, 2004.

MOLISANI, M. M. et al. Water discharge and sediment load to Sepetiba Bay from an anthropogenically-altered drainage basin, SE Brazil. **Journal of Hydrology**, v. 331, n. 3-4, p. 425-433, 2006.

MONTEIRO, S. S. et al. Bioaccumulation of trace element concentrations in common dolphins (*Delphinus delphis*) from Portugal. **Marine Pollution Bulletin**, v. 113, n. 1-2, p. 400-407, 2016.

MONTEZUMA, P.N. Impactos nos processos de assoreamento na Baía de Sepetiba-RJ, de sedimentos oriundos da bacia contribuinte e de dragagens portuárias. **Dissertação de**

**mestrado**. Programa de pós-graduação de engenharia. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 108p. 2007.

MREMA, E. J. et al. Persistent organochlorinated pesticides and mechanisms of their toxicity. **Toxicology**, v. 307, p. 74-88, 2013.

MOORE, K.M.; SIMEONE C.A.; BROWNELL R.L.JR. Strandings. In Encyclopedia of Marine Mammals. 3° Ed. p 945-951, 2018.

MOREIRA, V.A. Distribuição de metais em espécies de peixes da Baía de Sepetiba – Rio de Janeiro. Dissertação de mestrado em Geociências. Universidade Federal Fluminense. 2015

MURPHY, S. et al. Reproductive failure in UK harbour porpoises *Phocoena phocoena*: legacy of pollutant exposure?. **PLoS One**, v. 10, n. 7, p. e0131085, 2015.

MURPHY, S. et al. Organochlorine contaminants and reproductive implication in cetaceans: a case study of the common dolphin. **Marine Mammal Ecotoxicology**, p 3-38. 1ª Ed. Academic Press. 2018.

NERY, M. F.; ESPÉCIE, M. A.; SIMÃO, S. M. Site fidelity of *Sotalia guianensis* (Cetacea: Delphinidae) in Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 25, n. 2, p. 182-187, 2008.

O'SHEA, T. J.; REEVES, R. R.; LONG, A. K. Marine mammals and persistent ocean contaminants. **Proceedings of the Marine Mammal Commission Workshop**. Keystone, Colorado. p. 12-15. 1999.

OLIVEIRA, R.M. Cidade dos meninos, Duque de Caixas, RJ: Linha do tempo sobre a contaminação ambiental e humana. Tese de doutorado em saúde pública (Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca/Fundação Oswaldo Cruz). 226p. 2008.

OLIVEIRA-FERREIRA, N. Bioacumulação de poluentes orgânicos persistentes em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, das regiões sudeste e sul do Brasil. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Ecologia e Evolução. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 89p. 2020.

ONU. Report of the United Nations conference on the human environment. **United National Publication**. Stockholm, 1972.

PENTEADO, J. C. P.; VAZ, J. M. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 390-398, 2001.

PESSANHA, A. L. M.; ARAÚJO, Francisco Gerson. Spatial, temporal and diel variations of fish assemblages at two sandy beaches in the Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 57, n. 5-6, p. 817-828, 2003.

PRINCE, K. D.; TAYLOR, S.D.; ANGELINI, C. A Global, Cross-System Meta-Analysis of Polychlorinated Biphenyl Biomagnification. **Environmental Science & Technology**, v. 54, n. 18, p. 10989-11001, 2020.

REEVES, R. R. et al. Dolphins, whales and porpoises: Conservation action plan for the

world's cetaceans. IUCN/SSC **Cetacean Specialist Group**, IUCN. *Oryx*, v. 37, n. 3, set. 139 p., 2003.

ROCHA, D. S. et al. Metais pesados em sedimentos da Baía de Sepetiba, RJ: implicações sobre fontes e dinâmica da distribuição pelas correntes de maré. **Geochimica Brasiliensis**, v. 24, n. 1, p. 63-70, 2010.

RODRIGUES, S. C.; FREITAS, M.B. Baía de Sepetiba: Apenas um mar de minas? 2019. Disponível em: <<https://historiapt.info/baa-de-sepetiba- apenas-um-mar-de-minas.html>> Acessado em 02 de nov. 2020.

ROSS, P. S. The role of immunotoxic environmental contaminants in facilitating the emergence of infectious diseases in marine mammals. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 8, n. 2, p. 277-292, 2002.

ROSSI-SANTOS, M. R et al. Residence and site fidelity of *Sotalia guianensis* in the Caravelas River Estuary, eastern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 87, n. 1, p. 207-212, 2007.

SACRISTÁN, C. et al. Molecular identification and microscopic characterization of poxvirus in a Guiana dolphin and a common bottlenose dolphin, Brazil. **Diseases of aquatic organisms**, v. 130, n. 3, p. 177-185, 2018.

SANTOS-NETO, E. B. et al. Organochlorine concentrations (PCBs, DDTs, HCHs, HCB and MIREX) in delphinids stranded at the northeastern Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 472, p. 194-203, 2014.

SANTOS-NETO, E. B. Influência de parâmetros de história natural (sexo, idade e maturidade sexual) nos padrões de acumulação de compostos organobromados do boto-cinza (*Sotalia guianensis*) da baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil. Tese de doutorado. Programa de Pós-graduação em Ecologia e Evolução. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 112p. 2017.

SCHWACKE, L.H. et al. Probabilistic risk assessment of reproductive effects of polychlorinated biphenyls on bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the southeast United States coast. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 21, n. 12, p. 2752-2764, 2002.

SECCHI, E.; SANTOS, M.C. DE O.; REEVES, R. 2018. *Sotalia guianensis*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. 2018.

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

SHERWOOD R.L.; THOMAS P.T.; O'SHEA W.J. et al. Effects of inhaled hexachlorobenzene aerosols on rat pulmonary host defenses. **Toxicology and Industrial Health** 5:451-461, 1989.

SIMÕES-LOPES, P.C. Ocorrência de uma população de *Sotalia fluviatilis* (Gervais, 1853) (Cetacea, Delphinidae) no limite sul de sua distribuição, Santa Catarina, Brasil. **Biotemas** 1(1): 57-62, 1988.

SITTIG, M. Pesticide manufacturing and toxic materials control encyclopedia. **Noyes Data Corporation**, 1980.

SPARLING, D.W. Ecotoxicology Essential. Environmental contaminants and their biological effects on animals and plants. **Academic Press**. London. 490p. 2016.

STAREK-ŚWIECHOWICZ, B.; BUDZISZEWSKA, B.; STAREK, A. Hexachlorobenzene as a persistent organic pollutant: toxicity and molecular mechanism of action. **Pharmacological Reports**, v. 69, n. 6, p. 1232-1239, 2017.

STRUNTZ, W.D.J. et al. Persistent organic pollutants in rough-toothed dolphins (*Steno bredanensis*) sampled during an unusual mass stranding event. **Marine Pollution Bulletin**, v. 48, n. 1, p. 164-173, 2004.

STOCKHOLM CONVENTION. On persistent organic pollutants (POPs). Text and annexes. Revised in 2017. **Secretariat of the Stockholm Convention** (SSC). 2018

TANABE, S. et al. Capacity and mode of PCB metabolism in small cetaceans. **Marine Mammal Science**, v. 4, n. 2, p. 103-124, 1988.

TERAN, T.; LAMON, L.; MARCOMINI, A.. Climate change effects on POPs' environmental behaviour: a scientific perspective for future regulatory actions. **Atmospheric Pollution Research**, v. 3, n. 4, p. 466-476, 2012.

TORRES, J.P. et al. Organochlorine in blubber of marine tucuxi dolphin, *Sotalia guianensis*, from Rio de Janeiro coastal bays, Brazil. **Organohalogen Compounds**, Vol 68, 580-582, 2006.

TORRES, R. J. et al. Effects of dredging operations on sediment quality: contaminant mobilization in dredged sediments from the Port of Santos, SP, Brazil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 9, n. 5, p. 420-432, 2009.

TUBBS FILHO, D.; ANTUNES, J.C.O.; VETTORAZZI, J.S. Bacia hidrográfica dos Rios Guandu, da Guarda e Guandu-Mirim: Experiências para gestão dos recursos hídricos. **Instituto Estadual do Ambiente, INEA**. 2012.

VAN BRESSEM, M. F. et al. A preliminary overview of skin and skeletal diseases and traumata in small cetaceans from South American waters. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, v. 6, n. 1, p. 7-42, 2007.

VAN BRESSEM, M. F. et al. Epidemiological pattern of tattoo skin disease: a potential general health indicator for cetaceans. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 85, n. 3, p. 225-237, 2009a.

VAN BRESSEM, M.-F.; DE OLIVEIRA SANTOS, M. C.; DE FARIA OSHIMA, J. E.. Skin diseases in Guiana dolphins (*Sotalia guianensis*) from the Paranaguá estuary, Brazil: a possible indicator of a compromised marine environment. **Marine Environmental Research**, v. 67, n. 2, p. 63-68, 2009b.

- VAN BRESSEM, M. F. et al. Cetacean morbillivirus: current knowledge and future directions. **Viruses**, v. 6, n. 12, p. 5145-5181, 2014.
- VAN DEN BERG, G. A. et al. Dredging-related mobilisation of trace metals: a case study in the Netherlands. **Water Research**, v. 35, n. 8, p. 1979-1986, 2001.
- VIDAL, L. G. O uso do boto-cinza (*Sotalia guianensis*) como sentinela da poluição ambiental por compostos organoclorados (DDT, PCB, HCH, HCB e Mirex) em baías costeiras do Estado do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado (Pós-Graduação da Faculdade de Oceanografia). Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2010.
- VIDAL, L.G. et al. Organochlorine compounds in blubber of Guiana dolphins, *Sotalia guianensis*, from Sepetiba bay, Rio de Janeiro state, Brazil. **Organohalogen Compounds** V. 73, 1693-1696. 2011.
- VIDAL, L. G. Contaminantes orgânicos em boto-cinza (*Sotalia guianensis*, Cetartiodactyla: Delphinidae) da costa do Brasil. Tese de Doutorado (Pós-Graduação em Ciências Biológicas). Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2015. 160 p.
- VIVES, I. et al. Age dependence of the accumulation of organochlorine pollutants in brown trout (*Salmo trutta*) from a remote high mountain lake (Redo, Pyrenees). **Environmental Pollution**, v. 133, n. 2, p. 343-350, 2005.
- WANIA, F.; MACKAY, D.. A global distribution model for persistent organic chemicals. **Science of the Total Environment**, v. 160, p. 211-232, 1995.
- WHO (World Health Organization). Lindane (Gamma-HCH) health and safety guide. **World Health Organization for the International**, Geneva. 1991.
- WHO (World Health Organization). Polychlorinated biphenyls (PCBs) and polychlorinated terphenyls (PCTs) health and safety guide. **World Health Organization for the International Programme on Chemical Safety**, Geneva. 1992.
- WHO (World Health Organization) et al. The use of DDT in malaria vector control: WHO position statement. **World Health Organization for the International Programme on Chemical Safety**, 2011.
- YOGUI, G. T et al. Chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls in marine tucuxi dolphins (*Sotalia fluviatilis*) from the Cananéia estuary, Southeastern Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 312, n. 1-3, p. 67-78, 2003.
- YORDY, J. E. et al. Partitioning of persistent organic pollutants between blubber and blood of wild bottlenose dolphins: implications for biomonitoring and health. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 12, p. 4789-4795, 2010a.
- YORDY, J. E. et al. Tissue-specific distribution and whole-body burden estimates of persistent organic pollutants in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 6, p. 1263-1273, 2010b.

**APÊNDICE** - Parâmetros biológicos e concentrações de HCB, ΣHCH, Mirex, ΣDDT e ΣPCB em ng/g lip de botos-cinza (*Sotalia guianensis*) imaturos, fêmeas maduras e machos maduros da Baía de Sepetiba, Brasil.

Categoria	n	CT	Idade	%Lip	HCB	ΣHCH	Mirex	ΣDDT	ΣPCB
Imaturos	25	170 ± 8	5 ± 2	35,99 ± 16,79	27,12 ± 26,99	93,47 ± 152,99	252,47 ± 458,35	6210,14 ± 6002,33	53294,58 ± 56498,09
		154 - 186	3 - 9	11,64 - 71,45	0,11 - 144,24	0,58 - 675,23	0,17 - 2177,82	636,69 - 24321,74	6619,20 - 255695,93
		171	5	33.07	23.29	34.15	819.83	4046.06	38897.38
Fêmeas maduras	21	185 ± 5	15 ± 6	37,67 ± 16,51	8,20 ± 9,76	43,64 ± 109,44	118,82 ± 203,44	1288,67 ± 1380,48	13907,20 ± 16476,80
		176 - 195	5 - 28	1,88 - 65,78	0,11 - 32,66	0,58 - 479,04	0,17 - 924,36	82,44 - 5737,13	979,86 - 57517,17
		185	14	41.65	3.84	4.84	46.35	769.23	5966.93
Machos maduros	18	190 ± 9	14 ± 7	30,88 ± 19,19	36,7 ± 38,94	180,48 ± 414,38	609,06 ± 1066,60	20071,82 ± 35155,45	129800,71 ± 192209,94
		162 - 202	7 - 31	1,81 - 56,19	0,11 - 157,97	0,58 - 1840,58	0,17 - 4555,70	1467,99 - 130385,66	18145,92 - 738827,55
		191	12	29.25	21.76	43.88	190.45	6699.02	59662.57

Legenda: (n) número amostral, (CT) comprimento total em centímetros, (%Lip) conteúdo lipídico, (<LD) abaixo do limite de detecção, dados de média e desvio padrão, valores mínimos – máximos e mediana.