



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**  
Centro Biomédico  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Catarina Amorim Lopes

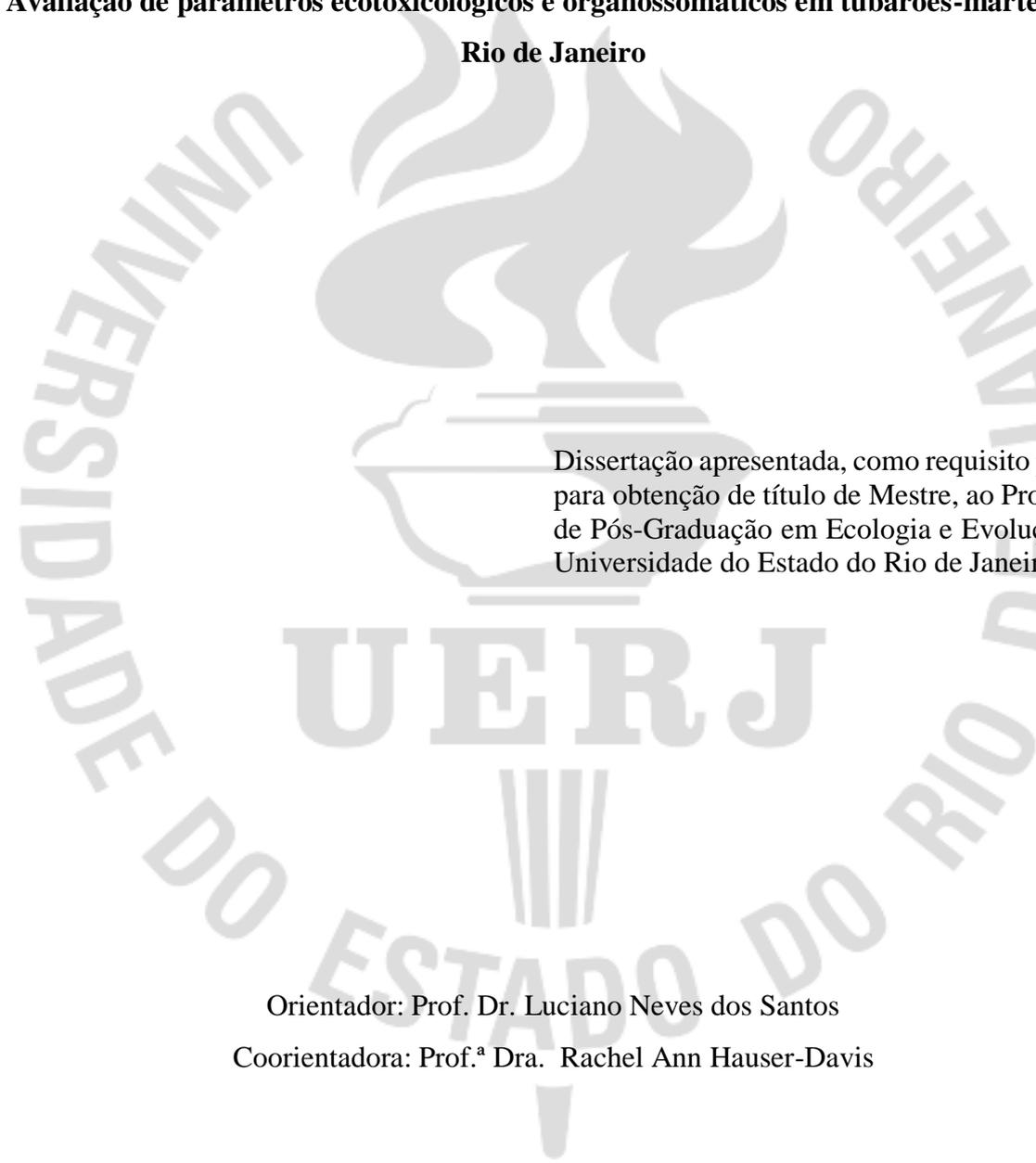
**Avaliação de parâmetros ecotoxicológicos e organossomáticos em tubarões-  
martelo do Rio de Janeiro**

Rio de Janeiro

2021

Catarina Amorim Lopes

**Avaliação de parâmetros ecotoxicológicos e organossomáticos em tubarões-martelo do  
Rio de Janeiro**



Dissertação apresentada, como requisito parcial  
para obtenção de título de Mestre, ao Programa  
de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, da  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Neves dos Santos

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Rachel Ann Hauser-Davis

Rio de Janeiro

2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA

L864      Lopes, Catarina Amorim.  
                    Avaliação de parâmetros ecotoxicológicos e organossomáticos  
em tubarões- martelo do Rio de Janeiro/ Catarina Amorim Lopes. – 2021.  
                    72f. : il.

                    Orientador: Luciano Neves dos Santos

                    Coorientadora: Rachel Ann Hauser-Davis.

                    Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Universidade  
do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

                    1. Tubarão - Contaminação - Rio de Janeiro (Estado) - Teses. 2.  
Elasmobrânquios - Rio de Janeiro (Estado) - Teses. 3. Contaminação ambiental -  
Teses. 4. Toxicologia ambiental - Teses. I. Santos, Luciano Neves dos. II. Hauser-  
Davis, Rachel Ann. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de  
Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

Patricia Bello Meijinhos CRB-7/ 5217- Bibliotecária responsável pela elaboração da ficha catalográfica

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

Assinatura

Data

Catarina Amorim Lopes

**Avaliação de parâmetros ecotoxicológicos e organossomáticos em tubarões-martelo do  
Rio de Janeiro**

Dissertação apresentada, como requisito parcial  
para obtenção de título de Mestre, ao Programa  
de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, da  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Aprovada em 27 de Agosto de 2021

Banca Examinadora:

·  
Prof. Dr. Luciano Neves dos Santos (Orientador)  
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

·  
Prof.<sup>a</sup> Dra. Rachel Ann Hauser-Davis (Coorientadora)  
Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ

·  
Prof.<sup>a</sup> Dra. Tatiana Lemos Bisi  
Departamento de Oceanografia Biológica – UERJ

·  
Prof.<sup>a</sup> Dra. Natascha Wosnick  
Universidade Federal do Paraná

Rio de Janeiro

2021

## RESUMO

AMORIM-LOPES, C. *Avaliação de parâmetros ecotoxicológicos e organossomáticos em tubarões-martelo do Rio de Janeiro*. 2021. 72f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

Os elasmobrânquios atualmente compõem o segundo táxon de vertebrados mais ameaçado de extinção do mundo e muitas vezes carecem de dados para o estabelecimento de ações para conservação. Dentre o leque de ameaças ao grupo, a contaminação química se constitui como um dos componentes menos conhecidos e mais subestimados. Neste sentido, o presente estudo propôs acessar o efeito da exposição por metais (Ti, Zn, Cu, Mn e Se) na condição morfofisiológica de tubarões-martelo pescados na costa do Rio de Janeiro utilizando ferramentas ecotoxicológicas, morfométricas e de assimetria flutuante (FA). Os tubarões foram adquiridos pela visita em colônias de pesca artesanal em Copacabana, Recreio dos Bandeirantes e Cabo Frio. Os animais foram dissecados e suas matrizes biológicas (músculo, fígado, rins, cérebro e gel das ampolas de Lorenzini), processadas para a detecção de metais e metalotioneínas por meio de protocolos específicos. Análises de: Componentes Principais (PCA), Permutacional de Variância (PERMANOVA), de Redundância (RDA) e correlações de Spearman foram executadas como o conjunto de tratamento estatístico dos dados. Doze tubarões-martelo foram amostrados e classificados como juvenis. Foi possível detectar a presença de metais em todos os tecidos, com Se representando as maiores concentrações, enquanto o Mn apresentou as mais reduzidas. As tendências de dinâmica tecidual dos metais foi ilustrada pela análise de PCA ( $p = 0,0001$ ;  $PC1 = 70,1\%$ ;  $PC2 = 12,5\%$ ), e confirmadas pela PERMANOVA ( $F = 11,6$ ;  $p < 0,0001$ ), ambas significativas, e os tecidos se organizaram na seguinte ordenação decrescente: Rim > Fígado > Cérebro = Músculo = Gel das Ampolas. As diferenças entre as matrizes biológicas se mostraram mais relevantes para a disposição dos metais do que o sexo ou tamanho em *S. lewini* capturados na costa do Rio de Janeiro. As análises de RDA originaram resultados significativos entre o índice hepatossomático (IHS) e as concentrações dos metais no músculo. Por fim, as correlações significativas de assimetria flutuante e as variáveis analisadas resultaram em concentrações aumentadas de Zn no fígado associadas a maior variação na assimetria do cefalofólio em contraposição às relações FA1 da nadadeira pélvica e Se no músculo e FA1 da nadadeira peitoral e Cu no músculo. Enquanto o FA1 do diâmetro do olho se correlacionou com as concentrações de metalotioneína no músculo. É possível concluir, portanto, que o IHS possui sensibilidade suficiente para ser considerado um bom *proxy* dos efeitos de metais na condição morfofisiológica de tubarões-martelo do Rio de Janeiro enquanto a assimetria flutuante necessita de mais investigações para compreender seu papel como indicadora de impacto neste grupo. O presente estudo investe em abordagens inovadoras para a localidade, realizando metodologias nunca testadas antes para elasmobrânquios como a análise da contaminação no gel das ampolas de Lorenzini, atribuindo à ecotoxicologia maior capacidade preditiva. Os resultados encontrados elucidam alguns aspectos do processo de contaminação costeira, mas reforçam, que existe uma grande lacuna científica quanto a tal impacto no desenvolvimento de grandes predadores marinhos.

Palavras-chave: Elasmobrânquios. Metais. Distribuição tecidual. Assimetria flutuante. Condição corporal.

## ABSTRACT

AMORIM-LOPES, C. *Evaluation of ecotoxicological and organosomatic parameters in hammerhead sharks from Rio de Janeiro*. 2021. 72f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

Elasmobranchs currently comprise the second most threatened vertebrate taxon in the world and the lack of data impairs conservation actions establishment. Among the multiple threats against the group, the extension of chemical contamination is poorly known and underestimated. In this regard, the present study proposed to assess the effect of contamination by metals (Ti, Zn, Cu, Mn, and Se) on the health of hammerhead sharks landed on the coast of Rio de Janeiro using ecotoxicological, morphometric and fluctuating asymmetry tools (FA). The sharks were sampled opportunistically on artisanal fishing colonies in Copacabana, Recreio dos Bandeirantes and Cabo Frio. The animals were dissected, and their tissues (muscle, liver, kidney, brain, and ampullae of Lorenzini) were processed for the detection of metals and metallothioneins using specific protocols. Principal Component Analysis (PCA), Permutation Analysis of Variance (PERMANOVA), Redundancy Analysis (RDA), and Spearman correlations were performed as the statistical treatment set. Nine hammerhead sharks were sampled and classified as juveniles. All metals were detected in all tissues, with selenium representing the highest concentrations, while manganese had the lowest. The tissue dynamics trends of metals were illustrated by PCA analysis ( $p = 0.0001$ ;  $PC1 = 70.1\%$ ;  $PC2 = 12.5\%$ ) and confirmed by PERMANOVA ( $F = 11.6$ ;  $p < 0, 0001$ ), both significant, and the tissues were organized in the following descending order: Kidney > Liver > Brain = Muscle = Ampullae. Differences between biological matrices were more relevant to metals accumulation than sex or size in *S. lewini* from Rio de Janeiro coast. The RDA analyzes yielded significant results between the hepatosomatic index and the concentrations of metals on muscle. Significant correlations of fluctuating asymmetry and the analyzed variables resulted in increased concentrations of Zn in the liver associated with greater variation in the asymmetry of the cephalofoil, while values of FA1 of pelvic fins and FA1 of pectoral fins decreased with muscular Se and Cu concentrations, respectively. The FA1 of eye diameter was correlated with the metallothionein concentrations in muscle. It was possible to conclude that IHS has sufficient sensitivity to be considered a good proxy of metal effects on the hammerhead sharks' health in Rio de Janeiro while fluctuating asymmetry needs further applications to better understand its role as a health indicator in elasmobranchs. The present study invests in innovative approaches for the locality, performing methodologies that have never been tested before for elasmobranchs, such as analysis of contamination in ampullae of Lorenzini and application of fluctuating asymmetry, giving ecotoxicology predictive capacity for animal health assessment. The findings presented herein elucidate some aspects of the coastal contamination process but reinforce the need to feel the great scientific gap regarding the impact of metals on the development of large marine predators.

Keywords: Elasmobranch. Metals. Tissue distribution. Fluctuating asymmetry. Body condition.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade do Estado do Rio de Janeiro e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução pelo suporte, acolhimento e todos os ensinamentos que adquiri durante os anos de mestrado.

À FAPERJ pela bolsa de mestrado nota 10 e à CAPES pelo primeiro ano de bolsa.

Ao Prof. Dr. Luciano Neves dos Santos, orientador que nunca deixou de me apoiar e incentivar nesta trajetória, agradeço muito por toda troca de conhecimento e pela paciência.

À Prof. Dra. Rachel Ann Hauser-Davis, coorientadora, agradeço muito todo suporte e oportunidades que foram dadas.

À minha família, em especial minha mãe Lu, meu pai Rogerio, irmãos Monique e Theo por serem a base, a felicidade e “a luz no fim do túnel” que tanto precisei em muitos momentos.

À minha avó Marlene, que infelizmente não está fisicamente presente, mas sempre fazia questão de me contar o quanto era orgulhosa do caminho de estudos e dedicação que construí  
Ao Nathan, que além de companheiro de vida, também compartilha comigo as dores e delícias de ser cientista, sendo essencial em todos os momentos deste mestrado.

Às colônias de pesca Z-13, Z-4 e APREBAN e em especial ao pescador e amigo, Manasi. Sem a contribuição destes locais de conhecimento e de pessoas tão acolhedoras, meu trabalho jamais seria possível.

Às minhas amigas que tanto compartilharam, me ajudaram e me fizeram feliz nestes últimos anos: Bia, Ju, Sylvia e Alexia.

Aos amigos e colegas do LICTA e HDRG pelo apoio, risadas e momentos juntos.

À UNIRIO, ao LABSPECTRO (PUC-Rio) e ao LAPSA (IOC – Fiocruz) por todo suporte logístico e intelectual em especial à Dr<sup>a</sup>. Tatiana Saint’Pierre e ao Msc. Rafael Rocha pela disponibilidade e auxílio essencial com as análises químicas

Às pesquisadoras Dr<sup>a</sup>. Tatiana Bisi, Dr<sup>a</sup>. Natascha Wosnick e Dr<sup>a</sup>. Raquel Lavradas por aceitarem o convite de avaliação e pelas contribuições a este trabalho.

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>9</b>
<b>1</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
1.1	<b>Objetivos Gerais.....</b>	<b>23</b>
1.2	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>23</b>
<b>2.</b>	<b>PERGUNTAS E HIPÓTESES.....</b>	<b>24</b>
<b>3.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
3.1	<b>Área de estudo.....</b>	<b>25</b>
3.2	<b>Amostragem e triagem dos indivíduos coletados.....</b>	<b>27</b>
3.3	<b>Assimetria Flutuante.....</b>	<b>29</b>
3.4	<b>Determinação de metais.....</b>	<b>30</b>
3.5	<b>Índices Organossomáticos.....</b>	<b>32</b>
3.6	<b>Extração e Determinação de metalotioneína.....</b>	<b>33</b>
3.6.1	Extração.....	33
3.6.2	Determinação.....	33
3.7	<b>Tratamento Estatístico.....</b>	<b>34</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
5.1	<b>Exposição à contaminação química e bioacumulação.....</b>	<b>41</b>
5.2	<b>Dinâmica tecidual de Ti, Cu, Zn, Mn e Se em <i>S. lewini</i> da costa do Rio de Janeiro.....</b>	<b>46</b>
5.3	<b>Destoxificação bioquímica em tubarões: A via da metalotioneína.....</b>	<b>48</b>
5.4	<b>Aplicação de índices de condição corporal como proxy de saúde mediante a contaminação química em <i>S. lewini</i>.....</b>	<b>49</b>
5.5	<b>Assimetria Flutuante como indicador de stress fisiológico.....</b>	<b>51</b>
5.6	<b>A contaminação por metais: uma ameaça à conservação.....</b>	<b>52</b>
5.7	<b>Ações de mitigação e perspectivas.....</b>	<b>54</b>
	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>56</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>57</b>
	<b>APÊNDICE - Análises de Redundância não significativas .....</b>	<b>71</b>

<b>ANEXO - Abordagens sugeridas por Saaristo et al. (2018) para compreensão dos efeitos holísticos da contaminação química em diversos compartimentos biológicos.....</b>	<b>72</b>
---	-----------

## INTRODUÇÃO GERAL

A contaminação química é um fenômeno estudado de forma global e difundido amplamente em ecossistemas naturais. Metais e metaloides, componentes frequentes no montante da poluição química oceânica, possuem elevada relevância ecológica por sua capacidade de acumulação e persistência em sistemas naturais (LOSKA & WIECHULA, 2003). Neste sentido, predadores marinhos como elasmobrânquios (tubarões e raias) são particularmente vulneráveis à contaminação por metais devido a suas características de história de vida e ocupação de níveis tróficos elevados (GELSLEICHTER & WALKER, 2010). Os efeitos da contaminação química em elasmobrânquios agem em sinergia com as principais ameaças a conservação do grupo (sobrepesca, mudanças climáticas e degradação de habitat, por exemplo), porém sua magnitude ainda é pouco elucidada (TIKTAK et al., 2020).

Esforços recentes para compreender a ação de metais e metaloides em diversos grupos biológicos auxiliam no dimensionamento desta em elasmobrânquios. Saaristo et al. (2018) elenca efeitos diretos e indiretos da contaminação química desde os menores níveis organizacionais como genéticos e moleculares – afetando nas rotas bioquímicas e mutações, até níveis ecossistêmicos – apontando interferências na resiliência ecossistêmica. Tubarões e raias performam papéis ecológicos fundamentais no domínio marinho como controle *top-down* de populações, conectividade e transferência de energia entre ecossistemas. O declínio massivo das espécies de elasmobrânquios, portanto, ameaça não somente a biodiversidade em si, mas também funções ecossistêmicas cujo desempenho é indispensável para a manutenção dos sistemas marinhos (FIELD et al., 2009; PIMIENTO et al., 2020). Neste sentido, Bornatowski et al. (2014) demonstram como tubarões-martelo (*Sphyrna lewini*) atuam como espécies-chave em teias tróficas do Sul do Brasil, sendo imprescindíveis para a estabilidade das comunidades estudadas. Além da comprovada importância do gênero, os tubarões-martelo possuem elevada sensibilidade a estressores antropogênicos e, apesar de amplamente estudados, alguns aspectos sobre sua ecologia apresentam grandes lacunas de conhecimento (GALLAGHER & KLIMLEY, 2018).

Os metais são reconhecidos por afetar, de forma mais grave, fases críticas do ciclo de vida como embriões e juvenis, podendo afetar seu desenvolvimento e sobrevivência (GELSLEICHTER & WALKER, 2010). Considerando, portanto, o elevado grau de ameaça ao gênero *Sphyrna* e a ausência de precedentes de metodologias que acessem a ação de metais no desenvolvimento destes organismos para o Brasil, o presente estudo visou avaliar os efeitos da

poluição química em tubarões-martelo juvenis desembarcados no estado do Rio de Janeiro através de ferramentas fisiológicas (com uso de biomarcadores moleculares) e morfométricas (investigando como atributos que traduzem a saúde do organismo são afetados pela presença de metais).

## INTRODUÇÃO

### **Elasmobrânquios: história de vida e ameaças**

A megafauna marinha pode ser definida como o grupo de animais detentores de grandes massas corporais ( $\geq 45$  kg) que desempenham funções fundamentais para o bom funcionamento dos ecossistemas marinhos. A categoria de grandes animais marinhos contempla uma considerável diversidade de organismos, como peixes ósseos, mamíferos, aves, répteis, moluscos e peixes cartilagosos (PIMIENTO et al., 2020). Apesar de sua importância, a categoria enfrenta grandes ameaças de desaparecimento cujas causas vão além de eventos de extinções naturais já previstos, especialmente para elasmobrânquios (PIMIENTO et al., 2020). Tal grupo está inserido na classe Chondrichthyes, conhecidos popularmente como peixes cartilagosos. A classe, considerada monofilética, é atualmente dividida em duas subclasses: Holocephali (quimeras) e Elasmobranchii (tubarões e raias) (NELSON et al., 2016).

Os Chondrichthyes são reconhecidos como um dos táxons de maior sucesso evolutivo, devido a presença de características que permitem a sua distribuição quase circumglobal (GROGAN et al., 2012). O surgimento de um esqueleto cartilaginoso com mineralização prismática de cálcio (*tesserae*) e órgãos específicos para fecundação interna (cláspes ou mixopterígio) nos machos são as autapomorfias mais pronunciadas, que Grogan et al. (2012) define como chaves para seu êxito evolutivo, inclusive para a sobrevivência do grupo às extinções em massa dos últimos 400 milhões de anos.

O grupo Elasmobranchii por sua vez, é o mais diverso dentro de Chondrichthyes, compreende cerca de 1100 espécies (WEIGMANN, 2016, 2017) exclusivamente aquáticas e, em sua maioria, marinhas. Ainda que o ambiente marinho represente a maior parte da distribuição dos elasmobrânquios, uma gama de habitats foi colonizada por esses organismos apresentando diferentes complexidades e condições físico-químicas/biológicas. (COMPAGNO et al., 2005; SIMPFENDORFER & HEUPEL, 2012). Não apenas a perspectiva horizontal de habitat, mas também a vertical é extensamente colonizada por tubarões e raias, que se distribuem desde a camada mais superficial, como *Rhincodon typus* e *Cetorhinus maximus* – tubarões baleia e frade - dos ambientes aquáticos, até zonas profundas ultrapassando os 1000 metros, como *Somniosus microcephalus*, o tubarão-da-Groelândia (GARCIA et al., 2008).

Os Elasmobrânquios são subdivididos em Batoidea – o maior subgrupo, no qual se inserem as raias, detendo quatro ordens, 26 famílias e cerca de 600 espécies, e Selachii (Galeomorphi e Squalomorphi), nos quais se incluem os tubarões ou cações, contendo nove ordens, 34 famílias e aproximadamente 500 espécies (NAYLOR et. al, 2012; LAST et al., 2016; NAYLOR, 2021). A característica mais utilizada para diferenciar tubarões e raias é a posição de suas fendas branquiais, as quais estão localizadas na região ventral em raias e na região lateral em tubarões (LAST et al., 2016). Os atributos de história de vida dos elasmobrânquios são caracteristicamente associados a estratégia K, cujas principais características incluem grandes tamanhos corporais, maturação tardia, crescimento lento, ovócitos grandes, baixa fecundidade e proles menos numerosas (KING & MCFARLANE, 2003).

Majoritariamente carnívoros, salvo algumas exceções, tubarões e raias desempenham papéis fundamentais no funcionamento de ecossistemas marinhos como mesopredadores e predadores de topo (FERRETTI et al., 2010; HEUPEL et al., 2014). O papel ecológico da pressão de predação exercida por tubarões, de forma geral, desencadeia diversos processos nos ecossistemas em que estes estão inseridos. Heupel et al. (2014) cita o conceito de predação difusa para definir que a influência de tubarões vai além do efeito de controle *top-down*, indicando que a atuação de tubarões como mesopredadores é mais evidente em sistemas marinhos. É importante lembrar que, além de sua função clássica como predadores, tubarões também desempenham outros papéis funcionais, como a transformação física de habitats e estabelecimento de fluxos de energia, nutrientes e conectividade entre diferentes ecossistemas, através de sua alta mobilidade e atividades metabólicas (PIMIENTO et al., 2020).

A sobrepesca, destruição de habitats, mudanças climáticas e poluição constituem as ameaças mais eminentes aos ecossistemas marinhos na atualidade, afetando diretamente a conservação de organismos fundamentais, como os elasmobrânquios (DULVY et al., 2014). Segundo o relatório da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura foram pescados, ao redor do mundo, 679.979 toneladas de peixes cartilagosos em 2018 (FAO, 2020; PACOUREAU et al., 2021). A constante demanda de subprodutos de tubarões exercida por mercados de luxo alimentam o comércio mundial de barbatanas, chegando a preços próximos ao valor do quilo do ouro em mercados internacionais (McCLENACHAN et al., 2016). Nos últimos cinquenta anos, houve um declínio de cerca de 70% nas abundâncias de elasmobrânquios oceânicos devido ao aumento desenfreado da pressão pesqueira (PACOUREAU et al., 2021).

Assim como para as espécies oceânicas, avaliações recentes acerca do declínio global de tubarões recifais indicam que estes animais não foram detectados em 20% de 371 recifes ao redor do planeta, e que a depleção de tubarões se associa fortemente com condições socioeconômicas das populações costeiras próximas aos recifes avaliados (MacNEIL et al., 2020). O Brasil, por sua vez, apresenta participação muito expressiva no comércio de produtos e subprodutos de elasmobrânquios, ocupando a posição de maior importador de carne de tubarões do mundo, bem como o 11º produtor (BARRETO et al., 2017).

A sinergia de diferentes pressões sob as populações de elasmobrânquios conduz a categorização do táxon como o segundo grupo de vertebrados marinhos mais ameaçados do planeta na atualidade (DULVY et al., 2014). O componente multifatorial de ameaças à conservação deste grupo produz efeitos letais e subletais que potencialmente afetam sua conservação, não somente pela depleção direta de indivíduos ou populações, mas também o papel funcional destes organismos como componentes de um determinado ecossistema ou comunidade (SAARISTO et al., 2018).

### **O gênero *Sphyrna* e suas ameaças**

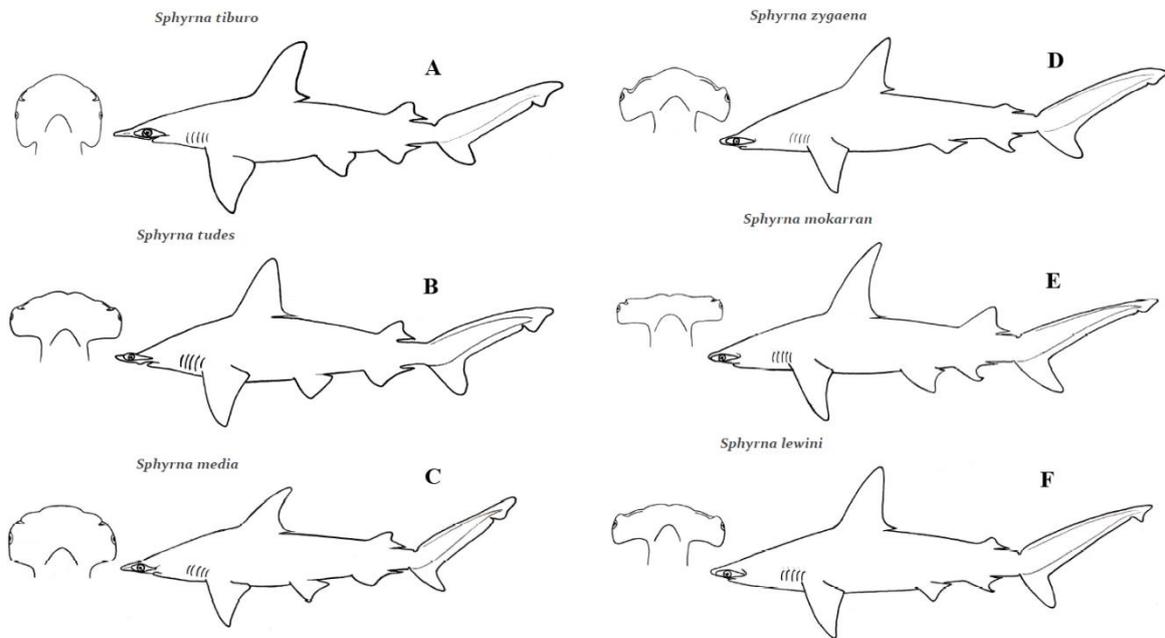
A história evolutiva dos tubarões foi marcada pelo surgimento de especializações e caracteres que permitiram a conquista de diferentes habitats aquáticos, conforme supracitado. A família dos tubarões-martelo, Sphyrnidae (Gill, 1872), constitui o táxon mais recente da diversificação do grupo Selachii, contendo dois gêneros (*Eusphyrna* e *Sphyrna*) e dez espécies, das quais seis ocorrem no Brasil (GALLAGHER & KLIMLEY, 2018; GOMES et al., 2019; FRICKE et al., 2021). Sua característica mais distinta é a cabeça expandida lateralmente com achatamento dorsoventral, provocando grandes distâncias entre as narinas e os olhos, uma estrutura chamada de cefalofólio (COMPAGNO, 1984). O surgimento do cefalofólio, proporcionou aos tubarões-martelo grandes diferenciações sensoriais, fisiológicas e ecológicas, tornando-os predadores com elevado grau de especialização (GALLAGHER et al., 2014).

O gênero *Sphyrna* é distribuído em quase todos os oceanos de águas tropicais e temperadas do planeta, estando presente em regiões costeiras, oceânicas e insulares, sendo consideradas espécies costeiro-oceânicas (COMPAGNO, 1984). A presença destas espécies em diferentes domínios no ecossistema marinho pode estar associada ao hábito migratório presente, principalmente nos Sphyrnidae de porte. Neste sentido, diversos repertórios comportamentais são observados no gênero, como a caça solitária, agregações e competição reprodutiva (GALLAGHER & KLIMLEY, 2018). Para a costa do Rio de Janeiro as seis espécies registradas

podem ser divididas entre duas categorias de tamanho, os grandes tubarões-martelo (>150 cm) (*S. mokarran*, *S. zygaena* e *S. lewini*) e os pequenos tubarões-martelo (*S. tudes*, *S. media* e *S. tiburo*). Os *Sphyrna* apresentam a viviparidade matrotrófica como estratégia de desenvolvimento embrionário, classificados como tubarões placentários, com elevado investimento materno na prole, gerando de 3 a 23 embriões em espécies pequenas e 19 a 48 embriões em espécies maiores (GOMES et al., 2019; LYONS, et al., 2020). Quanto a sua ecologia trófica, os grandes tubarões-martelo exploram uma variedade de presas como recursos alimentares, os quais se destacam cefalópodes, crustáceos e teleósteos para *S. zygaena* e *S. lewini*, e raias para *S. mokarran* (BORNATOWSKI et al, 2014; GALLAGHER & KLIMLEY, 2018). Bornatowski et al. (2014) considera que *S. lewini* e *S. zygaena* desempenham papel fundamental como predadores de topo nas teias tróficas da costa Sul brasileira, atribuindo-lhes a categoria de espécie-chave após análise topográfica do sistema trófico da região. Isto evidencia, portanto, a importância não apenas dos efeitos diretos de predação realizados pelos tubarões-martelo, mas também seus efeitos indiretos, reforçando que o papel de um grande predador vai além do exercido sob suas presas (BORNATOWSKI et al, 2014).

Todas as espécies de tubarões-martelo enfrentam, atualmente, elevados graus de ameaça, sendo categorizados como “Vulneráveis” (*S. zygaena*), “Em Perigo” (*S. tiburo*) e “ criticamente Em Perigo” (*S. lewini*, *S. mokarran*, *S. media*, *S. corona* e *S. tudes*) de acordo com os critérios da Lista Vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (IUCN, 2021). A expressiva representatividade destas espécies como recurso pesqueiro hoje configura a ameaça mais contundente às espécies de tubarões-martelo. Devido ao seu elevado valor de mercado associado principalmente às nadadeiras, tais espécies se tornaram historicamente visadas por diferentes modalidades de pesca (COMPAGNO, 1984; VOOREN et al., 2005; GALLAGHER & KLIMLEY, 2018). Consequentemente, as três grandes espécies (>150 cm) de tubarões-martelo apresentam, atualmente, tendências de declínios populacionais em níveis globais (RIGBY et al., 2019a; 2019b; 2019c).

Figura 1 - Prancha com ilustrações da visão lateral e cefalofólios das espécies de *Sphyrna* do Rio de Janeiro.



Fonte: Adaptado de Gomes et al. (2020).

### **Poluição marinha e contaminantes inorgânicos**

A poluição é uma grande e crescente ameaça para a saúde ambiental e humana, e é atualmente a maior causa de doenças antrópicas associadas a motivos ambientais, sendo responsável por cerca de 9 milhões de mortes por ano, possivelmente evitáveis (LANDRIGAN et al., 2020). Neste contexto, é importante ressaltar que a poluição oceânica é negligenciada como componente criticamente relevante para a compreensão de processos ecossistêmicos e de saúde coletiva. Landrigan et al., (2020) a define como “uma mistura complexa”, pois é constituída de diversos componentes, como resíduos sólidos, poluentes originados do petróleo, plástico, metais, agentes biológicos (algas, bactérias e vírus) e poluentes orgânicos, dentre outros. As interações de tantos componentes somadas a grande extensão das áreas marinhas do planeta eleva a dificuldade em monitorar e manejar tal fenômeno, raramente alcançado em contexto mundial (ALI et al. 2019; LANDRIGAN et al., 2020).

Atualmente, a maior fonte de poluição marinha é originada nos continentes, transportada, principalmente, por vias fluviais e aéreas, levando as populações costeiras a sofrer de forma significativa os impactos deste processo. Neste contexto, a poluição química pode ser considerada onipresente do domínio oceânico e atinge, inclusive, regiões abissais (JAKIMSKA

et al., 2011; ALI et al. 2019). Metais e metaloides compõem a fração inorgânica da poluição química oceânica, podendo ocorrer de maneira natural nos ambientes através de processos de erosão costeira e vulcanismo. Porém, a maior parcela de contribuição para a incorporação destes elementos nos sistemas marinhos é antropogênica, com destaque para rejeitos industriais e agrícolas (ISLAM & TANAKA, 2004; JAKIMSKA et al., 2011; ALI et al. 2019).

- *Metais como contaminantes*

Os metais encontrados em seres vivos podem ser classificados em essenciais, apresentando funções biológicas conhecidas, como o Fe, Cu, Zn, Se, e Mn, mas que podem tornar-se tóxicos a partir de determinadas concentrações, e não-essenciais, como o chumbo (Pb), mercúrio (Hg), cádmio (Cd) e arsênio (As), sem função biológica alguma e tóxicos, podendo trazer efeitos adversos a organismos expostos (AGGET et al., 2015; ALI et al. 2019; HADER et al., 2020). Além da toxicidade intrínseca, alguns metais também apresentam a capacidade de bioacumular, aumentando suas concentrações em organismos expostos proporcional às taxas de crescimento e ao longo do tempo, e biomagnificar, onde ocorre o aumento das concentrações em organismos expostos proporcional ao aumento de nível trófico - características que categorizam estes elementos como “contaminantes persistentes” (JAKIMSKA et al., 2011a; ALI et al. 2019). O caminho oposto pode ser observado, através da biodiluição, onde a concentração de um determinado metal diminui ao longo de uma teia trófica (SUN et al., 2020). A transferência de contaminantes é significativamente influenciada pela dinâmica de relações tróficas, por ser a principal via de incorporação de metais nos organismos marinhos. Dada a complexidade das teias marinhas, as principais variáveis determinantes (na perspectiva macroecológica) nos mecanismos de transferência são: estrutura da comunidade, variáveis ambientais, tamanho das teias tróficas e diferenças espaço-temporais (JAKIMSKA et al., 2011a; ZHENG et al., 2019).

À luz dos conceitos supracitados, Sun et al. (2020) exploram padrões em teias tróficas globais, constatando que arsênio e níquel sofrem biodiluição de forma eficiente e, em contrapartida, Pb, Hg e Zn apresentam fortes tendências de biomagnificação, enquanto Cd, Cu e cromo (Cr), não demonstraram padrões claros, em escala mundial. A contaminação por Hg é uma preocupação universal, visto que há um padrão ao redor do globo de acumulação pelo metal. O caso de contaminação por Hg na população de Minamata, Japão (1956), colocou em evidência os efeitos causados pelo metal, afetando a população local com graves distúrbios neurológicos – confusão mental, paralisia, fraqueza, perda de funções motoras e sensoriais - após longa exposição por Hg oriundos de rejeitos industriais (ZHENG et al., 2019). As

consequências da Síndrome de Minamata foram tão profundas e alarmantes que o caso se tornou um marco ao promover mobilizações para compreender os efeitos de metais tóxicos e persistentes na saúde humana, focalizando também na biota aquática como fonte de contaminação (ZHENG et al., 2019). Cu, Zn, Se e Mn são exemplos clássicos de metais com funções biológicas que, fora de concentrações ótimas, podem se tornar tóxicos ou provocar síndromes deficitárias. Além de integrar o metabolismo de praticamente todos os grupos zoológicos, estes metais são amplamente utilizados em processos industriais, agropecuários, mineradores, hospitalares e domésticos, com destaque para a ligação metálica Cu-Zn, que forma o “latão”, material resistente à corrosão e essencial para o ramo da construção (ELLINGSEN, 2015; SANDSTEAD, 2015). O Cu é reconhecido por suas propriedades anti-incrustantes e biocidas e, portanto, é amplamente aplicado em embarcações para evitar a sua corrosão por organismos incrustantes e, conseqüentemente, é incorporado ao ambiente marinho com frequência (ELLINGSEN, 2015). Da mesma forma, o Zn apresenta propriedades antifúngicas e antibióticas quando em compostos orgânicos, sendo utilizado também como medicamento e em equipamentos hospitalares (SANDSTEAD, 2015). O Se, por sua vez, participa em diversas vias metabólicas relacionadas aos processos de remediação ao estresse oxidativo, atuando inclusive como fator protetivo contra o dano provocado por alguns contaminantes, como o mercúrio (ALEXANDER, 2015). Por fim, o Mn também desempenha papel protetivo contra danos celulares e está fortemente associado ao desenvolvimento neural em humanos, mas reconhecidamente tóxico em concentrações excessivas, afetando o neurodesenvolvimento, e estando implicado em processos neurodegenerativos, inclusive a doenças como Parkinson e Alzheimer (LUCCHINI et al., 2018).

Os organismos aquáticos, além de veículos de contaminação química para humanos, são igualmente impactados em diversos níveis biológicos. O Cu, por exemplo, provoca estresse fisiológico em processos respiratórios e ionorregulatórios no cação-bagre-espinhoso (*Squalus acanthias*) alterando a dinâmica Na/Cl sanguínea, Na/K nas brânquias e no metabolismo da ureia (DE BOECK et al., 2007). Experimentos em mesocosmos demonstram o decréscimo de células sanguíneas provocada por exposição ao Mn (2500 mg L<sup>-1</sup>/90 horas) no teleósteo de água doce, gourami-listrado (*Trichogaster fasciata*) (AGRAWAL & SRIVASTAVA, 1980). À nível tecidual, a toxicidade do Zn foi testada em populações de truta-marrom (*Salmo trutta*) e do peixe-mosquito (*Gambusia holbrooki*) expostas *in situ*. Giardina et al. (2009) descobriram que havia redução significativa da motilidade espermática em machos de *S. trutta*, em comparação aos locais-controle. Enquanto para *G. holbrooki* – espécie exótica no local de amostragem –

apresentou rápida mortalidade ao serem introduzidos nos locais contaminados (GIARDINA et al., 2009). Por fim, Lemly (2002) relata uma gama de danos sistêmicos provocados pela exposição crônica ao Se em peixes dulcícolas nos Estados Unidos – alterações hepáticas, gonadais e branquiais, teratogenicidade, deformidades morfológicas e profundos impactos na reprodução.

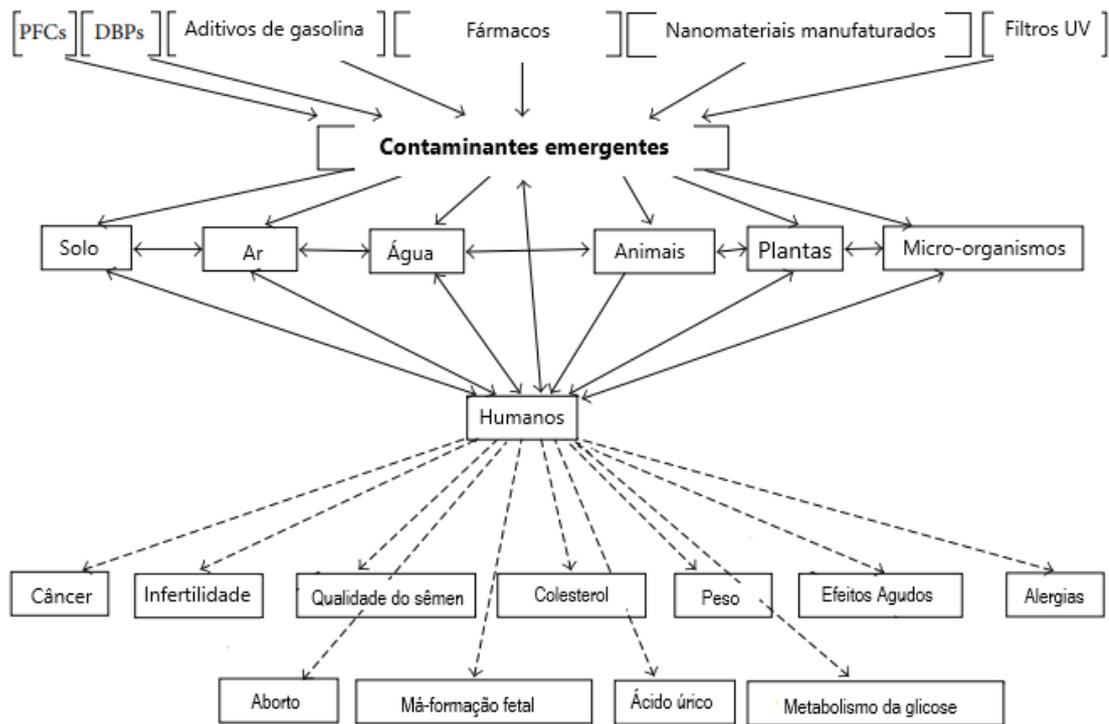
- *Contaminantes emergentes X contaminantes de preocupação emergente*

Uma nova classe de contaminantes categorizados como “emergentes” vêm conquistando mais espaço no cenário mundial de estudos acerca de substâncias potencialmente nocivas à biota marinha. De acordo com Sauvé & Desrosiers (2014), esta classe se subdivide em outras duas categorias, sendo estas: i) contaminantes emergentes: cuja origem é recente e/ou com histórico de conhecimento limitado; ii) contaminantes de preocupação emergente: são substâncias já conhecidas, mas seus efeitos ambientais ainda são pouco elucidados pela literatura ou não são regulamentados por legislações nacionais e/ou internacionais. É importante ressaltar que há um componente histórico-temporal na discussão sobre os conceitos de contaminantes emergentes e que essas classificações para uma determinada substância pode variar ao longo do tempo. Os contaminantes emergentes orgânicos, como alguns perfluoroquímicos e componentes de diversos produtos farmacêuticos e cosméticos ilustram a subdivisão i) e possuem grande relevância em estudos mundiais por sua alta estabilidade química, ampla difusão e possível capacidade de bioacumular em organismos expostos (LEI et al. 2015; LLORCA et al., 2017). Algumas nanopartículas (NPs) estão inseridas na subdivisão ii), como as NPs de TiO<sub>2</sub> cuja aplicação em cosméticos, tecnologia, agricultura e transporte provocou o aumento, nas últimas décadas, da incorporação de Ti em sistemas naturais (HAUSER-DAVIS et al., 2020). As problemáticas mais importantes associadas ao Ti se concentram na possibilidade de bioacumulação, biomagnificação, e até mesmo como potencial carcinogênico em humanos (LEI et al., 2015; HAUSER-DAVIS et al., 2020).

A exposição de organismos aquáticos aos poluentes citados, em perspectiva molecular, também pode desencadear respostas de estresse oxidativo, definido como um conjunto de efeitos celulares deletérios pela presença espécies reativas de oxigênio além da capacidade antioxidante do metabolismo contaminado (CARVAN & GIULIO, 2015). Neste sentido, menores níveis organizacionais dos organismos como ciclos e estruturas celulares, material genético e síntese de proteínas, também podem ser impactados através da interferência de tais contaminantes, potencialmente desencadeando processos carcinogênicos (ISLAM &

TANAKA, 2004; JAKIMSKA et al., 2011a; HADER et al., 2020). Lei et al. (2015) esquematizam de forma generalizada, a amplitude de impacto que os contaminantes emergentes podem atingir, em uma perspectiva antrópica, conforme ilustrado na Figura 2.

Figura 2. Esquematização dos principais grupos de contaminantes emergentes e suas respectivas consequências.



Fonte: Adaptado de Lei et al. (2015).

### Estresse oxidativo e biomarcadores

Diversos métodos de estudo para mensurar e avaliar os efeitos da poluição oceânica em contexto humano e animal têm sido desenvolvidos, dentre eles, a Ecotoxicologia. Os grandes eventos poluidores da humanidade como a revolução industrial e as grandes guerras foram, sem dúvida, marcos que desencadearam o surgimento de movimentos ambientalistas acerca do impacto humano sob os sistemas naturais (ZHOU et al., 2019). Em sua obra “Primavera Silenciosa” Rachel Carson expressou sua sensibilidade ao impacto dos pesticidas em uma comunidade natural, publicando o que seria o ícone do movimento ambientalista e da Ecotoxicologia, cuja preocupação era lançar um olhar holístico sob a toxicologia, imputando conceitos da ecologia clássica, como perspectivas populacionais e ecossistêmicas, no estudo das substâncias tóxicas (ZHOU et al., 2019).

A demanda recorrente da Ecotoxicologia se fundamenta em tornar esta ciência tão preditiva quanto é descritiva, tendo em vista a compreensão de processos de causa e efeito toxicológicos, mas também como de resiliência dos organismos contaminados e seus paralelos às teorias ecológicas clássicas (CLEMENTS & ROHR, 2009). Assim, a utilização de recursos moleculares pode ser aplicada para compreensão da resposta à exposição de contaminantes, sendo os biomarcadores uma das ferramentas mais utilizadas neste campo (RATTNER, 2009).

As metalotioneínas (MTs) são proteínas de baixo peso molecular que participam das rotas de destoxificação de metais em diversos organismos aquáticos, tanto invertebrados quanto vertebrados, apresentando a presença de elevadas quantidades de cisteínas em sua composição, que facilitam a ligação e carreamento de metais (JAKIMSKA et al., 2011a; SAMUEL, et al., 2021). Estas metaloproteínas são utilizadas como biomarcadoras de exposição à metais com destaque para Cu, Zn, mercúrio e cádmio que, comprovadamente, induzem a síntese de MTs com destaque para tecidos hepáticos, onde são encontradas em maiores concentrações (HOGSTRAND & HAUX, 1991; HAUSER-DAVIS et al., 2012; HAUSER-DAVIS et al., 2014). No entanto, Hauser-Davis (2020) constata que há uma lacuna de conhecimento para estudos envolvendo a compreensão do papel das MTs nas rotas bioquímicas de destoxificação em elasmobrânquios, apresentando apenas 11 artigos na temática. A importância acerca do estudo das MTs em tecidos de tubarões se fundamenta principalmente por sua capacidade de protetiva contra danos oxidativos causados pela presença de elementos não-essenciais, tornando esta proteína essencial para a resiliência fisiológica frente a contaminação química (BARRERA-GARCÍA et al., 2012).

### ***Proxies de condição morfofisiológica***

Partindo da premissa que mecanismos homeostáticos podem ser modificados mediante alterações promovidas por estressores ambientais, Barton, et al. (2002) propõem a aplicação de indicadores morfofisiológicos, os índices organossomáticos, como indicadores de condição corporal, se tornando recursos para acessar respostas fisiológicas ao estresse ambiental. O fator de condição de Fulton (K) é uma medida associada à robustez em peixes, indicando mudanças metabólicas relacionadas com crescimento somático e alimentação, sendo atribuído um valor de “avaliação do bem-estar” para esta medida. Sua principal vantagem é a possibilidade de ser calculado de maneira não-invasiva e não-letal, através de medidas simples de peso e comprimento (VAZZOLER, 1996; BARTON et al., 2002). Por sua vez, apesar de ser um método letal, o índice hepatossomático (IHS), quando utilizado, apresenta grande valia pois

traduz condições energéticas e nutricionais do organismo e pode ser sensível a exposição crônica por contaminantes (BARTON et al., 2002). Considerando a história de vida dos elasmobrânquios, o IHS é amplamente utilizado para este o grupo, visto que o fígado pode contribuir em até 25% do peso corporal nestes animais, tornando este índice bastante relevante para compreensão da condição corporal (HUSSEY et al., 2009). O quociente de repleção estomacal, por sua vez, resulta na contribuição do peso estomacal em relação ao peso total do peixe, constituindo uma medida de acesso ao estado nutricional à curto prazo, não sendo tão utilizado para compreender o efeito da contaminação química em elasmobrânquios, mas pode ser aplicado de forma complementar aos índices de condição supracitados (PEREIRA et al., 2016).

Seguindo a lógica da utilização de atributos morfológicos para mensurar impactos ambientais, a assimetria flutuante também constitui mais uma ferramenta neste sentido. O princípio de simetria é amplamente difundido para os vertebrados, visto que a grande maioria apresenta simetria bilateral. No entanto, o desenvolvimento de estruturas simétricas pode ser sensível a perturbações ambientais, com destaque para fases juvenis. (SANSEVERINO & NESSIMIAN, 2008). Neste sentido, os desvios de desenvolvimento podem ser compreendidos em três classes: i) Assimetria direcional, onde há o desenvolvimento de um caractere em um dos planos de simetria do organismo; ii) Antissimetria, quando há a possibilidade do desenvolvimento de caracteres para ambos os planos de simetria; iii) Assimetria Flutuante, quando atributos se desenvolvem em discordância de forma direcionada e aleatória em contraposição ao esperado para o organismo em questão ocasionado por condições ambientais adversas (VAN VALEN, 1962). As perturbações capazes de interferir no desenvolvimento são definidas por Palmer et al. (1986) como i) externas, como poluentes, variações físico-químicas do meio, adensamento populacional, patologias e escassez de recursos; ii) internas, como distúrbios genéticos e anomalias. A instabilidade do desenvolvimento, portanto, pode ser avaliada através da aplicação das técnicas de assimetria flutuante, auxiliando na compreensão de como os estressores ambientais afetam estruturas relacionadas com o *fitness* (i.e., aptidão individual) da espécie (BEASLEY et al., 2013; SEIXAS et al., 2016; CORTÉS-GÓMEZ et al., 2018). Deste modo, este estudo foi desenvolvido sob a hipótese de que maiores valores de assimetria serão observados mediante a maiores concentrações de metais nos tecidos de *S. lewini*.

Processos estressores demandam ao organismo mobilização de energia para as respostas ao estresse, desviando-a das rotas homeostáticas essenciais (LEUNG et al., 2000). Em perspectiva

a longo prazo, a exposição a poluentes pode ocasionar efeitos subletais em desempenhos essenciais ao organismo, como no sistema imune, no comportamento e até mesmo na sobrevivência (BARTON et al., 2002). Os efeitos mais sutis provocados por contaminantes ambientais podem não parecer tão prejudiciais quanto a mortalidade provocada por um derramamento de petróleo, por exemplo, mas são igualmente preocupantes, dada a natureza persistente de muitos poluentes, bem como a sua possível atuação sinérgica, visto que a poluição marinha ocorre de forma multifocal (FLEEGER et al., 2003; LANDRIGAN et al., 2020).

Conforme supracitado, o surgimento do cefalofólio em tubarões-martelo permitiu a este grupo uma série de especializações comportamentais, fisiológicas e morfológicas. Gallagher et al. (2014) evidencia que a presença de tal estrutura, apesar de conferir características únicas e altamente ajustadas à função do grupo, oferece também riscos à sobrevivência de todo o gênero. Logo, o presente estudo levanta a hipótese de que há um “custo” elevado no sucesso evolutivo do cefalofólio, portanto, a performance associada deve ser maximizada à sua função. Partindo desta premissa, a interferência de estressores antropogênicos no desenvolvimento desta estrutura pode afetar severamente o desempenho individual e funcional dos tubarões martelo juvenis. A assimetria flutuante, portanto, foi escolhida como um *proxy* da condição corporal e a fim de investigar se há desvios no desenvolvimento em *Sphyrna lewini* mediante à exposição de tais espécies à contaminação costeira.

Neste sentido, a fim de contribuir com o conhecimento sobre espécies com importância global nos ecossistemas marinhos e como recurso pesqueiro, o presente estudo propõe a aplicação de recursos ecotoxicológicos e morfofisiológico para monitorar possíveis processos nocivos induzidos pela exposição a metais em juvenis de *Sphyrna lewini*, discutindo suas possíveis implicações para a conservação do grupo e propondo medidas resolutivas ou mitigatórias.

## 1. OBJETIVOS

### 1.1. Objetivo Geral

Compreender as relações entre a presença de Ti, Zn, Cu, Se e Mn em diferentes matrizes biológicas de *Sphyrna lewini* e sua influência sob a condição corporal de tubarões-martelo desembarcados pela pesca artesanal no Rio de Janeiro.

### 1.2. Objetivos Específicos

- a. Determinar as concentrações de Ti, Cu, Zn, Mn e Se em músculo, fígado, cérebro, rins e gel das ampolas de Lorenzini de *Sphyrna lewini*, bem como sua dinâmica de distribuição tecidual.
- b. Determinar as concentrações de metalotioneínas (MTs) em tecidos de *Sphyrna lewini* e verificar sua ação como rota de destoxificação bioquímica dos metais estudados.
- c. Investigar se as concentrações dos contaminantes supracitados apresentam relações com indicadores organossomáticos (índice hepatossomático, fator de condição e quociente de repleção estomacal) e de assimetria flutuante.
- d. Inferir possíveis impactos da contaminação química por metais para a ecologia e conservação.

## 2. PERGUNTAS E HIPÓTESES

Hipótese 1: Indivíduos de *Sphyrna lewini*, ainda que jovens, apresentarão concentrações significativas dos metais de interesse em todas as matrizes biológicas com diferentes distribuições teciduais. Esperando-se a constatação de maiores concentrações em matrizes com maior vascularização e atividade metabólica.

Hipótese 2: Indivíduos de *Sphyrna lewini* com concentrações mais elevadas de metais apresentarão maiores desvios de desenvolvimento (mensurados pela aplicação da assimetria flutuante) e menores valores em seus índices organossomáticos.

Hipótese 3: A produção de MTs será induzida pela presença de metais nas matrizes biológicas analisadas.

Pergunta 1: De que forma as matrizes biológicas se organizam quanto à concentração dos metais estudados?

Pergunta 2: Qual índice organossomático é mais explicativo quanto aos efeitos de contaminação por metais em tubarões-martelo?

Pergunta 3: Qual indicador de assimetria flutuante é mais sensível à concentração de metais?

Pergunta 4: Será possível detectar concentrações de metais no gel das ampolas de Lorenzini, bem como evidência de indução à síntese de MTs?

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Área de estudo

O estado do Rio de Janeiro (22° 55' S 43° 11' O) está localizado na região Sudeste do Brasil, cuja capital recebe o mesmo nome, e detém o segundo maior PIB e a terceira maior população do Brasil com mais de 17 milhões de pessoas, ainda que seja um dos menores estados do país em termos de extensão territorial, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). O estado é classificado entre os climas tropical e subtropical, se localiza inteiramente no bioma Mata Atlântica e detém a maior floresta tropical urbana nas Américas, o Parque Nacional da Tijuca e diversas unidades de conservação, o que contribui significativamente para a variação climática da região (INEA). Possui cerca de 1200km de linha de costa inseridos exclusivamente no Oceano Atlântico, com destaque para suas três grandes baías, a Baía de Guanabara, Baía de Sepetiba e Baía da Ilha Grande sendo o terceiro estado com a maior extensão litorânea do Brasil (GEOINEA, INEA).

O Rio de Janeiro, como toda grande metrópole, enfrenta diversas problemáticas ambientais relacionadas a poluição aquática que afetam a cidade através de diferentes fontes como rejeito industrial, agropecuário e doméstico, atividade portuária e de aeroportos e falta de manejo de resíduos sólidos. O precário atendimento em saneamento básico urbano é refletido nas regiões marinhas, visto que o mar é o destino da grande maioria do esgoto doméstico, tratado ou não (INEA). De acordo com a Agência Nacional de Águas (2020), o estado possui apenas 40% de seu esgoto tratado, uma situação alarmante, porém frequentemente observada no país. A atividade industrial, por sua vez, contribui significativamente com o estabelecimento de processos poluidores. Neste sentido, o setor petroquímico (extração e refino do petróleo e produção de combustíveis) representa 45% das indústrias do estado do Rio de Janeiro, cujas atividades estão intimamente relacionadas a região marinha, intensificadas nos últimos 10 anos com a descoberta da camada pré-sal de petróleo (CNI; VILARDO & LA ROVERE, 2018).

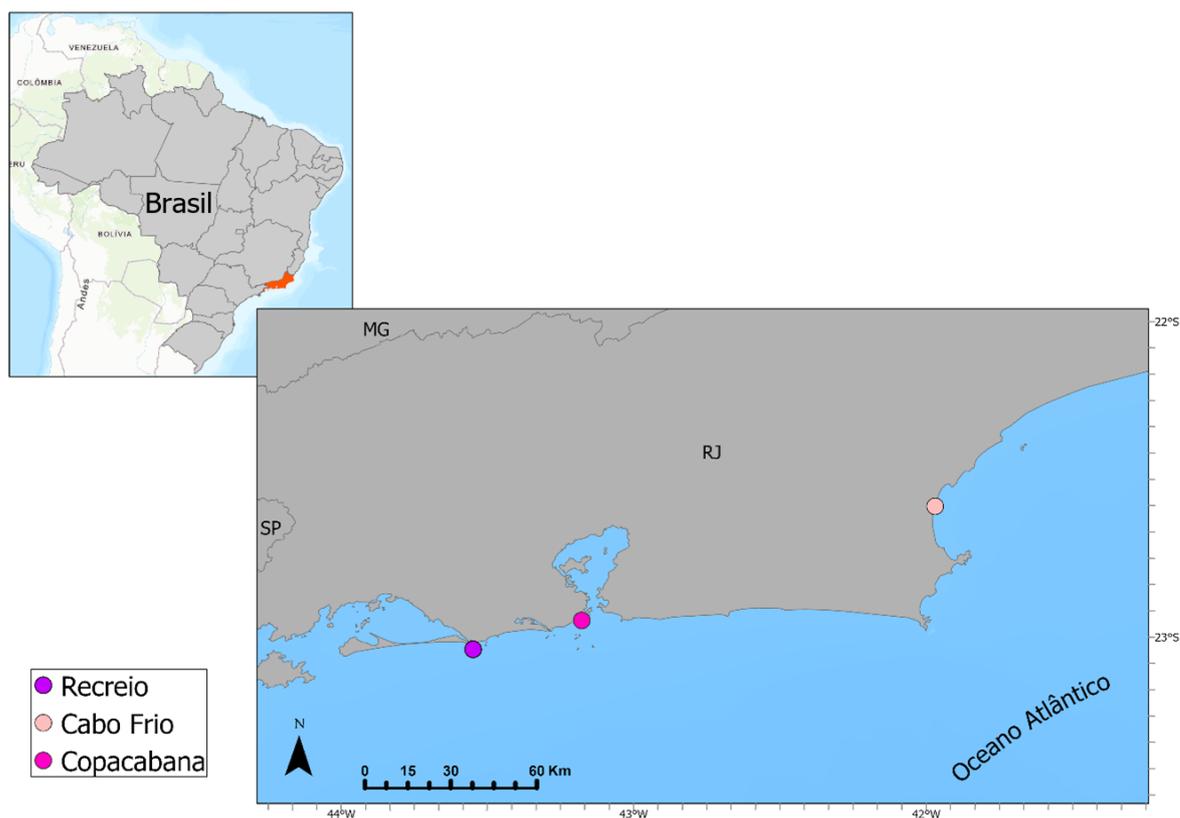
Os ecossistemas marinhos urbanos associados a costa do Rio de Janeiro sofrem constantes ameaças ambientais, sendo um dos casos mais famosos a Baía de Guanabara, um dos maiores complexos estuarinos impactados do Brasil (KJERFVE et al., 1997). Ainda que os efeitos da poluição na Baía de Guanabara sejam profundos, esta região ainda é reconhecida por sua biodiversidade e importância ambiental e socioeconômica, tornando-a um sistema fundamental à manutenção da vida marinha (SOARES-GOMES et al., 2016). Sob a ótica oceanográfica, a Baía de Guanabara é considerada um sistema eutrófico com gradientes de salinidade e poluição fortemente marcado onde se encontram águas menos salinas e mais

poluídas no interior da baía e mais salinas e menos poluídas no canal central e na conexão do mesmo com o oceano atlântico (KJERFVE et al., 1997; FISTAROL et al., 2015).

Os pontos de coleta compreenderam a região municipal do Grande Rio e de Cabo Frio, sendo estas: Copacabana (colônia Z-13), Recreio (APREBAN) e Tamoios (Colônia Z-4). A colônia de pesca artesanal Z-13, localizada em Copacabana, é uma das comunidades tradicionais intimamente relacionadas com a área metropolitana do Rio de Janeiro, operando atividades de pesca e comercialização desde 1923, principalmente com o uso de redes de emalhe (AMORIM & MONTEIRO-NETO, 2016). A área de pesca utilizada pela colônia Z-13 compreende um raio de dez quilômetros a partir do Posto 6 na praia de Copacabana (22°59'04" S 43°11'15" O) e sofre forte influência da Baía de Guanabara. AMORIM & MONTEIRO-NETO (2016) apontam que, pela proximidade da colônia com o Monumento Natural das Ilhas Cagarras, uma unidade de conservação com áreas de exclusão de pesca, as atividades pesqueiras foram beneficiadas por este ser um refúgio e berçário de biodiversidade marinha. A Associação dos Pescadores do Recreio dos Bandeirantes (APREBAN), outro ponto da cidade do Rio de Janeiro contemplado pelo presente estudo, que segundo SILVA-JÚNIOR et al. (2008) exerce pesca de pequena escala, abrangendo 342 km<sup>2</sup> a partir de sua sede e atinge, em média, 30 metros de profundidade. É importante ressaltar que a região de pesca contemplada pela APREBAN possui importância ecológica como área de parto e desenvolvimento de juvenis para a pesca de elasmobrânquios na cidade do Rio de Janeiro, com destaque para *Sphyrna lewini* (SILVA-JÚNIOR et al., 2008).

O município de Cabo Frio (22°52'46" S 42°01'07" O), localizado na Região dos Lagos do estado do Rio de Janeiro, por sua vez, é um polo turístico e econômico que apresenta grande protagonismo no mercado pesqueiro, sendo responsável por cerca de 18% da produção do estado (PIMENTA et al., 2014; PMAP, 2020). A região conta com cerca de 350 embarcações de pequena escala cujas artes de pesca utilizadas variam entre arrasto, pesca de cerco, emalhe e linha de mão. As principais condicionantes ambientais que explicam a elevada produtividade do município são a influência da Lagoa de Araruama, a segunda maior lagoa do Brasil, e o fenômeno de ressurgência costeira que aumentam o aporte de nutrientes em águas costeiras, beneficiando a diversidade e desenvolvimento da comunidade biológica marinha da região (VALENTIN, 2001; FUNDAÇÃO PROZEE, 2005). A colônia de pesca Z-4 localiza-se em Tamoios, no distrito de Cabo Frio reconhecido por sua contribuição pesqueira para com o município, cuja área de pesca compreende a região de desemboque do Rio São João (PMAP, 2020).

Figura 3. Mapa de localização dos pontos de amostragem de *Sphyrna lewini* na costa do estado do Rio de Janeiro.



Fonte: A AUTORA (2021).

### 3.2. Amostragem e triagem dos indivíduos coletados

A coleta progrediu conforme o desembarque das espécies-alvo em colônias de pesca artesanal. A rede de emalhe posicionada no fundo ou meia-água, é a arte de pesca utilizada em todas as colônias, variando entre as localidades pelo tamanho da malha (Copacabana: 50 mm; Tamoios: 45 a 45 mm; Recreio: 40 mm), quantidade de panos, extensão e profundidade (AMORIM-LOPES et al., 2020; ARAUJO et al., 2020).

Os animais foram obtidos de maneira colaborativa com os pescadores artesanais, sendo as espécies-alvo (*Sphyrna lewini*) adquiridas no mesmo dia que foram desembarcadas e acondicionadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior processamento. Todas as informações pertinentes à coleta como data, estação do ano e ponto de amostragem foram também registradas.

Os indivíduos coletados foram identificados ao menor nível taxonômico possível e seu sexo averiguado a partir da presença ou ausência de clássper, com base em GOMES et al. (2020). Dados de comprimento total (CT) (cm), comprimento padrão (CP) (cm) e peso total (PT) (g) foram medidos com fita métrica (x 1mm) e balança portátil digital (x 0,01g). Os indivíduos foram dissecados e houve a retirada de amostras de músculo, fígado, cérebro, rim e gel das ampolas de Lorenzini. Em seguida, houve a pesagem dos seguintes órgãos: fígado (PF), estômago inteiro (PE) (g) e peso da carcaça eviscerado (PEV) (g) com balança de precisão balança digital analítica Marte BL 320h (x 0,001g) e posteriormente acondicionados em sacos plásticos tipo Ziplock® e em tubos de polipropileno de 15 ml à -20°C. Houve também a averiguação do estágio de desenvolvimento os quais se encontravam, classificados com base em Vooren et al. (2005) como: “embrião”, “juvenil” e “adulto”.

A coleta se efetuou pelo acompanhamento do desembarque oriundo da pesca artesanal de elasmobrânquios no estado do Rio de Janeiro entre outubro de 2018 e dezembro de 2019. Foram coletados, ao todo, 15 indivíduos (14 juvenis e um adulto) de *Sphyrna lewini* sendo cinco fêmeas, oito machos e dois sem identificação. Copacabana apresentou o maior registro quantitativo, com 86% dos indivíduos enquanto Tamoios e Recreio representaram cada, 7% do universo amostral. A espécie *S. lewini* (n = 12) desembarcada e utilizada no presente trabalho foi identificada através do uso de chave dicotômica (GOMES et al., 2019). Conforme observado na Figura 4, sua característica diagnóstica mais pronunciada é ornamentação da região frontal de seu cefalofólio. É importante ressaltar que *S. lewini* se encontra ameaçada de extinção, sendo classificado como “ criticamente em Perigo” pela União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN).

Figura 4. Detalhe do cefalofólio em exemplar de *Sphyrna lewini*.



Fonte: A AUTORA, 2020.

A prevalência de indivíduos foi maior nas estações de Inverno e Primavera (Tabela 3), todos capturados em áreas de pesca próximas a costa com, em média, 30 metros de profundidade. Apesar de todos os animais serem classificados como juvenis, os tubarões coletados apresentaram diferentes tamanhos corporais desde 49,8cm até aproximadamente 2 metros de comprimento total. Para *S. lewini*, o tamanho para neonatos varia entre 45 e 50cm e sua maturação ocorre em 1,4m nos machos e 2m nas fêmeas. (GOMES et al., 2019). Aparentemente, para o universo amostral aqui discutido, o tamanho e o sexo dos indivíduos não são atributos tão significativos para a distribuição dos metais analisados nas diferentes matrizes estudadas.

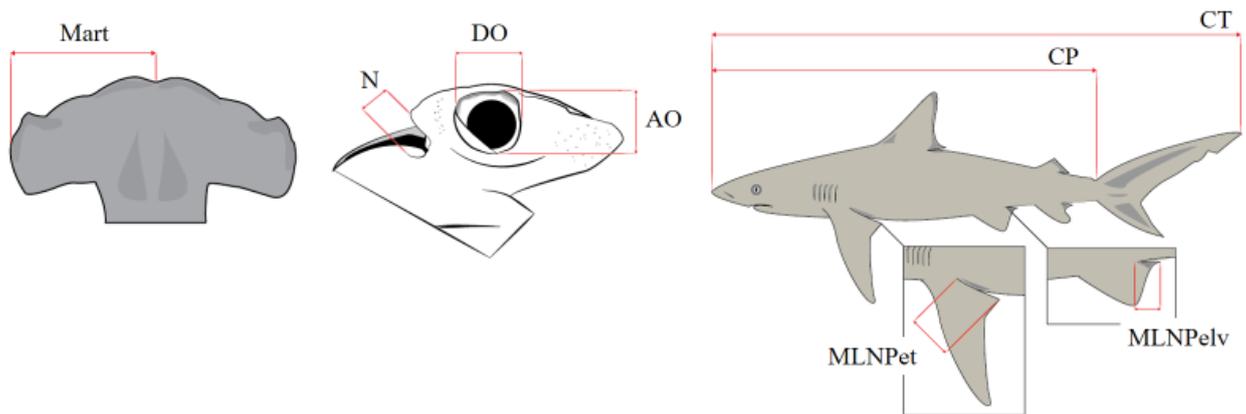
Tabela 3. Dados primários sobre os indivíduos amostrados *Sphyrna lewini* na costa do estado do Rio de Janeiro. \* = indicam os indivíduos não utilizados nas análises estatísticas.

<b>Espécie</b>	<b>Código</b>	<b>Estação</b>	<b>Sexo</b>	<b>Estágio</b>	<b>PT (kg)</b>	<b>CT (cm)</b>
<i>Sphyrna lewini</i> *	SL 001	Primavera	-	Juvenil	3,90	-
<i>Sphyrna lewini</i>	SL 002	Verão	Fêmea	Juvenil	7,10	116,00
<i>Sphyrna lewini</i>	SL 003	Primavera	Macho	Juvenil	4,20	104,00
<i>Sphyrna lewini</i>	SL 004	Inverno	Macho	Juvenil	3,30	87,00
<i>Sphyrna lewini</i>	SL 005	Inverno	Fêmea	Juvenil	1,77	71,90
<i>Sphyrna lewini</i>	SL 006	Inverno	Fêmea	Juvenil	2,76	80,30
<i>Sphyrna lewini</i>	SL 007	Inverno	Macho	Juvenil	1,91	77,00
<i>Sphyrna lewini</i>	SL 008	Inverno	Macho	Juvenil	1,72	71,00
<i>Sphyrna lewini</i> *	SL 009	Inverno	Macho	Juvenil	-	84,90
<i>Sphyrna lewini</i> *	SL 010	Inverno	Fêmea	Juvenil	-	-
<i>Sphyrna lewini</i>	SL 011	Primavera	Macho	Juvenil	2,51	85,20
<i>Sphyrna lewini</i>	SL 012	Verão	Macho	Neonato	0,60	49,80

### 3.3. Assimetria Flutuante

Dados de assimetria flutuante foram coletados através dos métodos propostos por Palmer & Strobeck (1986) e Leung et al. (2000). Todas as estruturas externas e pareadas dos tubarões foram medidas com um paquímetro digital Mitutoyo® ABSOLUTE (x 0,01mm), conforme ilustrado na Figura 5.

Figura 5. Medidas de assimetria flutuante realizadas nos indivíduos de *Sphyrna lewini* amostrados na costa do estado do Rio de Janeiro



Fonte: A AUTORA (2021)

Legenda: MLNPet = Margem Livre da Nadadeira Peitoral; MLNPev = Margem Livre da = Nadadeira Pélvica; N= Narina; DO = Diâmetro do Olho; AO = Altura do Olho; Mart = Comprimento entre o entalhe mediano e o olho.

A fim de corrigir a variação individual das medidas, todo o procedimento morfométrico foi repetido duas vezes para cada estrutura, sendo a medida final estabelecida como a média entre os valores obtidos (PALMER & STROBECK, 1986), resultando nos índices individuais de cada atributo (FA1). O índice composto (CA1), que representa o “acumulado” de assimetria no indivíduo, foi calculado através das seguintes fórmulas:

$$FA1_a = |\text{direita} - \text{esquerda}/2| \quad (1)$$

$$CA1 = |\sum FA1_a| \quad (2)$$

Onde FA1 = índice de assimetria flutuante individual; a = atributo.

### 3.4. Determinação de metais

A determinação de metais foi realizada através da análise por espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, NexIon 300x Perkin Elmer EUA), nas condições apresentadas na Tabela 1. Os isótopos dos elementos Ti, Mn, Cu, Zn e Se quantificados foram:  $^{47}\text{Ti}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{65}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Zn}$  e  $^{82}\text{Se}$ . A preparação das amostras iniciou com a retirada de 100 mg de cada tecido (músculo, fígado, cérebro, rins e gel das ampolas de Lorenzini) e pesagem em tubos de polipropileno estéreis de 15 ml. Após a adição de 1 ml de ácido nítrico bidestilado ( $\text{HNO}_3$  P.A, Hexis, Rio de Janeiro) em todas as amostras, as mesmas foram aquecidas a  $100^\circ\text{C}$  por quatro horas a fim de realizar a decomposição ácida. Por fim, as amostras foram avolumadas a 10 ml com água ultrapura obtidos de um sistema de purificação

Milli-Q (Millipore, Alemanha) e analisadas. O material de referência LANACRO MP0113 N° 96 foi utilizado para aferir a acurácia do método aplicado, e brancos foram analisados da mesma forma que as amostras. A calibração externa multielementar foi realizada por meio de diluições apropriadas em soluções-padrão de calibração Merck IV e pela introdução de solução de  $^{103}\text{Rh}$  (20 mg L<sup>-1</sup>) como padrão interno. Os coeficientes de correlação da curva analítica foram somente considerados quando acima de 0,995. Todas as determinações em amostras foram realizadas em triplicata.

Tabela 1. Condições operacionais instrumentais do ICP-MS aplicadas em determinações elementares em tecidos de *Sphyrna lewini*

<b>Parâmetro</b>	<b>Condição</b>
Potência de radiofrequência	1100 W
Vazão do gás plasma	17,0 L min <sup>-1</sup>
Vazão do gás auxiliar	1,2 L min <sup>-1</sup>
Vazão do gás carreador	0,98 L min <sup>-1</sup>
Amostrador e <i>Skimmer</i>	Pt
<i>Dwell time</i>	50 ms
<b>Número de leituras</b>	5

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) elementares foram calculados de acordo com os parâmetros estabelecidos pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO, 2016). Foram aplicadas as seguintes equações e os limites citados para a presente análise estão apresentados na Tabela 2.

$$\text{LOD} = (3 \times \text{DP} \times \text{FD}) \quad (3)$$

$$\text{LOQ} = (10 \times \text{DP} \times \text{FD}) \quad (4)$$

DV = desvio padrão da proporção do sinal analítico do padrão interno de 10 brancos; FD = fator de diluição da amostra.

Tabela 2. Limites de detecção e quantificação em determinações elementares em tecidos de *Sphyrna lewini*

Elemento	LOD (mg kg <sup>-1</sup> )	LOQ (mg kg <sup>-1</sup> )
Ti	0,05	0,16
Mn	0,01	0,02
Cu	0,01	0,02
Zn	0,06	0,21
Se	0,13	0,43

Legenda: LOD – Limite de detecção; LOQ – Limite de quantificação.

### 3.5. Índices Organossomáticos

Os índices organossomáticos compreendem um conjunto de cálculos sendo estes: Fator de condição de Fulton modificado (K), Índice hepatossomático (IHS) (VAZZOLER, 1996) e Quociente de Repleção Estomacal (QRE) (ORO & MARANTA, 1996), calculadas como:

$$K = 1000.Pevisc/CT^3 \quad (5)$$

Pevisc = peso eviscerado (kg); CT = comprimento total

$$IHS = 100.Pfig/PT \quad (6)$$

Pfig = peso do fígado (g); PT = peso total (g)

$$QRE = Pest/Pevisc \quad (7)$$

Pest = peso do estômago; Pevisc = peso eviscerado

### 3.6. Extração e determinação de metalotioneína

#### 3.6.1. Extração

O protocolo de extração e determinação do biomarcador metalotioneína (MT) seguiu o método de Erk et al. (2002). A primeira etapa consiste na extração de MT, onde cerca de 150 mg de cada tecido foram pesados e acondicionados em tubos de polipropileno de 2 ml. Foram adicionados entre 1500 e 1950 µL (dependendo da viscosidade de cada tecido) de tampão composto por: Tris-HCl (20 mmol L<sup>-1</sup> pH 8,6) + Fenil-metil-sulfonil-fluoreto (PMSF) como inibidor de proteases e β-mercaptoetanol como agente redutor, em cada amostra, seguido de homogeneização manual a fim de evitar a degradação e oxidação do biomarcador em questão. Uma primeira centrifugação foi realizada após a homogeneização a 20.000 x g por 60 minutos a 4 °C. Após o fim deste processo, os sobrenadantes foram separados com auxílio de uma micropipeta e transferidos para novos tubos de polipropileno de 2 mL. As frações líquidas

oriundas da etapa anterior foram então aquecidas em chapa de aquecimento por 70 °C durante 10 minutos. Em seguida, uma nova centrifugação foi efetuada a 20.000 x g por 30 min a 4°C e, por fim, os sobrenadantes foram novamente separados, alocados em tubos identificados e armazenados a -20°C.

### 3.6.2. Determinação

A determinação de metalotioneína seguiu protocolo estabelecido Viarengo et al. (1997) Primeiramente foi preparada uma solução estoque de glutathiona reduzida (GSH) (10 mmol L<sup>-1</sup>) a fim de preparar uma curva analítica utilizando GSH como padrão externo, devido ao seu baixo custo e sua correspondência com a metalotioneína na proporção estequiométrica de 20:1. Os pontos da curva analítica foram preparados a 0 µmol L<sup>-1</sup>, 60 µmol L<sup>-1</sup>, 90 µmol L<sup>-1</sup>, 120 µmol L<sup>-1</sup>, 180 µmol L<sup>-1</sup>, 240 µmol L<sup>-1</sup>, 300 µmol L<sup>-1</sup>, 500 µmol L<sup>-1</sup>, 750 µmol L<sup>-1</sup>, 1000 µmol L<sup>-1</sup> e 1500 µmol L<sup>-1</sup>). Após preparo de uma solução composta por NaCl (2 mol L<sup>-1</sup>) + solução tampão fosfato de sódio (0,2 mol L<sup>-1</sup> a pH 8,0) + DTNB (0,43 mmol L<sup>-1</sup>), cuja função está associada com a atribuição de um fator colorimétrico às moléculas de MT de cada amostra/ponto da curva. Após adição de 1400 µL desta solução em cada ponto da curva e amostras seguido de incubação no escuro por 30 minutos, alíquotas de 200 µL de cada amostra foram transferidas para uma microplaca de polipropileno de fundo chato transparente e as absorvâncias determinadas a 405 nm utilizando um leitor de microplaca.

### 3.7. Tratamento Estatístico

Considerando a ausência de dados de alguns indivíduos coletados, por circunstâncias inerentes ao processamento de pescado nas colônias de pesca, foram utilizados os dados de nove dentre os doze tubarões amostrados. Uma vez organizados os dados em matrizes, foi realizada uma Análise de Componentes Principais (PCA) nos dados de concentrações de metais por tecido, a fim de identificar a distribuição dos contaminantes entre estes. O método de Broken-Stick foi utilizado como critério de retenção dos componentes significativos da PCA. Para manter as premissas do teste paramétrico, os dados foram transformados aplicando-se a raiz quadrada.

Com finalidade de confirmar as tendências observadas na PCA, uma Análise Permutacional de Variância (PERMANOVA) com 9.999 permutações também foi aplicada de forma univariada, para verificar a significância da diferença entre as matrizes biológicas para cada metal avaliado e em ambos os eixos da PCA, utilizando seus scores, e multivariada

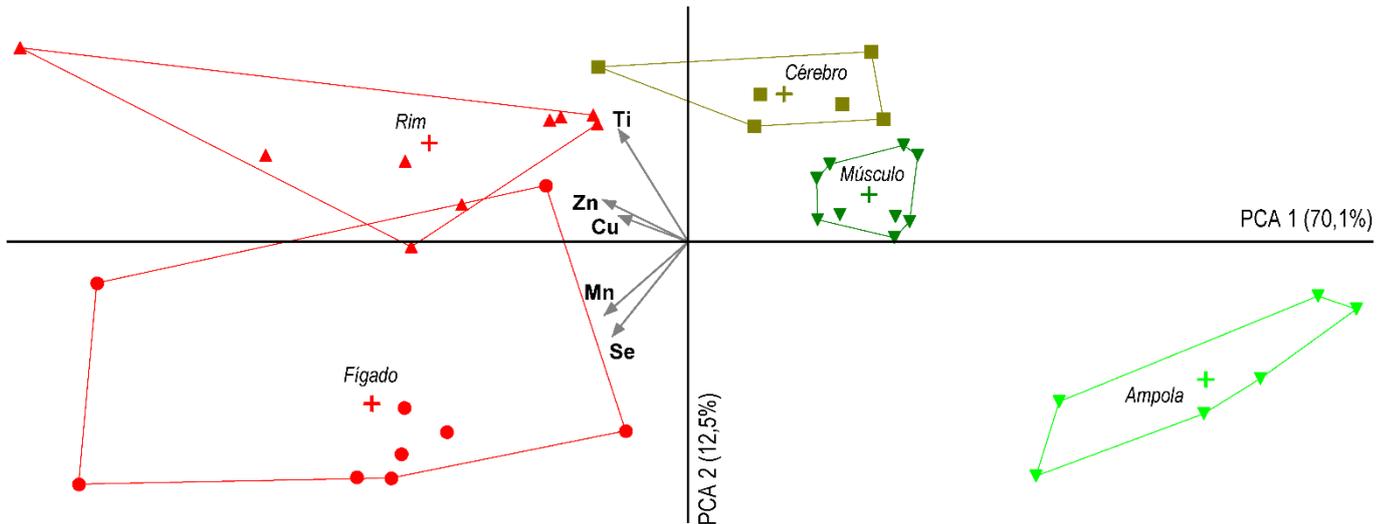
testando as diferenças entre matrizes biológicas para todos os metais analisados. Ainda neste sentido, foi aplicado um teste *post-hoc* utilizando-se a correção de Bonferroni, explicitando as respectivas relações de significância entre as variáveis testadas.

A partir das tendências observadas na PCA, Análises de Redundância (RDA) foram aplicadas nas matrizes de dados de assimetria flutuante e índices organossomáticos (como variáveis dependentes) para compreender sua resposta ao uso das concentrações de contaminantes como variáveis independentes. Considerando as diferenças escalas de mensuração aplicados, os dados foram transformados pelo método de Hellinger (LEGENDRE & GALLAGHER, 2001) previamente às RDAs e uma Análise de Variância (ANOVA) geral e por eixos foi aplicada para verificar sua significância. Por fim, a partir dos resultados gerados pelas RDAs e assumindo a não linearidade dos dados, foram executados testes de correlação de Spearman aos dados de assimetria flutuante seguindo os critérios de Bryman & Cramer (2011). As análises foram realizadas no software RStudio (2021) aplicando-se  $p < 0,05$  como critério de significância para todos os tratamentos estatísticos realizados.

#### **4. RESULTADOS**

Os cinco metais investigados no presente estudo foram detectados em todos os tecidos analisados (Tabela 6). Os tecidos apresentaram em ordem decrescente,  $Se > Zn > Ti > Cu > Mn$ , para as concentrações absolutas exceto no fígado, cujas concentrações de Cu foram superiores às de Ti. A Análise de Componentes Principais (PCA) indicou que 70,1% ( $p = 0,0001$ ) da variação dos dados está relacionada ao eixo 1, e 12,5% ao eixo 2 (Figura 6). É possível observar, ao longo do eixo 1, distribuição de maiores concentrações de metais para fígado e rim, sendo Ti, Cu e Zn com maior expressividade nos tecidos renais, enquanto Se e Mn se destacam para os tecidos hepáticos. Em contrapartida, cérebro e músculo apresentam concentrações menores, em especial de Mn e Se. Por fim, o gel das ampolas de Lorenzini se destaca como a matriz biológica com as concentrações mais reduzidas dos metais estudados.

Figura 6 - Análise de Componentes Principais para concentrações de metais nos tecidos amostrados de *Sphyrna lewini* coletados na costa do estado do Rio de Janeiro.

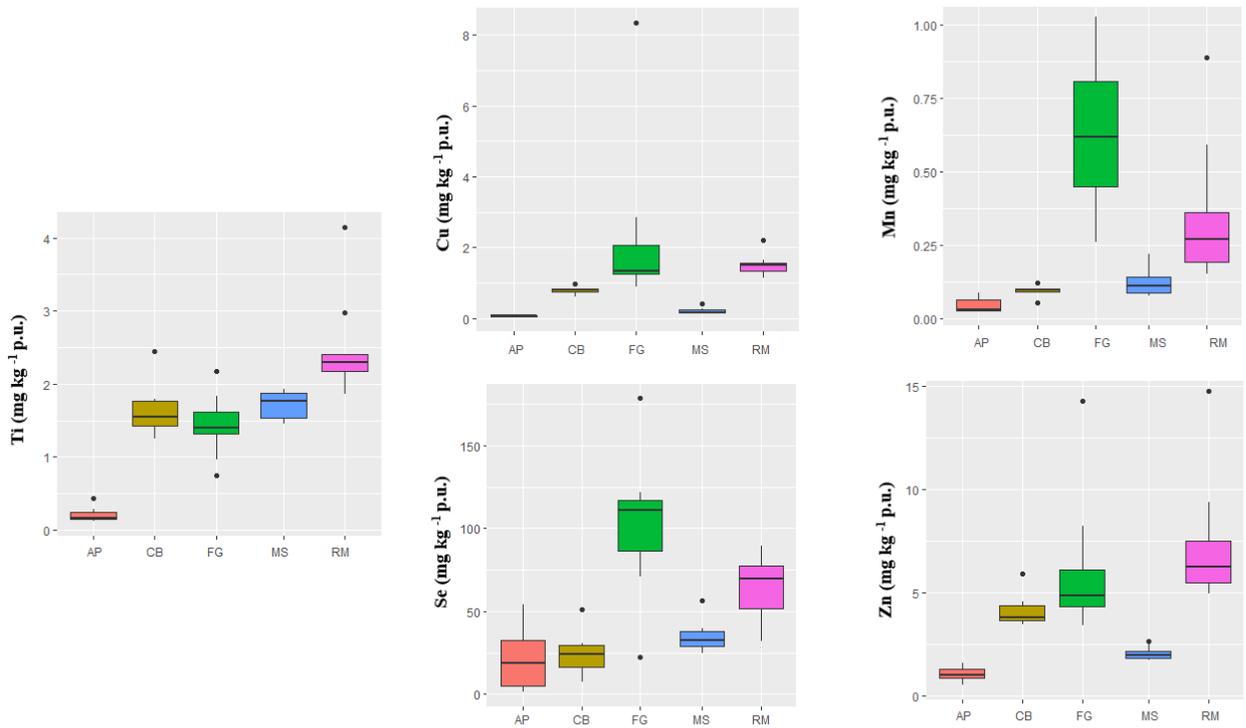


Fonte: A AUTORA, 2021.

O diagrama da PCA mostra que os dados são significativamente relevantes e sustentados pela análise dos scores de cada eixo através da PERMANOVA univariada (PC1,  $F = 33,68$   $p < 0,0001$ ; PC2,  $F = 27,52$   $p < 0,0001$ ). A partir dos resultados da PERMANOVA multivariada foram observadas diferenças pronunciadas entre fígado e rim, e cérebro, músculo e gel da ampola. Considerando a análise realizada de todos os metais agrupados, os tecidos foram ordenados estatisticamente como Rim > Fígado > Músculo = Cérebro = Ampola. Potenciais diferenças significativas foram avaliadas entre tecidos para cada metal pela aplicação de PERMANOVA univariada. Explorando a relação entre fígado e rim, constatou-se diferença significativa entre os tecidos apenas para o Ti ( $p = 0,0015$ ), onde as concentrações renais são, maiores que as hepáticas (Tabela 6). Enquanto para Mn, Cu, Zn e Se, as concentrações em ambos os tecidos não são estatisticamente diferentes ( $p > 0,05$ ). A PERMANOVA multivariada engloba cérebro, músculo e gel da ampola como tecidos equivalentes quanto à concentração dos cinco metais, porém, novamente, quando se consideram as diferenças entre tecidos de cada metal é possível constatar que apenas as concentrações de Se não são significativamente distintas entre os três tecidos. As concentrações de Ti, Mn, Cu e Zn ( $p < 0,05$ ) no gel das ampolas se distinguem de cérebro e músculo, sendo as mais baixas encontradas nesta análise (Figura 6). Neste contexto, há ainda diferenças significativas entre as concentrações de Cu ( $p = 0,0015$ ) e Zn ( $p = 0,0015$ ) entre cérebro e músculo, as quais são mais elevadas nos tecidos cerebrais (Tabela 6), e não havendo diferença significativa entre tais tecidos para Ti, Mn e Se. Assim, verifica-se que o fígado e rim apresentam as maiores concentrações de metais, o cérebro

e músculo, concentrações intermediárias e, por fim, concentrações mais reduzidas no gel das ampolas entre as matrizes biológicas aqui estudadas, confirmando as tendências observadas na PCA (Figura 6).

Figura 7. Concentrações de Cu, Ti, Zn, Mn e Se nos tecidos amostrados de *Sphyrna lewini* coletados na costa do estado do Rio de Janeiro, respectivamente. Valores expressos em peso úmido ( $\text{mg kg}^{-1}$ )



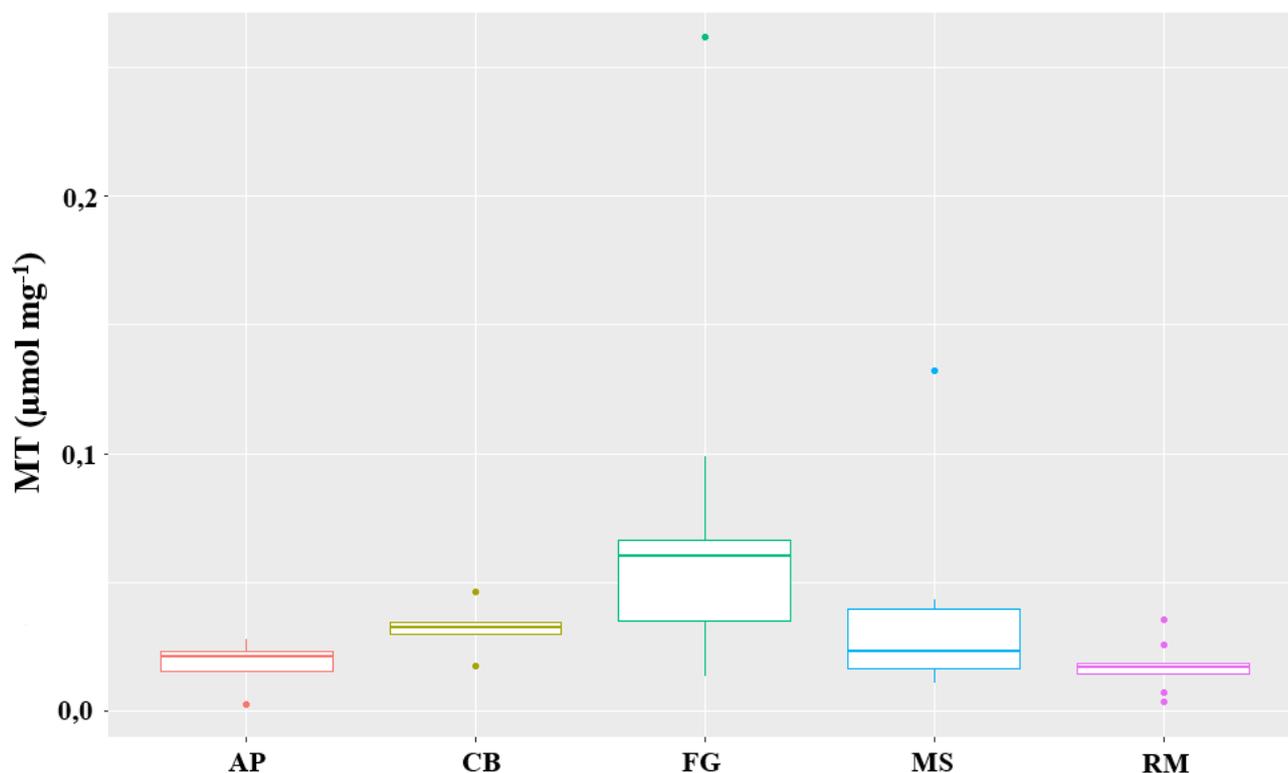
Fonte: A AUTORA, 2021.

Legenda: AP – ampola; CB – cérebro; FG – fígado; MS – músculo; RM – rim; p.u. – peso úmido

Foram encontradas concentrações de MTs nas matrizes biológicas analisadas de *S. lewini*, o fígado apresentou, em média, as maiores concentrações, seguido do músculo, cérebro, gel das ampolas e rins – de forma decrescente (Figura 8), mas nenhuma diferença significativa entre os tecidos quanto às concentrações de MTs. Correlações de Spearman foram aplicadas para verificar a ação da MT como via bioquímica de destoxificação, no entanto esta retornou com apenas uma correlação significativa negativa forte (MT x Mn no músculo,  $p = 0,046$   $r = -0,74$ ). Hauser-Davis et al. (2021) determinam que, ao estabelecer correlações significativas e negativas é possível afirmar que houve a destoxificação do referido metal pela via da MT, portanto, é possível observar este processo ocorrendo para Mn em tecidos musculares de *S. lewini*. Enquanto para o Ti, foi observada uma correlação marginalmente significativa (MT x

Ti no músculo,  $p = 0,057$   $r = 0,71$ ). Neste caso, por ser uma correlação positiva, postula-se que a MT foi induzida pela presença de Ti no músculo, mas não foi capaz de realizar destoxificação.

Figura 8. Concentrações de metalotioneína em tecidos de *S. lewini* capturados na costa do estado do Rio de Janeiro. Valores expressos em peso úmido ( $\mu\text{g mg}^{-1}$ ).



Fonte: A AUTORA, 2021.

Legenda: AP – ampola; CB – cérebro; FG – fígado; MS – músculo; RM – rim; p.u. – peso úmido

As análises de redundância foram realizadas entre as concentrações dos cinco metais em fígado, músculo e rins (individualmente) como variáveis independentes e os valores dos índices organossomáticos (IHS, K e QRE) como variáveis dependentes. As RDAs resultantes para fígado e rim (APÊNDICE A), não demonstraram significância com o teste ANOVA, em contrapartida, a RDA entre as concentrações do músculo se mostrou estatisticamente significativa (ANOVA para RDA em geral,  $p = 0,019$  para cada eixo, RDA1  $p = 0,031$ ). Conforme observado na Figura 9, é possível constatar a tendência de incremento no IHS e decréscimo de QRE com aumento das concentrações de Cu no músculo e, em oposição, menores concentrações de Ti estão associadas ao incremento do IHS. É possível constatar que o IHS, neste caso, representa o atributo organossomático mais responsivo à presença dos contaminantes estudados, com destaque para o Cu. À nível individual, é importante ressaltar

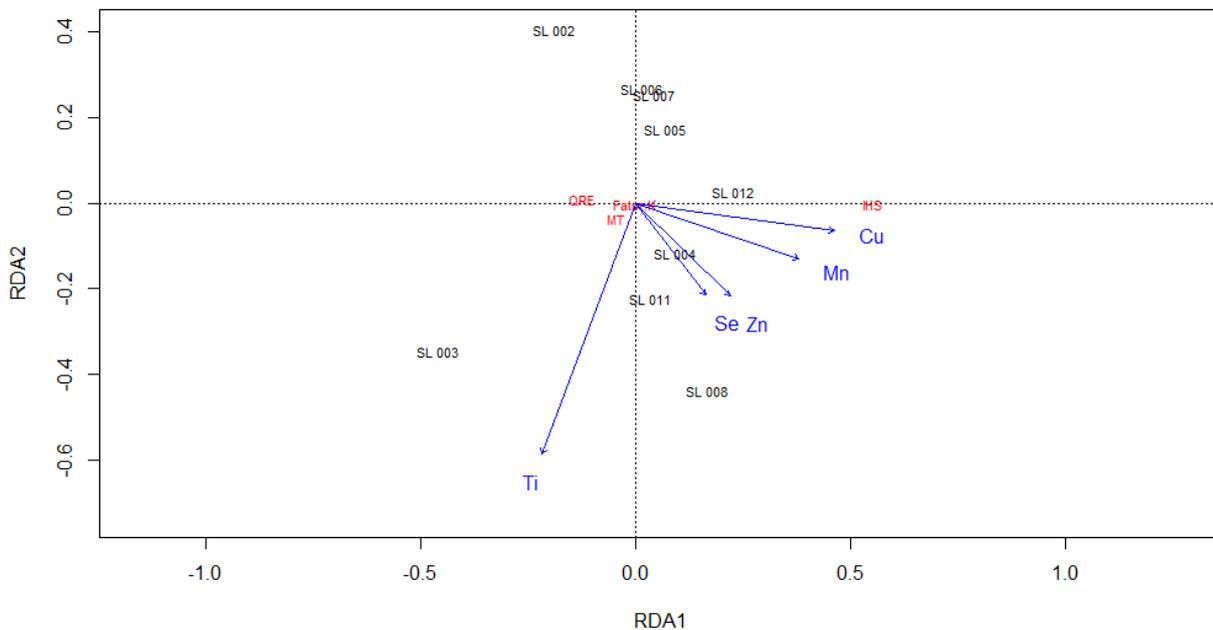
que a maior porcentagem de contribuição do volume hepático foi encontrada no indivíduo de menor tamanho, enquanto os maiores indivíduos desta análise apresentaram as menores porcentagens, com destaque para SL003, cuja representatividade do fígado se mostrou muito baixa (Tabela 4).

Tabela 4. Valores individuais de Fator K, IHS e QRE em *Sphyrna lewini* capturados da costa do Rio de Janeiro.

<b>Código</b>	<b>Fator K (g cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>IHS (%)</b>	<b>QRE (g kg<sup>-1</sup>)</b>
SL 002	3,504 x 10 <sup>-3</sup>	1,25	38,39
SL 003	3,179 x 10 <sup>-3</sup>	0,02	34,00
SL 004	4,275 x 10 <sup>-3</sup>	3,96	31,70
SL 005	3,995 x 10 <sup>-3</sup>	4,28	37,33
SL 006	4,162 x 10 <sup>-3</sup>	4,56	49,56
SL 007	3,538 x 10 <sup>-3</sup>	3,24	31,32
SL 008	4,331 x 10 <sup>-3</sup>	4,02	24,58
SL 011	3,492 x 10 <sup>-3</sup>	2,81	27,82
SL 012	1,7 x 10 <sup>-3</sup>	7,89	39,67

Os parâmetros de assimetria flutuante mensurados foram analisados por meio de RDAs, seguindo as mesmas premissas aplicadas nas análises dos índices, onde as concentrações dos metais foram consideradas variáveis independentes e os índices de assimetria, variáveis dependentes. Os resultados, no entanto, não demonstraram significância por meio do teste de ANOVA em nenhum dos tecidos (ANEXOS B e C).

Figura 9. Análise de redundância entre concentrações de metais no músculo e índices organossomáticos nos tecidos amostrados de *Sphyrna lewini* coletados na costa do estado do Rio de Janeiro.



Fonte: A AUTORA , 2021.

Legenda: IHS – índice hepatossomático; Fator K – fator de condição; QRE – quociente de repleção estomacal.

Tais variáveis foram correlacionadas pelo método de Spearman. Foram encontradas sete correlações significativas ( $p < 0,05$ ), conforme observado na Tabela 5.

Tabela 5. Gráfico de correlações entre concentrações de metais em fígado e músculo X indicadores morfométricos

Correlação	P valor	Sperman r	Classificação
IHS X FiTi	0,049	-0,67	Negativa moderada
IHS X FiMn	0,029	-0,72	Negativa Forte
IHS X MsMn	0,049	0,67	Positiva moderada
IHS X MsCu	0,013	0,78	Positiva forte
IHS X MTMs	0,049	-0,67	Negativa moderada
Mart x FiZn	0,009	0,80	Positiva forte
NADPV x MsSe	0,015	-0,77	Negativa forte
NADPT x MsCu	0,031	-0,71	Negativa forte
DiamOlho x MtMs	0,012	-0,78	Negativa forte

Legenda: Fi = fígado; Ms = músculo; MT = metalotioneína; Mart = índice FA1 para o cefalofólio; OlhoDiam = índice FA1 para o diâmetro do olho; NADPV = índice FA1 para a nadadeira pélvica; NADPT = índice FA1 para a nadadeira peitoral; IHS = índice hepatossomático. A notação em forma FiTi, por exemplo, indica a concentração de Ti no fígado. Os critérios de classificação das correlações seguiram conforme estabelecido por Bryman & Cremer (2011).

Tabela 6. Estatística descritiva. Valores expressos em peso úmido (mg kg<sup>-1</sup>)

<b>Fígado</b>			<b>Músculo</b>		
<b>Metal</b>	<b>Min-Máx. (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Media ± DV (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Metal</b>	<b>Min-Máx. (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Media ± DV (mg kg<sup>-1</sup>)</b>
<b>Ti</b>	0,75 - 2,17	1,44 ± 0,42	<b>Ti</b>	1,45 - 1,93	1,71 ± 0,18
<b>Cu</b>	0,88 - 8,35	2,28 ± 2,35	<b>Cu</b>	0,14 - 0,42	0,21 ± 0,09
<b>Zn</b>	3,41 - 12,3	6,16 ± 3,40	<b>Zn</b>	1,72 - 2,65	2,08 ± 0,32
<b>Mn</b>	0,26 - 1,03	0,65 ± 0,24	<b>Mn</b>	0,076 - 0,22	0,12 ± 0,05
<b>Se</b>	22,13 - 179,37	101,94 ± 42,53	<b>Se</b>	25,0 - 56,4	34,81 ± 9,48
<b>Cérebro</b>			<b>Rim</b>		
<b>Metal</b>	<b>Min-Máx. (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Media ± DV (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Metal</b>	<b>Min-Máx. (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Media ± DV (mg kg<sup>-1</sup>)</b>
<b>Ti</b>	1,25 - 2,45	1,71 ± 0,81	<b>Ti</b>	1,86 - 4,15	2,50 ± 0,68
<b>Cu</b>	0,62 - 0,98	0,81 ± 0,35	<b>Cu</b>	2,21 - 1,14	1,50 ± 0,31
<b>Zn</b>	3,46 - 5,94	4,28 ± 1,97	<b>Zn</b>	4,98 - 14,8	7,35 ± 3,11
<b>Mn</b>	0,054 - 0,12	0,10 ± 0,04	<b>Mn</b>	0,17 - 0,89	0,35 ± 0,24
<b>Se</b>	7,35 - 50,8	25,69 ± 18,30	<b>Se</b>	31,8 - 89,4	64,67 ± 18,85
<b>Gel das Ampolas</b>					
<b>Metal</b>	<b>Min-Máx. (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Media ± DV (mg kg<sup>-1</sup>)</b>			
<b>Ti</b>	0,12 - 0,44	0,22 ± 0,12			
<b>Cu</b>	0,042 - 0,1	0,07 ± 0,02			
<b>Zn</b>	0,53 - 1,59	1,06 ± 0,38			
<b>Mn</b>	0,025 - 0,087	0,04 ± 0,03			
<b>Se</b>	2,19 - 54,1	21,75 ± 20,55			

Legenda: Estatística descritiva para as concentrações de metais em tecidos de *S. lewini*. “Min – Máx.” = valores mínimos e máximos encontrados; ±DV = desvio padrão.

Musculo, rim e fígado – n = 9; cérebro e ampola – n = 6.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Exposição à contaminação química e bioacumulação

Grandes predadores marinhos são conhecidos pela elevada vulnerabilidade à contaminação química, muitos estudos abordam a quantificação de metais e metaloides emblemáticos, como mercúrio e chumbo, focando em aspectos de segurança alimentar e risco de contaminação humana pelo consumo de recursos pesqueiros atingidos por poluentes químicos (WALKER et al., 2014; TIKTAK et al., 2020). A importância de tais investigações é imprescindível para o dimensionamento do impacto de estressores ambientais, no entanto, ainda existe uma grande lacuna do conhecimento com relação a avaliações de como a incorporação de metais e metaloides afeta a saúde de elasmobrânquios, representando empecilhos para o estabelecimento de planos de manejo e conservação mais acurados às correntes ameaças ao grupo (WOSNICK et al., 2021).

No presente estudo, Ti foi detectado em todos os tecidos de *S. lewini*, porém o repertório bibliográfico da contaminação por Ti em *Sphyrna lewini* não permite discussões profundas pois não há estudos que elucidem tal assunto. Hauser-Davis et al. (2021) avaliaram a presença de metais em músculo e fígado de tubarões-azuis (*Prionace glauca*) no Atlântico Norte, encontrando 19,69 mg kg<sup>-1</sup> p.u. de Ti no músculo e 2,31 mg kg<sup>-1</sup> p.u. no fígado e *S. lewini* da costa do Rio de Janeiro apresenta maiores concentrações no músculo (1,71 ± 0,18 mg kg<sup>-1</sup> p.u) do que no fígado (1,44 ± 0,42 mg kg<sup>-1</sup> p.u), é possível observar também que os níveis de Ti são cerca de dez vezes menores para os tubarões-martelo deste estudo. Diferenças também são observadas em relação às quantificações de Ti em músculo do tubarão megaboca (*Megachasma pelágios*), que se apresentou como o elemento quantificado mais abundante, contendo em média, 547 mg kg<sup>-1</sup> p.u (YUN-RU et al., 2016). Para além das fontes antrópicas de Ti, Yun-Ru et al. (2016) ressaltam que a estratégia alimentar planctívora de *M. pelágios* é um componente fundamental para explicar as elevadas concentrações de Ti encontradas, visto que há uma tendência de acúmulo do elemento em organismos planctônicos.

Neste sentido, apesar de ocuparem nichos tróficos muito semelhantes, a não conformidade entre as concentrações de Ti para *S. lewini* e *P. glauca* provavelmente tem relação com os diferentes estágios de vida na qual foram amostrados (tubarões azuis – todos adultos; tubarões-martelo – todos juvenis) e suas distintas ocupação de habitat (*P. glauca* sendo oceânico; *S. lewini* sendo costeiro) (HAUSER-DAVIS et al., 2021). Além de tubarões, raias e quimeras também estão sujeitas a acumular Ti, de acordo com Morris et al. (2016), os valores médios do metal para a quimera do Cabo (*Callorhynchus capensis*) foi 998,03 mg kg<sup>-1</sup> p.u, em

raias-viola (*Rhinobatos annulatus* e *Rhinobatos blochii*) com 321,92 mg kg<sup>-1</sup> p.u. e 845,65 mg kg<sup>-1</sup> p.u., respectivamente, são explicados, para além das hipóteses tróficas, pela diferença dada pelas classes de tamanho, onde os maiores indivíduos detiveram as maiores concentrações, dando suporte a hipótese supracitada. Para as raias elétricas brasileiras (*Narcine brasiliensis*) foi comprovada além da bioacumulação de Ti em fêmeas prenhes (fígado = 2,34; músculo = 1,16; órgão elétrico = 1,32; brânquias = 1,65; gônadas = 1,93 mg kg<sup>-1</sup> p.u.). Da mesma forma, os embriões de *N. brasiliensis*, apresentaram concentrações médias superiores quando comparadas aos indivíduos adultos (fígado = 1,98; músculo = 5,6; órgão elétrico = 2,52; brânquias = 2,9; vitelo = 8,01 mg kg<sup>-1</sup> p.u.), sendo estes contaminados pelo mecanismo de transferência materna - reforçando que há um potencial danoso para a contaminação por Ti (LOPES et al., 2019). Ainda que não tão bem elucidado, há indícios de que a incorporação deste elemento nos sistemas aquáticos pode causar efeitos a longo prazo tanto em plantas, quanto peixes (ASZTEMBORSKA et al. 2018). Experimentos de exposição a nanopartículas de TiO<sub>2</sub> no curimatá (*Prochilodus lineatus*), por exemplo, comprovam sua acumulação em fígado, rins, cérebro e músculo, bem como a redução da atividade da acetilcolinesterase, enzima fundamental a transmissão do impulso nervoso, evidenciando o potencial neurotóxico de Ti (CARMO et al., 2019).

Bergés-Tiznado et al. (2015) observam que as concentrações médias de Se em tecidos de *S. lewini* do México, de forma decrescente, se ordenavam da seguinte forma: rins (10 mg kg<sup>-1</sup> p.u.) > fígado (7,7 mg kg<sup>-1</sup> p.u.) > cérebro (1,3 mg kg<sup>-1</sup> p.u.) > músculo (1,2 mg kg<sup>-1</sup> p.u.). Dada a natureza semelhante do estudo citado e a atual análise, é possível comparar com mais acurácia e constatar que Se foi distribuído entre os tecidos de forma diferenciada, onde, conforme observado para a costa do Rio de Janeiro as concentrações se comportam, de forma decrescente: fígado > rins > músculo > cérebro > gel das ampolas. É importante ressaltar que, para a costa mexicana, foram registrados 28,6 mg kg<sup>-1</sup> nos rins, como sendo a concentração máxima de Se encontrada por Bergés-Tiznado et al. (2015) para a espécie citada. À nível de comparação dentro do gênero *Sphyrna*, as concentrações de Se se mantiveram abaixo do limite de detecção em amostras de *S. mokarran* e, portanto, descartadas da análise por Cagnazzi et al. (2019) – cenário oposto ao encontrado no presente estudo, no qual o Se é destacado por apresentar as maiores concentrações relativas em todos os tecidos amostrados de *S. lewini* (rins 64,67 ± 18,85; fígado 101,94 ± 42,53; cérebro 25,69 ± 18,30; gel das ampolas = 21,75 ± 20,55; músculo 34,81 ± 9,48 mg.kg<sup>-1</sup> p.u.) Da mesma forma, *S. zygaena* capturados no México apresentaram concentrações, em média, dez vezes menores de Se (músculo = 0,87; nadadeiras

= 0,34 mg.kg<sup>-1</sup> p.u) quando comparados com *S. lewini* apresentados pelo presente estudo (ESCOBAR-SÁNCHEZ et al., 2010). Ruelas-Inzunza et al. (2020) compila estudos que mostram níveis de Se em músculo de *S. lewini* e *S. zygaena* variando entre 0,33 e 3,24 mg kg<sup>-1</sup> (peso úmido) para diferentes locais - Mediterrâneo, Golfo da Califórnia e o Pacífico oriental tropical - evidenciando novamente as elevadas concentrações de Se encontradas para tubarões-martelo da costa do Rio de Janeiro.

A principal fonte de Se, assim como para a maioria dos metais, em predadores marinhos é através da ingestão, que compõe cerca de 80% da via de incorporação do elemento, sendo fundamental em diversos processos moleculares através de sua ação antioxidante (ALEXANDER, 2015). No entanto, a utilização do Se em processos industriais e hospitalares pode representar risco à incorporação excessiva do metal em sistemas naturais, podendo causar danos à biota exposta (LEMLY, 1993; ALEXANDER, 2015). Vale ressaltar, nesta perspectiva, que existe um potencial desconhecido acerca de efeitos negativos em elasmobrânquios promovidos pela exposição a níveis excessivos de Se. Lara et al. (2020) classificam como elevadas as concentrações médias de Se em tecidos hepáticos encontradas para o tubarão-raposa pelágico (*Alopias pelagicus*) no México tanto em machos (juvenis: 1,92 ± 0,70 mg kg<sup>-1</sup> peso seco; adultos: 2,85 ± 1,31 mg kg<sup>-1</sup> peso seco) e fêmeas (juvenis: 2,26 ± 0,71 mg kg<sup>-1</sup> peso seco; adultos 2,39 ± 1,01 mg kg<sup>-1</sup> peso seco). Considerando que *A. pelagicus* e *S. lewini* possuem níveis tróficos semelhantes, é possível traçar um paralelo entre ambos os estudos, afirmando que os indivíduos discutidos aqui também apresentam níveis elevados de Se, inclusive superiores aos supracitados para o tubarão-raposa pelágico (FROESE & PAULY, 2021). À exemplo disto, o Lago Belews, localizado nos Estados Unidos, se tornou um caso emblemático de contaminação por Se oriundo de águas residuais da indústria termoelétrica local, causando efeitos profundos nas assembleias ictiológicas locais (LEMLY, 1993; 2002). Foram observados danos em tecidos branquiais, hepáticos, renais, cardíacos, gonadais e oculares, processos teratogênicos e profunda redução na diversidade de peixes no local, ilustrando a extensão de efeitos negativos originados da exposição excessiva à um metal essencial (LEMLY, 1993; 2002).

As concentrações hepáticas de Cu encontradas em *S. lewini* aqui (fígado 2,28 ± 2,35; músculo = 0,21 ± 0,09 mg.kg<sup>-1</sup> p.u.) se mostram próximas às relatadas para a mesma espécie na costa maranhense (músculo = 1,89; fígado = 3,95 mg.kg<sup>-1</sup> p.u.) por Wosnick et al. (2021), no entanto, inferiores para ambos tecidos no presente estudo. Os níveis de Cu no músculo de *S. lewini* detectados para o Golfo da Califórnia (20,6 ± 0,4 mg.kg<sup>-1</sup> p.s.) e Flórida (2 mg.kg<sup>-1</sup> p.s.)

se mostraram superiores quando comparados com o presente estudo e, da mesma forma, quando comparado com *S. zygaena* do Mediterrâneo ( $1,45 \pm 0,41 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.u}$ ), sendo o fígado, o tecido que mais concentrou este metal (WINDOM et al., 1973; STORELLI et al., 2003; RUELAS-INZUNZA et al., 2007). Para os tubarões-martelo amostrados no Rio de Janeiro, da mesma forma, os tecidos hepáticos se mostraram os mais pronunciados quanto a acumulação de Cu (Tabela 6), destoando principalmente de Ruelas-Inzunza et al. (2007), cujas concentrações de Cu no fígado da mesma espécie no Golfo da Califórnia se mostraram tão baixas que não puderam ser detectadas por sua análise. *S. lewini* do Golfo de Tadjoura (Oceano Índico) apresentaram níveis hepáticos de Cu superiores aos musculares, e assim como no presente estudo, o fígado possuía, em média, dez vezes mais Cu do que o músculo (BOLDROCCHI et al., 2019). Por fim, a única semelhança encontrada entre as concentrações de Cu em tecidos musculares de *S. lewini* aqui apresentados ( $0,21 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.u}$ ) foi para indivíduos amostrados em Papua-Nova Guiné ( $0,21 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.u}$ ) (POWELL et al., 1981).

As quantificações de Zn em músculo e fígado de tubarões-martelo se mostram superiores para *S. lewini* no Golfo da Califórnia ( $19 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.s.}$ ), Flórida ( $15 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.s.}$ ), e Pacífico Sul ( $3,8 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.s.}$ ) (WINDOM et al., 1973; POWELL et al., 1981; RUELAS-INZUNZA et al., 2007; BOLDROCCHI et al., 2019). Bem como para *S. zygaena* e *S. tiburo* no Atlântico Norte (*S. tiburo* =  $8 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.s.}$ ) e para *S. zygaena* =  $6,97 \text{ } 15 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.u.}$  no Mediterrâneo (WINDOM et al., 1973; STORELLI et al., 2003). Comparando concentrações de metais com espécies de grande porte amostradas nas Bahamas, (*Carcharhinus perezi*, *C. acronotus*, *C. leucas*, *Galeocerdo cuvier*, *Negaprion brevirostris* e *Ginglymostoma cirratum*) cujos níveis tróficos (entre 4.1 e 4.5), são semelhantes ao dos tubarões-martelo ( $4.1 \pm 0.5$ ) é possível observar compatibilidade nos níveis médios de Mn, mas concentrações inferiores em *S. lewini* de Cu e Zn (FROESE & PAULY, 2021; SHIPLEY et al., 2021).

As variações de metais e metaloides encontradas entre indivíduos da mesma espécie e gênero ou entre táxons distintos possuem caráter multifatorial, podendo estar associadas à fatores internos (fisiológicos, morfológicos, metabólicos, intra e interespecíficos, individuais etc.) ou externos (disponibilidade e qualidade de presas, processos de contaminação, geografia, temperatura, salinidade, correntes etc.) (HICKS et al., 2019). A diferença nas dietas entre espécies constitui uma das atribuições mais discutidas para explicar o acúmulo diferencial de metais de forma interespecífica. No entanto, é importante salientar que, ao longo do desenvolvimento de uma espécie, observam-se mudanças ontogenéticas na exploração de itens alimentares, fazendo com que indivíduos em diferentes fases de vida apresentem também

concentrações distintas, conforme observado para tubarões-raposa (*Alopias vulpinus*) e mako (*Isurus oxyrinchus*) quanto à acumulação de contaminantes orgânicos (LYONS et al., 2019). Em tubarões-martelo, a mudança ontogenética foi comprovada para a costa colombiana, no qual Estupiñan-Montaña et al. (2021) observam que *S. lewini* explora recursos alimentares costeiros nos estágios iniciais de vida, entre 2 e 4 anos de vida consome presas oceânicas e adultos (> 4 anos) consomem presas costeiras de níveis trófico mais elevados, ressaltando a dinâmica trófica ao longo do ciclo de vida da espécie, o que afeta diretamente em sua assimilação de contaminantes. LYONS et al., (2019) ressaltam que a transferência materna de contaminantes também constitui um fator de contribuição para variabilidade intra e interespecífica nas concentrações de contaminantes ao longo do ciclo de vida dos elasmobrânquios.

É necessário considerar também que a idade e taxa de crescimento influem fortemente nos balanços fisiológicos de acumulação e eliminação de metais, bem como os atributos de história de vida (migração, sedentarismo, investimento reprodutivo, dentre outros), inclusive já observado para *S. mokarran* (RUMBOLD et al., 2014; SHIPLEY et al., 2021). Tendo em vista que os representantes de *S. lewini* analisados neste estudo são juvenis (CT < 1,4m em machos e CT < 2m nas fêmeas) e imaturos reprodutivamente, é possível que tal fato explique as concentrações reduzidas de metais e metalóides em seus tecidos (exceto para Se). Comparado com outras espécies de tubarões, juvenis de *S. lewini* apresentam elevadas taxas metabólicas, o que também deve ser considerado para elucidar as baixas concentrações de metais aqui encontradas (LOWE, 2002). A ausência de valores de referência traduzindo limites de concentrações de contaminantes seguras para a saúde de elasmobrânquios também dificulta afirmativas do que pode ser considerado níveis baixos ou elevados de um estressor ambiental em tubarões e raias. Variáveis ambientais atuam como fatores determinantes para a incorporação de contaminantes de ecossistemas e comunidades aquáticos (SHIPLEY et al., 2021). As dinâmicas oceanográficas são fundamentais para compreender o aporte e disponibilidade de metais nos ecossistemas marinhos, como ocorre na Baía de Guanabara cuja biodisponibilidade de metais – principalmente para Cu e Zn - varia de acordo com a pluviometria, salinidade, atividade microbiana, circulação de correntes e topografia (FISTAROL et al., 2015; MONTE et al., 2017). Neste sentido, Hicks et al. (2019) observaram que o pescado proveniente de regiões tropicais quentes possuem os maiores teores de Zn enquanto, para o Se, peixes marinhos oriundos de regiões mais frias detém os níveis mais elevados, logo, é possível afirmar que as diferenças discutidas anteriormente podem ser justificadas também pelas características distintas de cada região de amostragem.

## 5.2. Dinâmica tecidual de Ti, Cu, Zn, Mn e Se em *S. lewini* da costa do Rio de Janeiro

A distribuição tecidual de metais e metalóides constitui um dos aspectos mais importantes que elucidam o comportamento dos contaminantes em diferentes matrizes biológicas, visto que raramente estes se limitam a bioacumular somente em um tecido. Em geral, as pesquisas ecotoxicológicas acessam aspectos de contaminação analisando músculo e/ou fígado, cuja relevância é considerável, mas ainda se faz necessária a extensão de tais análises para outros tecidos a fim de compreender como a contaminação afeta a saúde sistêmica de organismos avaliados (STORELLI et al., 2011). O organotropismo de metais e metalóides para tubarões pode variar tanto por características do organismo, quanto por particularidades dos próprios contaminantes – como por exemplo, no tubarão-da-Groelândia (*Somniosus microcephalus*) onde os compostos lipofílicos (contaminantes orgânicos) tenderam a depositar de forma diferencial, entre os tecidos, em contraposição aos compostos com maior afinidade por matrizes com mais proteínas (metais) (CORSOLINI et al., 2014). Em elasmobrânquios, assim como para outros vertebrados, é possível observar que o fígado é órgão-alvo de contaminantes por compor a principal rota de destoxificação metabólica de substâncias nocivas, de modo que, a acumulação de metais como o Cu, em tecidos hepáticos, pode induzir a síntese de metaloproteínas carreadoras de tais compostos e, portanto, reforçando o organotropismo positivo de alguns metais com o fígado (DE BOECK et al., 2010; BARRERA-GARCÍA et al., 2013). Fortes evidências sugerem que fígado e rins se tornam órgãos-alvo de contaminantes por serem matrizes biológicas com elevada atividade metabólica, assim como observado nos resultados apresentados aqui para tubarões-martelo (STORELLI et al., 2011). Desta forma, Wosnick et al. (2021) observam que o fígado apresenta concentrações expressivas de metais para espécies de tubarões capturadas no Nordeste do Brasil, inclusive para *S. lewini*.

Ainda que exista uma direção esperada para a dinâmica tecidual de metais, como inferir que os contaminantes irão ser depositados em maiores quantidades em fígado e rins, é importante considerar as diferentes toxicocinéticas de cada metal, visto que alguns possuem tropismo positivo com certas matrizes biológicas. Os níveis de alguns metais em tecidos musculares aparentemente são direcionados positivamente com uma certa variabilidade ontogenética e entre espécies, como observado para o mercúrio (ENDO et al., 2008). É possível observar que os fatores de influenciam bioacumulação muscular em elasmobrânquios podem ser relacionados ao “fator de diluição” corrente durante a maturação e proporcional à taxa de crescimento (TERRAZAS-LOPEZ et al., 2016). A fase durante o ciclo reprodutivo também

pode ser uma condicionante relevante para o direcionamento de contaminantes no músculo, como por exemplo, fêmeas grávidas de *Rhizoprionodon* spp. tendendo a apresentar concentrações elevadas de metais na matriz muscular, o que provavelmente se explica pelo incremento na alimentação em fases pré-natais (FRIAS-ESPERICUETA et al., 2014; AMORIM-LOPES et al., 2020). Os *S. lewini* analisados para a costa do Rio de Janeiro apresentaram, no músculo, concentrações intermediárias dos cinco metais discutidos, quando comparado aos outros tecidos – da mesma forma que no cérebro, cujos níveis de metais foram também considerados intermediários. No Mediterrâneo, o Zn em cérebro e músculo do tubarão canejo (*Mustelus mustelus*) – espécie com nível trófico próximo ao de *S. lewini* - foi encontrado em proporções semelhantes das observadas aqui, 2:1, respectivamente – ainda que *M. mustelus* apresentasse maiores concentrações absolutas, em termos de dinâmica tecidual, é possível encontrar correspondências. Para o Cu, no entanto, *S. lewini* apresentou proporções de 4:1 entre cérebro e músculo, enquanto *M. mustelus* manteve 2:1 entre os mesmos tecidos (STORELLI et al., 2011). Alves et al. (2016) e Ehnert-Russo & Gelsleichter (2020) investigaram possíveis efeitos da contaminação por mercúrio em cérebros de *Prionace glauca* e *Rhizoprionodon terraenovae*, respectivamente, mas observaram que os biomarcadores aplicados não apresentaram boa sensibilidade à presença do metal, reiterando a aplicação de diferentes abordagens para compreender tais fenômenos em compartimentos biológicos pouco explorados em elasmobrânquios. Aparentemente, para contaminantes orgânicos a dinâmica de bioacumulação é mais bem compreendida para tecidos cerebrais por serem lipofílicos, visto que o órgão possui teores elevados de lipídios, o organotropismo se torna mais claro (LYONS et al., 2021). Os conhecimentos acerca dos efeitos de contaminantes inorgânicos em tecidos neurais de elasmobrânquios ainda são muito embrionários e precisam ser elucidados da forma mais eficiente possível especialmente para as fases iniciais de vida que possuem grande vulnerabilidade aos efeitos de estressores ambientais (EHNERT-RUSSO & GELSLEICHTER, 2020; MARTINS et al., 2020). Cave & Kajiura (2020) demonstram pela primeira vez que, em exposições laboratoriais que assemelharam ao grande derramamento de petróleo no Golfo do México México (concentração final de óleo cru = 0,01%/48h). Neste experimento a raia do Atlântico (*Hypanus sabinus*) foram submetidas à inanição e avaliadas através do estímulo ao forrageamento - apresentando menor eficiência comportamental na procura de presas nos organismos expostos em relação aos organismos em ambiente controle. A modificação no hábito de forrageamento esteve diretamente ligado com interferência no sistema eletrossensorial da espécie estudada (CAVE & KAJIURA, 2020). Logo, o gel das ampolas de

Lorenzini (componente do sistema eletrossensorial) foi utilizado como matriz biológica, no presente estudo, em caráter exploratório, presumindo-se que os efeitos da contaminação ambiental podem se estender aos sistemas sensoriais de tubarões-martelo. A maioria dos trabalhos envolvendo as gel das ampolas de Lorenzini, no entanto, tangem as áreas da morfologia e caracterização iônica, fazendo com que este seja um estudo pioneiro no uso deste sistema como matriz biológica para determinação de metais em elasmobrânquios brasileiros.

### 5.3. Destoxificação bioquímica em tubarões: A via da metalotioneína

A aplicação de marcadores moleculares para mensurar respostas secundárias e terciárias vêm sendo extensamente utilizada em peixes ósseos e, mais recentemente, para elasmobrânquios. Ainda são observadas grandes discrepâncias para tal abordagem ente os grupos. As metalotioneínas (MTs) podem ser induzidas pela presença de metais em tecidos biológicos, sendo comprovada sua capacidade de destoxificação de As, Ag, Cd, Cs, Cu, Hg, Pb, Se, Ti e Zn (De BOECK et al., 2010; LOPES et al., 2019; HAUSER-DAVIS et al., 2021). O presente estudo, no entanto, não apresenta resultados representativos quanto à destoxificação de metais pelas MTs nos tecidos de *S. lewini*, o que provavelmente está associado com a menor capacidade de destoxificação em indivíduos juvenis, quando comparados com as taxas de eliminação de metais em adultos (SAMUEL et al., 2021). O fígado apresentou as maiores concentrações de MT como esperado, já que tais proteínas são órgão-específicas e tendem a sofrer maior indução de síntese nesta matriz biológica (SAMUEL et al., 2021). Os rins, por sua vez, desempenham papel fundamental na excreção fisiológica e bem como na produção de metalotioneínas (ROESIJADI, 1992). As concentrações de MT nos rins, no entanto, foram as mais baixas detectadas neste estudo – negando a expectativa de que tecidos renais apresentassem concentrações próximas às hepáticas. Da mesma forma, Company et al. (2010) não identifica correlações entre MTs e a concentração de metais em músculo, fígado e brânquias do cação canejo (*Deania hystricosa*), tubarão-lanterna (*Etmopterus princeps*) e da quimera (*Hydrolagus pallidus*) concluindo que possivelmente as MTs não possuem tanta expressividade nas vias de destoxificação de metais em peixes de águas profundas, visto que estes possuem adaptações fisiológicas distintas em função do habitat em relação aos peixes de águas rasas (COMPANY et al., 2010). Para embriões de *Narcine brasiliensis*, no entanto, foi constatada a destoxificação eficiente de Ag (prata) nas brânquias; Ti e Se nos órgãos elétricos pelas MTs, além de ter sido induzida por outros metais avaliados (AMORIM-LOPES, dados não publicados).

#### **5.4. Aplicação de índices de condição corporal como proxy de condição corporal mediante à contaminação química em *S. lewini*.**

Pesquisas de cunho ecotoxicológico em elasmobrânquios voltadas para respostas secundárias e efeitos subletais originadas pela exposição à contaminantes, são extremamente necessárias para mensurar o grau de impacto de processos poluidores sob o táxon (SKOMAL et al., 2012). Para fomentar este campo, visto o declínio massivo e rápido que o grupo vem sofrendo, o presente estudo avalia a resposta de indicadores de condição corporal à presença de metais na espécie ameaçada *S. lewini*. Os índices de condição corporal são aplicados vários grupos zoológicos sob diversos contextos como avaliação do impacto de poluição e mudanças climáticas, efeitos de interação intraespecíficos, de predação ou parasitismo, podendo assim ser atribuído o valor de “ferramenta” para tal conjunto de técnicas (STEVENSON & WOODS, 2006). O fator de condição (K) pode traduzir, em termos gerais, a saúde sistêmica de uma espécie, como observado por Wosnick et al. (2021), que encontraram menores parâmetros do fator de condição correlacionado com níveis aumentados de Cu, níquel e cobalto em tecidos de oito espécies de tubarões na costa do Maranhão, incluindo *S. lewini*. Da mesma forma, Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em condições de exposição crônica a Zn, Cd e Cu, tiveram seus indicadores de condição corporal afetados, apresentando reduções significativas de IHS e K mediante à acumulação de tais contaminantes (KARAYTUG et al., 2007; ÇIFTÇI et al., 2015). Em contrapartida, foram encontrados no sangue de tubarões-branco (*Carcharodon carcharias*) na costa sul-africana concentrações muito elevadas de mercúrio ( $146,98 \mu\text{g L}^{-1}$ ), arsênio ( $833,43 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e Cu ( $398,62 \mu\text{g L}^{-1}$ ) que, surpreendentemente, não mostraram nenhum efeito negativo sob a condição corporal (Fator K) dos indivíduos amostrados (MERLY et al., 2019).

Na perspectiva individual, a maior porcentagem de IHS para o tubarão SL012 (Tabela 4) corrobora com LYONS et al., (2020), que postula maiores volumes hepáticos em neonatos devido ao investimento materno na condição energética da prole, característico para *S. lewini*. SL002 e SL003, por outro lado, apresentaram as menores porcentagens de IHS, 1,25% e 0,02% respectivamente, em contraste com os maiores comprimentos e pesos do universo amostral analisado. Nestes mesmos indivíduos também foram encontradas as maiores concentrações de Zn e Cu no fígado, o que pode ser uma evidência da influência de metais na saúde de *S. lewini*. Na Califórnia, juvenis de *C. carcharias* apresentaram acúmulo de grandes quantidades de contaminantes organoclorados (Difenil-Dimetil-Tricloroetano - DDTs e Bifenilas Policloradas

- PCBs) em seus tecidos hepáticos que, no entanto, não mostraram interferência nos indicadores de condição energética (IHS e teor lipídico) (MULL et al., 2013). O presente estudo demonstra tendências de incremento no índice hepatossomático com o aumento das concentrações de Cu no músculo em *S. lewini*, de forma semelhante ao observado por Merly et al. (2019) em tubarões-branco e por Wosnick et al. (2021) em grandes tubarões do nordeste do Brasil, com relações positivas entre o acúmulo de Cu e a condição corporal. O Cu é reconhecido como cofator de diversas enzimas além de atuar como fator protetivo contra o estresse oxidativo, o que pode explicar a relação positiva entre as concentrações do metal e do IHS (MERLY et al., 2019). A ausência de respostas mediante aos testes estatísticos aplicados entre concentrações de contaminantes e o fator de condição pode estar relacionada a elevada resiliência fisiológica dos elasmobrânquios, que neste caso é intimamente ligada à capacidade mitigatória dos efeitos negativos provocados pela poluição ambiental (MERLY et al., 2019). De acordo com Wheeler et al. (2020) o amplo repertório de estratégias reprodutivas e as fases de vida em que ocorrem a exposição são componentes de forte influência para determinar seu grau de vulnerabilidade de tubarões e raias aos efeitos de estressores antropogênicos. Neste sentido, é importante ressaltar que, para outros grupos de vertebrados, como aves, teleósteos e cetáceos, o sistema reprodutivo aparentemente apresenta respostas mais claras à presença de contaminantes (SUBRAMANIAN et al., 1987; AUSTIN et al., 2000; SAARISTO et al., 2018).

A ausência de resultados com a aplicação do fator K não necessariamente está associada a ineficiência do método, problemáticas relacionadas com limitações amostrais – frequentes em estudos com elasmobrânquios – podem influenciar nas respostas obtidas, assim como observado por Maes et al. (2020). A baixa variabilidade dentro do universo amostral, como a análise restrita à uma classe de tamanho por exemplo, também possui potencial de influir nos resultados obtidos (ENDO et al., 2009). Ambas as hipóteses podem ser aplicadas como uma realidade deste estudo.

O quociente de repleção estomacal (QRE) constituiu o indicador de condição menos elucidativo para as hipóteses levantadas no presente estudo. O QRE está diretamente relacionado com comportamento alimentar, visto que traduz a intensidade de forrageio, logo esperava-se que analisando tal índice, possíveis interferências ao consumo de presas por *S. lewini* mediante à exposição aos metais, pudessem ser detectadas. Os efeitos negativos comprovados da contaminação ambiental sob aspectos tróficos de peixes estão intimamente relacionados com o comprometimento de comportamentos alimentares, assim como pode causar inanição em exposições agudas à contaminantes (WEIS et al., 2001; ÇIFTÇI et al.,

2015). Em ambiente experimental o teleósteo *Thymallus thymallus* foi exposto, durante fases embrionárias, a concentrações de metilmercúrio que provocaram danos permanentes em sua eficiência de forrageio, reduzindo seu *fitness* (FJELD et al., 1998). Ainda que evidências apontem para a possibilidade da aplicação do QRE como um indicador de impacto ambiental, são necessárias investigações mais aprofundadas para avaliar sua sensibilidade à presença de outros contaminantes. Por fim, no que se refere aos índices supracitados, as abordagens experimentais parecem as mais resolutivas quanto à compreensão do papel dos indicadores de condição corporal e energética em situação de exposição à contaminantes ambientais. A aplicação de tais abordagens, no entanto, é bastante limitada por questões logísticas e da própria biologia do grupo-alvo, portanto, esforços de pesquisas *in-situ* seriam os mais adequados para atender as demandas discutidas aqui.

### **5.5. Assimetria Flutuante como indicador de stress fisiológico**

O estresse fisiológico causado pela presença de metais possui potencial de afetar as demandas energéticas em elasmobrânquios, podendo impactar em ciclos básicos, como os reprodutivos, afetando a renovação de estoques populacionais, por exemplo (CONSALES & MARSILI, 2021). A assimetria flutuante (FA) é uma ferramenta pouco testada para compreender a resposta de elasmobrânquios à perturbações ambientais, portanto, será discutida aqui em caráter exploratório. O intuito de empregar as técnicas de FA é detectar a existência de desvios no desenvolvimento com potencial de interferência no modo de vida dos organismos detentores de tais características (PALMER, 1994). Seixas et al. (2016, 2020) reconhecem que a assimetria flutuante na cocoroca (*Orthopristis ruber*) existe, mas é independente das concentrações de mercúrio encontradas no tecido deste teleósteo, não constatando nenhuma relação entre FA e a contaminação por um metal reconhecidamente nocivo à biota marinha. Da mesma forma que Young (2004) ao analisar a relação de FA de peças craniais no teleósteo achigã (*Micropterus salmoides*) e sua relação com Hg.

A utilização de FA como ferramenta de monitoramento ambiental foi comprovada para alguns táxons como, mamíferos, teleósteos e tartarugas marinhas, com maiores índices de assimetria correlacionados a presença de contaminantes inorgânicos e orgânicos (SANCHEZ-CHARDI et al., 2013; LAJUS et al., 2015; CORTES-GOMEZ et al., 2018). No presente estudo foi possível observar apenas uma correlação positiva e forte entre a FA do cefalofólio e as concentrações de Zn no fígado, sugerindo que o aumento deste metal em tecidos hepáticos pode levar à desvios no desenvolvimento. Exposição a substâncias antropogênicas contaminantes

também representam ameaças ao desempenho e saúde de elasmobrânquios (CAVE & KAJIURA, 2018). À exemplo disto, foram detectados danos a sensibilidade olfativa de *Hypanus sabinus* atingida pela exposição proveniente de derramamento acidental de petróleo no Golfo do México, logo, constatou-se interferências em sua capacidade de forragear com sucesso após o acidente, ilustrando como a poluição química pode impactar sob atributos ecológicos em elasmobrânquios (CAVE & KAJIURA, 2018). Jagoe & Haines (1985) utilizaram a assimetria flutuante para mensurar o grau de impacto sobre atributos morfológicos ao longo de um gradiente de acidificação em um lago. Os autores encontraram evidências reduzidas, porém relevantes da existência de uma resposta direta dos atributos mensurados na truta *Salvelinus fontinalis* e locais de amostragem com menor pH (considerada condição de maior estresse).

A FA também pode ser suscetível à fase de desenvolvimento a qual é aplicada, podendo apresentar maior ou menor sensibilidade portanto, são necessários estudos de assimetria flutuante ao longo em uma escala ontogenética. Em tubarões-martelo esta técnica foi aplicada à luz da vulnerabilidade do gênero por deter uma estrutura com elevado custo evolutivo quanto o cefalofólio, a fim de compreender quais processos podem interferir em sua performance em fases críticas para a sobrevivência de juvenis.

## **5.6. A contaminação por metais: uma ameaça à conservação**

É imprescindível o estabelecimento de discussões acerca da extensão dos efeitos de metais e metalóides, além de compartimentos individuais (moléculas, células, tecidos, dentre outros), bem como ultrapassar o olhar exclusivo para respostas imediatas/primárias promovidas pela contaminação química (SKOMAL & MANDELMAN, 2012; SAARISTO et al., 2018). O impacto de poluentes possui potencial para modificar repertórios comportamentais, interações ecológicas como predação, competição, modificar a estrutura de comunidades e ecossistemas e ser uma ameaça à saúde pública (FLEEGER et al., 2003).

### *Efeitos individuais e populacionais*

Os efeitos ocasionados pela exposição aos estressores antropogênicos foram discutidos aqui em uma perspectiva majoritariamente individual. À exemplo disto, a alteração nas concentrações de amônia total circulante em *Leucoraja erinacea* mediante à exposição por Cu ilustra bem um dos efeitos individuais que podem surgir mediante ao impacto da poluição química (GROSSEL et al., 2003). Interferências no sistema endócrino (aumento de hormônios

esteroides no plasma sanguíneo) e imunológico (alterações na contagem de células brancas do sangue) também foram detectadas em subpopulações da raia *Dasyatis sabina* na Flórida (GELSLEITCHER et al., 2005). A abordagem aqui aplicada não pôde ser estendida para os órgãos reprodutivos devido a classe etária compreendida no universo amostral aqui estudado. As estratégias reprodutivas em elasmobrânquios, no entanto, constituem um dos componentes biológicos mais importante do grupo, seu amplo repertório de modos reprodutivos é apontado como um dos atributos mais sensíveis à perturbações ambientais (WHEELER et al., 2020). É notável o crescimento de estudos tangendo o processo de transferência materna de contaminantes, visto que a interferência de contaminantes em fases críticas, como o desenvolvimento embrionário pode ser fatal. Em outros vertebrados (aves, répteis, mamíferos e teleósteos) o efeito de metais em embriões é mais bem consolidado, por exemplo, é comprovado que Cd, Hg e Pb são agentes embrio-tóxicos e teratogênicos (MOBARAK et al., 2008). Para teleósteos, Jezierska et al. (2009) ressalta que metais e metaloides podem interferir no desenvolvimento embrionário desde fases iniciais, até próximo ao nascimento, sendo observadas consequências graves para a sobrevivência da prole como – anomalias durante a organogênese, abortos, mortalidade de larvas.

É importante ressaltar que, não somente efeitos individuais são importantes em análises ecotoxicológicas, visto que a interferência em ciclos reprodutivos pode alterar drasticamente a renovação de estoques populacionais, principalmente em espécies consideradas K estrategistas (ISLAM & TANAKA, 2004). Novamente, há uma escassez de estudos ou projeções de impactos populacionais em espécies de elasmobrânquios afetados pela poluição química, porém é possível inferir a partir de estudos em outros grupos de vertebrados. Neste sentido, Desforges et al. (2018) projeta, através de compilação de dados, que há risco severo de declínio populacional em orcas (*Orcinus orca*) mediado pelos efeitos da contaminação por PCBs – cuja interferência em aspectos reprodutivos e imunológicos da espécie tem potencial de levar, principalmente, mais da metade das populações costeiras ao colapso nos próximos 100 anos.

#### *Efeitos em comunidades e ecossistemas*

Estressores antropogênicos não apenas afetam elasmobrânquios diretamente, mas também, de forma ampla, os ecossistemas aquáticos. Mudanças de curto e longo prazo no habitat e na estrutura da teia alimentar podem afetar criticamente mesopredadores e predadores de topo como tubarões e raias, ocasionando efeitos em cascata, devido à conectividade dos sistemas naturais (HEMPSON et al. 2017). É importante ressaltar que os efeitos aqui discutidos

não atuam em populações naturais de forma isolada, por exemplo, danos causados pela contaminação química individual podem ser estendidos em escalas populacionais, de comunidade e ecossistêmicas, fazendo com que a interferência de tais contaminantes atue de forma holística (SAARISTO et al., 2018). Saaristo et al., (2018) evidencia que mudanças comportamentais provocadas por contaminantes químicos, principalmente interferindo na relação predador-presa, são processos-chave para a amplificação do efeito destes em escalas macroecológicas, sendo até mais relevantes para provocar mudanças significativas, quando comparado com interferências em abundância e diversidade de comunidades naturais.

Conectando os conceitos apresentados, Bornatowski et al. (2014) e Navia et al. (2017) apresentam os elasmobrânquios como peças fundamentais para a estrutura de teias tróficas em ecossistemas tropicais, cuja redundância é reduzida com o aumento de nível trófico, tornando-os mais imprescindíveis para a manutenção das relações ecológicas. Em uma possível interferência causada por metais e metaloides, conforme postulado aqui, pode modificar comportamentos de forrageamento, fuga, acasalamento e migração e da mesma forma, o papel funcional de espécies-chave, desencadeando processos em cascata. O esquema apresentado por Saaristo et al., (2018) ilustra as dinâmicas gerais de interferências em aspectos populacionais, de comunidade e ecossistêmicos naturais (ANEXO).

### **5.7. Ações de mitigação e perspectivas.**

Atualmente há uma grande demanda para o estabelecimento de uma ciência mais preditiva e resolutiva. Para tal, os estudos de base para preencher as lacunas existentes sobre populações naturais são imprescindíveis. Em 2017, foi estabelecida a Década da Ciência Oceânica para o Desenvolvimento Sustentável pela Organização das Nações Unidas (ONU), período compreendido de 2021 a 2030, para o qual foram estabelecidas metas para valorização das ciências e conhecimentos do mar e da sustentabilidade por meio da integração de gestores, sociedade e comunidade científica. A percepção de declínio da saúde oceânica como um todo mobilizou atores globais para a instauração da Década dos Oceanos (ONU, 2017). Atlântico Sul detém grandes cidades costeiras e, de acordo com a UNESCO (2020), 80% da poluição marinha deste domínio possui origem terrestre. Problemáticas associadas a baixa eficiência da rede de esgotamento sanitário, no manejo de resíduos industriais e agropecuários na América do Sul, são exemplos de contribuições recorrentes para o aumento da poluição no domínio costeiro e oceânico da região (HATJE et al., 2021).

Neste sentido são propostas ações mitigatórias de impactos como a remediação *in situ* de contaminantes químicos, bem como a identificação de *hotspots* globais de fontes de contaminação aquática, são soluções apresentadas por Hader et al. (2020) e classificadas como sendo de alta viabilidade e efetividade contra os efeitos danosos da poluição ambiental. São postulados também esforços nacionais e internacionais para controlar ou reduzir efluentes de origem terrestre, bem como iniciativas para fazer um uso mais adequado do domínio oceânico (por exemplo, planejamento espacial marinho e uso sustentável de recursos pesqueiros) como essenciais para a conservação da saúde oceânica (HADER et al., 2020). O consumo consciente também se torna um aliado fundamental para a promoção da conservação de espécies ameaçadas, uma vez que a diminuição de demandas por tais produtos pode reduzir um dos componentes de pressão sob sua conservação (BORNATOWSKI et al., 2018). Bem como na mudança de bases em alguns produtos (tintas anti-incrustantes, por exemplo) e processos extremamente poluidoras e que, reconhecidamente incorporam contaminantes químicos em ambientes aquáticos, buscando soluções menos impactantes ao meio ambiente.

Para Landrigan et al. (2020), nas regiões costeiras, áreas mais suscetíveis aos efeitos da poluição marinha, a atuação de diferentes atores, como a sociedade civil, tomadores de decisão, comunidade científica e gestores, é crucial para a redução dos impactos na saúde animal, ecossistêmica e humana. Tiktak et al. (2020) reforçam a necessidade do estabelecimento de extensivos bancos de dados de livre acesso e ampla divulgação, da mesma forma Bornatowski et al. (2018) recomendam que, além da promoção adequada do financiamento de pesquisas, a retomada de monitoramento pesqueiro à nível nacional para o Brasil é imprescindível para a manutenção de ações para a conservação de tubarões e raias.

Muito além da necessidade de abordagens holísticas, extremamente necessárias dado o caráter sinérgico que as ameaças à biodiversidade atingem os organismos, as bases da problemática envolvendo processos poluidores carecem de intervenção de políticas públicas básicas como eficiência no esgotamento sanitário, fiscalização de comprimento do licenciamento em atividades poluidoras e ações para educação ambiental para suprir as maiores demandas do campo da ecologia e conservação (LANDRIGAN et al., 2020). Por fim, sugere-se o estabelecimento de novos estudos, ampliando o escopo amostral e metodológico para monitorar e mitigar os efeitos da poluição em populações costeiras de tubarões ameaçados.

## CONCLUSÕES

-Foi possível detectar Ti, Zn, Cu, Se e Mn em todos os tecidos analisados de *Sphyrna lewini*, onde as maiores concentrações foram de Se e as menores, de Mn.

- Para juvenis de *S. lewini* capturados no estado do Rio de Janeiro a composição da matriz biológica se mostrou mais relevante na determinação da distribuição tecidual de metais. As concentrações seguiram, em ordem decrescente: Rins > Fígado > Músculo = Cérebro = Gel das Ampolas.

-As metalotioneínas não foram eficientemente induzidas no atual estudo e tampouco se mostraram expressivas como via de destoxificação bioquímica em todos os tecidos, exceto por Mn no músculo, refutando a hipótese levantada para este biomarcador.

-Entre os índices de condição avaliados, o IHS se mostrou o mais responsivo à presença de contaminantes, demonstrando tanto incremento na presença de Cu no músculo, tanto como decréscimo frente à Ti e Zn no fígado e Mn no músculo.

-Os índices de assimetria flutuante relacionados com a assimetria no cefalofólio, com o diâmetro dos olhos e com nadadeiras pélvicas e peitorais apresentaram maior sensibilidade à presença de metais em *S. lewini*. Destacando a relação entre FA1 do cefalofólio e concentrações aumentadas de Zn no fígado, expondo uma possível vulnerabilidade do desenvolvimento da espécie à contaminação química.

## REFERÊNCIAS

- AGGET, P., NORDBERG, G. F.; NORDBERG, M. Essential Metals: Assessing Risks from Deficiency and Toxicity. In: Handbook on the Toxicology of Metals, p. 281–297. 2015.
- AGRAWAL, S. J., & SRIVASTAVA, A. K. Haematological responses in a fresh water fish to experimental manganese poisoning. *Toxicology*, 17(1), 97–100. 1980.
- ALEXANDER, J. Selenium. Handbook on the Toxicology of Metals, p. 1175–1208. 2015.
- ALI, H.; EZZAT K.; ILAHI, I. Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation *Journal of Chemistry*. 2019.
- ALVARENGA, M; M.Solé-Cava, A; Henning, F. What's in a name? Phylogenetic species identification reveals extensive trade of endangered guitarfishes and sharks. 2021.
- ALVES, L. M. F., et al. Blue sharks (*Prionace glauca*) as bioindicators of pollution and health in the Atlantic Ocean: Contamination levels and biochemical stress responses. *Science of The Total Environment*, p. 282–292. 2016.
- AMORIM, R.B. & MONTEIRO-NETO C. Marine protected area and the spatial distribution of the gill net fishery in Copacabana, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. *Braz. J. Biol.*, v.76, n1. 2016.
- AMORIM-LOPES, C. et al. Mercury screening in highly consumed sharpnose sharks (*Rhizoprionodon lalandii* and *R. porosus*) caught artisanally in southeastern Brazil. *Elementa: Science of the Anthropocene*, v. 8, n. 1, 2020.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Disponível em <[https://www.snirh.gov.br/portal/centrais-de-conteudos/central-de-publicacoes/encarteatlasesgotos\\_etes.pdf](https://www.snirh.gov.br/portal/centrais-de-conteudos/central-de-publicacoes/encarteatlasesgotos_etes.pdf)> Acesso em: 01/05/2021
- ARAÚJO, N.L.F. et al. Artisanally landed elasmobranchs along the coast of Rio de Janeiro, Brazil. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia*, v. 30, n. 1. 2020
- ARRERA-GARCÍA, A. et al. Trace elements and oxidative stress indicators in the liver and kidney of the blue shark (*Prionace glauca*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 165, n. 4, p. 483-490. 2013.
- ASZTEMBORSKA, M. et al. Titanium dioxide nanoparticle circulation in an aquatic ecosystem. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 229, n. 6, p. 1-9, 2018.
- AUSTIN, J. et al. Declining Scaup Populations: Issues, Hypotheses, and Research Needs. *Wildlife Society Bulletin (1973-2006)*, v 28 n.1, p. 254-263. 2000.

- BARBOSA-FILHO et al. Historical Shark Meat Consumption and Trade Trends in a Global Richness Hotspot *Ethnobiology Letters* v 10 n1 p.97–103. 2019.
- BARRERA-GARCÍA, A. et al. Oxidative stress indicators and trace elements in the blue shark (*Prionace glauca*) off the east coast of the Mexican Pacific Ocean. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 156, n. 2, p. 59-66. 2012
- BARRETO, R. R. et al. Rethinking use and trade of pelagic sharks from Brazil. *Marine Policy*, v. 85, p. 114-122, 2017.
- BEASLEY D.A. et al. The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: a meta-analysis. *Ecological Indicators*, v. 30 p. 218-226. 2013.
- BERGÉS-TIZNADO, M. E., et al. Mercury and Selenium in Muscle and Target Organs of Scalloped Hammerhead Sharks *Sphyrna lewini* of the SE Gulf of California: Dietary Intake, Molar Ratios, Loads, and Human Health Risks. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 69, n.4. 2015
- BOLDROCCHI G. et al. Trace elements and POPs in two commercial shark species from Djibouti: Implications for human exposure. *Science of The Total Environment*. v. 669, p. 637-648. 2019.
- BORNATOWSKI, H.; BRAGA, R.R.; BARRETO, R.R. et al. Elasmobranchs Consumption in Brazil: Impacts and Consequences in: Rossi-Santos, M. R., & Finkl, C. W. (Eds.). *Advances in Marine Vertebrate Research in Latin America*. Coastal Research Library. 2018.
- BORNATOWSKI, H. et al. Ecological importance of sharks and rays in a structural foodweb analysis in southern Brazil, *ICES Journal of Marine Science*, v. 71, n.7 p. 1586–1592. 2014.
- BARTON, B. A. et al. Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish. *Biological indicators of aquatic ecosystem stress*, p. 111-148, 2002.
- BRYMAN, A.; CRAMER, D. *Quantitative analysis with IBM SPSS 17 18 & 19: A guide for social scientists*. 1ª Edição. Routledge Nova Iorque, NY. 2011
- PIMIENITO, C. et al. Functional diversity of marine megafauna in the Anthropocene. *Science Advances*, v. 6, n. 16, p. 7650, 2020.
- LOWE, Christopher G. Bioenergetics of free-ranging juvenile scalloped hammerhead sharks (*Sphyrna lewini*) in Kāne'ohe Bay, Ō'ahu, HI. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 278, n. 2, p. 141-156, 2002.

- CARMO, Talita LL et al. Overview of the toxic effects of titanium dioxide nanoparticles in blood, liver, muscles, and brain of a Neotropical detritivorous fish. *Environmental toxicology*, v. 34, n. 4, p. 457-468, 2019.
- CARVAN, Michael J.; DI GIULIO, Richard T. Oxidative stress responses in aquatic and marine fishes. In: *Studies on Experimental Toxicology and Pharmacology*. Humana Press, Cham, 2015. p. 481-493. 2015.
- CAVE, E. J.; KAJIURA, S. M. Electrosensory Impairment in the Atlantic Stingray, *Hypanus sabinus*, After Crude Oil Exposure. *Zoology*, v. 143, p. 125844, 2020.
- ÇIFTÇI, N. et al. Effects of zinc and cadmium on condition factor, hepatosomatic and gonadosomatic index of *Oreochromis niloticus*. *Fresenius Environmental Bulletin*, v. 24, n. 11, p. 1-4, 2015.
- CLEMENTS, W. H.; ROHR, J R. Community responses to contaminants: using basic ecological principles to predict ecotoxicological effects. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 28, n. 9, p. 1789-1800, 2009.
- CNI disponível em:  
<[https://perfildaindustria.portaldaindustria.com.br/composicao\\_setorial?&c2=rj](https://perfildaindustria.portaldaindustria.com.br/composicao_setorial?&c2=rj)> Acesso em:  
05/05/2021
- COMPAGNO, Leonard JV. FAO species catalogue. Vol. 4, Part 1; Sharks of the world. FAO Fish Synop, v. 125, p. 416-417, 1984.
- COMPAGNO, L.J.V.; DANDO, M. & FOWLER, S. *Sharks of the World*. Princeton University Press, New Jersey, p. 496. 2005.
- COMPANY, R. et al. Metal concentrations and metallothionein-like protein levels in deep-sea fishes captured near hydrothermal vents in the Mid-Atlantic Ridge off Azores. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 57(7), 893–908. 2010.
- CONFEDERAÇÃO NACIONAL DA INDÚSTRIA  
[https://perfildaindustria.portaldaindustria.com.br/composicao\\_setorial?&c2=rj](https://perfildaindustria.portaldaindustria.com.br/composicao_setorial?&c2=rj)
- CORSOLINI, Simonetta et al. Organotropism of persistent organic pollutants and heavy metals in the Greenland shark *Somniosus microcephalus* in NE Greenland. *Marine pollution bulletin*, v. 87, n. 1-2, p. 381-387, 2014.
- CORTÉS-GÓMEZ, A. A.; ROMERO, D.; GIRONDOT, M. Carapace asymmetry: A possible biomarker for metal accumulation in adult olive Ridleys marine turtles? *Marine pollution bulletin*, v. 129, n. 1, p. 92-101. 2018

- VILARDO C. Multi-project environmental impact assessment: insights from offshore oil and gas development in Brazil, *Impact Assessment and Project Appraisal*, v.36, n.4, p. 358-370. 2018
- CAGNAZZI, Daniele; BROADHURST, Matt K.; REICHELDT-BRUSHETT, Amanda. Metal contamination among endangered, threatened and protected marine vertebrates off south-eastern Australia. *Ecological Indicators*, v. 107, p. 105658, 2019.
- DE BOECK, G., et al. Copper toxicity in the spiny dogfish (*Squalus acanthias*): Urea loss contributes to the osmoregulatory disturbance. *Aquatic Toxicology*, 84(2), 133–141. 2007
- DE BOECK, G. et al. Metal accumulation and metallothionein induction in the spotted dogfish *Scyliorhinus canicula*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 155, n. 4, p. 503-508. 2010.
- DESFORGES, J.P. et al. Predicting global killer whale population collapse from PCB pollution. *Science*, v. 361, n. 6409, p. 1373-1376, 2018.
- DULVY, N.K. et al. Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife*, 3. 2014.
- EHNERT-RUSSO, S. L.; GELSLEICHTER, J. Mercury accumulation and effects in the brain of the Atlantic Sharpnose Shark (*Rhizoprionodon terraenovae*). *Archives of environmental contamination and toxicology*, v. 78, n. 2, p. 267-283, 2020.
- ELLINGSEN, D. G., MOLLER, L. B., & AESETH, J. Copper. *Handbook on the Toxicology of Metals*, 765–786. 2015.
- ENDO, Tetsuya et al. Hg, Zn and Cu levels in the muscle and liver of tiger sharks (*Galeocerdo cuvier*) from the coast of Ishigaki Island, Japan: relationship between metal concentrations and body length. *Marine Pollution Bulletin*, v. 56, n. 10, p. 1774-1780, 2008.
- ENDO, T. et al. Contamination levels of mercury in the muscle of female and male spiny dogfishes (*Squalus acanthias*) caught off the coast of Japan. *Chemosphere*, v. 77, n. 10, p. 1333-1337. 2009
- ERK, M.; IVANKOVIC, D.; RASPOR, B; PAVICIC, J. Evaluation of different purification procedures for the electrochemical quantification of mussel metallothioneins. *Talanta*. V. 57, p. 1211-1218. 2002
- ESCOBAR-SÁNCHEZ, O.; GALVAN-MAGAÑA, F.; ROSÍLES-MARTÍNEZ, R. Mercury and selenium bioaccumulation in the smooth hammerhead shark, *Sphyrna zygaena* Linnaeus, from the Mexican Pacific Ocean. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 84, n. 4, p. 488-491, 2010.

- ESTUPIÑÁN-MONTAÑO, C. et al. Ontogenetic feeding ecology of the scalloped hammerhead shark *Sphyrna lewini* in the Colombian Eastern Tropical Pacific. *Marine Ecology Progress Series*, v. 663, p. 127-143, 2021.
- FAO 2020. Yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics 2018/FAO annuaire. Statistiques des pêches et de l'aquaculture 2018/FAO anuario. Estadísticas de pesca y acuicultura 2018. Rome.
- FERRETTI, F. et al. Patterns and ecosystem consequences of shark declines in the ocean. *Ecology Letters*. 2010.
- FIELD, I. C. et al. Susceptibility of sharks, rays and chimaeras to global extinction. *Advances in marine biology*, v. 56, p. 275-363, 2009.
- FISTAROL, G. O. et al. Environmental and sanitary conditions of Guanabara Bay, Rio de Janeiro. *Frontiers in microbiology*, v. 6, p. 1232, 2015.
- FJELD, E.; HAUGEN, T. O.; VØLLESTAD, L. A. Permanent impairment in the feeding behavior of grayling (*Thymallus thymallus*) exposed to methylmercury during embryogenesis. *Science of the Total Environment*, v. 213, n. 1-3, p. 247-254, 1998.
- FLEEGER, J. W.; CARMAN, K. R.; NISBET, R. M. Indirect effects of contaminants in aquatic ecosystems. *Science of The Total Environment*, v.317 n.1-3 p. 207–233. 2003.
- FRÍAS-ESPERICUETA, M. G. et al. Cadmium, copper, lead and zinc concentrations in female and embryonic pacific sharpnose shark (*Rhizoprionodon longurio*) tissues. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, v. 93, n. 5, p. 532-535. 2014.
- FRICKE, R., ESCHMEYER, W. N. & VAN DER LAN, R. (eds) 2021. ESCHMEYER'S CATALOG OF FISHES: GENERA, SPECIES, REFERENCES Disponível em: <<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>> Acesso em: 14/04/2021
- FROESE, R. and PAULY. D. 2021. FishBase. World Wide Web electronic publication. Disponível em: <[www.fishbase.org](http://www.fishbase.org)>. Acesso em: 15/07/2021
- PROZEE Fundação de Amparo à Pesquisa de Recursos Vivos na Zona Econômica Exclusiva. Relatório técnico sobre o censo estrutural da pesca artesanal marítima e estuarina nos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Fundação PROZEE/SEAP, PR/IMAMA, Itajaí. 151p. 2005.
- GALLAGHER, Austin J. et al. Evolved for extinction: the cost and conservation implications of specialization in hammerhead sharks. *BioScience*, v. 64, n. 7, p. 619-624, 2014.

GALLAGHER, A. J., & Klimley, A. P. (2018). The biology and conservation status of the large hammerhead shark complex: the great, scalloped, and smooth hammerheads. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*.

GALLAGHER, A. J.; KYNE P. M.; HAMMERSCHLAG, N. 2021. Ecological risk assessment and its application to elasmobranch conservation and management *Journal of Fish Biology* 80, 1727–1748.

GARCÍA, Verónica B.; LUCIFORA, Luis O.; MYERS, Ransom A. The importance of habitat and life history to extinction risk in sharks, skates, rays and chimaeras. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 275, n. 1630, p. 83-89, 2008.

GELSLEICHTER, J.; WALKER, C. J. Pollutant exposure and effects in sharks and their relatives. In: *Sharks and their relatives II*. CRC Press, p. 507-554. 2010.

GEOINEA: disponível em:  
<<https://inea.maps.arcgis.com/apps/MapSeries/index.html?appid=00cc256c620a4393b3d04d2c34acd9ed>> Acesso em: 01/05/2021

GIARDINA, A. et al. Long-term and acute effects of zinc contamination of a stream on fish mortality and physiology. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 28, n. 2, p. 287-295, 2009.

GOMES, H. R. Guia para identificação dos Tubarões, Raias e Quimeras do Rio de Janeiro. *Revista Nordestina de Biologia*, v. 27 n1. 2020

GROGAN, E. et al. The Origin and Relationships of Early Chondrichthyans Eileen D. Grogan, Richard Lund, and Emily Greenfest-Allen in: Carrier, J. *Biology of Sharks and Their Relatives*. 2012,

GROSELL, M. Copper homeostasis and toxicity in the elasmobranch *Raja erinacea* and the teleost *Myoxocephalus octodecemspinosus* during exposure to elevated water-borne copper. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 135, n. 2, p. 179-190, 2003.

HADER, D.P. Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: Emerging problems with global implications. *Science of The Total Environment*, 136586.

HATJE, V. et al. Pollutants in the South Atlantic Ocean: sources, knowledge gaps and perspectives for the Decade of Ocean Science. *Frontiers in Marine Science*, v. 8, p. 216, 2021.

HAUSER-DAVIS, R. A. et al. Bile and liver metallothionein behavior in copper-exposed fish. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 28, n. 1, p. 70-74, 2014.

- HAUSER-DAVIS, R.A. et al. Titanium as a contaminant of emerging concern in the aquatic environment and the current knowledge gap regarding seabird contamination *Ornithologia* v.11 n.1 p. 7-15. 2020
- HAUSER-DAVIS, R. A.; DE CAMPOS, R. C.; ZIOLLI, R. L. Fish metalloproteins as biomarkers of environmental contamination. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* Volume 218, p. 101-123, 2012.
- HAUSER-DAVIS, Rachel Ann et al. METAL CONCENTRATIONS AND METALLOTHIONEIN METAL DETOXIFICATION IN BLUE SHARKS, *Prionace glauca* L. FROM THE WESTERN NORTH ATLANTIC OCEAN. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, p. 126813, 2021.
- HEMPSON, T. N. et al. Coral reef mesopredators switch prey, shortening food chains, in response to habitat degradation. *Ecology and Evolution*, v. 7, n. 8, p. 2626-2635. 2017
- HICKS, Christina C. et al. Harnessing global fisheries to tackle micronutrient deficiencies. *Nature*, v. 574, n. 7776, p. 95-98, 2019.
- HOGSTRAND, C.; HAUX, C. Binding and detoxification of heavy metals in lower vertebrates with reference to metallothionein. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, v. 100, n. 1-2, p. 137-141, 1991.
- HUSSEY, N. E. et al. The condition conundrum: application of multiple condition indices to the dusky shark *Carcharhinus obscurus*. *Marine Ecology Progress Series*, v. 380, p. 199-212, 2009.
- INMETRO. Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos: Documento de Caráter Orientativo. DOQ-CGCRE-008. Brasília: Inmetro. 2016.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rj/pesquisa/48/48986?tipo=ranking>> Acesso em: 30/04/2021.
- ISLAM, M.S.; TANAKA, M. Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. *Marine pollution bulletin*, v. 48, n. 7-8, p. 624-649, 2004.
- KING, J. R.; MCFARLANE, G. A. Marine fish life history strategies: applications to fishery management. *Fisheries management and ecology*, v. 10, n. 4, p. 249-264, 2003.
- JAGOE, Charles H.; HAINES, Terry A. Fluctuating asymmetry in fishes inhabiting acidified and unacidified lakes. *Canadian Journal of Zoology*, v. 63, n. 1, p. 130-138, 1985.

JAKIMSKA, A. et al. Bioaccumulation of Metals in Tissues of Marine Animals, Part I: the Role and Impact of Heavy Metals on Organisms. *Polish Journal of Environmental Studies*, v. 20, n. 5, 2011.

JEZIERSKA, Barbara; ŁUGOWSKA, Katarzyna; WITESKA, Małgorzata. The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). *Fish physiology and biochemistry*, v. 35, n. 4, p. 625-640, 2009.

RUELAS-INZUNZA, J. et al. Cadmium, mercury, and selenium in muscle of the scalloped hammerhead *Sphyrna lewini* from the tropical Eastern Pacific: Variation with age, molar ratios and human health risk. *Chemosphere*, v. 242, p. 125180, 2020.

WEIS, Judith S. et al. Effects of contaminants on behavior: biochemical mechanisms and ecological consequences: killifish from a contaminated site are slow to capture prey and escape predators; altered neurotransmitters and thyroid may be responsible for this behavior, which may produce population changes in the fish and their major prey, the grass shrimp. *Bioscience*, v. 51, n. 3, p. 209-217, 2001.

KARAYTUG, S. et al. Effects of copper on hepatosomatic index, gonadosomatic index and condition factor of *Oreochromis niloticus* (L. 1758). *Fresenius Environmental Bulletin*, v. 16, n. 11A, p. 1355, 2007.

KETCHUM J.T. et al. Seasonal changes in movements and habitat preferences of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*) while refuging near an oceanic island. *Marine Biology* v.161, p. 755–767. 2014

KIM, Jin Hee et al. Association of food consumption during pregnancy with mercury and lead levels in cord blood. *Science of the Total Environment*, v. 563, p. 118-124, 2016.

KJERFVE, B. (Ed.). *Coastal marine ecosystems of Latin America*. Springer Science & Business Media, 2013.

LAJUS, Dmitry et al. Fluctuating asymmetry as a pollution monitor: The Australian estuarine smooth toadfish *Tetractenos glaber* (Teleostei: Tetraodontidae). *Marine pollution bulletin*, v. 101, n. 2, p. 758-767, 2015.

LANDRIGAN, P. J. et al. Human health and ocean pollution. *Annals of global health*, v. 86, n. 1, 2020.

LARA, A. et al. Bioaccumulation and trophic transfer of potentially toxic elements in the pelagic thresher shark *Alopias pelagicus* in Baja California Sur, Mexico. *Marine pollution bulletin*, v. 156, p. 111192, 2020.

LAST, P. et al. (Ed.). *Rays of the World*. CSIRO publishing, 2016.

- LEGENDRE, P.; GALLAGHER, E. D. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia*, v. 129, n. 2, p. 271-280, 2001.
- LEI, M. et al. Overview of emerging contaminants and associated human health effects. *BioMed research international*, v. 2015, 2015.
- LEMLY, A. D. Teratogenic effects of selenium in natural populations of freshwater fish. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 26, n. 2, p. 181-204, 1993.
- LEMLY, A. D. Symptoms and implications of selenium toxicity in fish: the Belews Lake case example. *Aquatic Toxicology*, v. 57, n. 1-2, p. 39-49, 2002.
- LEUNG, B.; FORBES, Mark R.; HOULE, David. Fluctuating asymmetry as a bioindicator of stress: comparing efficacy of analyses involving multiple traits. *The American Naturalist*, v. 155, n. 1, p. 101-115, 2000.
- LLORCA, M. et al. Review of emerging contaminants in aquatic biota from Latin America: 2002–2016. *Environmental toxicology and chemistry*, v. 36, n. 7, p. 1716-1727, 2017.
- LOPES, C. A., et al. Toxic and essential metals in *Narcine brasiliensis* (Elasmobranchii: Narcinidae): A baseline ecotoxicological study in the Southeast Atlantic and preliminary maternal transfer implications. *Marine Pollution Bulletin*, v.149, 110606. 2019.
- LOPEZ, S. A.; ABARCA, N. L.; MELÉNDEZ, R. C. Heavy metal concentrations of two highly migratory sharks (*Prionace glauca* and *Isurus oxyrinchus*) in the southeastern Pacific waters: comments on public health and conservation. *Tropical Conservation Science*, v. 6, n. 1, p. 126-137, 2013.
- LOSKA, K.; WIECHUŁA, D. Application of principal component analysis for the estimation of source of heavy metal contamination in surface sediments from the Rybnik Reservoir. *Chemosphere*, v. 51, n. 8, p. 723-733, 2003.
- LUCCHINI, R.G. et al. Neurotoxicity of manganese: Indications for future research and public health intervention from the Manganese 2016 conference. 2018.
- LYONS, K. et al. Species-specific characteristics influence contaminant accumulation trajectories and signatures across ontogeny in three pelagic shark species. *Environmental science & technology*, v. 53, n. 12, p. 6997-7006, 2019.
- LYONS, K.; ADAMS, D. H.; BIZZARRO, J. J. Evaluation of muscle tissue as a non-lethal proxy for liver and brain organic contaminant loads in an elasmobranch, the Bonnethead Shark (*Sphyrna tiburo*). *Marine Pollution Bulletin*, v. 167, p. 112327, 2021.

- MAES, T. et al. You Are What You Eat, Microplastics in Porbeagle Sharks From the North East Atlantic: Method Development and Analysis in Spiral Valve Content and Tissue. *Frontiers in Marine Science*, v. 7, p. 273, 2020.
- MARTINS, Mariana F.; COSTA, Patrícia G.; BIANCHINI, Adalto. Maternal transfer of polycyclic aromatic hydrocarbons in an endangered elasmobranch, the Brazilian guitarfish. *Chemosphere*, v. 263, p. 128275, 2021.
- McCLENACHAN, L., COOPER, A. B., & DULVY, N. K. Rethinking Trade-Driven Extinction Risk in Marine and Terrestrial Megafauna. *Current Biology*, v.26 n.12, p. 1640–1646. 2016.
- MCNEIL M.A., et al. Global status and conservation potential of reef sharks *Nature* volume 583, p 801–806. 2020.
- MERLY, L. et al. Blood plasma levels of heavy metals and trace elements in white sharks (*Carcharodon carcharias*) and potential health consequences. *Marine pollution bulletin*, v. 142, p. 85-92, 2019.
- MONTE, C. N. et al. Metal bioavailability in contaminated estuarine sediments from a highly-impacted tropical bay. *Revista Virtual de Química*, v. 9, p. 2007-2016, 2017.
- MOBARAK, Y. Review of the developmental toxicity and teratogenicity of three environmental contaminants (cadmium, lead and mercury). *Catrina: The International Journal of Environmental Sciences*, v. 3, n. 1, p. 31-43, 2008.
- MORRIS, Thomas et al. Shark parasites as bio-indicators of metals in two South African embayments. *Marine pollution bulletin*, v. 104, n. 1-2, p. 221-228, 2016.
- MULL, Christopher G. et al. Evidence of maternal offloading of organic contaminants in white sharks (*Carcharodon carcharias*). *PloS one*, v. 8, n. 4, p. e62886, 2013.
- NAVIA, A. F. et al. How many trophic roles can elasmobranchs play in a marine tropical network? *Marine and Freshwater Research*, v. 68, n. 7, p. 1342-1353. 2017.
- NAYLOR, G. Elasmobranch Phylogeny: A Mitochondrial Estimate Based on 595 Species Gavin J.P. Naylor, Janine N. Caira, Kirsten Jensen, Kerri A.M. Rosana, Nicolas Straube, and Clemens Lakner in: Carrier. CARRIER, (Ed.). *Biology of sharks and their relatives*. CRC press, 2012.
- NAYLOR, G. Disponível em < [www.sharksandrays.org](http://www.sharksandrays.org) > Acesso: 26/03/2021
- NELSON, Joseph S.; GRANDE, Terry C.; WILSON, Mark VH. *Fishes of the World*. John Wiley & Sons, 2016.
- NETO, J.B.G. et al. A sleeping giant: the historically neglected Brazilian fishing sector. *Ocean & Coastal Management*, v. 209, p. 105699, 2021.

- ORO, E.B. & MARANTA, A. Regimen alimenário estacional de *Sympterigia bonapartei*, Müller y Henle 1841 (Pisces: Rajidae) em Mar del Plata. Boletim do Laboratório de Hidrobiologia de São Luís, v.9 p.33-53. 1996.
- PACOUREAU, N. et al. Half a century of global decline in oceanic sharks and rays. *Nature*, v. 589, n. 7843, p. 567-571, 2021.
- PALMER, A. R.; STROBECK, C. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns. *Annual review of Ecology and Systematics*, v. 17, n. 1, p. 391-421, 1986.
- PAVAN-KUMAR, A. et al. Molecular phylogeny of elasmobranchs. In: *DNA Barcoding and Molecular Phylogeny*. Springer, Cham, p. 137-151 2020.
- PEREIRA, L. S.; AGOSTINHO, A. A.; DELARIVA, R. L. Effects of river damming in Neotropical piscivorous and omnivorous fish: feeding, body condition and abundances. *Neotropical Ichthyology*, v. 14, 2016.
- PIMENTA, E. G. et al. Analysis of small-size fleet fishery based in Cabo Frio city, Rio de Janeiro-Brazil (2003-2012). *Collect. Vol. Sci. Pap. ICCAT*, v. 70, n. 6, p. 2856-2867, 2014.
- PMAP 2020. Relatório técnico consolidado final – RTF. Volume 1. Monitoramento da Atividade Pesqueira. Disponível em: <<http://pescarj.fundepag.br/api/uploader/8ba38460-48b6-41ee-88db-88277742fbfd.pdf>> Acesso em: 30/04/2021
- POWELL, J. H.; POWELL, R. E.; FIELDER, D. R. Trace element concentrations in tropical marine fish at Bougainville Island, Papua New Guinea. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 16, n. 2, p. 143-158, 1981.
- RATTNER, B. A. History of wildlife toxicology. *Ecotoxicology*, v.18 n.7, p.773–783. 2009
- RIGBY, C.L. et al. 2019a. *Sphyrna lewini*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T39385A2918526.
- RIGBY, C.L. et al. 2019b *Sphyrna mokarran*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T39386A2920499.
- RIGBY, C.L. et al. 2019c *Sphyrna zygaena*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T39388A2921825.
- ROESIJADI, G. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquatic toxicology*, v. 22, n. 2, p. 81-113, 1992.
- ROSSI-SANTOS, M. R.; FINKL, Charles W. *Advances in Marine Vertebrate Research in Latin America*. Springer, 2018.
- RStudio Team. *RStudio: Integrated Development Environment for R*. RStudio, PBC, Boston, MA. 2021.

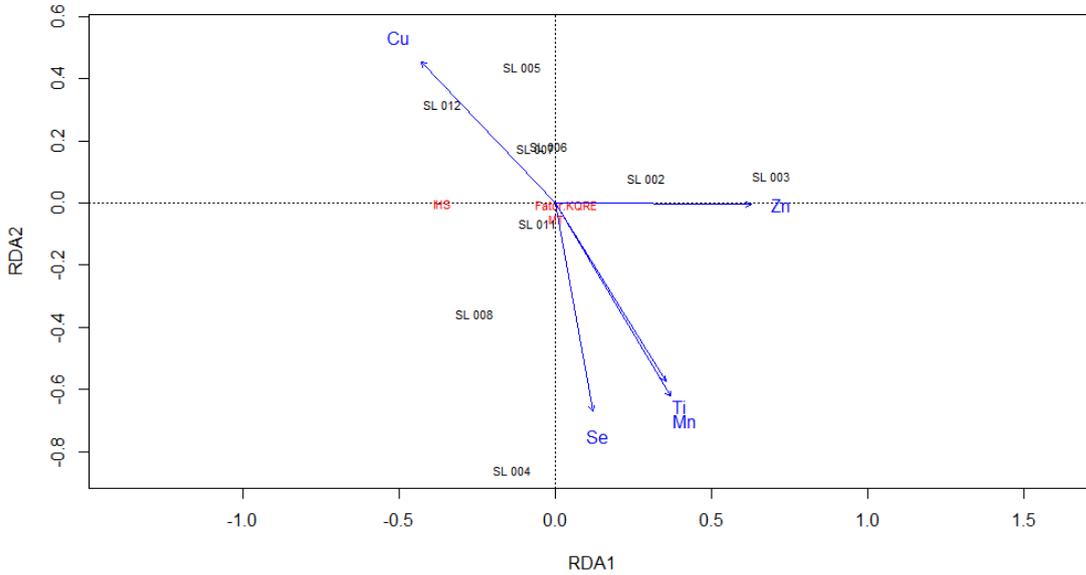
- RUELAS-INZUNZA, J.; PAEZ-OSUNA, F. Essential and toxic metals in nine fish species for human consumption from two coastal lagoons in the Eastern Gulf of California. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, v. 42, n. 10, p. 1411-1416, 2007.
- RUMBOLD, D. et al. Mercury accumulation in sharks from the coastal waters of southwest Florida. *Archives of environmental contamination and toxicology*, v. 67, n. 3, p. 402-412, 2014.
- SAARISTO, M. et al. Direct and indirect effects of chemical contaminants on the behavior, ecology, and evolution of wildlife. *Proceedings of the Royal Society B*, v. 285, n. 1885, p. 20181297, 2018.
- SAMUEL, M. S. et al. A state of the art review on characterization of heavy metal binding metallothioneins proteins and their widespread applications. *Science of the Total Environment*, p. 145829, 2021.
- SÁNCHEZ-CHARDI, A.; GARCÍA-PANDO, M.; LÓPEZ-FUSTER, M.J. Chronic exposure to environmental stressors induces fluctuating asymmetry in shrews inhabiting protected Mediterranean sites. *Chemosphere*, v. 93, n. 6, p. 916-923. 2013.
- AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS 2020. Disponível em <https://dadosabertos.ana.gov.br/>  
Acesso em 05/05/2021
- SANDSTEAD, H. H. Zinc. *Handbook on the Toxicology of Metals*, 1369–1385. 2015
- SANSEVERINO, A. M.; MESSIMIAN, J. L. Assimetria flutuante em organismos aquáticos e sua aplicação para avaliação de impactos ambientais. *Oecologia Brasiliensis*, v. 12, n. 3, p. 4. 2008
- SAUVÉ S.; DESROSIERS, M. A. Review of what is an emerging contaminant. *Chemistry Central Journal* 8, 15 2014.
- SEIXAS, Luana Barbosa; DOS SANTOS, Alejandra Filippo Gonzalez Neves; DOS SANTOS, Luciano Neves. Fluctuating asymmetry: A tool for impact assessment on fish populations in a tropical polluted bay, Brazil. *Ecological Indicators*, v. 71, p. 522-532, 2016.
- SEIXAS, L. B.; CONTE-JUNIOR, C. A.; DOS SANTOS, A. F. G. N. How much fluctuating asymmetry in fish is affected by mercury concentration in the Guanabara Bay, Brazil? *Environmental Science and Pollution Research*, v. 28, n. 9, p. 11183-11194, 2021.
- SHIPLEY, Oliver N. et al. Metal concentrations in coastal sharks from The Bahamas with a focus on the Caribbean Reef shark. *Scientific reports*, v. 11, n. 1, p. 1-11, 2021.
- SILVA JUNIOR, L. C.; ANDRADE, A. C.; VIANNA, M. Caracterização de uma pescaria de pequena escala em uma área de importância ecológica para elasmobrânquios, no Recreio dos Bandeirantes, Rio de Janeiro. *Arquivo de Ciências do Mar. Fortaleza*, v.41 n. 2, p. 47-57, 2008.

- SKOMAL, Gregory B.; MANDELMAN, John W. The physiological response to anthropogenic stressors in marine elasmobranch fishes: a review with a focus on the secondary response. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 162, n. 2, p. 146-155, 2012.
- SOARES-GOMES, A. et al. An environmental overview of Guanabara Bay, Rio de Janeiro. *Regional Studies in Marine Science* V.8, parte 2, p. 319-330. 2016
- SOUZA-ARAÚJO, J. et al. The consumption of shark meat in the Amazon region and its implications for human health and the marine ecosystem. *Chemosphere*, v. 265, p. 129132. 2021
- STEVENSON, R. D.; WOODS JR, William A. Condition indices for conservation: new uses for evolving tools. *Integrative and comparative biology*, v. 46, n. 6, p. 1169-1190, 2006.
- STORELLI, M. M. et al. Polychlorinated biphenyl, heavy metal and methylmercury residues in hammerhead sharks: contaminant status and assessment. *Marine Pollution Bulletin*, v. 46, n. 8, p. 1035-1039, 2003.
- STORELLI, M.M.; CUTTONE, G.; MARCOTRIGIANO, G. O. Distribution of trace elements in the tissues of smooth hound *Mustelus mustelus* (Linnaeus, 1758) from the southern–eastern waters of Mediterranean Sea (Italy). *Environmental monitoring and assessment*, v. 174, n. 1, p. 271-281, 2011.
- SUBRAMANIAN, A. N. et al. Reduction in the testosterone levels by PCBs and DDE in Dall's porpoises of northwestern North Pacific. *Marine Pollution Bulletin*, v. 18, n. 12, p. 643-646, 1987.
- SUN, T. et al. Evaluation on the biomagnification or biodilution of trace metals in global marine food webs by meta-analysis. *Environmental Pollution*, v. 264, p. 113856, 2020.
- TERRAZAS-LÓPEZ, R. et al. Cadmium concentration in liver and muscle of silky shark (*Carcharhinus falciformis*) in the tip of Baja California south, México. *Marine Pollution Bulletin*, v. 107, n. 1, p. 389-392, 2016.
- UNESCO (2020). Facts and figures on marine pollution. Disponível em: <<http://www.unesco.org/new/en/natural-sciences/ioc-oceans/focus-areas/rio20-ocean/blueprint-for-the-future-we-want/marine-pollution/facts-andfigures-on-marine-pollution>> Acesso em:16/07/2021.
- VAN VALEN, L. A study of fluctuating asymmetry. *Evolution*, p. 125-142, 1962.
- VAZZOLER, A. E. A. M. et al. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá: Eduem, v. 169, 1996.

- VIARENGO, A.; PONZANO, E.; DONDERO, F.; FABBIR, R. A simple application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Marine Environmental Research*, v. 44, p. 69 - 84, 1997
- VOOREN, C. M.; KLIPPEL, S.; GALINA, A. B. Biologia e status conservação dos tubarões-martelo *Sphyrna lewini* e *S. zygaena*. *Ações Para a Conservação de Tubarões E Raias No Sul Do Brazil*, p. 97-112, 2005.
- WALKER, C.J. et al. Evaluation of the use of metallothionein as a biomarker for detecting physiological responses to mercury exposure in the bonnethead, *Sphyrna tiburo*. *Fish physiology and biochemistry*, v. 40, n. 5, p. 1361-1371, 2014.
- WARD-PAIGE, C. A. et al. Characterizing and predicting essential habitat features for juvenile coastal sharks. *Marine Ecology*, v. 36, n. 3, p. 419-431, 2015.
- WEIGMANN, S. Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity. *Journal of Fish Biology*, v. 88, n. 3, p. 837-1037, 2017.
- WHEELER, C. R. et al. Anthropogenic stressors influence reproduction and development in elasmobranch fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, v. 30, p. 373-386, 2020.
- WINDOM, H. et al. Arsenic, cadmium, copper, mercury, and zinc in some species of North Atlantic finfish. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, v. 30, n. 2, p. 275-279, 1973.
- WOSNICK, N. et al. Negative metal bioaccumulation impacts on systemic shark health and homeostatic balance. *Marine Pollution Bulletin*, v. 168, p. 112398, 2021.
- YOUNG, N. C. Effect of mercury concentration on asymmetry in fish skulls. 2004. Tese de Doutorado.
- YUN-RU, J. et al. Profile and consumption risk assessment of trace elements in megamouth sharks (*Megachasma pelagios*) captured from the Pacific Ocean to the east of Taiwan. *Environmental Pollution*, v. 269, p. 116161, 2021.
- ZHENG, N., The Toxicological Effects of Mercury Exposure in Marine Fish. *Bull Environ Contam Toxicol* v.102, p.714–720. 2019.
- ZHOU, Hailong et al. Ecotoxicology: the history and present direction. *Encyclopedia of Ecology*, v. 2, p. 1-9, 2018.

## APÊNDICE – Análises de Redundância não significativas

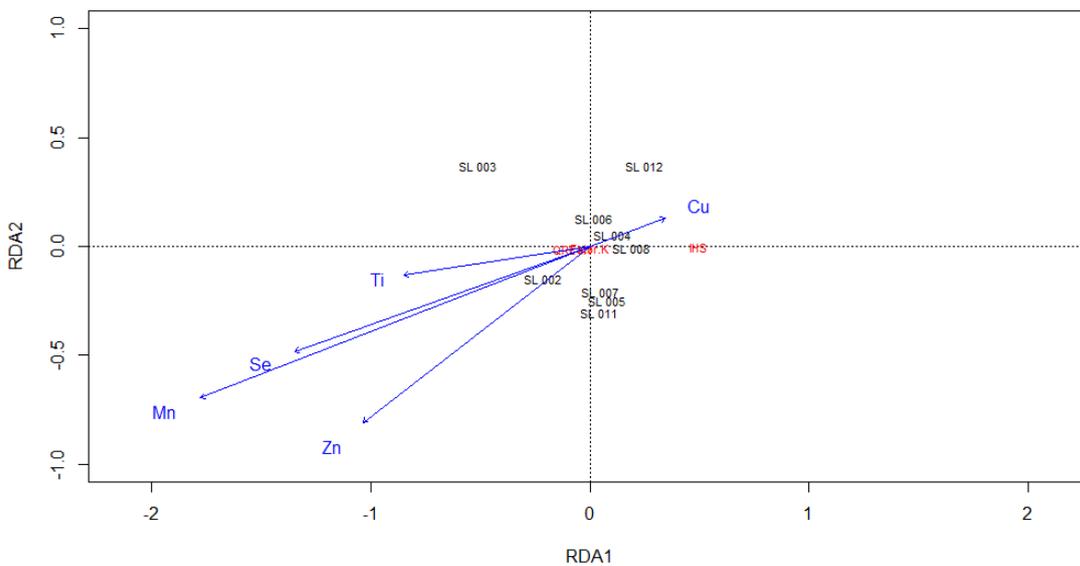
Figura. Análise de redundância entre concentrações de metais no fígado e índices organossomáticos.



Fonte: A AUTORA (2021).

Legenda: IHS – índice hepatossomático; Fator K – fator de condição; QRE – quociente de repleção estomacal

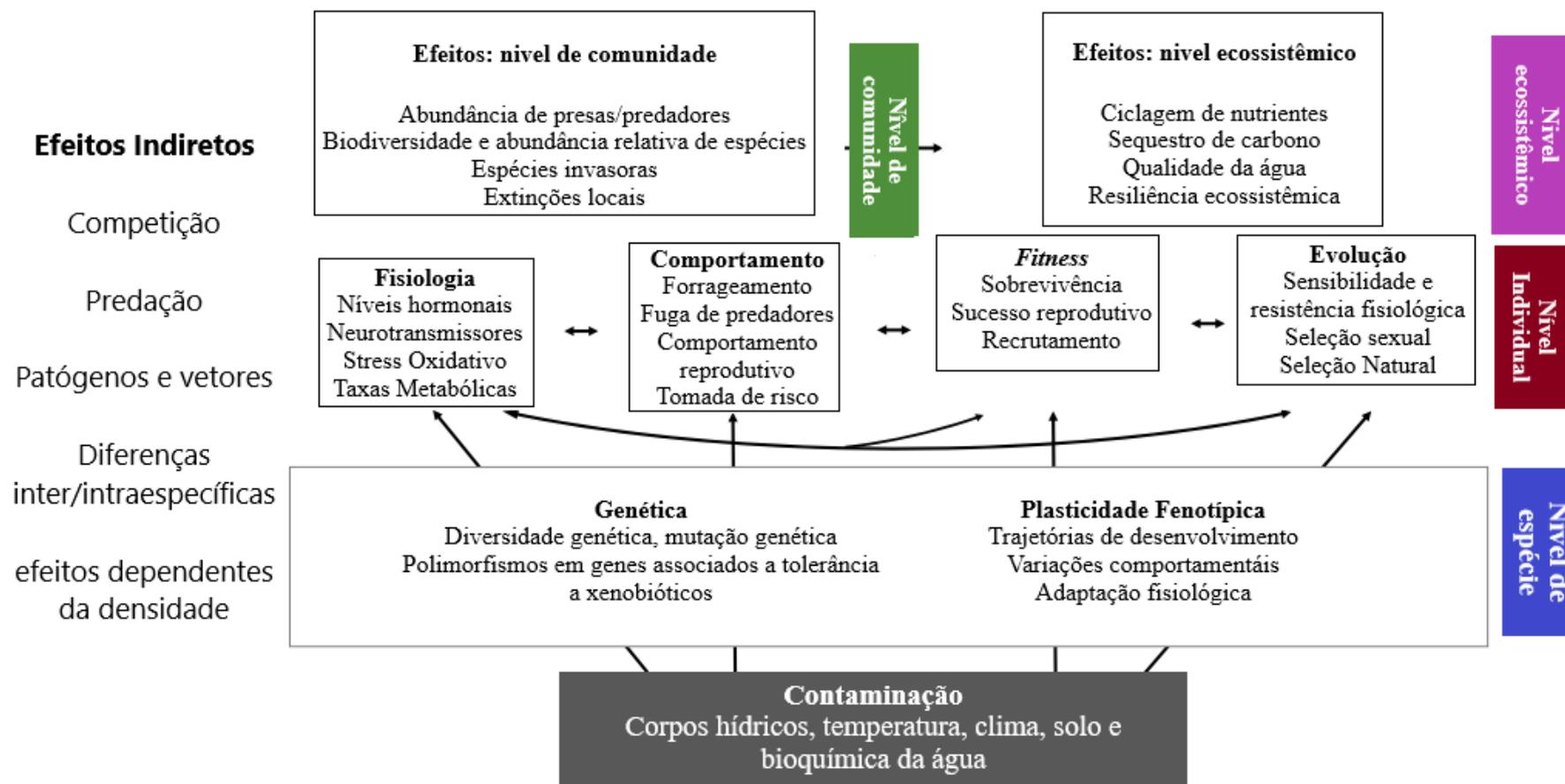
Figura. Análise de redundância entre concentrações de metais no rim e índices organossomáticos.



Fonte: A AUTORA, 2021.

Legenda: IHS – índice hepatossomático; Fator K – fator de condição; QRE – quociente de repleção estomacal

**ANEXO** – Abordagens sugeridas por Saaristo et al. (2018) para compreensão dos efeitos holísticos da contaminação química em diversos compartimentos biológicos.



Fonte: Adaptado de Saaristo et al. (2018)