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

Nara de Oliveira Ferreira

Bioacumulação de poluentes orgânicos persistentes em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, das regiões sudeste e sul do Brasil

Rio de Janeiro
2020

Nara de Oliveira Ferreira

Bioacumulação de poluentes orgânicos persistentes em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, das regiões sudeste e sul do Brasil

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

Orientador: Prof. Dr. José Lailson Brito Junior

Rio de Janeiro

2020

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

F383 Ferreira, Nara de Oliveira.
Bioacumulação de poluentes orgânicos persistentes em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, das regiões sudeste e sul do Brasil/ Nara de Oliveira Ferreira – 2020.
90 f. : il.

Orientador: José Lailson Brito Junior.
Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

1. Golfinho – Brasil - Teses. 2. Bioacumulação - Teses. 3. Toxicidade – Teses. 4. Compostos organoclorados - Teses. I. Brito Junior, José Lailson. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes. III. Título.

CDU 599.53(815.3)

Patrícia Bello Meijinhos – CRB7- 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

Nara de Oliveira Ferreira

Bioacumulação de poluentes orgânicos persistentes em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, das regiões sudeste e sul do Brasil

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

Aprovada em 19 de fevereiro de 2020.

Banca Examinadora:

_____

Prof. Dr. José Lailson Brito Junior (Orientador)

Faculdade de Oceanografia - UERJ

_____

Prof[a] Dra. Tatiana Lemos Bisi

Faculdade de Oceanografia - UERJ

_____

Prof. Dr. Rodrigo Ornellas Meire

Universidade Federal do Rio de Janeiro

_____

Prof. Dr. Alexandre de Freitas Azevedo

Faculdade de Oceanografia - UERJ

_____

Prof. Dr. Cristiano Valentim da Silva Lazoski

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2020

DEDICATÓRIA

Aos meus afilhados e sobrinhos, Pedro, Miguel, Daniela, Bianca, Carolina, Henrique, Liz, Ben, Beatriz, Julia, Luísa, Maria Flor e Bento, que são risada, leveza e amor. Vocês carregam a responsabilidade de deixar o mundo um lugar melhor do que o encontraram. Sejam resilientes nesta missão.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Lailson Brito, pela oportunidade de realizar essa pesquisa e por confiar no meu trabalho. Agradeço pelas aulas (de ecotox e de vida), discussões científicas e pelos puxões de orelha, sempre na medida certa. Admiro muito o seu trabalho, a sua responsabilidade com os mamíferos marinhos. Aprendi muito com você nesses dois anos de mestrado. Obrigada por todas as oportunidades no MAQUA! Cresci e amadureci muito como pessoa e profissional!

Aos Professores José Lailson Brito, Alexandre Azevedo, Tatiana Bisi e Haydée Cunha, por proporcionarem toda a estrutura que temos no MAQUA de realizar pesquisa de qualidade, até nos momentos mais sombrios pelos quais a pesquisa no Brasil passa nesse momento. Obrigada também por compartilharem o conhecimento de vocês, por serem sempre solícitos e receberem bem os pedidos de compra de litros e litros de hexano!

Aos Drs. Camila Domit, Eduardo Secchi e Silvina Botta, dos laboratórios parceiros LEC-UFPR e ECOMEGA-FURG, pelas amostras cedidas do Paraná e Rio Grande do Sul para realização deste trabalho!

Aos meus pais, Alda e Touchê, pelo apoio incondicional e total confiança no caminho que eu escolhi trilhar. Sem vocês, a vida teria sido muito mais difícil e muito menos divertida. Vocês são espelho e eu não poderia pedir por mais!

À minha irmã, Mila, meu maior amor, obrigada pela ajuda quando o bicho pega, pelos hambúrgueres na TPM, por me escutar falando sem parar sobre os "Stenos" e sempre fingir interesse e por dançar comigo em frente à televisão aos fins de semana para espantar o estresse. *Éternité*.

À minha família, primos, primas, tios, tias, afilhados, sobrinhos e sobrinhas. Dei sorte de ter uma família unida que sempre me apoiou e impulsionou. Me faltam palavras para descrever a importância de todos vocês na minha vida. Nossa união tem um valor imensurável. Que sigamos juntos.

À toda equipe do MAQUA. Um agradecimento especial aos amigos Neto e Bárbara. Obrigada por terem me ensinado tanto e com tanta paciência. Dividir meus dias com vocês (e o cuidado com o MS) torna a rotina mais leve e o trabalho mais gratificante ainda. A paixão de vocês pelo que fazem é de se admirar! Espero que nossa relação de cumplicidade no trabalho e na vida perdure! Mil vezes obrigada! Samara, Fernanda, Lucas e Larissa, que me ajudaram com a vidraria em troca de chocolate e são responsáveis por grande parte das

minhas gargalhadas diárias. Obrigada por aturarem todas as minhas personalidades diariamente (inclusive fora do horário de trabalho)! Carlinhos, pelas caronas faça chuva ou faça sol, e por me alimentar! Rafael e Kadu, obrigada pela ajuda com os mapas! Emi e Neto (novamente) obrigada pela ajuda com as idades! Carlos, Carol e Luísa pela sexagem molecular! Juliana, pelo transporte das amostras vindas da FURG! E às equipes do TAC e PMP e todos envolvidos nos recolhimentos de carcaças, necropsias e biopsias!

Às amigas Chaian, Carol Chamon, Karine, Alice, Carol Romão, Alessandra, Ana e Andressa, pelo apoio de sempre, desde sempre. Obrigada também pela paciência e por compreenderem os momentos de ausência e cansaço dos últimos tempos.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução.

À secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução e aos professores do PPGEE-UERJ por toda ajuda e por todo conhecimento passado.

Ao universo, por sempre me dar muito mais motivos para agradecer do que para pedir!

Just like moons and like suns,
With the certainty of the tides,
Just like hopes springing high,
Still I'll rise

Maya Angelou

RESUMO

FERREIRA, Nara de Oliveira. *Bioacumulação de poluentes orgânicos persistentes em golfinhos-de-dentes-rugosos*, Steno bredanensis*, das regiões sudeste e sul do Brasil.* 2020. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

Os poluentes orgânicos persistentes (POPs) apresentam determinadas propriedades físico-químicas que garantem sua persistência no ambiente. Assim, bioacumulam na biota marinha e biomagnificam ao longo das teias tróficas atingindo altas concentrações em cetáceos. Em geral, populações costeiras de cetáceos encontram-se mais susceptíveis aos micropoluentes. Apesar de serem frequentemente classificados como oceânicos, os golfinhos-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) do litoral brasileiro apresentam hábito costeiro. Dessa forma, este estudo visou determinar as concentrações de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos coletados nas regiões sudeste e sul do Brasil, identificar possíveis diferenças no perfil bioacumulativo de POPs entre as populações e determinar a influência dos parâmetros biológicos na bioacumulação de POPs. Foi obtido tecido adiposo subcutâneo de indivíduos encontrados encalhados ou capturados incidentalmente, e biópsias remotas nos estados do Rio de Janeiro (RJ) (n= 19), Paraná (PR) (n= 2), Rio Grande do Sul (RS) (n= 2) e na plataforma continental externa do RS (PCE/RS) (n= 5). Além disso, foram obtidos dados biológicos destes indivíduos. Ao todo foram analisados 28 congêneres de PCBs (∑PCB), o *p.p'*-DDT e seus metabólitos *p.p'*-DDE e *p.p'*-DDD (∑DDT), mirex, HCB e os isômeros α-, β-, γ-HCH (∑HCH). As amostras passaram por extração orgânica via soxhlet, seguida de purificação ácida e purificação em coluna de alumina neutra. As análises foram realizadas em cromatógrafo de fase gasosa acoplado a um espectrômetro de massas, em modo de impacto de elétron. O ∑PCB predominou no perfil de acumulação das quatro áreas de estudo, seguido pelo ∑DDT, mirex, HCB e ∑HCH. As concentrações foram expressas em $\mu g.g^{-1}$peso lipídico ($\mu g.g^{-1}$lip.). A concentração mediana de ∑PCB foi 171. 2 no RJ, 153.3 no PR, 48.7 no RS e 188.5 na PCE/RS. O ∑DDT foi 25.2 no RJ, 100.9 no PR, 18.6 no RS e 16.3 na PCE/RS. Para o mirex, 1.8 no RJ, 4.8 no PR, 2.3 no RS e 1.6 na PCE/RS. E o HCB, 0.1 no RJ, 0.2 no PR, 0.3 no RS e na PCE, RS não foi detectado. O ∑HCH só foi detectado em dois indivíduos. As concentrações de ∑PCB em todas as áreas de estudo encontram-se acima da concentração-limite de 40 $\mu g.g^{-1}$lip. sugerida de efeito nos sistemas endócrino e imunológico de mamíferos marinhos. O *p.p'*-DDE predominou no ∑DDT, indicando contaminação histórica por DDT no litoral brasileiro. A razão ∑DDT/∑PCB indica predominância de atividade industrial e/ou adensamento populacional intenso sobre atividade agrícola. Houve separação da população costeira e da população da plataforma continental externa. Ademais, foi observada influência de parâmetros biológicos na bioacumulação de POPs como sexo, maturidade sexual e idade. Em geral, machos adultos apresentam concentrações de POPs superiores as fêmeas maturas e aos imaturos e são reflexo do acúmulo destes ao longo de suas vidas. Já as fêmeas transferem parte de sua carga de contaminantes para fetos e filhotes através da placenta e do leite. As concentrações encontradas no presente trabalho são as maiores já reportadas para a espécie e para outros delfinídeos da costa brasileira, sendo comparadas apenas às orcas (*Orcinus orca*), que atualmente beiram o colapso populacional associado às altas concentrações de PCBs.

Palavras-chave: Golfinhos-de-dentes-rugosos. Compostos organoclorados. PCB. DDT. Mirex. HCB. HCH. Atlântico Sul.

ABSTRACT

FERREIRA, Nara de Oliveira *Bioaccumulation of persistent organic pollutants in the rough-toothed dolphin,* Steno bredanensis*, from south and southeastern regions of Brasil.* 2020. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

Persistent organic pollutants (POPs) present a specific set of physical-chemical properties that guarantees their persistence in the environment. They can bioaccumulate in marine biota and undergo biomagnification in trophic webs, reaching high concentrations in apex predators. Usually, cetaceans' coastal populations tend to be more susceptible to these micropollutants and despite being considered an oceanic species, the rough-toothed dolphin (*Steno bredanensis*) inhabits the Brazilian coast. Therefore, this study aimed to access POPs concentrations in rough-toothed dolphins from south and southeastern regions of Brazil, as well as identify possible differences in bioaccumulation profile between the study sites and determine the influence of biological parameters in the bioaccumulation pattern of POPs in this species. Blubber of stranded or incidentally caught individuals and remote biopsies were collected in the states of Rio de Janeiro (RJ) (n= 19), Paraná (PR) (n= 2), Rio Grande do Sul (RS) (n=2) and at the continental shelf of RS (PCE/RS) (n= 5). Analyses of 28 PCB congeners (∑PCB), *p.p'*-DDT and its metabolites *p.p'*-DDE e *p.p'*-DDD (∑DDT), mirex, HCB and α-, β-, γ-HCH isomers (∑HCH) were performed. Tissue samples underwent organic extraction, followed by acidic clean up and elution in aluminum oxide column. Organochlorine compounds were analyzed in a gas chromatographer coupled to a mass spectrometer in electron impact mode. ∑PCB was predominant in the rough-toothed dolphin contamination profile, followed by ∑DDT, mirex, HCB and HCH. Median concentrations are expressed in $\mu g.g^{-1}$lipid weight ($\mu g.g^{-1}$lip.). ∑PCB was found at 171. 2 in RJ, 153.3 in PR, 48.7 in RS and 188.5 at PCE/RS. ∑DDT was 25.2 in RJ, 100.9 in PR, 18.6 in RS and 16.3 at PCE/RS. Mirex was 1.8 in RJ, 4.8 in PR, 2.3 in RS and 1.6 at PCE/RS. And HCB was 0.1 in RJ, 0.2 in PR, 0.3 in RS and was not detected at the PCE/RS. ∑HCH was only detected in two individuals. Median concentrations of ∑PCB in all study sites were beyond the 40 $\mu g.g^{-1}$lip. limit proposed to start effects in endocrine and immune systems. *p.p'*-DDE was the main form in the ∑DDT suggesting historical contamination by DDT in the Brazilian coast. ∑DDT/∑PCB ratio show a predominance of industrial activities and increased population density over agricultural activities. Coastal and continental shelf populations of rough-toothed dolphins were distinguished based on differences in the bioaccumulation profile of POPs. Moreover, biological parameters such as sex, sexual maturity and age showed influence in the bioaccumulation pattern of POPs in rough-toothed dolphins. Adult males presented higher concentrations of POPs than immatures and adult females, due to long-term accumulation whereas adult females transfer part of their pollutants' load to the offspring. POPs concentrations presented in this study are the highest ever reported for this species all over the world as well as for other species of delphinids from Brazilian coast. The orders of magnitude of POPs in this study are comparable to those of killer whales (*Orcinus orca*) which are currently on population collapse due to high concentrations of PCBs.

Keywords: Rough-toothed dolphin. Organochlorine compounds. PCB. DDT. Mirex. HCB. HCH. Southwestern Atlantic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Características diagnósticas do golfinho-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*.....	20
Figura 2 –	Mapa de distribuição global do golfinho-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*.....	21
Figura 3 –	O golfinho-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, na costa do estado do Rio de Janeiro, Brasil.....	22
Figura 4 –	Estrutura química do composto PCB153, com 6 átomos de cloro em sua estrutura…….....	25
Figura 5 –	Estrutura química dos compostos diclorodifeniltricloroetano (DDT), diclorodifenildicloroetano (DDD) e diclorodifenildicloroetileno (DDE)	27
Figura 6 –	Estrutura química do Mirex……	28
Figura 7 –	Estrutura química do hexaclorobenzeno (HCB).....	29
Figura 8 –	Estrutura química do hexaclorociclohexano (HCH).....	30
Figura 9 –	Mapa mostra as áreas de estudo nas regiões sudeste e sul do Brasil, os estados do Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul.....	34
Figura 10 –	Mapa mostra os pontos de coleta de golfinhos-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) nas regiões sudeste e sul do Brasil.....	35
Figura 11 –	Imagem mostra corte histológico de um dente de golfinho-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, (Sb #18) corado em hematoxilina de Mayer, para contagem de GLGs, com idade estimada em 18 anos.....	38
Figura 12 –	Perfil geral de contaminação por ΣPCB, ΣDDT, Mirex, HCB e ΣHCH em golfinhos-de-dentes-rugosos coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na plataforma continental externa do Rio Grande do Sul entre os anos de 2013 e 2019.....	46
Figura 13 –	Concentrações medianas de ΣPCB, expressas em $\mu g.g^{-1}$ lip., em golfinhos-de-dentes-rugosos coletados nos estados do Rio de	

	Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na plataforma continental externa do Rio Grande do Sul entre os anos de 2013 e 2019.....	50
Figura 14 –	Perfil de congêneres de PCBs em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na plataforma continental externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019…….....	51
Figura 15 –	Perfil de PCBs por grau de cloração em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na plataforma continental externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019…..	51
Figura 16 –	Perfil de ΣDDT em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na plataforma continental externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.....	53
Figura 17 –	Representação gráfica das variáveis canônicas para os golfinhos-de-dentes-rugosos coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e plataforma continental externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019….....	56
Figura 18 –	Concentração de ΣPCB, expressa em µg.g-1 lip., em indivíduos imaturos, fêmeas maturas e machos maturos de golfinhos-de-dentes-rugosos coletados no estado do Rio de Janeiro, entre os anos de 2013 e 2019.....	58
Figura 19 –	Correlações negativas entre as concentrações de PCB (PCB 28, PCB 97 e PCB 141), expressas em µg.g^{-1}lip., e a idade de golfinhos-de-dentes-rugosos imaturos e fêmeas maturas.....	60
Figura 20 –	Correlações positivas entre as concentrações de ∑PCB, ∑DDT e mirex, expressas em µg.g^{-1}lip., e a idade de golfinhos-de-dentes-rugosos imaturos e fêmeas maturas.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Golfinhos-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) coletados entre os anos de 2013 e 2019, na costa dos estados do Rio de Janeiro (n=19), Paraná (n=2) e Rio Grande do Sul (n=2) e na face externa da plataforma continental no Rio Grande do Sul (n=5), Brasil.....	37
Tabela 2 –	Íons específicos monitorados no método SIM na determinação de compostos organoclorados em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*.....	42
Tabela 3 –	Limites de detecção dos compostos organoclorados, expressos em $\mu g.mL^{-1}$.....	43
Tabela 4 –	Limites de quantificação dos compostos organoclorados, expressos em $\mu g.g^{-1}$ peso lipídico.....	44
Tabela 5 –	Dados biológicos e concentrações de ΣPCB, ΣDDT, Mirex, HCB e ΣHCH, expressas em $\mu g.g^{-1}$ peso lipídico, em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul entre os anos de 2013 e 2019.....	47
Tabela 6 –	Razão entre PCBs com menor grau de cloração (3 e 4 átomos de cloro) e com maior grau de cloração (5, 6, 7, 8 e 9 átomos de cloro) em golfinhos-de-dentes-rugosos, Steno bredanensis, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na Plataforma Continental Externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.....	52
Tabela 7 –	Razão entre *p.p'*-DDE e o ∑DDT em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na Plataforma Continental Externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.....	53
Tabela 8 –	Razão entre o ∑DDT e o ∑PCB em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de	

	Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na Plataforma Continental Externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.....	54
Tabela 9 –	Valores de F, a distância de Mahalanobis D^2 e os valores de p obtidos a partir da análise de função discriminante em golfinhos-de-dentes-rugosos coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e plataforma continental externa no Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.....	55
Tabela 10 –	Valores de H e p do teste de Kruskal-Wallis indicando as diferenças nas concentrações de POPs entre indivíduos imaturos, fêmeas maturas e machos maturos de golfinhos-de-dentes-rugosos, Steno bredanensis, coletados entre 2013 e 2019 no estado do Rio de Janeiro.....	57
Tabela 11 –	Valores de r e p da correlação de Spearman entre a idade e as concentrações de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos, Steno bredanensis, coletados entre 2013 e 2019 no estado do Rio de Janeiro.....	59
Tabela 12 –	Revisão bibliográfica referente às concentrações de ΣPCB, ΣDDT, ΣHCH, HCB e Mirex analisados em tecido adiposo subcutâneo de golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, no mundo.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACAS	Água Central do Atlântico Sul
ASTDR	*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*
CB	Corrente do Brasil
CM/F	Corrente das Malvinas/Falklands
DDD	Diclorodifenildicloroetano
DDE	Diclorodifenildicloroetileno
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
ECOMEGA	Laboratório de Ecologia e Conservação da Megafauna Marinha
EUA	Estados Unidos da América
FURG	Universidade Federal do Rio Grande
GD	Graus decimais
GLGs	*Growth Layer Groups*
HCB	Hexaclorobenzeno
HCH	Hexaclorociclohexano
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
ID	Identificação
IUCN	*International Union for Conservation of Nature*
LEC	Laboratório de Ecologia e Conservação
lip.	Peso lipídico
MAQUA	Laboratório de Mamíferos Aquáticos e Bioindicadores "Professora Izabel Maria Gonçalves do Nascimento Gurgel"
Máx	Máximo
Med	Mediana
Mín	Mínimo
MMA	Ministério do Meio Ambiente
NCBI	*National Center for Biotechnology Information*
NIST	*National Institute of Standards and Technology*
NOAA	*National Oceanic and Atmospheric Administration*

PBDE	Éter de difenila polibromados
PCB	Bifenila policloradas
PCE/RS	Plataforma continental externa no estado do Rio Grande do Sul
PI	Padrão interno
POPs	Poluentes orgânicos persistentes
PR	Estado do Paraná
RJ	Estado do Rio de Janeiro
RS	Estado do Rio Grande do Sul
SIM	*Selected Ion Monitoring*
SP	São Paulo
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UNEP	*United Nations Environment Programme*
WHO	*World Health Organization*

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
%Lip.	Conteúdo Lipídico
°C	Graus Celsius
∑	Somatório
±	Mais ou menos
≤	Menor ou igual
Cl	Cloro
cm	Centímetros
g	Grama
kg	Quilograma
km	Quilômetros
m	Metros
mL	Mililitro
mm	Milímetros
ng	Nanograma
psi	Libra-força por polegada quadrada
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
µg	Microgrma
µL	Microlitro
µm	Micrômetro

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	18
1	**REFERENCIAL TEÓRICO**	20
1.1	**O golfinho-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis***	20
1.2	**Poluentes orgânicos persistentes (POPs)**	23
1.2.1	Bifenilas policloradas (PCBs)	25
1.2.2	Diclodietiltricloroetano (DDT) e seus metabólitos	26
1.2.3	Mirex	28
1.2.4	Hexaclorobenzeno (HCB)	29
1.2.5	Hexaclorociclohexano.	30
2	**OBJETIVO**	32
2.1	**Objetivo geral**	32
2.2	**Obejtivos específicos**	32
3	**METODOLOGIA**	33
3.1	**Área de estudo**	33
3.2	**Amostragem**	35
3.3	**Estimativa de idade**	38
3.4	**Sexagem molecular**	38
3.5	**Análises de compostos organoclorados**	39
3.5.1	Descontaminação da vidraria e de reagentes	39
3.5.2	Determinação de compostos organoclorados	40
3.5.3	Conteúdo lipídico	41
3.5.4	Condições cromatográficas	41
3.5.5	Controle analítico	42
3.5.6	Integração e quantificação dos compostos organoclorados	44
3.6	**Análises estatísticas**	45
4	**RESULTADOS**	46
4.1	**Bioacumulação de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos nas regiões sudeste e sul do Brasil**	46
4.1.1	PCBs	50

4.1.2 DDT e seus metabólitos..... 52
4.1.3 Mirex..... 54
4.1.4 HCB..... 54
4.1.5 HCHs..... 54
4.1.6 Comparações entre as áreas de estudo..... 55
4.2 **Influência de parâmetros biológicos na bioacumulação de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos**..... 56
4.2.1 Sexo e maturidade sexual..... 56
4..2.2 Idade..... 58
5 **DISCUSSÃO**..... 62
5.1 **Bioacumulação de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos nas regiões sudeste e sul do Brasil**..... 62
5.1.1 PCBs..... 67
5.1.2 DDT e seus metabólitos..... 69
5.1.3 Mirex..... 70
5.1.4 HCB..... 71
5.1.5 HCHs..... 71
5.1.6 Comparações entre as áreas de estudo..... 72
5.2 **Influência de parâmetros biológicos na bioacumulação de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos**..... 73
CONCLUSÃO..... 76
RECOMENDAÇÕES..... 77
CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 78
REFERÊNCIAS 79

INTRODUÇÃO

Os poluentes orgânicos persistentes (POPs) são compostos sintéticos (produzidos pelo homem) cuja ampla aplicabilidade, por décadas, foi relacionada aos processos de urbanização, industrialização e uso na agricultura (Jones & de Voogt, 1999). Dentre eles, encontram-se as bifenilas policloradas (PCBs), utilizados como fluidos em transformadores e capacitores (Penteado & Vaz, 2001), e o diclorodifeniltricloroetano (DDT), o mirex, o hexaclorobenzeno (HCB) e os hexaclorociclohexanos (HCHs), utilizados como pesticidas na agricultura e no controle de vetores de doenças (Connell *et al*., 2000). Estes micropoluentes apresentam propriedades físico-químicas, tais quais alta lipofilicidade, alta estabilidade química e alto peso molecular que garantem sua persistência no ambiente (Stockholm Convention, 2004).

Por conta de seu caráter lipofílico, estes compostos bioacumulam no tecido adiposo da biota marinha e biomagnificam ao longo das teias tróficas (Gray, 2002), sendo encontrados em altas concentrações em predadores de topo, como os cetáceos. A bioacumulação destes compostos na espessa camada de tecido adiposo subcutâneo dos cetáceos apresenta-se como uma "bomba-relógio": enquanto as populações encontram-se saudáveis, os compostos permanecem imobilizados no tecido. No entanto, qualquer desequilíbrio nas condições de saúde ambiental e/ou das populações pode levar a remobilização dos lipídeos e disponibilização de altas concentrações de POPs na corrente sanguínea (Aguilar *et al*., 1999). A circulação de altas concentrações destes compostos pode acarretar efeitos deletérios nos sistemas imunológico e endócrino, que podem prejudicar a manutenção das populações (Desforges *et al*., 2018).

As regiões sudeste e sul do Brasil são bastante industrializadas e apresentam alta densidade demográfica e, assim, altas concentrações de POPs já foram determinadas em alguns poucos indivíduos de golfinhos-de-dentes-rugosos e em outras espécies de delfinídeos (Yogui *et* al., 2010; Lailson-Brito *et al*., 2012, Dornelles *et al*., 2013).

Em geral, populações de cetáceos costeiros encontram-se mais susceptíveis aos poluentes químicos devido à presença de diversos estressores antrópicos que podem perturbar sua homeostase (Vos *et al*., 2003).

Apesar de serem frequentemente classificados como oceânicos, os golfinhos-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) do litoral brasileiro habitam a costa e utilizam recursos deste ambiente que sofre com a alta pressão antrópica (Carvalho, 2018; Lodi *et al*., 2018). Entretanto, ainda é escasso o conhecimento a respeito das diferenças entre as populações de

golfinhos-de-dentes-rugosos no litoral sul-sudeste do Brasil e populações distintas requerem esforços de conservação independentes. Desta forma, torna-se essencial determinar as concentrações de POPs em populações costeiras devido aos riscos inerentes à exposição a tais micropoluentes.

Apesar de não serem mais liberados de forma indiscriminada no ambiente, a persistência de POPs no ambiente marinho assegura a exposição crônica dos golfinhos-de-dentes-rugosos às altas concentrações destes compostos e, além das propriedades dos compostos, parâmetro biológicos da espécie, como sexo, idade e maturidade sexual, podem influenciar o padrão de bioacumulação de POPs (Aguilar *et al*., 1999).

Dessa forma, este trabalho visou determinar as concentrações de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos (*S. bredanensis*), coletados nas regiões sul e sudeste do Brasil, identificar possíveis diferenças no perfil bioacumulativo de POPs entre as distintas populações e determinar a influência dos parâmetros biológicos na bioacumulação de POPs.

1 **REFERENCIAL TEÓRICO**

1.1 **O golfinho-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis***

O golfinho-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, pertence à ordem Cetartiodactyla e à família Delphinidae (Jefferson *et al*., 2015). Esta espécie é caracterizada, principalmente, pelo formato cônico de seu rostro, sem aparente demarcação do melão, presença de ranhuras em seus dentes - que dão nome à espécie -, capa dorsal cinza-escura, nadadeira dorsal levemente falcada e grandes nadadeiras peitorais (Figura 1) (Jefferson *et al*., 2015). Os indivíduos mais velhos apresentam manchas claras na região da boca, seu ventre é branco/cinza claro, podendo apresentar manchas rosas (Jefferson *et al*., 2015).

Figura 1 - Características diagnósticas do golfinho-de-dentes-rugosos, S*teno bredanensis*.

Fonte: Acervo MAQUA
Nota: Características diagnósticas do golfinho-de-dentes-rugosos, como o rostro cônico e sem demarcação do melão, a capa dorsal escura, nadadeira dorsal falcada e grandes nadadeiras peitorais

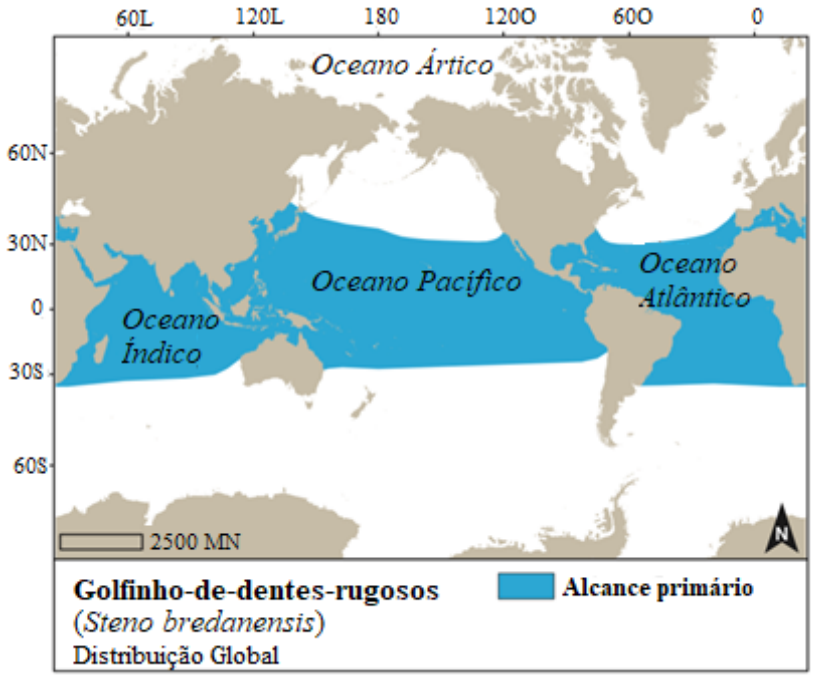
A espécie tem ampla distribuição nas águas tropicais e subtropicais dos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico (Figura 2) (Jefferson *et al.*, 2015). É normalmente encontrada em águas profundas (>500m) e afastados da costa, como observado em ilhas oceânicas no Havaí, na Polinésia Francesa e nas ilhas Canárias (Ritter, 2002; Gannier & West, 2005; Baird *et al*., 2008). O grande número de reavistagens de indivíduos ao redor destas ilhas caracteriza

fidelidade de sítio do golfinho-de-dentes-rugosos (Ritter, 2002; Gannier & West, 2005; Kuczaj & Yeater, 2007; Baird *et al*., 2008).

Diferentemente do que ocorre nas ilhas oceânicas, no litoral brasileiro, o golfinho-de-dentes-rugosos apresenta hábito costeiro. Esta espécie apresentou fidelidade de sítio em regiões rasas, entre 10 e 20m de profundidade, e costeiras, utilizando baías (p.ex. Baía de Guanabara, no estado do Rio de Janeiro) como áreas de forrageio (Carvalho, 2018, Lodi *et al*., 2018). No entanto, a utilização do habitat costeiro torna estas populações de golfinhos-de-dentes-rugosos susceptíveis aos riscos inerentes ao uso de ambientes mais degradados.

Atualmente a população de golfinhos-de-dentes-rugosos que utilizam a região costeira do estado do Rio de Janeiro apresenta cerca de 230 indivíduos (Carvalho, 2018). São escassas as informações sobre tamanho populacional de golfinhos-de-dentes-rugosos em outros estados da costa brasileira.

Figura 2 – Mapa de distribuição global do golfinho-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*.



Fonte: Adaptado de Jefferson *et al*., 2015.

A espécie apresenta capacidade de dispersão limitada e organização social complexa, ambos fatores que influenciam nas estruturas demográfica e genética das populações (Addink & Smeenk, 2001; Mayr & Ritter, 2005; Oremus *et al*., 2012, Silva *et al*., 2015). E, dessa forma, há uma grande variação intra-específica em golfinhos-de-dentes-rugosos. Enquanto em populações do Pacífico os machos atingem cerca de 2,65m na fase adulta e as fêmeas, 2,55m

(Perrin *et al*., 2009), há registros de um indivíduo macho encontrado encalhado no estado do Rio de Janeiro com até 2,90m e uma fêmea com 2,80m (MAQUA, dados não publicados). Os machos atingem a maturidade sexual com cerca de 14 anos e 2,25m, enquanto as fêmeas, com 10 anos e entre 2,10m e 2,20m (Miyazaki, 1980), ainda assim, na região sudeste do Brasil já foram encontrados machos maturos com 11 anos (MAQUA, dados não publicados) e uma fêmea grávida aos 6 anos (Siciliano *et al*., 2008). O golfinho-de-dentes rugosos tem sua longevidade estimada entre 30 e 40 anos (Perrin *et al*., 2009).

Apesar da região oceânica ser menos produtiva, as ilhas oceânicas, em geral, apresentam características oceanográficas que aumentam a sua produtividade, fornecendo estoque necessário para a manutenção da população deste delfinídeo. Já a alta produtividade das regiões costeiras pode ser um atrativo para as populações que habitam o litoral brasileiro. O golfinho-de-dentes-rugosos alimenta-se principalmente de peixes e lulas. Dentre as espécies mais consumidas estão: o peixe-espada (*Trichiurus lepiturus*), a tainha (*Mugil* sp.), e as lulas costeiras (*Doryteuthis plei* e *D. sanpaulensis*) (Lodi & Hetzel, 1999; Santos & Haimovici, 2001; Melo *et al*., 2010) (Figura 3). Faz parte da estratégia de alimentação do golfinho-de-dentes-rugosos retirar a cabeça dos peixes e se alimentar apenas do corpo, o que pode acabar subestimando a importância de determinadas espécies de peixes na alimentação de uma população. No estado do Rio de Janeiro, a espécie utiliza o interior da plataforma continental para se alimentar e ocupa nível trófico próximo do boto-cinza (*Sotalia guianensis*) (Bisi *et al*., 2013) espécie residente de baías costeiras do Rio de Janeiro.

Figura 3 – O golfinho-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, na costa do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Fonte: Acervo MAQUA.
Nota: O golfinho-de-dentes-rugosos alimentando-se de peixe de espécie não-identificada na costa do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Apesar do status de "Pouco Preocupante" na lista de conservação das espécies da *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) e do Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), a presença do golfinho-de-dentes-rugosos nas águas costeiras do Brasil levanta uma série de preocupações quanto sua exposição aos riscos. Azevedo e colaboradores (2017) apontaram o declínio de uma população residente de boto-cinza na Baía de Guanabara, no Rio de Janeiro, uma das baías costeiras mais degradadas no litoral brasileiro, cujos recursos são explorados com frequência pelo golfinho-de-dentes-rugosos (Carvalho, 2018, Lodi *et al*., 2018). Dentre as principais ameaças antrópicas à espécie na costa, destacam-se a poluição química, a poluição sonora (Götz *et al*., 2006) e a pesca incidental (Monteiro-Neto *et al*., 2000).

Áreas costeiras e urbanizadas, por receberem descargas de esgotos e efluentes não-tratados, acabam por apresentar maiores concentrações de compostos organohalogenados do que regiões oceânicas (Tanabe, 2002). Estes compostos bioacumulam na biota marinha e desencadeiam efeitos deletérios nos sistemas endócrino, imunológico e reprodutivo de mamíferos aquáticos (Helle *et al.*, 1976; Kannan *et al*., 2000; Desforges *et al*., 2016). Assim, torna-se imperativo o estudo de micropoluentes em golfinhos-de-dentes-rugosos que ocupam e utilizam essas áreas.

1.2 **Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs)**

Os poluentes orgânicos persistentes (POPs) são compostos com base de carbono e sintetizados pelo homem, cujas distintas propriedades físico-químicas asseguram sua permanência por longos períodos de tempo no ar, no solo, no sedimento e na biota (Jones & de Voogt, 1999; Stockholm Convention, 2004). A exposição aguda e crônica a estes compostos apresenta consequências para a biota e para os humanos (Stockholm Convention, 2004).

Tais micropoluentes apresentam alta capacidade de dispersão por processos naturais, principalmente por transporte atmosférico (Stockholm Convention, 2004). A volatilização em

áreas tropicais e condensação em áreas mais frias de forma cíclica e em larga escala, em processos conhecidos como destilação global ou “efeito gafanhoto” (Wania & Mackay, 1996), permite que sejam encontrados em locais remotos, como os polos, distantes de suas fontes de emissão (Wania & Mackay, 1996). Além dos processos atmosféricos, a biota marinha migratória também participa do transporte destes compostos a partir de sua fonte de emissão para locais mais distantes (Stockholm Convention, 2004), garantindo a ubiquidade dos POPs no ambiente.

Ainda, os POPs são lipossolúveis e quando atingem o ambiente marinho, são rapidamente incorporados nas teias tróficas, bioacumulam no tecido adiposo da biota marinha e biomagnificam ao longo da teia trófica, assim atingindo altas concentrações em predadores de topo (Gray, 2002). Estes compostos são dificilmente degradados, metabolizados ou excretados por organismos e, por isso, persistem no ambiente e na biota (Jones & de Voogt, 1999). Os mamíferos marinhos, em especial os cetáceos odontocetos, tendem a apresentar altas concentrações de POPs em sua espessa camada de tecido adiposo subcutâneo, tecido preferencial de armazenamento destes micropoluentes (O’Shea *et al*., 1980). Ademais, os POPs são transferidos da mãe para a prole através da placenta e, principalmente, através do leite materno que é rico em gordura, podendo ser encontrados em altas concentrações em lactentes e reduzindo a carga das mães (Tanabe *et al*., 1981; Kajiwara *et al*., 2008).

Diversos efeitos no sistema reprodutivo, imunológico e endócrino, com consequências para populações de mamíferos marinhos já foram associados à longa exposição a estes micropoluentes. Por exemplo, foram encontradas estenoses no útero de focas-aneladas (*Pusa hispida*), focas-comuns (*Phoca vitulina*) e focas-cinzentas (*Halichoerus grypus*), impedindo a passagem dos óvulos (Helle *et al*., 1976). Essas alterações foram associadas às altas concentrações de PCBs e DDTs nas fêmeas maturas que apresentaram a patologia, reduzindo a taxa reprodutiva das espécies (Helle *et al*., 1976). O sucesso reprodutivo de golfinhos-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) também foi comprometido em função das altas concentrações de PCBs, principalmente em fêmeas primíparas, que transferem a maior parte de sua carga de contaminantes para a prole. As altas concentrações destes compostos na mãe aumentam a probabilidade de aborto e morte de neonatos (Schwake *et al*., 2002).

Foram detectadas, também, redução na proliferação de linfócitos em cetáceos, como o golfinho-nariz-de-garrafa e a beluga (*Delphinapterus leucas*) e pinípedes, em função do aumento da concentração de PCBs (Desforges *et al*., 2016). O efeito imunotóxico dos PCBs já foi observado em toninhas-comum (*Phocoena phocoena*) (Jepson *et al*., 2005) onde a

relação dose-resposta enfraquece a resposta do sistema imunológico às infecções e tem como consequência o aumento da mortalidade por doenças infecciosas.

Ainda, alterações na homeostase hormonal, principalmente de hormônios andrógenos e corticosteroides, em golfinhos-nariz-de-garrafa já foram identificadas em função de altas concentrações de DDT (Galligan *et al*., 2019), por conta de seu potencial como interferente no sistema endócrino. Alterações no sistema endócrino de mamíferos podem também impactar negativamente a saúde e a reprodução.

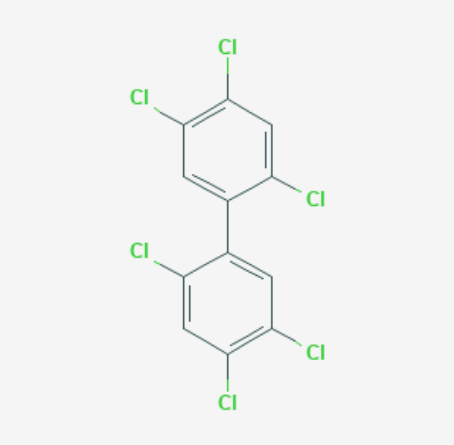
Reconhecendo que os POPs, atualmente, constituem-se como uma das principais ameaças à saúde do meio ambiente e dos seres humanos, em 2004 entrou em vigor a convenção de Estocolmo, que reconhece os POPs de interesse primário e proíbe sua produção, importação e exportação e/ou restringe o uso a condições específicas (Stockholm Convention, 2004).

Dentre os compostos listados na convenção de Estocolmo, encontram-se PCBs (bifenilas policloradas), o DDT (diclorodifeniltricloroetano) e seus metabólitos DDE (diclorodifenildicloroetileno) e DDD (diclorodifenildicloroetano), mirex, HCB (hexaclorobenzeno) e os isômeros α-, β-, γ-, δ-HCH (hexaclorociclohexano).

1.2.1 Bifenilas policloradas (PCBs)

As bifenilas policloradas (PCBs) são compostos sintéticos formados por um grupamento bifenila com 209 substituições possíveis de cloro, contendo entre um e dez átomos de cloro (Penteado & Vaz, 2001) (Figura 4).

Figura 4 – Estrutura química do composto PCB153, com 6 átomos de cloro em sua estrutura.



Fonte: *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), 2020.

Estes compostos foram amplamente utilizados como fluidos dielétricos em capacitores e transformadores elétricos, além de encontrarem-se presentes em formulações de plastificantes, adesivos e tintas, entre outras aplicações (Hutzinger *et al*., 1974). Sua produção em larga escala teve início na década de 20 e atingiu seu pico na década de 70, quando cerca de 50.000 toneladas de PCBs foram produzidas (Penteado & Vaz, 2001). Devido à grande quantidade de congêneres existentes, diversas misturas foram produzidas e comercializadas com nomes diferentes como, por exemplo, Aroclor® e Clophen®. Não há registros de produção de PCBs no Brasil – as formulações comercializadas como Ascarel® foram importadas, principalmente, dos Estados Unidos (EUA) e da Alemanha, os maiores produtores de PCBs no mundo (Penteado & Vaz, 2004; MMA, 2006; Almeida *et al*., 2007). Estima-se que 1.200.000 toneladas de PCBs foram produzidas mundialmente e que, pelo menos, 300.000 toneladas tenham sido liberadas no ambiente (Penteado & Vaz, 2004; Almeida *et al*., 2007).

O uso indiscriminado de PCB começou a ser restringido a partir de 1979, quando foram detectados em amostras ambientais nos EUA e na Europa (Penteado & Vaz, 2001). No Brasil, a primeira portaria que restringe o uso de PCBs data de 1981 e proíbe a fabricação, comercialização e descarte indevido destes compostos em todo o território nacional, porém permite que os equipamentos que utilizam este contaminante continuem em funcionamento (MMA, 2015).

Após quatro décadas de probição de PCBs no Brasil, ainda são encontradas altas concentrações destes compostos em matrizes ambientais, como ar, solo, sedimento e biota. Acredita-se que as principais fontes de PCBs, atualmente, sejam o vazamento de PCBs de capacitores e transformadores, despejo de resíduos não tratados em corpos d´água e armazenamento e manuseio impróprio de PCBs ou formulações contendo PCBs (MMA, 2015).

Seus efeitos em mamíferos marinhos envolvem imunocitotoxicidade e potencial como desregulador endócrino provocando disfunções no sistema reprodutivo, tais quais atraso na maturação sexual, além de possíveis efeitos teratogênicos (Schwake *et al*., 2002; Jepson *et al.*, 2005; Desforges *et al*., 2016).

1.2.2 Diclorodifeniltricloroetano (DDT) e seus metabólitos

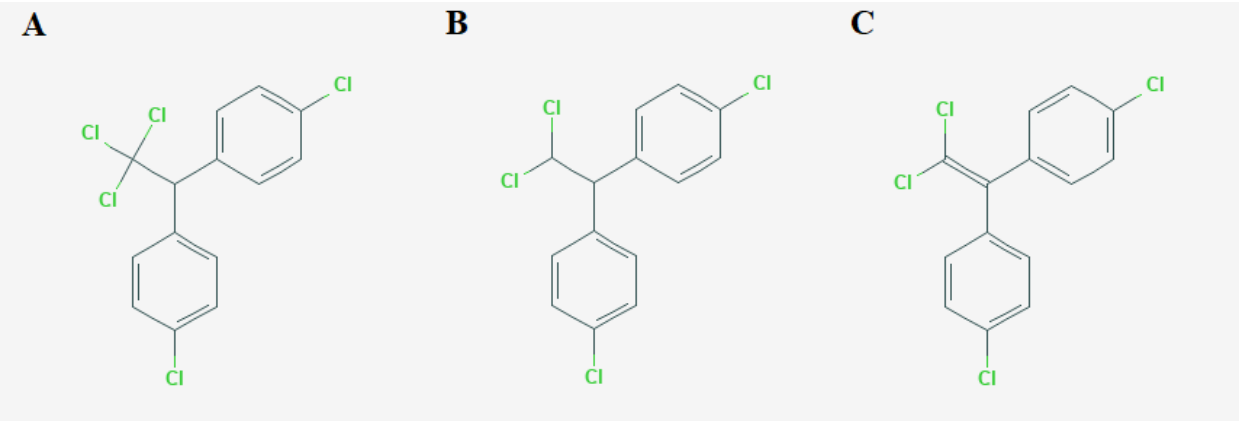
O diclorodifeniltricloroetano (DDT) (Figura 5) é, provavelmente, um dos POPs mais utilizados e estudados do mundo (Almeida *et al*., 2007). Este composto de origem antrópica teve ampla aplicação como pesticida em atividades agrícolas, além de ser utilizado no controle de vetores de doenças como a malária e a leishmaniose e no combate ao tifo em soldados durante a Segunda Guerra Mundial (Damato *et al*., 2002).

A produção de grandes quantidades deste composto teve início em 1945, com pico de produção em 1963 chegando a mais de 80.000 toneladas de DDT produzidas nos EUA (Almeida *et al*., 2007). Em seguida, houve um declínio na produção destes compostos, em resposta ao livro "Primavera silenciosa" de Rachel Carson publicado em 1962, onde a autora relaciona o declínio populacional de diversas aves, principalmente, de alto nível trófico, às altas concentrações de DDT (Carson, 1962; Damato *et al.*, 2002; Almeida *et al*., 2007).

A proibição do uso de DDT teve início na Suécia, ainda na década de 70. Já no Brasil, as medidas restritivas foram iniciadas em 1971, porém apenas em 1985 o DDT teve seu uso proibido juntamente com outros pesticidas organoclorados, salvos algumas exceções, como no uso emergencial do controle de vetores e de pragas na agricultura (MMA, 2006). Estima-se que 110.000 toneladas de DDT foram utilizadas no Brasil ao longo dos anos (Almeida *et al*., 2007).

O DDT pode sofrer degradação ambiental originando seus metabólitos diclorodifenildicloroetano (DDD) e diclorodifenildicloroetileno (DDE) (Figura 5), sendo o último ainda mais persistente no ambiente que a forma original. O DDT e seus metabólitos podem ser encontrados nas formas isoméricas *p,p'*-DDT, *o,p'*-DDT, *p,p'*-DDD, *o,p'*-DDD, *p,p'*-DDE e *o,p'*-DDE, sendo os isômeros *p,p'* as mais comuns devido a sua maior estabilidade química (Damato *et al*., 2002).

Figura 5 – Estrutura química dos compostos diclorodifeniltricloroetano (DDT), diclorodifenildicloroetano (DDD) e diclorodifenildicloroetileno (DDE).



Legenda: (A) *p,p'*-DDT; (B) *p,p'*-DDD; (C) *p,p'*-DDE.

Fonte: Adaptado de NCBI, 2020.

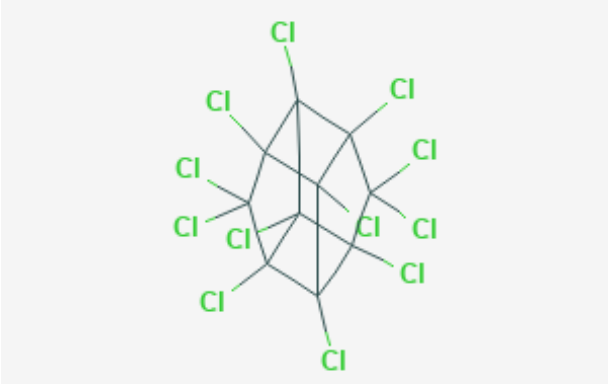
O DDT é considerado um importante desregulador endócrino em mamíferos marinhos, ao se ligarem em receptores hormonais, alterando a homeostase e apresentando efeitos no sistema reprodutivo (Damato *et al.*, 2002; Tanabe, 2002). Além disso, são importantes promotores de tumores, ou seja, não tem papel no desenvolvimento doença, porém uma vez que instalada, ele promove a divisão celular exacerbada de células neoplásicas. E, ainda, podem causar alterações nas funções enzimáticas de órgãos vitais como o fígado e os rins (Damato *et al*., 2002).

1.2.3 Mirex

O mirex é um pesticida organoclorado, também aplicado como retardante de chamas, de estrutura molecular complexa contendo 12 átomos de cloro em sua estrutura (Figura 6), de difícil degradação ambiental e, consequentemente, bastante persistente no ambiente (ASTDR, 2019).

Seu uso teve início nos EUA, em 1969, com o objetivo de erradicar uma espécie introduzida de formigas que se estabeleceu e espalhou rapidamente em território americano, quando ainda sabia-se muito pouco sobre a atividade pesticida deste composto e suas possíveis consequências (Kaiser, 1978).

Figura 6 – Estrutura química do Mirex.



Fonte: NCBI, 2020.

No início dos anos 70, questões em relação ao potencial tóxico do mirex e sua longa meia-vida no ambiente começaram a ser levantadas, após sua detecção em predadores de topo

longe de suas fontes de emissão, como em focas-comum na Europa (Kaiser *et al*., 1978) e em peixes de alto nível trófico no Canadá (Kaiser, 1974). Por apresentarem alto peso molecular, seu transporte em longas distâncias é menos eficiente do que outros pesticidas organoclorados mais voláteis, como o HCB e os HCHs (Vorkamp *et al*., 2004).

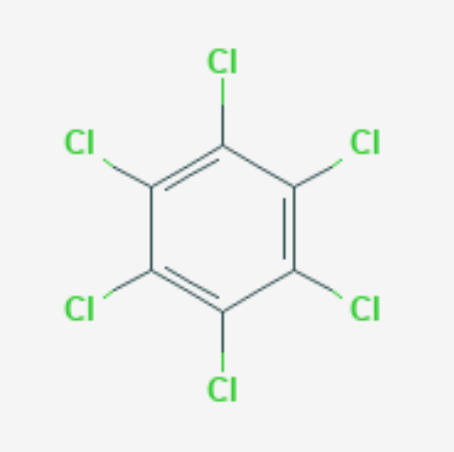
Assim como os outros pesticidas organoclorados, em 1985 houve a restrição do uso do mirex no Brasil, exceto em casos de uso emergencial ou sua utilização em iscas para o controle de formigas (MMA, 2015). Em 1993, o uso em iscas comerciais também foi proibido (MMA, 2015). Acredita-se que cerca de 300 toneladas de mirex foram importadas para o Brasil ao longo dos anos, quantidade menor do que observado para outros pesticidas (Guida, 2016; Yogui *et al*., 2010).

A toxicidade do mirex em mamíferos marinhos é complexa de ser determinada. Porém, estudos em animais e humanos já mostraram comprometimento do sistema reprodutivo, disrupção endócrina, principalmente na tireoide, e alterações na função renal e hepática (ASTDR, 2019).

1.2.4 Hexaclorobenzeno (HCB)

O hexaclorobenzeno (HCB) (Figura 7) foi um pesticida aplicado por alguns anos na atividade agropecuária, principalmente por conta de sua ação fungicida (Almeida *et al*., 2007). No Brasil, a importação deste composto como pesticida chegou a 800 toneladas durante a década de 60 (Guida, 2016). Sua produção foi descontinuada entre as décadas de 70 e 80, com o aumento da preocupação em relação à exposição a compostos organoclorados persistentes. Atualmente, o HCB ainda é liberado no ambiente como subproduto de síntese de determinados solventes orgânicos dentre outros processos químicos, bem como impureza em outros pesticidas (Starek-Swiechowicz *et al*., 2017).

Figura 7 – Estrutura química do hexaclorobenzeno (HCB).



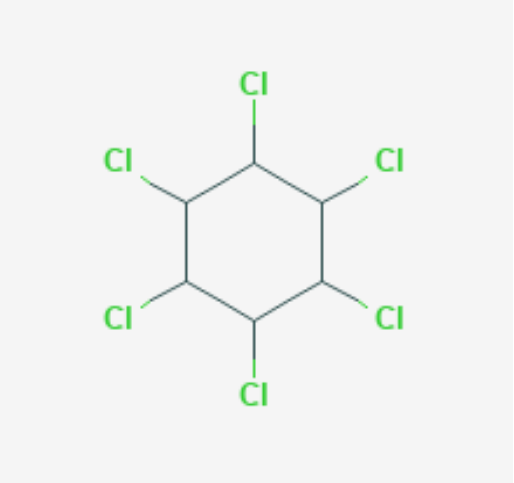
Fonte: NCBI, 2020.

A mobilidade atmosférica do HCB é favorecida por sua alta volatilidade, permitindo que seja encontrado em locais distantes das zonas de emissão por conta do efeito gafanhoto (Starek-Swiechowicz *et al*., 2017). Ainda, apesar de sofrerem fotodegradação, apresentam uma longa meia-vida no ambiente, garantindo sua persistência, principalmente em locais com baixa incidência de luz e menores temperaturas (EUROCHLOR, 2002).

1.2.5 Hexaclorociclohexano (HCHs)

Os quatro isômeros de hexaclorociclohexano (HCH)- α-HCH, β-HCH, γ-HCH e δ-HCH – compõem as formulações conhecidas como HCH (Figura 8), com predominância do α-HCH. O γ-HCH, também conhecido como lindano, foi um dos pesticidas organoclorados mais comercializado no hemisfério sul por conta de sua eficácia, além de menor potencial de contaminação por tratar-se apenas de um isômero, no entanto, era mais caro que a formulação contendo todos os isômeros (Connell *et al*., 2010). Além de sua aplicação como pesticida, o lindano também foi aplicado na preservação de madeira (Almeida *et al*., 2007; Connell *et al*., 2010). O Brasil importou mais de 25.000 toneladas de HCHs (Almeida *et al*., 2007; MMA, 2015).

Figura 8 – Estrutura química do hexaclorociclohexano (HCH).



Fonte: NCBI, 2020.

Os HCHs apresentam menor afinidade por lipídeos quando comparados aos outros compostos organoclorados e, por isso, apresentam menor potencial bioacumulativo e de biomagnificação. Ainda, apresentam alta pressão de vapor, favorecendo seu transporte em larga escala (Iwata *et al*., 1993; Almeida *et al*., 2007). Estes micropoluentes não apresentam potencial carcinogênico, no entanto, atuam como desreguladores endócrinos em mamíferos (UNEP, 2002).

2 **OBJETIVO**

2.1 **Objetivo geral**

Caracterizar o perfil acumulativo de compostos organoclorados (PCBs, DDTs, Mirex, HCB e HCHs) em tecido adiposo subcutâneo do golfinho-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, das regiões sudeste e sul do Brasil.

2.2 **Objetivos específicos**

a) Determinar a concentração de compostos organoclorados (PCBs, DDTs, Mirex, HCB e HCHs) em tecido adiposo subcutâneo de golfinhos-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) coletados nos estados do Rio de Janeiro (RJ), Paraná (PR) e Rio Grande do Sul (RS);
b) Comparar o perfil acumulativo e a magnitude das concentrações de compostos organoclorados (PCBs, DDTs, Mirex, HCB e HCHs) nos golfinhos-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) entre as quatro áreas de coleta: Rio de Janeiro (RJ), Paraná (PR), Rio Grande do Sul (RS) e plataforma continental externa (RS).
c) Verificar se há influência do sexo e da maturidade sexual na bioacumulação dos compostos organoclorados (PCBs, DDTs, Mirex, HCB e HCHs) em golfinhos-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) coletados no estado do Rio de Janeiro, Brasil;
d) Verificar se há influência da idade na bioacumulação de compostos organoclorados de golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) coletados no estado do Rio de Janeiro, Brasil.

3 **METODOLOGIA**

3.1 **Área de estudo**

A área de estudo compreende a costa do estado do Rio de Janeiro (RJ), na região sudeste do Brasil, e dos estados do Paraná (PR) e Rio Grande do Sul (RS), na região sul do Brasil, além da plataforma continental externa no estado do Rio Grande do Sul (PCE/RS) (Figura 9).

O litoral do estado do Rio de Janeiro é influenciado, principalmente, pela Corrente do Brasil (CB), uma corrente de contorno oeste responsável pelo transporte de águas mais quentes e tropicais (Silveira *et al*., 2000). Originada aos 10 ºS e associada ao Giro Subtropical do Atlântico Sul, esta corrente é formada (em seus primeiros quilômetros de profundidade) por massas d'água características do Atlântico Sul, por exemplo, a Água Tropical, que é quente, salina, superficial e oligotrófica e a Água Central do Atlântico Sul (ACAS), à qual estão associadas as áreas de produtividade na costa do Rio de Janeiro, em geral, por conta de sua ressurgência parcial ou completa (Silveira *et al*., 2000). Nesta região, a ascensão da ACAS para a zona eufótica influencia tanto a composição fitoplanctônica local quanto sua densidade, por ser mais fria (temperatura varia entre 6 ºC e 20ºC) e mais rica em nutrientes (Pires-Vanin *et al*., 1993; Braga e Niencheski, 2006). Dessa forma, áreas adjacentes ao local da ressurgência tendem a apresentar focos de alta produtividade primária (Brandini *et al*., 1990).

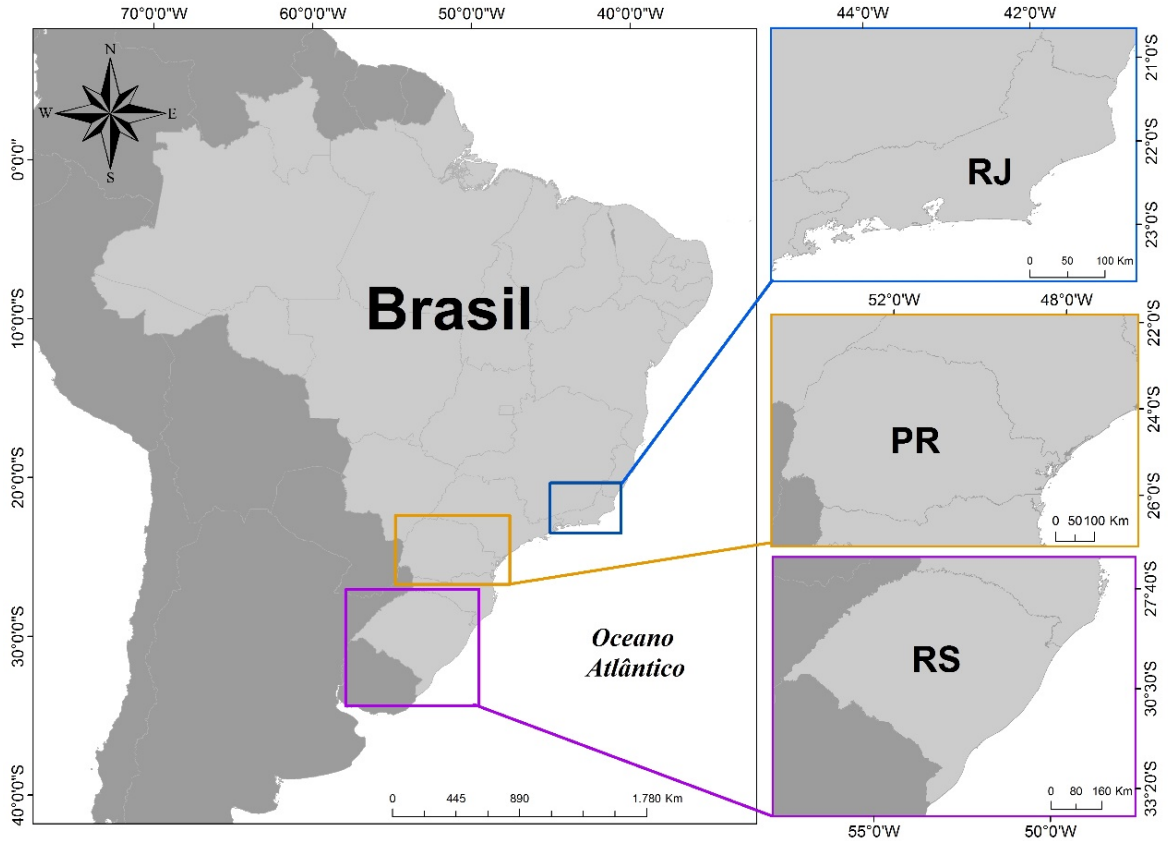
O estado do Paraná apresenta a menor extensão linear de costa dentre as áreas de estudo (Lamour *et al*., 2004) e está localizado na região sul do país. A plataforma continental no estado do Paraná tem largura máxima de 250km, a maior entre as áreas de estudo. Sua dinâmica é regida pela corrente do Brasil com focos de ressurgência da ACAS e pela drenagem do Rio da Prata, alterando a concentrações de nutrientes local e, consequentemente, modificando a base da teia trófica (Brandini & Fernandes, 1996; Brandini *et al*., 2007). Ainda, a costa do Paraná tem influência das águas subantárticas, principalmente durante o inverno (Brandini *et al*., 2007).

Enquanto o estado do Rio de Janeiro, na região sudeste do Brasil, sofre forte influência da CB, a plataforma continental do estado do Rio Grande do Sul, no extremo sul do país, é influenciada pela confluência da CB, carreando águas tropicais, com a Corrente das

Malvinas/Falkland (CM/F) aos 33-38 ºS que transporta águas subantárticas mais frias (Campos *et al*., 1995; Silveira *et al*., 2000). Além disso, nessa região, o aporte continental do Rio da Prata e da Lagoa dos Patos é de grande importância para a dinâmica de nutrientes que, por sua vez, influencia a base da teia trófica local (Möller Jr *et al*., 2008). Na região sul, observa-se uma variação sazonal com forte influência da CB nos períodos mais quentes, seguida de domínio da CM/F em períodos mais frios.

A região costeira das três áreas de estudo sofrem com a alta pressão antrópica. O estado do Rio de Janeiro apresenta densidade demográfica de 365,2 habitantes/km^2, segunda maior no Brasil (IBGE, 2010), enquanto o Paraná e o Rio Grande do Sul possuem 52,4 e 38,0 habitantes/km^2, respectivamente, ocupando as 12º e 13º posições no ranking dos estados brasileiros (IBGE, 2010). A crescente urbanização destas áreas tem como consequência o aumento de descartes de compostos orgânicos antrópicos de origem doméstica, industrial e da agricultura (Azevedo e Silva *et* al., 2007; Dorneles *et al*., 2007) e pode ter implicações negativas no ambiente marinho.

Figura 9 – Mapa mostra as áreas de estudo nas regiões sudeste e sul do Brasil, os estados do Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul.

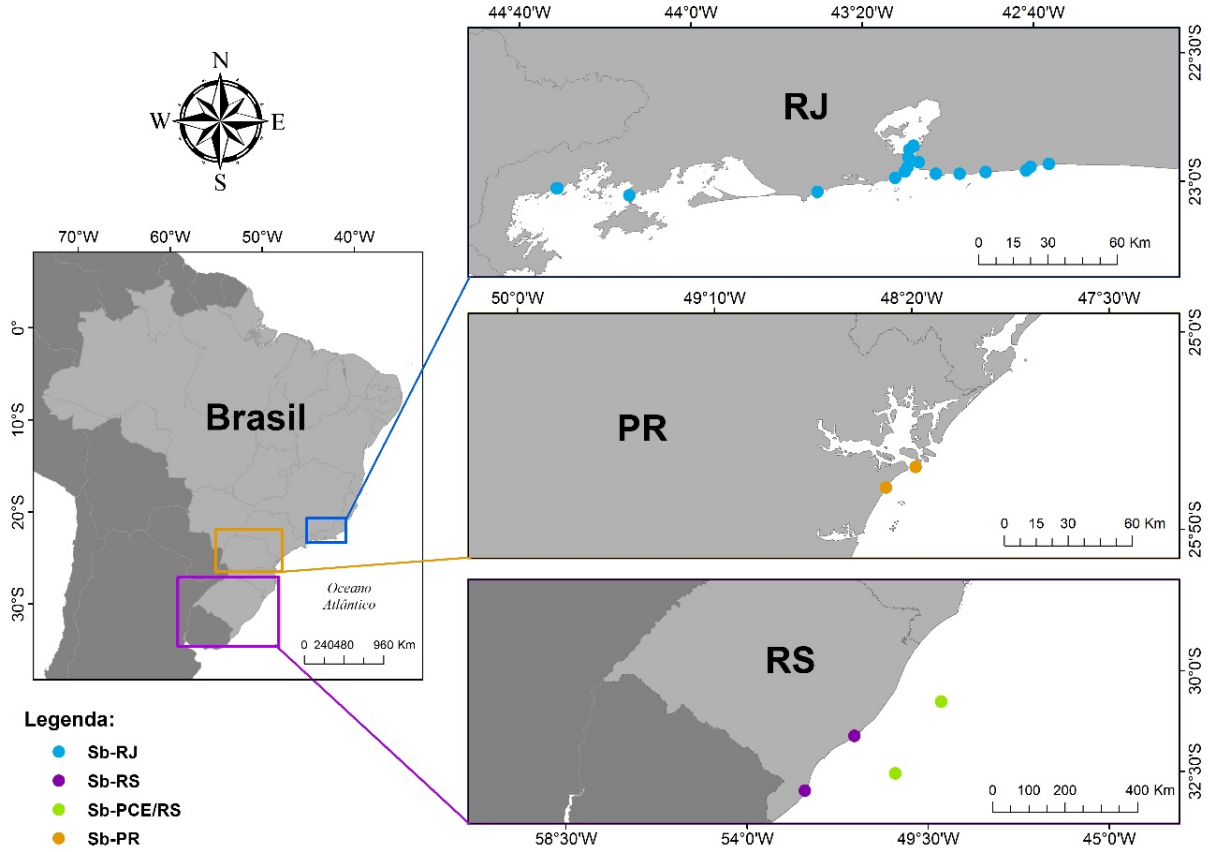


Legenda: (RJ) Rio de Janeiro; (PR) Paraná; (RS) Rio Grande do Sul.
Fonte: A autora, 2020.

3.2 **Amostragem**

As amostras de tecido adiposo subcutâneo de golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, foram coletadas entre os anos de 2013 e 2019 nos estados do Rio de Janeiro (RJ), Paraná (PR) e Rio Grande do Sul (RS), no Brasil, pelo Laboratório de Mamíferos Aquáticos e Bioindicadores "Profª Izabel M.G. do N. Gurgel" na Universidade do Estado do Rio de Janeiro (MAQUA/UERJ), Laboratório de Ecologia e Conservação na Universidade Federal do Paraná (LEC/UFPR) e Laboratório de Ecologia e Conservação da Megafauna Marinha na Universidade Federal do Rio Grande (ECOMEGA/FURG), respectivamente (Figura 10 , Tabela 1).

Figura 10 – Mapa mostra os pontos de coleta de golfinhos-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) nas regiões sudeste e sul do Brasil.



Legenda: (RJ) Rio de Janeiro; (PR) Paraná; (RS) Rio Grande do Sul; (Sb-RJ) *Steno bredanensis* coletados no estado do Rio de Janeiro; (Sb-PR) *Steno bredanensis* coletados no estado do Paraná; (Sb-RS) *Steno bredanensis* coletados no estado do Rio Grande do Sul; (Sb-PCE/RS) *Steno bredanensis* coletado na plataforma continental externa no estado do Rio Grande do Sul.

Fonte: A autora, 2020.

Indivíduos encontrados encalhados em praias ou capturados incidentalmente por embarcações pesqueiras na área de estudo foram necropsiados de acordo com o protocolo descrito por Geraci e Lounsbury (2005).

Para os propósitos deste trabalho, os animais foram classificados quanto ao estágio de decomposição – sendo utilizados apenas *codes* 2 e 3 –, e fotografados. O comprimento total (CT) do indivíduo foi determinado medindo o comprimento retilíneo entre o extremo da maxila e a reentrância da nadadeira caudal.

A maturidade sexual foi determinada macroscopicamente pela presença/ausência de cicatrizes uterinas nas fêmeas e presença/ausência de esperma nos machos. Em casos onde a maturidade sexual não pôde ser determinada por essas características, utilizou-se critérios de idade (Myasaki, 1980; Siciliano et al., 2007). Foram considerados maturos indivíduos com 10 anos de idade ou mais.

O tecido adiposo subcutâneo do lado esquerdo do indivíduo, abaixo da nadadeira dorsal (Geraci & Lounsbury, 2005), foi coletado para análise de compostos organoclorados e armazenado em alumínio à -20°C até análise.

Foram coletados, em média, cinco dentes mais retilíneos e menos gastos da mandíbula esquerda para estimativa da idade (Geraci e Lounsbury, 2005), os quais foram lavados e, após completa secagem, armazenados em temperatura ambiente.

Por fim, coletou-se a pele e o músculo do indivíduo, também da região logo abaixo da nadadeira dorsal, para exame de sexagem molecular, nos casos onde a determinação do sexo por identificação das gônadas durante a necropsia não foi possível.

Além das amostras oriundas de encalhe e captura incidental, foram obtidas amostras de tecido adiposo subcutâneo e pele de animais vivos, por biópsias remotas. Com uma balestra, foram disparados dardos com ponteiras adaptadas de aço inoxidável na região dorsal do delfinídeo, logo abaixo da nadadeira dorsal (Gauthier, 1997). As amostras foram armazenadas em papel alumínio e refrigeradas a -20ºC até análise. No tecido adiposo subcutâneo foi realizada a análise de compostos organoclorados, e na pele, a sexagem molecular. Foram obtidos tecidos de três indivíduos no estado do Rio de Janeiro durante saídas de campo na Baía de Guanabara e cinco indivíduos na plataforma continental externa durante cruzeiro de pesquisa do Projeto Talude (ECOMEGA/FURG), no estado do Rio Grande do Sul.

Tabela 1 – Golfinhos-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*) coletados entre os anos de 2013 e 2019, na costa dos estados do Rio de Janeiro (n=19), Paraná (n=2) e Rio Grande do Sul (n=2) e na face externa da plataforma continental no Rio Grande do Sul (n=5), Brasil.

ID	Ano de coleta	Local de coleta	Sexo	Idade (anos)	CT (cm)	Maturidade	Code
Rio de Janeiro							
Sb #1*	2013	Rio de Janeiro	M	-	-	-	-
Sb #2*	2013	Rio de Janeiro	M	-	-	-	-
Sb #3*	2013	Rio de Janeiro	M	-	-	-	-
Sb #4	2013	Niterói	M	27	281	Maturo	3
Sb #5	2014	Maricá	M	2	243	Imaturo	2
Sb #6	2015	Angra dos Reis	M	16	260	Maturo	3
Sb #7	2015	Rio de Janeiro	M	6	~262	Imaturo	3
Sb #8	2015	Rio de Janeiro	F	6	256	Imaturo	3
Sb #9	2016	Niterói	M	0	~182	Imaturo	3
Sb #10	2017	Maricá	F	0	184	Imaturo	3
Sb #11	2017	Itaipuaçú	F	4	235	Imaturo	3
Sb #12	2017	Rio de Janeiro	F	1	173	Imaturo	3
Sb #13	2018	Angra dos Reis	M	0	149	Imaturo	3
Sb #14	2018	Rio de Janeiro	F	19	270	Maturo	3
Sb #15	2018	Niterói	M	21	267	Maturo	3
Sb #16	2018	Saquarema	M	4	254	Imaturo	3
Sb #17	2019	Rio de Janeiro	M	11	274	Maturo	3
Sb #18	2019	Paraty	F	18	243	Maturo	2
Sb #19	2019	Saquarema	F	12	280	Maturo	3
Paraná							
Sb #20	2016	Matinhos	M	26	259	Maturo	3
Sb #21	2017	Paranaguá	M	22	280	Maturo	2
Rio Grande do Sul							
Sb #22	2017	Santa Vitória do Palmar	M	16	242	Maturo	3
Sb #23	2017	São José do Norte	F	2	221	Imaturo	2
Plataforma Continental Externa, RS							
Sb #24*	2014	PCE/RS	M	-	-	-	-
Sb #25*	2014	PCE/RS	M	-	-	-	-
Sb #26*	2015	PCE/RS	M	-	-	-	-
Sb #27*	2015	PCE/RS	M	-	-	-	-
Sb #28*	2015	PCE/RS	F	-	-	-	-

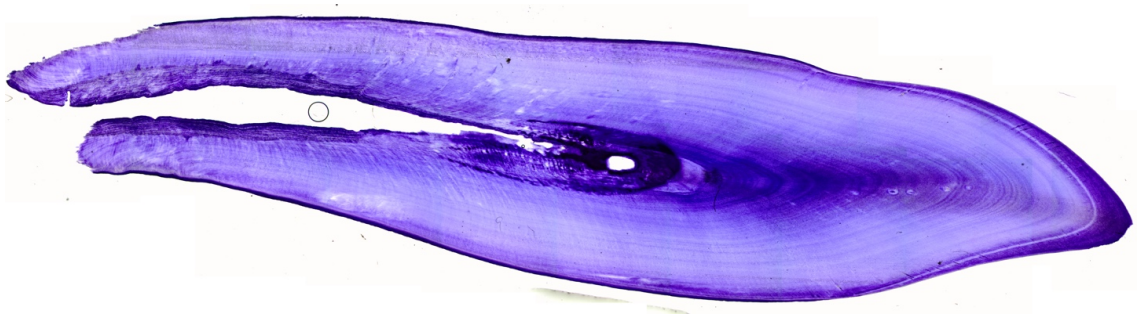
Legenda: (ID) Identificação dos indivíduos; (*) Biópsias remotas; (PCE/RS) Plataforma Continental Externa, Rio Grande do Sul; (F) Fêmea; (M) Macho; (CT) Comprimento total expresso em cm; (Code) Estágio de decomposição; (~) Aproximadamente; (-) Não se aplica.

Fonte: A autora, 2020.

3.3 **Estimativa de idade**

A estimativa de idade dos golfinhos-de-dentes-rugosos foi realizada por meio da contagem de *Growth Layer Groups* (GLGs) depositados na dentina dos dentes (Perrin e Meyrick, 1980) (Figura 11). O protocolo para preparo do dente foi adaptado de Hohn e colaboradores (1989). O centro do dente foi identificado e este foi serrado na posição bucal-lingual em serra metalográfica de baixa rotação (*Buehler*, modelo *11-1280-170*) utilizando lâmina de borda diamantada. O segmento central do dente foi colocado em formol 10% para fixação do tecido por 12-24hrs, lavado com água corrente, seco e posto em descalcificador comercialmente distribuído como RDO® por 12-24 horas. Após o tempo de imersão, os dentes foram novamente lavados para retirada de resíduos ácidos e foram realizados cortes histológicos de 25µm de espessura em micrótomo de deslizamento (*Leica* modelo *SM 2010R*) acoplado à sistema de congelamento (*Physitemp* modelo *BFS-5MP*). Os cortes foram corados em hematoxilina de Mayer, por cerca de 40 minutos, imersos em amônia para fixação da cor, lavados em água corrente, secos e armazenados em glicerina 100%. As lâminas foram montadas e fotografadas em microscópio óptico (Olympus modelo *BX43*) para contagem de GLGs.

Figura 11 – Imagem mostra corte histológico de um dente de golfinho-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, (Sb #18) corado em hematoxilina de Mayer, para contagem de GLGs, com idade estimada em 18 anos.



Fonte: A autora, 2020.

3.4 **Sexagem molecular**

A extração do DNA pelo método fenol-clorofórmio a partir de pele e músculo do golfinho-de-dentes-rugosos foi uma adaptação do protocolo descrito por Sambrook e Russel

(2006). O tecido foi tratado com proteinase K e tampão de lise, seguido de extração com solução de fenol e clorofórmio na proporção 1:1, adição de acetato de sódio e etanol gelado, secagem e ressupensão do material extraído em água *Milli-Q* (*Millipore*, modelo *Milli-Q*). A reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificação dos genes foi realizada em termociclador (*Applied Biosystems*, modelo *Veridi 96' Well Thermo Cycler*) e utilizou como alvo marcadores sexo-específicos nos cromossomos X e Y (Bérubé e Pasboll, 1996). A eletroforese foi realizada em gel de agarose 1%, com tampão TBE 0,5x a 5V/cm por 50 minutos e, por fim, corado com brometo de etídio para avaliação de contaminação e a determinação do sexo de acordo com a amplificação bem-sucedida do gene-alvo.

3.5 **Análise de compostos organoclorados**

O método para a análise de compostos organoclorados em tecido adiposo subcutâneo foi uma adaptação do protocolo utilizado por Lailson-Brito (2007). Foram analisadas, neste estudo, duas classes de compostos organoclorados persistentes: as bifenilas policloradas (PCBs) e os pesticidas clorados. Dentre os PCBs, foram analisados 28 congêneres identificados como PCB 8, PCB 28, PCB 31, PCB 44, PCB 49, PCB 52, PCB 70, PCB 74, PCB 97, PCB 99, PCB 101, PCB 105, PCB 118, PCB 132, PCB 138, PCB 141, PCB 151, PCB 153, PCB 158, PCB 169, PCB 170, PCB 177, PCB 180, PCB 183, PCB 187, PCB 195, PCB 194 e PCB 206. O somatório dos PCBs é identificado como ∑PCB. Os pesticidas analisados foram os isômeros α-HCH, β-HCH e γ-HCH, cujo somatório é representado como ∑HCH, o HCB, o *p.p'*-DDT e seus metabólitos *p.p'*-DDD e *p.p'*-DDE, com somatório representado por ∑DDT, e o mirex.

3.5.1 Descontaminação da vidraria e de reagentes

Toda a vidraria utilizada nas análises foi submetida a um processo de descontaminação. A vidraria foi lavada com detergente neutro, enxaguada com água corrente e rinsada três vezes com água destilada (*Millipore*®, modelo *Rios 5*). A vidraria volumétrica seguiu para um banho de Detertec 20% por 48 horas, foi rinsada com água destilada até que

todo o detergente fosse eliminado e, por fim, rinsada com acetona e com uma mistura na proporção 1:1 de diclorometano e n-hexano. A vidraria não volumétrica foi descontaminada em forno mufla (*Jung*, modelo *010*), com rampa de aquecimento de 10°C por minuto, atingindo temperatura máxima de 450°C, por 5 horas. Após a completa secagem da vidraria volumétrica e redução da temperatura da vidraria não-volumétrica, estas foram envoltas em papel-alumínio até o momento da análise.

O papel-filtro utilizado na etapa de extração foi descontaminado via soxhlet, por 8 horas, em mistura de diclorometano e n-hexano na proporção 1:1. Após secagem, os filtros foram armazenados em papel-alumínio até a utilização.

O sulfato de sódio anidro, o óxido de alumínio neutro e a lã de vidro utilizados nas etapas de extração e purificação foram descontaminados no forno mufla (*Jung*, modelo *010*), seguindo a mesma rampa de aquecimento da vidraria não-volumétrica.

3.5.2 Determinação de compostos organoclorados

Pesou-se, aproximadamente, 0,5g do tecido adiposo subcutâneo (*Shimadzu*, modelo *AX200*) das amostras oriundas de encalhe. Para as biópsias, utilizou-se todo o tecido adiposo subcutâneo disponível. O tecido foi macerado com 2,5g de sulfato de sódio anidro e transferido para um papel-filtro, previamente descontaminado. A amostra foi fortificada com 250µL de padrão interno (PI) a 100ng.mL^{-1} (PCB 103) e a recuperação do PI foi calculada ao final da análise. A extração foi feita via soxhlet com 100mL de solução de diclorometano e n-hexano na proporção 1:1, por 8 horas.

Após a extração, uma alíquota de 5mL do extrato foi retirada para determinação do conteúdo lipídico (em sessão 3.5.3 deste item), o volume da amostra foi reduzido em evaporador rotativo (*Büchen Switzerland*, modelo *R-100*) acoplado a uma bomba à vácuo (*Büchen Switzerland*, modelo *B-100*), a um banho aquecedor (*Büchen Switzerland*, modelo *B-100*) e a uma interface de controle eletrônico (*Büchen Switzerland*, modelo *I-100*) e seguiu para as etapas de purificação.

A primeira etapa consistiu na adição de 5mL de ácido sulfúrico, com agitação manual por 5 minutos, centrifugação à 2800 rpm (*Eppendorf*, modelo *Centrifuge 5702*) até a separação total entre as fases hexânica e ácida, e retirada da fase hexânica. Adicionou-se 5mL de n-hexano à fase ácida para uma segunda lavagem, seguida novamente de agitação manual

e centrifugação nas condições anteriores, até separação total entre as duas fases e nova retirada da fase hexânica.

Posteriormente, foi realizada a segunda etapa de purificação da amostra, em coluna de óxido de alumínio neutro, selada com sulfato de sódio anidro, e eluição com diclorometano e n-hexano na proporção 2:1, seguida de eluição com diclorometano e metanol, na proporção 9:1.

Por fim, reduziu-se o volume da amostra em evaporador de solvente com fluxo de nitrogênio e em baixa temperatura (*Biotage*, modelo *TurboVap®LV*), o conteúdo final foi transferido para o vial e a amostra foi ressupensa em volume final de 250µL de n-hexano.

3.5.3 Conteúdo Lipídico

A determinação do conteúdo lipídico por método gravimétrico foi uma adaptação do protocolo proposto por Yogui (2003). Uma alíquota de 5mL foi retirada do extrato original de 100mL da amostra extraída com o auxílio de uma pipeta volumétrica e transferidos para um frasco de vidro previamente pesado em balança de precisão (*Shimadzu*, modelo *AUW220D*). O frasco foi colocado em estufa de secagem (*Nova Técnica*, modelo *NT 514*) a 40°C até completa evaporação do solvente e, em seguida, novamente pesado. O cálculo do conteúdo lipídico foi feito a partir da fórmula matemática a seguir:

$$\%Lip = (((Vial_{final} - Vial_{inicial})*20)/m)*100 \quad (1)$$

onde:
%Lip, é o conteúdo lipídico;
$Vial_{final}$, é a massa (g) do vial após secagem em estufa;
$Vial_{inicial}$, é a massa (g) do vial antes da alíquota ser adicionada;
m, é a massa (g) do tecido pesada para a extração.

3.5.4 Condições cromatográficas

As análises foram realizadas em um Cromatógrafo de Fase Gasosa (*Agilent Technologies* modelo *6890*) acoplado a espectrômetro de massas (*Agilent Technologies* modelo *5975*), com injetor automático (*Agilent Technologies* modelo *7683B*) e analisador Quadrupólo, e operou em modo de impacto de elétrons (IE).

Foram injetados 2µL da amostra em modo *splitless* à 280°C e pressão 13 psi e o hélio (pureza 5.0) foi o gás de arraste escolhido. Foi utilizada coluna capilar de sílica HP-5MS (*Agilent Technologies*) com 30m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e espessura de filme de 0,25µm, e composta por 5% de Fenilmetilpolisiloxano. A corrida cromatográfica durou cerca de 67 minutos para cada amostra, com rampa de aquecimento iniciando em 70°C por 1 minuto, em seguida aumentando 40°C por minuto até 170°C, 1,5°C por minuto até 240°C e, por fim, 15°C por minuto até 300°C, temperatura final da corrida. A fonte de IE operou no modo *Selected Ion Monitoring* (SIM) (Tabela 2).

Tabela 2 – Íons específicos monitorados no método SIM na determinação de compostos organoclorados em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis.*

Grupo	**Tempo (minutos)**	**Íons Principais**	**Íons Secundários**
Grupo 1	7 – 20	207, 186, 256, 258, 292, 220, 326, 152	209, 290, 328, 222
Grupo 2	21 – 31	326, 360	254, 324, 362, 328
Grupo 3	32 – 40	360, 326, 396, 394	362, 328
Grupo 4	41 – 55	360, 394, 430, 464, 498	362, 396, 428, 462, 214

Fonte: A autora, 2020.

3.5.5 Controle analítico

Todos os padrões de compostos organoclorados utilizados no estudo foram importados do laboratório *Accustandard* (New Haven, EUA). O *PCB Congener Mix for West Coast Fish Studies* foi utilizado como padrão para os PCBs 31, 49, 70, 74, 97, 99, 132, 141, 151, 158, 177, 183, 187, 194; *WHO/NIST/NOAA Congener List* para os PCBs 8, 28, 44, 52, 101, 105, 118, 138, 153, 169, 170, 180, 195 e 206. *Pesticide Mix* para os pesticidas α-HCH, β-HCH, γ-HCH, HCB, *p.p'*-DDE, *p.p'*-DDD, *p.p'*-DDT e mirex. O PCB 103 foi escolhido como Padrão Interno (PI).

Os compostos organoclorados quantificados no presente estudo foram certificados a partir do material de referência *Standard Reference Material*® 1945 (SRM®1945), de gordura de baleia-piloto (*Globicephala melas*), do *National Institute of Standards and Technology* (NIST). A certificação de cada composto foi feita de acordo com os critérios estabelecidos por Wade e Cantillo (1994), com recuperação aceita entre 65 e 135%. Para os propósitos do presente estudo foi aceita recuperação do PI nas amostras de tecido adiposo subcutâneo de golfinhos-de-dentes-rugosos entre 70 e 130%. A recuperação média obtida do PI foi de 92,9% ± 13,9% (média ± desvio padrão).

O limite de detecção do equipamento foi calculado como três vezes o valor do desvio padrão de cinco injeções seguidas do ponto de 80 $ng.mL^{-1}$ e encontra-se na tabela 3. O limite de quantificação foi definido como a divisão do limite de detecção pelo valor médio do peso lipídico obtido (Tabela 4). Só foram considerados, nas amostras, os compostos que apresentaram concentrações superiores ao limite de quantificação.

Tabela 3 – Limites de detecção dos compostos organoclorados, expressos em $\mu g.mL^{-1}$.

Composto	**LD**	**Composto**	**LD**	**Composto**	**LD**
PCB 8	0,001	**PCB 118**	0,002	**PCB 170**	0,005
PCB 31	0,008	**PCB 153**	0,003	**PCB 195**	0,003
PCB 28	0,005	**PCB 132**	0,001	**PCB 194**	0,002
PCB 52	0,002	**PCB 105**	0,003	**PCB 206**	0,004
PCB 49	0,002	**PCB 141**	0,002	**α-HCH**	0,002
PCB 44	0,002	**PCB 138**	0,003	**β-HCH**	0,002
PCB 74	0,005	**PCB 158**	0,001	**γ-HCH**	0,002
PCB 70	0,002	**PCB 187**	0,001	**HCB**	0,001
PCB 101	0,001	**PCB 183**	0,005	***p.p'*-DDE**	0,002
PCB 99	0,002	**PCB 177**	0,004	***p.p'*-DDD**	0,002
PCB 97	0,001	**PCB 180**	0,003	***p.p'*-DDT**	0,001
PCB 151	0,002	**PCB 169**	0,004	**Mirex**	0,002

Legenda: (LD) Limite de detecção.
Fonte: A autora, 2020.

Tabela 4 – Limites de quantificação dos compostos organoclorados, expressos em $\mu g.g^{-1}$ peso lipídico.

Composto	LQ	Composto	LQ	Composto	LQ
Peso Lipídico Médio = 0,10 g					
PCB 8	0,01	**PCB 118**	0,02	**PCB 170**	0,05
PCB 31	0,08	**PCB 153**	0,03	**PCB 195**	0,03
PCB 28	0,05	**PCB 132**	0,01	**PCB 194**	0,02
PCB 52	0,02	**PCB 105**	0,03	**PCB 206**	0,04
PCB 49	0,02	**PCB 141**	0,02	**α-HCH**	0,02
PCB 44	0,02	**PCB 138**	0,03	**β-HCH**	0,02
PCB 74	0,05	**PCB 158**	0,01	**γ-HCH**	0,02
PCB 70	0,02	**PCB 187**	0,01	**HCB**	0,01
PCB 101	0,01	**PCB 183**	0,05	***p.p'*-DDE**	0,02
PCB 99	0,02	**PCB 177**	0,04	***p.p'*-DDD**	0,02
PCB 97	0,01	**PCB 180**	0,03	***p.p'*-DDT**	0,01
PCB 151	0,02	**PCB 169**	0,04	**Mirex**	0,02

Legenda: (LQ) Limite de quantificação.
Fonte: A autora, 2020.

Ademais, um branco analítico foi adicionado a cada bateria de nove amostras, de modo a identificar qualquer contaminação durante a análise. No branco analítico de apenas uma bateria foram identificados PCB 70 (0,005 µg/mL) e PCB 153 (0,006 µg/mL). Neste caso de identificação de compostos organoclorados acima do limite de detecção nos brancos analíticos, os valores foram descontados das amostras da bateria.

3.5.6 Integração e quantificação dos compostos organoclorados

Foi construída uma curva analítica com as soluções padrões de compostos organoclorados nas concentrações 5, 10, 20, 50, 80, 100, 150, 200 e 250 $ng.mL^{-1}$ e com o PI à 100 $ng.mL^{-1}$ em todos os pontos. O coeficiente de correlação aceitável para cada composto foi

igual ou maior que 99,5% ($r \geq 0,995$). Em caso de concentração de compostos acima do ponto máximo da curva (250 $ng.mL^{-1}$), os extratos foram diluídos e reinjetados.

Os cromatogramas foram integrados no software *Enhanced ChemStation®* (*Agilent Technologies, MSD ChemStation E.02.02.1431*). A identificação dos compostos foi feita de acordo com o tempo de retenção e o espectro de íons apresentado. A quantificação dos compostos organoclorados foi baseada no peso lipídico de cada amostra e expressa em $\mu g.g^{-1}$ peso lipídico ($\mu g.g^{-1}$ lip).

3.6 **Análises estatísticas**

As análises estatísticas do presente trabalho foram realizadas no software STATISTICA 7©. Apenas compostos detectados em mais de 50% do conjunto amostral foram incluídos nos testes estatísticos, assim, dentre os 36 compostos organoclorados analisados no presente estudo, 29 foram incluídos nas análises. O teste W de Shapiro-Wilk foi utilizado para testar a normalidade dos dados. A maioria dos compostos apresentou distribuição não-normal e, por isso, foram escolhidos testes não-paramétricos.

Para determinar diferenças no padrão de bioacumulação de compostos organoclorados em golfinhos-de-dentes-rugosos entre as quatro localidades foi utilizada a análise de função discriminante. Dentre os 29 organoclorados, 14 destes adequaram-se ao modelo para análise de função discriminante.

Para identificar diferenças entre o padrão de contaminação de imaturos, fêmeas maturas e machos maturos, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis com teste de comparações múltiplas a *posteriori*.

Por fim, foi empregada a correlação de Spearman para identificar relações entre a idade e a bioacumulação de compostos organoclorados.

Foram consideradas significativas as relações que apresentaram valor de $p \leq 0,05$. Em função da distribuição não-normal dos dados, os valores medianos foram escolhidos na confecção dos gráficos, quando pertinente, por serem mais representativos do conjunto de dados.

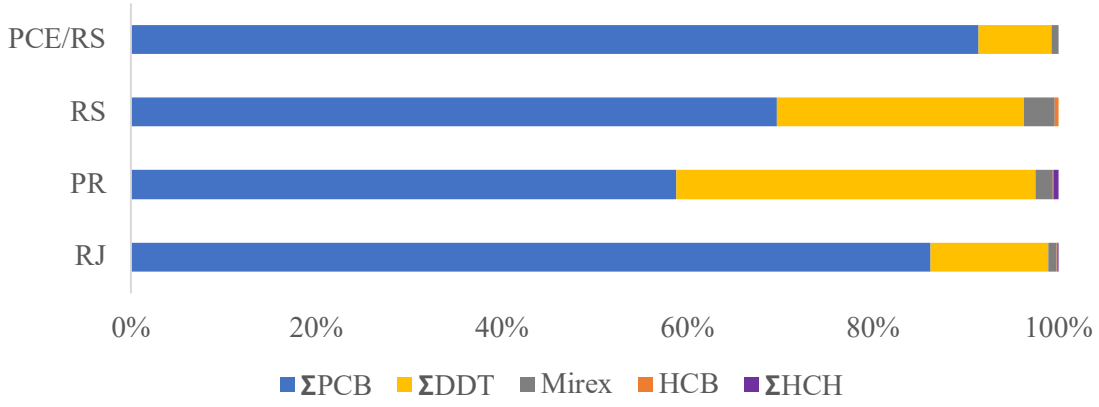
4 RESULTADOS

Ao todo, foram coletadas para análise de poluentes orgânicos 19 amostras de golfinhos-de-dentes-rugosos no Rio de Janeiro (RJ), sendo três biópsias, duas amostras no Paraná (PR), duas amostras no Rio Grande do Sul (RS) e cinco amostras de biópsia na plataforma continental externa no Rio Grande do Sul (PCE/RS), totalizando 28 golfinhos-de-dentes-rugosos analisados no presente trabalho.

4.1 Bioacumulação de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos nas regiões sudeste e sul do Brasil

As concentrações de ΣPCB, ΣDDT, Mirex, HCB e ΣHCH encontradas em golfinhos-de-dentes-rugosos coletados nos estados do RJ, PR, RS e PCE/RS estão apresentadas na Tabela 5. O ΣPCB foi dominante no perfil de bioacumulação de todas as localidades estudadas, seguida do ΣDDT. O Mirex também foi detectado em todas as localidades, e foi o terceiro composto de maior contribuição do perfil. O HCB não foi detectado nas amostras oriundas da PCE/RS. O ΣHCH foi encontrado em concentrações detectáveis em apenas um indivíduo coletado no RJ e um coletado no PR (Figura 12).

Figura 12 – Perfil geral de contaminação por ΣPCB, ΣDDT, Mirex, HCB e ΣHCH em golfinhos-de-dentes-rugosos coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na plataforma continental externa do Rio Grande do Sul entre os anos de 2013 e 2019.



Legenda: (RJ) Rio de Janeiro; (PR) Paraná; (RS) Rio Grande do Sul; (PCE/RS) Plataforma Continental Externa, Rio Grande do Sul.

Fonte: A autora, 2020.

Tabela 5 – Dados biológicos e concentrações de ΣPCB, ΣDDT, Mirex, HCB e ΣHCH, expressas em $\mu g.g^{-1}$ peso lipídico, em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul entre os anos de 2013 e 2019.

ID	Sexo	Idade (anos)	Maturidade Sexual	%Lip	ΣPCB	ΣDDT	Mirex	HCB	ΣHCH
Sb #1*	M	-	-	31	306,5	92,7	7,2	<0,01	<0,02
Sb #2*	M	-	-	12	647,9	42,2	2,1	<0,01	<0,02
Sb #3*	M	-	-	17	158,6	20,0	1,8	0,1	<0,02
Sb #4	M	27	Maturo	15	393,0	108,8	5,3	0,1	<0,02
Sb #5	M	2	Imaturo	10	272,5	42,5	1,1	0,5	<0,02
Sb #6	M	16	Maturo	20	237,8	44,7	2,1	0,1	0,3
Sb #7	M	6	Imaturo	22	103,3	17,4	0,8	0,1	<0,02
Sb #8	F	6	Imaturo	24	171,2	25,2	0,6	0,2	<0,02
Sb #9	M	0	Imaturo	36	47,4	12,8	0,6	0,2	<0,02
Sb #10	F	0	Imaturo	18	58,4	7,9	0,2	0,1	<0,02
Sb #11	F	4	Imaturo	25	196,3	74,9	2,0	0,2	<0,02
Sb #12	F	1	Imaturo	35	62,2	21,4	0,4	0,2	<0,02
Sb #13	M	0	Imaturo	13	135,9	4,0	0,2	0,1	<0,02
Sb #14	F	19	Maturo	35	214,8	85,6	3,7	0,1	<0,02
Sb #15	M	21	Maturo	6	512,3	57,3	2,4	0,4	<0,02

ID	Sexo	Idade (anos)	Maturidade Sexual	%Lip	ΣPCB	ΣDDT	Mirex	HCB	ΣHCH
Sb #16	M	4	Imaturo	40	106,1	20,9	0,7	0,3	<0,02
Sb #17	M	11	Maturo	32	245,1	35,7	3,0	0,1	<0,02
Sb #18	F	18	Maturo	2	170,2	14,5	3,2	<0,01	<0,02
Sb #19	F	12	Maturo	22	5,6	0,4	0,1	<0,01	<0,02
				Média ± DP	212,9 ± 163,0	38,4 ± 31,8	2,0 ± 1,9	0,2 ± 0,1	-
				Mediana	171,2	25,2	1,8	0,1	-
				Mín - Máx	5,6 - 647,9	0,4 - 108,8	0,1 - 7,2	<0,01 - 0,5	<0,02 - 0,3
Sb #20	M	26	Maturo	8	241,8	24,1	2,0	0,1	<0,02
Sb #21	M	22	Maturo	51	64,9	177,8	7,6	0,2	1,4
				Média ± DP	153,3 ± 125,1	100,9 ± 108,7	4,8 ± 3,9	0,2 ± 0,1	-
				Mediana	153,3	100,9	4,8	0,2	-
				Mín - Máx	64,9 - 241,8	24,1 - 177,8	2,0 - 7,6	0,1 - 0,2	<0,02 - 1,4
Sb #22	M	16	Maturo	22	75,8	23,0	3,5	0,2	<0,02
Sb#23	F	2	Imaturo	57	21,7	14,3	1,2	0,3	<0,02
				Média ± DP	48,7 ± 38,3	18,6 ± 6,1	2,3 ± 1,6	0,3 ± 0,1	-

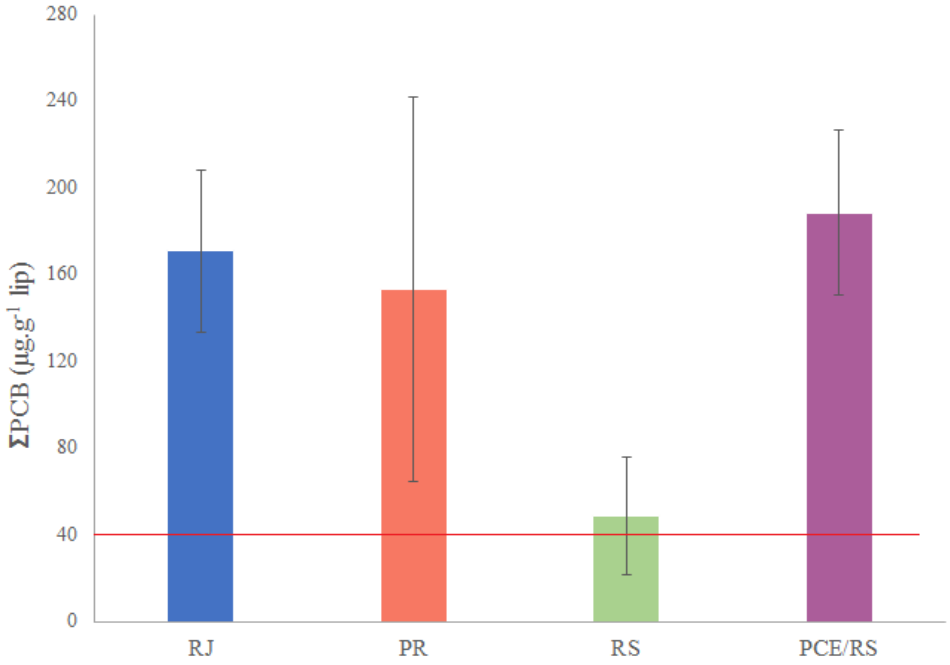
ID	Sexo	Idade (anos)	Maturidade Sexual	%Lip	ΣPCB	ΣDDT	Mirex	HCB	ΣHCH
				Mediana	48,7	18,6	2,3	0,3	-
				Mín - Máx	21,7 - 75,8	14,3 - 23,0	1,2 - 3,5	0,2 - 0,3	-
Sb #24*	M	-	-	24	148,6	10,5	1,5	<0,01	<0,02
Sb #25*	M	-	-	27	188,5	11,1	1,6	<0,01	<0,02
Sb #26*	M	-	-	9	293,6	16,3	1,3	<0,01	<0,02
Sb #27*	M	-	-	23	221,5	16,6	3,9	<0,01	<0,02
Sb #28*	F	-	-	25	64,0	106,4	18,8	<0,01	<0,02
				Média ± DP	183,3 ± 85,3	32,2 ± 41,6	5,4 ± 7,6	-	-
				Mediana	188,5	16,3	1,6	-	-
				Mín - Máx	64,0 - 293,6	10,5 - 106,4	1,3 - 18,8	-	-

Legenda: (*) Biópsias remotas, (M) Macho, (F) Fêmea, (CT) Comprimento total expresso em centímetros; (~) Medida aproximada; (Média±DP) Média ± Desvio Padrão; (Mín-Máx) Mínimo e Máximo.
Fonte: A autora, 2020.

4.1.1 PCBs

Os golfinhos-de-dentes-rugosos coletados na PCE/RS apresentaram valores medianos de ∑PCB de 188,5 µg.g^{-1} lip., enquanto os do RJ apresentaram concentração de 171,2 µg.g^{-1} lip., no PR de 153,3 µg.g^{-1} lip. e no RS de 48,7 µg.g^{-1} lip.. Nas quatro áreas estudadas, os valores medianos de ∑PCB foram maiores que a concentração-limite de 40 µg.g^{-1} lip. para desencadear efeitos deletérios nos sistemas endócrino e imunológico proposta por Jepson e colaboradores (2016) (Figura 13).

Figura 13 – Concentrações medianas de ΣPCB, expressas em µg.g^{-1} lip., em golfinhos-de-dentes-rugosos coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na plataforma continental externa do Rio Grande do Sul entre os anos de 2013 e 2019.



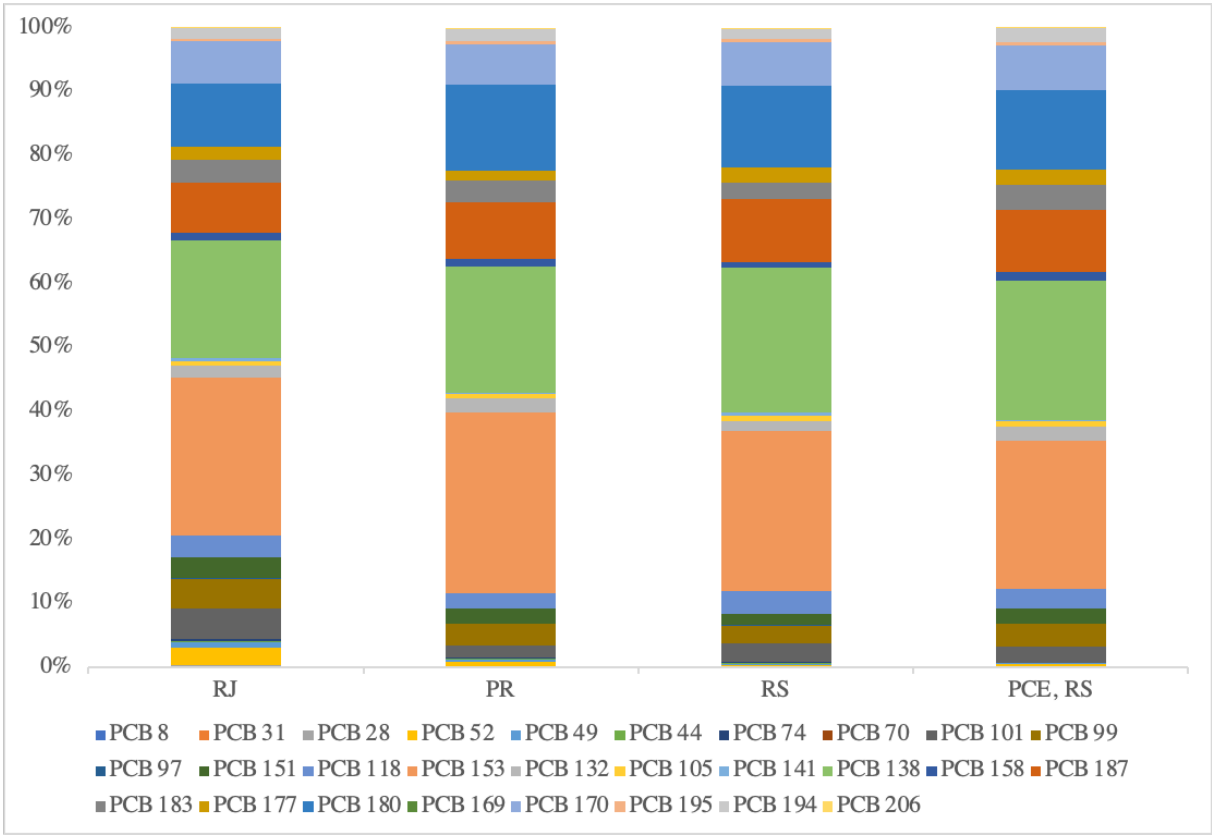
Legenda: (—) Concentração-limite sugerida para desencadear efeitos deletérios em adultos (40 µg.g^{-1} lip).
Nota: Barras de erro representam o erro padrão. Linha vermelha marca a concentração-limite proposto para efeitos deletérios em 40 µg.g^{-1} lip.

Os golfinhos-de-dentes-rugosos coletados no estado do RJ apresentaram a maior quantidade de congêneres de PCBs em seu perfil, totalizando 26 congêneres em seu somatório, dos 28 congêneres analisados. As amostras oriundas do PR e do RS apresentaram 23 congêneres, enquanto as amostras coletadas na PCE/RS apresentaram 20 congêneres

(Figura 14). Os PCBs 153, 138 e 180 predominaram nas quatro localidades estudadas, enquanto os PCBs 8 e 169 não foram detectados em nenhuma das localidades.

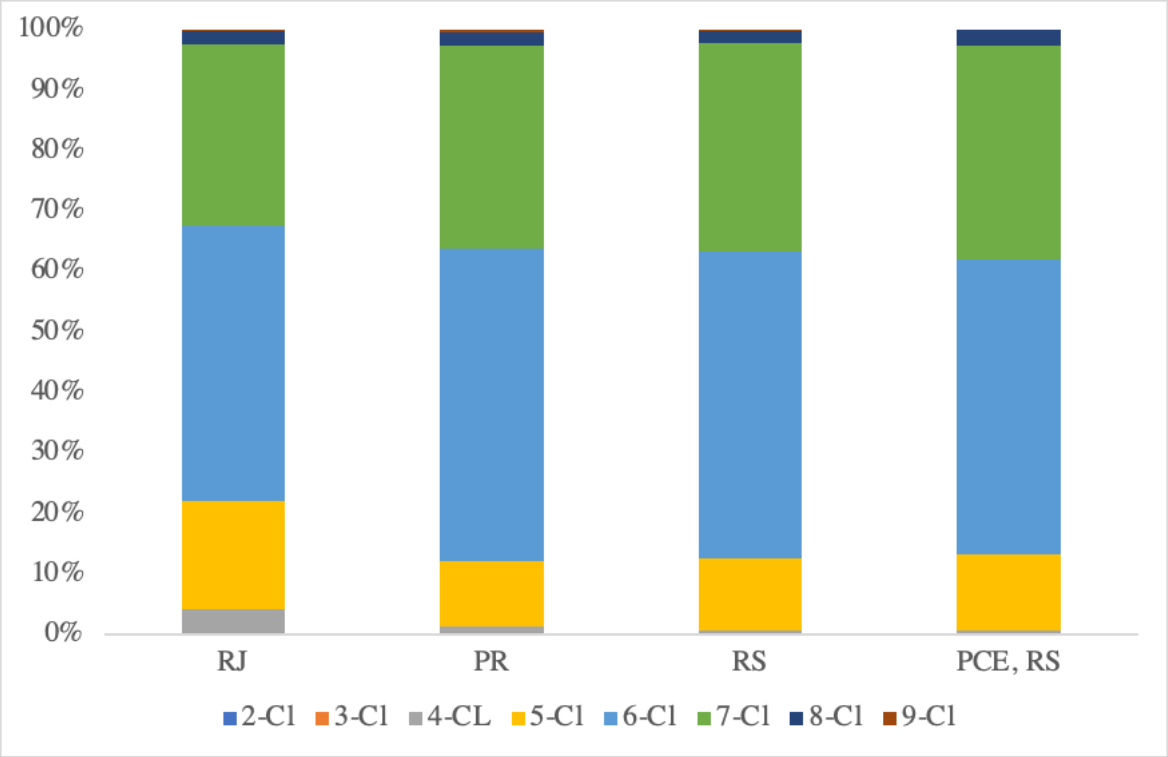
Nas quatro localidades, os compostos hexa-clorados foram predominantes, seguidos dos hepta-clorados e dos penta-clorados (Figura 15). As figuras 14 e 15 evidenciam maior contribuição de compostos mais leves no RJ do que em outras localidades estudadas, como os tri- e tetra-clorados e ausência de nona-clorados (PCB 206) na PCE/RS.

Figura 14 – Perfil de congêneres de PCBs em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na plataforma continental externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.



Legenda: (RJ) Rio de Janeiro; (PR) Paraná; (RS) Rio Grande do Sul; (PCE/RS) Plataforma Continental Externa, Rio Grande do Sul.
Fonte: A autora, 2020.

Figura 15 – Perfil de PCBs por grau de cloração em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na plataforma continental externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.



Legenda: (RJ) Rio de Janeiro; (PR) Paraná; (RS) Rio Grande do Sul; (PCE/RS) Plataforma Continental Externa, Rio Grande do Sul.
Fonte: A autora, 2020.

A razão entre PCBs com menor grau de cloração (tri- e tetra-clorados) e com maior grau de cloração (penta-, hexa-, hepta-, octa- e nona-clorados) é maior nos indivíduos coletados no RJ, enquanto os indivíduos da PCE/RS e do RS apresentam os menores valores da razão (Tabela 6).

Tabela 6 – Razão entre PCBs com menor grau de cloração (3 e 4 átomos de cloro) e com maior grau de cloração (5, 6, 7, 8 e 9 átomos de cloro) em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na Plataforma Continental Externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.

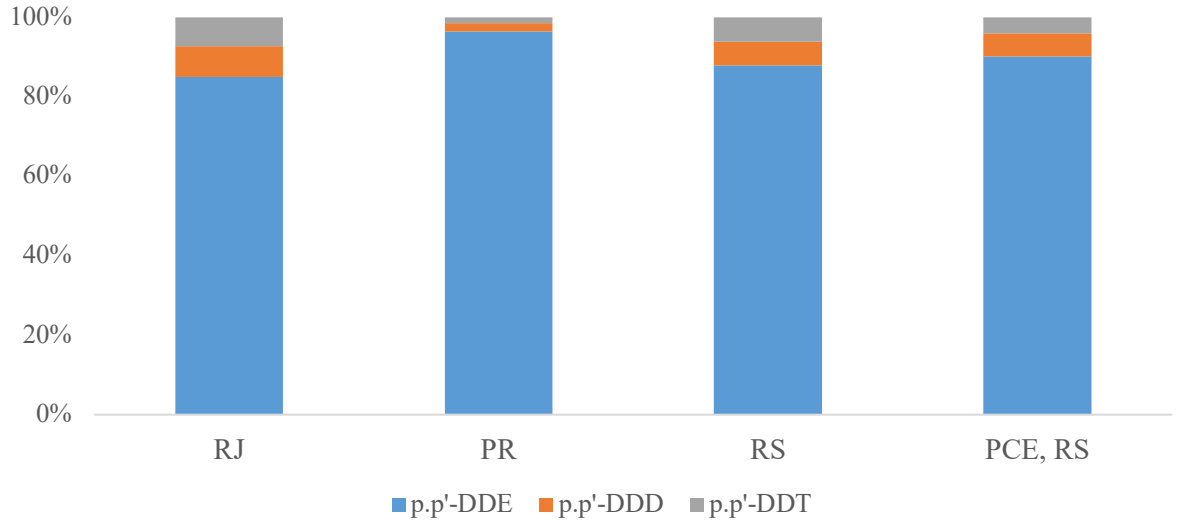
	Razão PCB
RJ	0,043
PR	0,013
RS	0,008
PCE, RS	0,008

Legenda: (RJ) Rio de Janeiro; (PR) Paraná; (RS) Rio Grande do Sul; (PCE/RS) Plataforma Continental Externa, Rio Grande do Sul.
Fonte: A autora, 2020.

4.1.2 DDT e seus metabólitos

Dentre os pesticidas, o ΣDDT predominou nas quatro localidades e a forma mais representativa no somatório foi o *p.p'*-DDE. O PR apresenta a maior contribuição de *p.p'*-DDE, seguida do RS, PCE/RS e RJ. Apenas no RS a contribuição do *p.p'*-DDT foi maior que a do *p.p'*-DDD (Figura 16).

Figura 16 – Perfil de ΣDDT em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na plataforma continental externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.



Legenda: (RJ) Rio de Janeiro; (PR) Paraná; (RS) Rio Grande do Sul; (PCE/RS) Plataforma Continental Externa, Rio Grande do Sul.
Fonte: A autora, 2020.

A razão entre o *p.p'*-DDE e o somatório DDT indica a cronologia de entrada do DDT no ambiente (Tabela 7) e as quatro regiões apresentaram alta razão *p.p'*-DDE/∑DDT, acima do proposto de 0,6 que indica contaminação histórica por DDT.

Tabela 7 – Razão entre *p.p'*-DDE e o ∑DDT em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na Plataforma Continental Externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.

	***p.p'*-DDE/∑DDT**
RJ	0,84
PR	0,96
RS	0,88
PCE, RS	0,86

Legenda: (RJ) Rio de Janeiro; (PR) Paraná; (RS) Rio Grande do Sul; (PCE/RS) Plataforma Continental Externa, Rio Grande do Sul.
Fonte: A autora, 2020.

Além disso, foi determinada também a razão entre ∑DDT e ∑PCB afim de identificar o tipo de atividade prevalente entre as regiões (industrial ou agrícola). O PR apresentou o maior valor para essa razão, enquanto a PCE/RS e o RJ apresentaram os menores valores (Tabela 8).

Tabela 8 – Razão entre o ∑DDT e o ∑PCB em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e na Plataforma Continental Externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.

	∑DDT/∑PCB
RJ	0,1
PR	0,7
RS	0,4
PCE/RS	0,1

Legenda: (RJ) Rio de Janeiro; (PR) Paraná; (RS) Rio Grande do Sul; (PCE/RS) Plataforma Continental Externa, Rio Grande do Sul.
Fonte: A autora, 2020.

4.1.3 Mirex

O Mirex foi o terceiro composto predominante no perfil de todos os locais de estudo. A concentração mediana de Mirex foi maior em indivíduos coletados no PR (4,8 $\mu g.g^{-1}$ lip), seguido do RS (2,3 $\mu g.g^{-1}$ lip), RJ (1,8 $\mu g.g^{-1}$ lip) e menor na PCE/RS (1,6 $\mu g.g^{-1}$ lip) (Tabela 5).

4.1.4 HCB

O HCB apresentou maior concentração mediana no RS (0,3 $\mu g.g^{-1}$ lip), seguido do Paraná (0,2 $\mu g.g^{-1}$ lip) e RJ (0,1 $\mu g.g^{-1}$ lip). Este composto não foi detectado em indivíduos coletados na PCE/RS (Tabela 5).

4.1.5 HCHs

Os HCHs foram detectados em apenas dois indivíduos do presente trabalho. Os isômeros α- e γ-HCH foram encontrados no Sb #6, coletado no RJ, totalizando 0,3 $\mu g.g^{-1}$ lip de ∑HCH, e o isômero β-HCH foi identificado no Sb #21, coletado no PR (Tabela 5).

4.1.6 Comparações entre as áreas de estudo

A análise de função discriminante indicou diferença entre o RJ e o PR, entre o RJ e a PCE/RS e entre o RS e o PR (Wilks' Lambda: 0,004; $F(42,21) = 2,9$; $p< 0,005$) (Tabela 9). As maiores distâncias de Mahalanobis foram obtidas entre locais que sofrem com alta pressão antrópica, como RJ e RS, e a PCE/RS, área mais afastada da costa brasileira estudada.

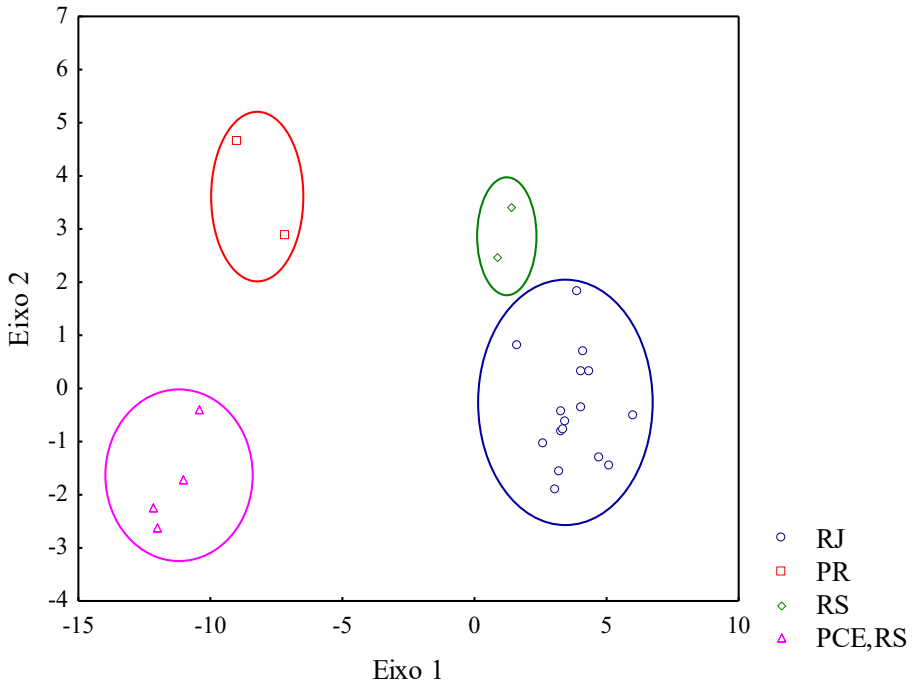
Tabela 9 – Valores de F, a distância de Mahalanobis D^2 e os valores de p obtidos a partir da análise de função discriminante em golfinhos-de-dentes-rugosos coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e plataforma continental externa no Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.

Local x Local	**Valor de F**	**Distância de Mahalanobis D^2**	**Valor de p**
RJ x PR	7,1	158,9	0,0073
RJ x RS	1,0	22,2	0,5387
RJ x PCE/RS	18,6	232,6	0,0003
PR x RS	2,4	94,9	0,1269
PR x PCE/RS	1,5	44.2	0,3118
RS x PCE/RS	6,1	181,6	0,0115

Legenda: (RJ) Rio de Janeiro; (PR) Paraná; (RS) Rio Grande do Sul; (PCE/RS) Plataforma Continental Externa, Rio Grande do Sul.
Fonte: A autora, 2020.

Os compostos que se adequaram à análise de função discriminante foram PCB 28, PCB 52, PCB 49, PCB 44, PCB 74, PCB 101, PCB 99, PCB 97, PCB 118, PCB 153, PCB 141, PCB 195, PCB 194 e o *p.p'*-DDE. A representação gráfica das duas primeiras variáveis canônicas mostra a separação entre as regiões. Os PCBs 52 e 153 foram os que mais forçaram a separação positivamente enquanto os PCBs 44 e 99 forçaram mais a separação negativamente (Figura 17).

Figura 17 – Representação gráfica das variáveis canônicas para os golfinhos-de-dentes-rugosos coletados nos estados do Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e plataforma continental externa do Rio Grande do Sul, entre os anos de 2013 e 2019.



Legenda: (RJ) Rio de Janeiro; (PR) Paraná; (RS) Rio Grande do Sul; (PCE/RS) Plataforma Continental Externa, Rio Grande do Sul.
Fonte: A autora, 2020.

4.2 **Influência de parâmetros biológicos na bioacumulação de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos**

4.2.1 Sexo e maturidade sexual

Foram encontradas diferenças significativas no padrão de bioacumulação de compostos organoclorados entre indivíduos imaturos, fêmeas maturas e machos maturos de golfinhos-de-dentes-rugosos coletados no RJ (teste de Kruskal-Wallis: H_2, N = 16, $p < 0,05$). Os machos maturos apresentaram concentrações maiores que os imaturos em 13 compostos analisados (PCBs 99, 151, 153, 132, 138, 187, 183, 177, 180, 170, 194, ΣPCB e Mirex). Os imaturos apresentaram concentrações maiores de PCBs 44, 74, 97 e 141 do que as fêmeas maturas. A concentração dos PCBs 52 e 195 foram maiores nos machos maturos que nas fêmeas maturas (Tabela 10).

Tabela 10 – Valores de H e p do teste de Kruskal-Wallis indicando as diferenças nas concentrações de POPs entre indivíduos imaturos, fêmeas maturas e machos maturos de golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados entre 2013 e 2019 no estado do Rio de Janeiro.

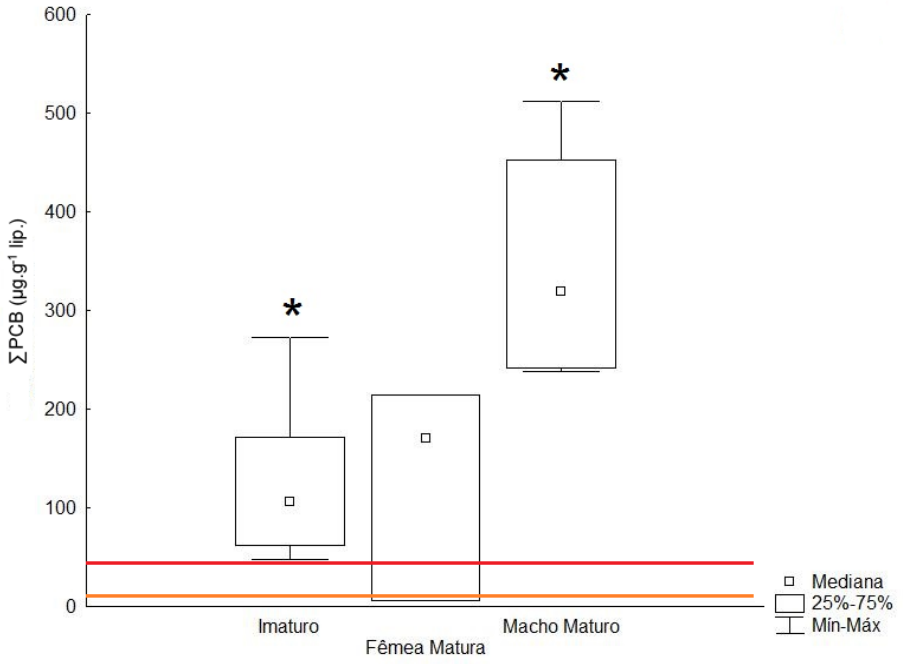
	Valor de H	**Valor de p**	**Imaturo**	**Fêmea Matura**	**Macho Maturo**
PCB 28	5,5	0,063			
PCB 52	6,8	0,033		*	*
PCB 49	4,1	0,126			
PCB 44	7,7	0,021	*	*	
PCB 74	6,9	0,032	*	*	
PCB 101	5,0	0,084			
PCB 99	7,2	0,027	*		*
PCB 97	10,1	0,006	*	*	
PCB 151	7,4	0,024	*		*
PCB 118	5,4	0,663			
PCB 153	8,0	0,018	*		*
PCB 132	7,1	0,028	*		*
PCB 105	5,7	0,059			
PCB 141	9,1	0,010	*	*	
PCB 138	7,1	0,029	*		*
PCB 158	5,9	0,052			
PCB 187	7,8	0,020	*		*
PCB 183	8,1	0,017	*		*
PCB 177	7,8	0,020	*		*
PCB 180	7,8	0,020	*		*
PCB 170	7,9	0,020	*		*
PCB 195	7,3	0,026		*	*
PCB 194	7,4	0,025	*		*
PCB 206	4,7	0,094			
∑PCB	7,1	0,029	*		*
HCB	4,9	0,087			
***p.p'*-DDE**	4,3	0,119			
***p.p'*-DDD**	1,9	0,387			
***p.p'*-DDT**	2,2	0,329			
∑DDT	4,3	0,119			
Mirex	6,4	0,042	*		*

Legenda: (*) Diferença significativa ($p \leq 0,05$).
Fonte: A autora, 2020.

No RJ, imaturos, fêmeas maturas e machos maturos apresentaram concentrações medianas acima do limite de 10 $\mu g.g^{-1}$ lip., sugerido para redução da sobrevivência de filhotes

de golfinhos-nariz-de-garrafa por Hall e colaboradores (2006) e do limite de 40 µg.g^{-1} lip., proposto para efeito deletérios em mamíferos marinhos adultos (Jepson *et al*., 2016) (Figura 18).

Figura 18 – Concentração de ΣPCB, expressa em µg.g^{-1} lip., em indivíduos imaturos, fêmeas maturas e machos maturos de golfinhos-de-dentes-rugosos coletados no estado do Rio de Janeiro, entre os anos de 2013 e 2019.



Legenda: (*) Diferença significativa (p ≤ 0,05); ( ) concentração-limite proposta para diminuir a sobrevivência de filhotes (10 µg.g^{-1} lip); ( ) concentração-limite sugerida para desencadear efeitos deletérios em adultos (40 µg.g^{-1} lip).
Fonte: A autora, 2020.

4.2.2 Idade

Para a análise da correlação entre a idade e as concentrações de POPs, os indivíduos coletados no RJ foram divididos em dois grupos a fim de observar o comportamento dos compostos ao longo do desenvolvimento e contando com as diferenças encontradas entre os sexos: um grupo contando com os imaturos e as fêmeas maturas (n=12) e um grupo com os imaturos e os machos maturos (n=13).

Foram encontradas correlações negativas entre as concentrações de PCB 28, PCB 97 e PCB 141 e a idade quando analisados os golfinhos-de-dentes-rugosos imaturos e as fêmeas maturas (correlação de Spearman, p< 0,05, Tabela 11) (Figura 19). Em contrapartida, os

imaturos e machos maturos apresentaram um padrão diferente do observado no grupo anterior: a maioria dos compostos apresentou uma correlação positiva entre a idade e a concentração de PCB 52, PCB 99, PCB 151, PCB 153, PCB 132, PCB 138, PCB 158, PCB 187, PCB 183, PCB 177, PCB 180, PCB 170, PCB 195, PCB 194, PCB 206, ΣPCB, *p.p'*-DDE, ΣDDT e mirex (correlação de Spearman, $p < 0,05$; Tabela 11) (Figura 20). O único composto que apresentou correlação negativa com a idade de imaturos e machos maturos de golfinhos-de-dentes-rugosos foi o PCB 97 (correlação de Spearman, $p < 0,05$; Tabela 11).

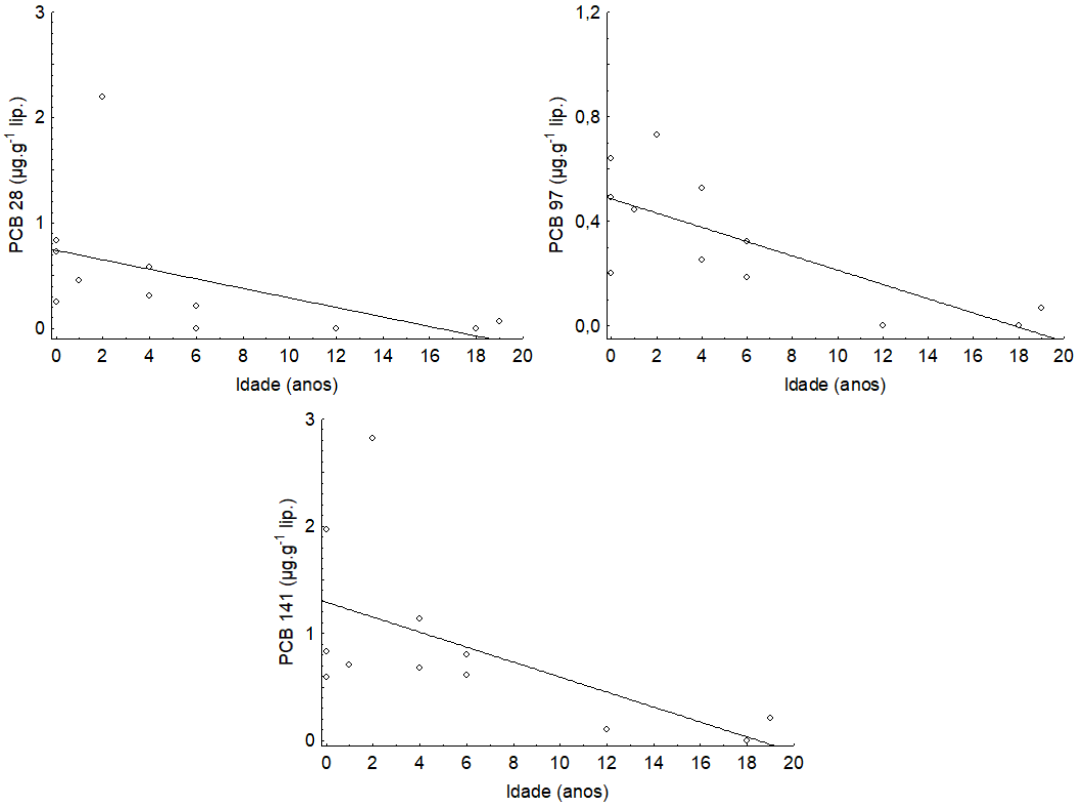
Tabela 11 – Valores de r e p da correlação de Spearman entre a idade e as concentrações de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, coletados entre 2013 e 2019 no estado do Rio de Janeiro.

	r de Spearman	**Valor de p**	**r de Spearman**	**Valor de p**
	Imaturos e Fêmeas Maturas (n=12)		Imaturos e Machos Maturos (n=13)	
PCB 28	-0.77	0.004*	-0.54	0.056
PCB 52	0.00	0.991	0.71	0.007*
PCB 49	-0.53	0.073	-0.36	0.223
PCB 44	-0.55	0.063	-0.41	0.167
PCB 74	-0.44	0.150	0.14	0.658
PCB 101	-0.08	0.793	0.43	0.143
PCB 99	0.22	0.487	0.76	0.003*
PCB 97	-0.71	0.010*	-0.65	0.017*
PCB 151	0.17	0.590	0.76	0.002*
PCB 118	-0.10	0.760	0.50	0.079
PCB 153	0.39	0.207	0.82	0.001*
PCB 132	0.32	0.314	0.80	0.001*
PCB 105	-0.29	0.361	0.25	0.417
PCB 141	-0.63	0.027*	-0.47	0.109
PCB 138	0.34	0.281	0.77	0.002*
PCB 158	0.24	0.445	0.73	0.004*
PCB 187	0.46	0.133	0.82	0.001*
PCB 183	0.44	0.154	0.83	0.0004*
PCB 177	0.31	0.325	0.76	0.002*
PCB 180	0.47	0.120	0.83	0.0004*
PCB 170	0.39	0.212	0.80	0.001*
PCB 195	-0.14	0.669	0.64	0.019*
PCB 194	0.34	0.281	0.73	0.005*
PCB 206	0.52	0.083	0.79	0.001*
∑PCB	0.33	0.302	0.76	0.003*
HCB	-0.25	0.424	0.06	0.857

	r de Spearman	Valor de p	r de Spearman	Valor de p
***p.p'*-DDE**	0.33	0.297	0.77	0.002*
***p.p'*-DDD**	0.07	0.836	0.45	0.124
***p.p'*-DDT**	0.29	0.361	0.52	0.068
∑DDT	0.33	0.297	0.77	0.002*
Mirex	0.55	0.061	0.88	0.00006*

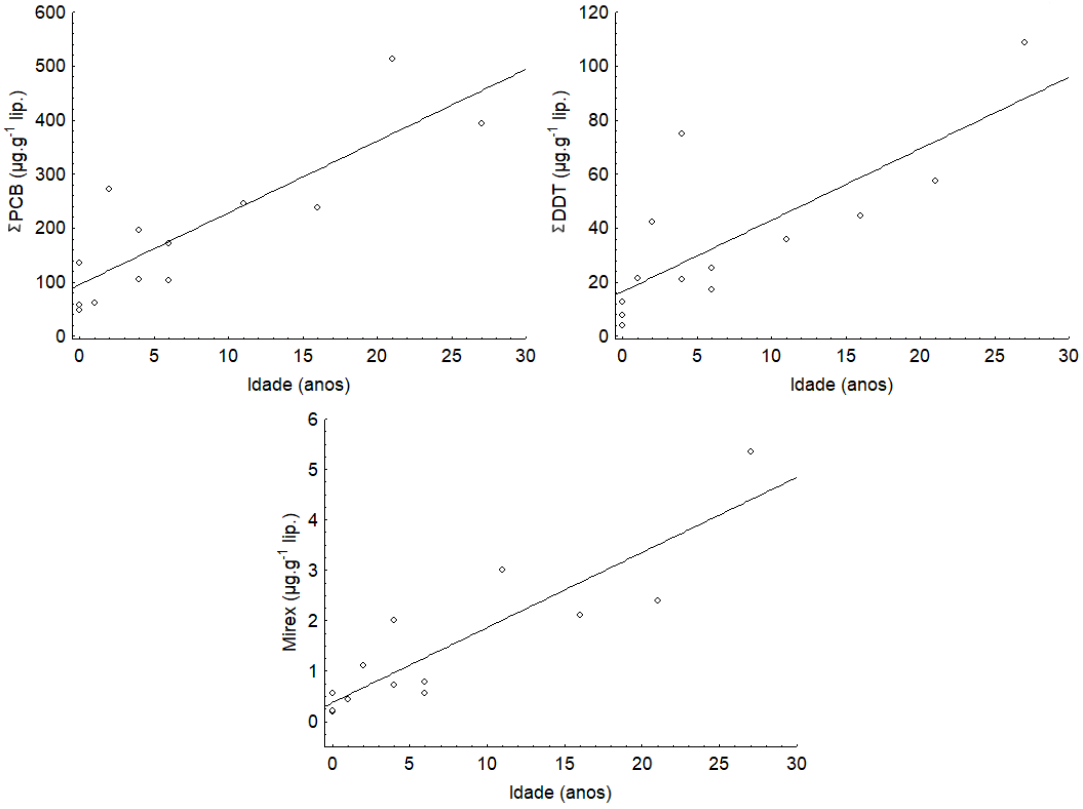
Legenda: (*) Diferença significativa ($p \leq 0,05$).
Fonte: A autora, 2020.

Figura 19 – Correlações negativas entre as concentrações de PCB (PCB 28, PCB 97 e PCB 141), expressas em µg.g^{-1}lip., e a idade de golfinhos-de-dentes-rugosos imaturos e fêmeas maturas.



Fonte: A autora, 2020.

Figura 20 – Correlações positivas entre as concentrações de ∑PCB, ∑DDT e mirex, expressas em µg.g^{-1}lip., e a idade de golfinhos-de-dentes-rugosos imaturos e machos maturos.



Fonte: A autora, 2020.

5 **DISCUSSÃO**

5.1 **Bioacumulação de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos nas regiões sudeste e sul do Brasil**

Poucos trabalhos tratam da contaminação por POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos no mundo e, por conta das dificuldades inerentes à obtenção de amostras que não estejam em avançado estágio de decomposição, em geral, possuem um baixo n amostral. Dentre estes, alguns apresentaram concentrações de compostos organoclorados em diferentes tecidos do golfinho-de-dentes-rugosos (O'Shea *et al*., 1980; Marsili & Focardi, 1997; Lavandier *et al*., 2015) mostrando que o tecido adiposo subcutâneo é o tecido preferencial de armazenamento (O'Shea *et al*., 1980; Marsili & Focardi, 1997). Estudos de contaminantes em golfinhos-de-dentes-rugosos expressam seus resultados em unidades diferentes: como peso úmido (O'Shea *et al*., 1980; Tuerk *et al*., 2005), peso seco (Marsili & Focardi, 1997) e peso lipídico (Chou *et al.*, 2004; Struntz *et al.*, 2004; Yogui *et al*., 2010; Lailson-Brito *et al*., 2012; Dorneles *et al*., 2013; Bachman *et al*., 2014). Apesar destas diferenças, as comparações entre as concentrações de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos de diferentes locais do mundo se fazem necessárias para situar as populações do presente estudo no cenário global, porém requerem certa cautela ao interpretá-las. A compilação da literatura a respeito da contaminação por POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos encontra-se na tabela 12.

Em geral, mamíferos marinhos do hemisfério norte tendem a apresentar maior contaminação por POPs devido, principalmente, à concentração da produção destes compostos em países desenvolvidos e altamente industrializados, além da urbanização e ampla aplicabilidade dos POPs por décadas até sua proibição (Connell *et al*., 2010; Stockholm Convention, 2004). No entanto, as menores concentrações de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos do hemisfério norte podem estar associadas à presença dessa espécie em águas com mais de 1000m de profundidade e mais afastados da costa no norte do Oceano Pacífico, onde é considerado uma espécie oceânica (Gannier & West, 2005; Baird *et al*., 2008). Portanto, a distância das fontes de produção e utilização destes compostos implica em menores concentrações encontradas em populações oceânicas.

As concentrações de ΣPCB em tecido adiposo subcutâneo de golfinhos-de-dentes-rugosos coletados nas regiões sudeste e sul do Brasil são superiores às observadas em outros

locais do mundo. A concentração mediana de ΣPCB encontrada em machos maturos coletados no RJ, por exemplo, chega a ser mais de dez vezes maior que em machos coletados no Golfo do México e de um indivíduo no estado de São Paulo (SP) (Struntz *et al*., 2004; Yogui *et al*., 2010). É ainda cerca de 30 vezes superior ao observado em machos coletados no Havaí e 100 vezes superiores às reportadas para machos maturos em Taiwan, que apresentam as menores concentrações reportadas para esta espécie (O'Shea *et al.*, 1980; Chou *et al.*, 2004; Bachman *et al*., 2014).

Para o ΣDDT, os valores encontrados no presente estudo foram maiores em machos maturos coletados no Paraná e se assemelham à concentração encontrada por Yogui e colaboradores (2010) em um macho maturo coletado no SP. Indivíduos coletados no RJ, na costa do RS, na PCE/RS, no Golfo do México e Havaí apresentam concentrações na mesma ordem de grandeza (Struntz *et al*., 2004; Tuerk *et al*., 2005; Bachman *et al*., 2014). A uniformidade das concentrações de DDTs em populações costeiras e oceânicas sugerem um transporte eficiente destes compostos para locais mais afastados da costa a partir de sua fonte de emissão.

Tabela 12 – Revisão bibliográfica referente às concentrações de ∑PCB, ∑DDT, ∑HCH, HCB e Mirex analisados em tecido adiposo subcutâneo de golfinhos-de-dentes-rugosos, *Steno bredanensis*, no mundo.

Local	Coleta	n	Sexo	CT (cm)	Maturidade	∑ PCB	∑ DDT	∑ HCH	HCB	Mirex	Referência
Rio de Janeiro, Brasil	2013 - 2019	9	F/M	211	Imaturo	106,1	20,9	ND	0,2	0,6	**Presente estudo**
		3	F	264	Maturo	170,2	14,5	ND	0,1	3,2	
		4	M	267	Maturo	319,1	51,0	0,3	0,1	2,7	
	2013	3	M*	-	-	306,5	42,2	ND	0,1	2,1	
Paraná, Brasil	2016-2017	2	M	270	Maturo	153,3	100,9	1,4	0,2	4,8	
Rio Grande do Sul (RS), Brasil	2017	1	F	221	Imaturo	21,7	14,3	ND	0,3	1,2	
		1	M	242	Maturo	75,8	23,0	ND	0,2	3,5	
Plataforma Continental Externa, RS, Brasil	2014-2015	1	F*	-	-	64,0	106,4	ND	ND	18,8	
		4	M*	-	-	205,0	13,7	ND	ND	1,5	
Havaí, Estados Unidos da América ♦	1968- 1976	4	F	211	-	32	10,2	NA	ND	NA	O'Shea et al., 1980
		3	M	225	-	7,2	4,6	NA	ND	NA	O'Shea et al., 1980

Local	Coleta	n	Sexo	CT (cm)	Maturidade	∑ PCB	∑ DDT	∑ HCH	HCB	Mirex	Referência
Mar Mediterrâneo, Itália •	1991	1	F	289	-	24,5	7,3	NA	0,2	NA	Marsili & Focardi, 1997
Taiwan, República da China ∇	2000-2001	3	M	-	Maturo	3,5	NA	NA	NA	NA	Chou *et al*., 2004
		2	F	-	Maturo	17,0	NA	NA	NA	NA	Chou *et al*., 2004
Golfo do México, Estados Unidos da América	1997	9	F	216	-	27,5	12,3	0,02	0,1	0,4	Struntz *et al*., 2004
		6	M	199	-	38,3	16,6	0,02	0,1	0,6	Struntz *et al*., 2004
Golfo do México, Estados Unidos da América ♦ ∇	1997	7	F/M	-	Imaturo	24,1	12,0	0,04	0,04	0,3	Tuerk *et al*., 2005
		6	F	-	Maturo	10,9	5,4	0,02	0,02	0,2	Tuerk *et al*., 2005
São Paulo, Brasil		1	M	263	-	26,8	118,0	0,01	0,02	0,6	Yogui *et al*., 2010
Rio de Janeiro, Brasil	2000 - 2005	2	F	225	-	69,9	25,8	NA	0,2	NA	Lailson-Brito *et al*., 2012
		1	M	245	-	119,3	27,5	NA	0,5	NA	Lailson-Brito *et al*., 2012
Rio de Janeiro, Brasil ◊	1994 - 2006	2	F	-	-	10,1	NA	NA	NA	NA	Dorneles *et al*., 2013

Local	Coleta	n	Sexo	CT (cm)	Maturidade	∑ PCB	∑ DDT	∑ HCH	HCB	Mirex	Referência
		1	M	-	-	11,1	NA	NA	NA	NA	Dorneles *et al*., 2013
Havaí, Estados Unidos da América	2011	1	M	-	Maturo	13,8	16,1	0,03	0,1	0,8	Bachman *et al*., 2014

Nota: As concentrações medianas dos compostos organoclorados estão expressas em $\mu g.g^{-1}$ lip., a não ser que indicado na tabela outra unidade.

Legenda: (CT) Comprimento total médio expresso em centímetros; (M) Macho; (F) Fêmea; (Maturidade) Maturidade Sexual; (*) Biópsias remotas; (♦) concentrações expressas em $\mu g.g^{-1}$ peso úmido; (●) concentrações expressas em $\mu g.g^{-1}$ peso seco; (◊) PCBs tipo-dioxina; (∇) concentração média; (ND) Abaixo do limite de detecção; (NA) Não-analisado; (-) Não informado pelo autor.

Dentre os outros pesticidas organoclorados estudados, as concentrações medianas de mirex em golfinhos-de-dentes-rugosos do RJ, PR, RS e PCE/RS são uma ordem de grandeza maiores que o identificado nos indivíduos analisados no Golfo do México, Havaí e SP (Struntz *et al*., 2004; Tuerk *et al*., 2005; Yogui *et al*., 2010). As concentrações de HCB encontradas no presente estudo também foram uma ordem de grandeza maiores que as observadas no Golfo do México e em SP (Tuerk *et al*., 2005; Yogui *et al*., 2010).

5.1.1 PCBs

A predominância do ∑PCB no perfil bioacumulaivo dos golfinhos-de-dentes-rugosos nas regiões sul e sudeste do Brasil mostra o caráter urbanizado e industrializado da área de estudo, além do alcance destes compostos até áreas afastadas da costa, como a PCE/RS. Os PCBs foram amplamente aplicados em áreas de desenvolvimento urbano (Silva, 2004) e apesar de sua proibição no Brasil ter se iniciado há cerca de 40 anos, ainda são encontrados em concentrações altas principalmente em predadores de topo das teias tróficas marinhas, como determinado nos golfinhos-de-dentes-rugosos.

As principais formulações comercializadas no Brasil, sob o nome de Ascarel®, eram ricas em congêneres hexa- e hepta-clorados (Penteado & Vaz, 2001), explicando o predomínio destas formas no tecido adiposo dos delfinídeos. Além disso, o PCB 153, encontrado em maiores concentrações em todos os indivíduos analisados, é considerado um dos congêneres mais recalcitrantes (Hawker & Connell, 1988).

Perfil semelhante foi encontrado em outras espécies costeiras e oceânicas de delfinídeos no RJ, como boto-cinza, golfinho-nariz-de-garrafa, golfinho-comum (*Delphinus delphis*), golfinho-de-Fraser (*Lagenodelphis hosei*), orca (*Orcinus orca*) e pseudorca (*Pseudorca crassidens*) (Lailson-Brito *et al*., 2010; Lailson-Brto *et al*., 2012). Tanto a exposição, quanto a metabolização destes compostos influenciam na semelhança entre o perfil de bioacumulação de PCBs de espécies de habitats distintos (Lailson-Brito *et al*., 2012).

A maior contribuição por compostos leves no RJ, evidenciada pela razão entre PCBs de baixo e alto peso molecular, pode estar relacionada às características do corpo d'água. Em geral, PCBs de alto peso molecular e/ou que apresentam baixa solubilidade em água tendem a se associar à matéria orgânica particulada, o que leva a redução do seu tempo de residência nos corpos d'água (Dachs *et al*., 2002; Takahashi *et al*., 2000). Dessa forma, ambientes

eutrofizados, como a Baía de Guanabara, no RJ, apresentam uma menor disponibilidade destes compostos, do que ambientes com menor quantidade de matéria orgânica particulada, como a PCE/RS.

É provável que as concentrações de PCBs em golfinhos-de-dentes-rugosos reportadas até o momento sejam maiores em indivíduos coletados na costa do RJ do que em outros locais do mundo devido ao hábito costeiro apresentado pela espécie no litoral sudeste-sul do Brasil e ampla utilização dos recursos dessa área, que sofre com a alta pressão antrópica de uma das áreas de maior densidade demográfica do Brasil (Lodi & Hetzel, 1998; Lodi *et al*., 2012; Carvalho, 2018; Santos *et al*., 2019).

Dessa forma, torna-se preocupante a situação das populações de golfinhos-de-dentes-rugosos das regiões sudeste e sul do Brasil cujas concentrações encontradas apresentam-se acima dos limites sugeridos. A concentração-limite de PCB proposta para desencadear severos efeitos morfo-fisiológicos em mamíferos aquáticos adultos é de 40 $\mu g.g^{-1}$ lip. (Hall *et al*., 2006; Jepson *et al*., 2016), enquanto a concentração de 10 $\mu g.g^{-1}$ lip. foi considerada como limite para reduzir a sobrevivência de golfinhos-nariz-de-garrafa em estágios mais críticos de seu desenvolvimento, como filhotes (Hall *et al*., 2006). Nas quatro áreas de estudo analisadas, as concentrações medianas de ∑PCB encontraram-se acima dos limites sugeridos (entre 48,7 no RS $\mu g.g^{-1}$ lip. e 188,5$\mu g.g^{-1}$ lip. na PCE/RS). Indivíduos machos maturos no RJ apresentaram concentração mediana de 319 $\mu g.g^{-1}$ lip e valor máximo de 647 $\mu g.g^{-1}$ lip, na mesma ordem de magnitude de populações de orcas prestes a entrarem em colapso (Desforges *et al*., 2018).

Modelos preditivos utilizando diferentes populações de orcas em toda a sua distribuição prognosticam o declínio da espécie nos próximos 100 anos em função da desregulação endócrina - com efeitos no sistema reprodutivo - e da imunossupressão desencadeados pelas altas concentrações de PCBs (Helle *et* al., 1976, Hall *et al*., 2006; Desforges *et al*., 2018). São diversos os efeitos deletérios no sistema imunológico, endócrino e reprodutivo e o potencial carcinogênico em mamíferos marinhos associados às altas concentrações de PCBs. Já foram observadas a redução da proliferação de linfócitos mediante apresentação a antígenos (Desforges *et al*., 2016), e a maior probabilidade de infecção em decorrência de deficiência do sistema imunológico de cetáceos (Hall *et al*., 2018). De fato, alguns estudos com mamíferos abordam o papel da contaminação por PCBs na depleção do sistema imunológico e facilitação do surgimento de infecções virais e bacterianas (Mazzariol *et al*., 2018). Ademais, altas concentrações de PCBs podem levar a uma menor taxa de sobrevivência da prole (Reddy *et al*., 2001; Schwake *et al*., 2001) por conta da transferência

materna de contaminantes para fetos e filhotes em fase crítica de desenvolvimento, além de desencadear alterações hormonais (Galligan *et al*., 2019), ambos fatores que podem influenciar negativamente o sucesso reprodutivos da espécie e, consequentemente, a manutenção das populações.

5.1.2 DDT e seus metabólitos

O ΣDDT foi o segundo maior contribuinte no perfil em golfinhos-de-dentes-rugosos. Este pesticida foi amplamente aplicado na agricultura e no controle de pragas, como a malária e a leishmaniose, na América do Sul, podendo ser lixiviado ou volatilizado e atingindo o ambiente marinho (Damato *et al*., 2002), onde é absorvido pela biota marinha. Em regiões tropicais, a alta radiação solar e alta temperatura da água favorecem a volatilização de compostos organoclorados, como o DDT. No entanto, sua forma mais persistente e a mais encontrada nos golfinhos-de-dentes-rugosos das regiões sul e sudeste, o *p.p'*-DDE, sofre baixa taxa de degradação ambiental. A alta concentração deste isômero em matrizes biológicas é indicativo de fonte antiga de contaminação por DDT (Aguilar, 1984). Dessa forma, quando a razão DDE/∑DDT é maior que 0,6 entende-se que não há nova entrada deste pesticida no ambiente (Aguilar, 1984), conforme observado nos golfinhos-de-dentes-rugosos coletados no presente estudo (0,84 no RJ a 0,96 no PR).

A maior contribuição do ΣDDT nos indivíduos do PR quando comparadas aos outros locais é indicativo de sua alta aplicabilidade como controle de vetores e em atividades agrícolas na região e alta drenagem deste pesticida para o ambiente marinho.

A razão ∑DDT/∑PCB menor que 1,0 nos locais de estudo mostra a predominância de atividades industrias e/ou influência do adensamento populacional sobre as atividades rurais, representando o caráter industrial e urbano das regiões sudeste-sul do Brasil. Além disso, esta razão mostra também um alcance maior dos PCBs para a área de estudo mais afastada da costa, como a PCE/RS. Seja pelo transporte da costa para a plataforma continental através de espécies migratórias, como o peixe-espada (Magro, 2006), ou pela própria movimentação do golfinho-de-dentes-rugosos.

A atividade inseticida do DDT se dá pela ação nas bombas de sódio/potássio nas membranas dos axônios, e este desequilíbrio no sistema nervoso central pode gerar desde alterações comportamentais até a morte. Em mamíferos, a exposição crônica ao DDT pode

ocasionar lesões hepáticas e renais, alterações nas células sanguíneas, além de serem promotores de tumores e induzirem efeitos estrogênicos (Damato *et al*., 2002; Almeida *et al*., 2007). Ademais, estudos sugerem uma forte correlação negativa entre as concentrações de DDTs e PCBs e o sucesso reprodutivo, observado a partir da sobrevivência de fetos e filhotes, em golfinhos-nariz-de-garrafa (Reddy *et al*., 2001). Fêmeas com concentrações médias de 29,6 $\mu g.g^{-1}$ peso úmido de ∑DDT obtiveram sucesso reprodutivo menor que fêmeas com concentrações três vezes menores (Reddy *et al*., 2001). As concentrações de ΣDDT encontradas em golfinhos-de-dentes-rugosos do presente estudo encontram-se na mesma ordem de grandeza que os golfinhos-nariz-de-garrafa no estudo de Reddy e colaboradores (2001), e as concentrações de PCBs dos golfinhos-de-dentes-rugosos encontram-se muito acima dos valores observados em golfinhos-nariz-de-garrafa do estudo em questão, porém vale ressaltar que as concentrações no estudo de Reddy e colaboradores (2001) estão expressas em peso úmido.

5.1.3 Mirex

O mirex foi o terceiro composto mais abundante em golfinhos-de-dentes-rugosos da área de estudo. É provável que este composto tenha sido encontrado em maiores concentrações que o HCB e o HCH devido ao alto seu grau de persistência conferido pelo maior número de átomos de cloro na molécula, uma vez que a importação deste composto, no Brasil, ocorreu em menor quantidade que os outros pesticidas organoclorados (Yogui *et* al., 2010). As altas concentrações de mirex no PR, em conjunto com a maior influência do ΣDDT neste local, mostram a alta atividade agrícola nesta região.

O alto peso molecular e alto coeficiente de partição octanol-água deste composto dificultam a metabolização e excreção por vertebrados (ASTDR, 2019; Zitko, 2002). Um estudo com o peixe sargo (*Lepomis macrochirus*) exposto ao mirex mostrou taxa de acumulação do composto a partir da água e dieta de 0,070 mg/kg/dia, no entanto, não foi observada uma taxa de eliminação significativa no experimento, demonstrando o caráter persistente do mirex em vertebrados (Skaar *et al.*, 1981), favorecendo a biomagnificação deste composto.

Estudos abordando possíveis efeitos do mirex em mamíferos são escassos, no entanto em roedores o mirex e seus derivados foram responsáveis por agravar alterações histológicas

no fígado causadas por PCBs e PBDEs (Chu *et al*., 1980), além de reduzir a contagem de espermatozoides em machos e redução do fluxo sanguíneo no útero de fêmeas (ASTDR, 2019), podendo interferir na reprodução dos cetáceos.

5.1.4 HCB

As concentrações mais baixas de HCB em relação a outros pesticidas organoclorados em golfinhos-de-dentes-rugoso podem estar relacionadas à volatilidade do composto e, consequentemente, à sua capacidade de dispersão (Starek-Swiechowicz *et al*., 2017). Sua alta pressão de vapor favorece o transporte atmosférico para os polos (Wania & MacKay, 1996), que têm sido considerados reservatórios de compostos leves como o HCB e os HCHs (Aguilar *et al*., 2002). E, enquanto compostos de baixo peso molecular são transportados por longas distâncias – dos trópicos para os polos – os de alto peso molecular tendem a depositar nos trópicos, onde bioacumulam e biomagnificam (Wania & MacKay, 1996). Além disso, o HCB também pode ser degradado mais facilmente que outros POPs como os DDTs e PCBs, principalmente nos trópicos por fotodegradação (EUROCHLOR, 2002). Na biota, o HCB afeta principalmente o fígado e a tireoide, pode apresentar efeitos no sistema reprodutivo, além de potencial teratogênico e carcinogênico (Starek-Swiechowicz *et al*., 2017). No entanto, poucos trabalhos tratam da exposição crônicas ao HCB em baixas concentrações, como as obtidas em golfinhos-de-dentes-rugosos.

5.1.5 HCHs

Os HCHs foram detectados em apenas dois indivíduos (Sb #6, coletado no Rio de Janeiro e Sb#21, coletado no Paraná) dentre os 28 analisados no presente estudo. As concentrações de HCHs em golfinhos-de-dentes-rugosos não é representativa da aplicabilidade destes compostos no Brasil, uma vez que a estimativa de importação dos HCHs é quase 100 vezes maior que o mirex (Almeida *et al*., 2007; Yogui *et al*., 2010), por exemplo, sendo o último encontrado em maiores concentrações no tecido dos golfinhos-de-dentes-rugosos. Os HCHs são pesticidas organoclorados não-recalcitrantes com alta volatilidade e

alta pressão de vapor, que favorecem o transporte atmosférico destes compostos de regiões tropicais para regiões polares (Iwata *et al*., 1993; Wania & MacKay, 1996) e, por isso, podem não ser encontrados em altas concentrações em golfinhos-de-dentes-rugosos da área de estudo.

5.1.6 Comparações entre as áreas de estudo

O perfil de compostos organoclorados em mamíferos marinhos pode auxiliar na diferenciação de populações com sobreposição de distribuição geográfica (Aguilar, 1987) e já foi aplicado com sucesso em populações de botos-cinza no RJ e no Ceará, por exemplo (Lailson-Brito *et al*., 2010; Santos-Neto *et al*., 2014).

Para os golfinhos-de-dentes-rugosos, a separação dos indivíduos coletados no RJ, no PR, no RS e na PCE/RS pela análise de função discriminante sugere diferenciação entre as populações de golfinhos-de-dentes-rugosos nas regiões sudeste e sul do Brasil, corroborado por evidências genéticas e de padrões de movimentação da espécie (Silva *et al*., 2015; Santos *et al*., 2019). O baixo n amostral, principalmente nos estados do Paraná e Rio Grande do Sul (n=2, cada) além da influência do sexo e maturidade sexual dos indivíduos coletados podem interferir na interpretação dos resultados (Aguilar, 1987), e estes devem ser tratados com cautela. No entanto vale ressaltar a escassez de dados sobre as populações desta espécie, e o presente trabalho apresenta-se como uma importante ferramenta para complementar essas informações.

A avaliação genética da estrutura populacional dos golfinhos-de-dentes-rugosos nas regiões sudeste e sul do Brasil indicam a existência de, pelo menos, 3 populações no oceano Atlântico: uma população no Caribe, uma população que compreende os estados do Espírito Santo e do Rio de Janeiro e uma terceira população composta por indivíduos dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Silva *et al*., 2015), indicando fluxo genético restrito associado à fidelidade de sítio e à baixa dispersão apresentadas pela espécie (Oremus *et al*., 2013; Silva *et al*., 2015). Na análise de função discriminante, os indivíduos das quatro localidades foram agrupados em grupos coesos e podem ser representativos das diferentes populações.

Há uma separação evidente entre os indivíduos coletados no RJ e os da PCE/RS, indicando a existência de uma população costeira e uma população que utiliza áreas mais

afastadas da costa. Embora encontrem-se mais distantes da costa, os golfinhos-de-dentes-rugosos coletados na PCE/RS apresentaram concentrações de PCBs na mesma ordem de grandeza que os coletados no RJ, indicando um transporte eficiente destes compostos entre a costa e a plataforma continental externa. O peixe-espada é um relevante componente da dieta dos golfinhos-de-dentes-rugosos (Lodi & Hetzel, 1999; Di Benedito *et* al., 2001; Melo *et al*., 2010). Este peixe apresenta um comportamento migratório entre a plataforma continental e a costa (Magro, 2006), podendo ser um importante constituinte da teia trófica dos indivíduos da PCE/RS e também desempenhar um papel no transporte de contaminantes orgânicos da costa para a plataforma continental. O peixe-espada ocupa um alto nível trófico (Bisi *et al*., 2012) e pode atuar como um elo no fluxo de contaminantes não só entre os níveis tróficos mais baixos e os golfinhos-de-dentes-rugosos, como também entre a contaminação da costa para a plataforma continental.

Além do movimento migratório das presas, o golfinho-de-dentes-rugosos apresenta um comportamento plástico no litoral sudeste-sul do Brasil, utilizando desde águas rasas até águas mais profundas (PMC-BS, 2016), no entanto, dados de telemetria e reavistagem da espécie sugerem que o golfinhos-de-dentes-rugosos apresenta um padrão de fidelidade de sítio na costa e intensa associação com a disponilidade de recursos costeiros, como a tainha (*Mugil* sp.) (Carvalho, 2018; Lodi *et al*., 2018).

A diferenciação das diferentes populações de uma espécie é de extrema importância em sua conservação e no direcionamento de esforços a populações mais suceptíveis. As altas concentrações de poluentes orgânicos persistentes tanto na população do RJ quanto na PCE/RS mostram o nível de exposição a estes compostos devido à degradação do ambiente marinho, principalmente costeiro, e o fluxo destes contaminantes nas teias tróficas onde os golfinhos-de-dentes-rugosos são predadores de topo.

5.2 **Influência de parâmetros biológicos na bioacumulação de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos**

As concentrações de POPs em tecido adiposo subcutâneo de cetáceos podem ser influenciadas por parâmetros biológicos, comportamentais, além de fatores abióticos que regem a dinâmica destes poluentes no ambiente marinho (Jepson *et al.*, 2016). Aspectos como sexo, idade, dieta, grau de transferência materna, estado de saúde, exposição aos compostos,

local e período de amostragem são determinantes na bioacumulação destes compostos em predadores de topo de teias tróficas marinhas (Aguilar *et* al., 1999; Jepson *et al*., 2016).

Dentre os parâmetros biológicos que atuam diretamente no padrão de bioacumulação de POPs, o sexo, a maturidade sexual e a idade, parecem ter maior influência devido às alterações fisiológicas sofridas durante o ciclo de vida. As diferenças entre os perfis de bioacumulação de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos imaturos, fêmeas maturas e machos maturos estão associadas, principalmente, à transferência materna de contaminantes orgânicos através da placenta e do leite materno de fêmeas maturas para seus fetos e filhotes, respectivamente (Aguilar *et al*., 1999).

Em geral, essa transferência leva a uma redução drástica das concentrações encontradas no tecido adiposo subcutâneo das fêmeas grávidas e lactantes (Aguilar *et al*., 1999; Tanabe, 2002; Kajiwara *et al*., 2008) porém de forma heterogênea, ou seja, nem todos os compostos são transferidos na mesma velocidade ou quantidade. Como observado no perfil das fêmeas maturas e de imaturos do presente estudo, quanto maior o número de substituições de cloro no composto, menor a sua transferência para a prole em função da maior lipofilicidade dos compostos e maior peso molecular (Kajiwara *et al*., 2008). Observa-se, então, no perfil das fêmeas uma abundância menor de compostos com poucos átomos de cloro (p.ex., ausência de PCBs tri-clorados) e nos imaturos uma variedade maior destes compostos (p.ex., 26 congêneres de PCB em imaturos e 24 congêneres em fêmeas maturas).

Além das diferenças nos perfis de contaminação, os imaturos apresentam concentrações de determinados PCBs maiores que as fêmeas maturas por conta da transferência eficiente de compostos, como observado para PCBs de baixo peso molecular (PCBs 44, 74, 97 e 141).

Esta relação também é explorada quando são associadas a idade e a concentração de POPs em imaturos e fêmeas maturas, com a redução da concentração de determinados PCBs com o aumento da idade. Desa forma, as correlações negativas entre a idade de imaturos e fêmeas maturas e as concentrações de determinados compostos são explicadas pela transferência na amamentação. Assim, as menores concentrações de todos os POPs analisados foram obtidas na fêmea matura Sb #19, coletada no estado do Rio de Janeiro, com 12 anos de idade, provavelmente passando por sua primeira gestação, e a única lactante na amostragem do presente estudo, indicando que o leite materno é uma importante fonte de eliminação destes PCBs das fêmeas, para os filhotes.

Enquanto as fêmeas transferem parte da carga de contaminantes para os fetos e filhotes, as concentrações encontradas nos machos maturos refletem o acúmulo dos POPs ao

longo de todo o seu ciclo de vida (Aguilar *et al*., 1999). Isso é observado tanto nas maiores concentrações apresentadas por indivíduos machos maturos em diversos compostos analisados (PCBs 52, 99, 132, 138, 151, 153, 170, 177, 180, 183, 187, 194, 195, ∑PCB e o mirex) quanto é corroborado pela relação entre o aumento das concentrações de POPs com a idade (PCBs 52, 99, 132, 138, 151, 153,158, 170, 177, 180, 183, 187, 194, 195, 206, ∑PCB, *p.p'*-DDE, ∑DDT e mirex). As maiores concentrações em machos maturos representam a persistência destes compostos no tecido adiposo subcutâneo ao longo do tempo, principalmente de diversos compostos com maior grau de cloração, como é o caso dos PCBs hexa- e hepta-clorados e o mirex.

Dessa forma, o perfil de golfinhos-de-dentes-rugosos imaturos é um reflexo do que foi transferido pela mãe nos primeiros anos através da lactação e passa por uma modificação quando há também uma mudança na dieta. Os machos continuam por bioacumular POPs ao longo de todo o seu desenvolvimento e o caráter persistente destes compostos impede que sejam metabolizados e/ou excretados, atingindo concentrações altas em indivíduos mais velhos. O perfil das fêmeas maturas, por sua vez, retrata a transferência de compostos mais leves para a prole.

A transferência materna destes contaminantes para indivíduos em um período crítico do desenvolvimento, pode ser prejudicial para a espécie. Como mencionado, estes contaminantes podem contribuir com a baixa sobrevivência dos fetos e filhotes, principalmente oriundos da primeira gestação, que recebem maiores cargas destes compostos de suas mães (Aguilar *et al.*, 1999; Reddy *et al*., 2001). Além disso, as concentrações medianas de PCBs determinadas em golfinhos-de-dentes-rugosos imaturos, fêmeas maturas e machos maturos no RJ apresentam-se acima das concentrações-limite propostas para efeitos em mamíferos marinhos filhotes (10 $\mu g.g^{-1}$ lip.) e adultos (40 $\mu g.g^{-1}$ lip.) (Hall *et al*., 2006; Jepson *et al*., 2016), aumentando o risco para essa população, como discutido anteriormente.

CONCLUSÃO

Os golfinhos-de-dentes-rugosos do litoral sudeste e sul do Brasil são importantes sentinelas da contaminação ambiental do ambiente costeiro e da plataforma continental externa. Eles apresentam as maiores concentrações de poluentes orgânicos persistentes já reportados para a espécie em todo o mundo, inclusive para indivíduos do hemisfério norte, indicando a alta biodisponibilidade destes compostos nos corpos d'água que habitam.

O caráter industrializado e de alta densidade demográfica das regiões sudeste e sul reflete no perfil de contaminação dos golfinhos-de-dentes-rugosos: PCBs predominam no perfil, seguido dos outros pesticidas organoclorados como o DDT e seus metabólitos, mirex, HCB e os isômeros de HCH. Este perfil foi observado também na população PCE/RS, indicando um transporte eficiente destes compostos da costa para a plataforma continental externa, seja pelo movimento migratório de presas ou da própria espécie.

Fica evidente a separação entre a população costeira do RJ e a população que utiliza a área da plataforma continental externa por conta de diferenças no perfil de contaminação por compostos organoclorados, sendo esta uma importante ferramenta na diferenciação de populações.

Além disso, parâmetros biológicos tais quais o sexo, a maturidade sexual e a idade dos indivíduos de uma população influenciam diretamente o perfil de acumulação de compostos organoclorados. Como em outros mamíferos, a mãe transfere parte de sua carga destes micropoluentes para os filhotes, enquanto os machos acumulam estes compostos ao longo de toda a sua vida. Assim, machos maturos tendem a apresentar concentrações maiores de POPs que os imaturos e as fêmeas maturas.

RECOMENDAÇÕES

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, recomenda-se a continuação do monitoramento de POPs em golfinhos-de-dentes-rugosos em todo o litoral brasileiro, tanto na costa, quanto na plataforma continental externa e talude, de modo a compreender a magnitude da exposição aos poluentes químicos a qual populações da espécie estão suceptíveis, além da melhor compreensão da separação das populações no Atlântico sul. O obtenção de um maior n amostral permitiria a análise mais detalhada de diferenciação de populações.

Além disso, sugere-se a análise de isótopos estáveis de carbono e nitrogênio, tanto do golfinho-de-dentes-rugosos quanto de suas presas. Estas análises associadas às concentrações de POPs podem auxiliar na compreensão do fluxo de contaminantes nas teias tróficas dos golfinhos-de-dentes-rugosos. Ainda, auxilia na compreensão do uso de habitat destes indivíduos.

Recomenda-se também a aplicação de modelos preditivos que associam as concentrações de POPs encontradas aos possíveis efeitos nestes delfinídeos, de modo a elucidar as prováveis consequências das altas concentrações destes micropoluentes encontradas para as populações de golfinhos-de-dentes-rugosos no litoral brasileiro.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim, apesar de ser classificada como uma espécie “menos preocupante” tanto pela IUCN quanto pelo ICMBio (IUCN, 2018; ICMBio, 2018), a poluição química apresenta-se como uma das principais ameaças que, até então, foi pouco explorada para as populações de golfinhos-de-dentes-rugosos na costa brasileira. As concentrações de POPs apresentadas no presente trabalho são as mais altas já reportadas para delfinídeos na costa brasileira, comparáveis apenas às orcas que, atualmente, beiram o colapso populacional. Os efeitos em médio e longo prazo em populações de golfinhos-de-dentes-rugosos podem reduzir a viabilidade das populações devido ao seu potencial como desreguladores endócrinos (Tanabe, 2002), além de contribuir para o aumento da mortalidade por doenças infecciosas (Jepson *et al*., 2005).

Ademais, no ambiente marinho os cetáceos estão expostos a um amplo coquetel de contaminantes químicos e ainda se sabe muito pouco sobre a acumulação destes nos golfinhos-de-dentes-rugosos, sobre os efeitos aditivos ou sinérgicos dos POPs e de outros micropoluentes (p.ex. os retardantes de chama e os elementos-traço), bem como sobre o aumento de sua biodisponibilidade no ambiente marinho frente às alterações climáticas nos próximos anos (Alava *et al*., 2017). E, apesar de ser uma das principais ameaças às populações costeiras e da plataforma continental externa, a poluição química não é o único risco ao qual estes animais estão expostos: há a degradação do habitat (Azevedo *et al*., 2017), interação com petrechos de pesca (Monteiro-Neto *et al*., 2000), poluição sonora e o impacto com embarcações (Bittencourt *et al*., 2014).

REFERÊNCIAS

Addink, M.J. & C. Smeenk (2001). Opportunistic feeding behaviour of rough-toothed dolphins *Steno bredanensis* off Mauritania. Zoologische Verhandelingen 334, 29.x.2001: 37-4

Aguilar, A. (1984). Relationship of DDE/ΣDDT in marine mammals to the chronology of DDT input into the ecosystem. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *41*(6), 840-844.

Aguilar, A. (1987). Using organochlorine pollutants to discriminate marine mammal populations: a review and critique of the methods. *Marine Mammal Science*, *3*(3), 242-262.

Aguilar, A., Borrell, A., & Pastor, T. (1999). Biological factors affecting variability of persistent pollutant levels in cetaceans. *Journal of Cetacean Research and Management*, *1*, 83-116.

Aguilar, A., Borrell, A., & Reijnders, P. J. H. (2002). Geographical and temporal variation in levels of organochlorine contaminants in marine mammals. *Marine environmental research*, *53*(5), 425-452.

Alava, J. J., Cheung, W. W., Ross, P. S., & Sumaila, U. R. (2017). Climate change–contaminant interactions in marine food webs: Toward a conceptual framework. *Global change biology*, *23*(10), 3984-4001.

Almeida, F. V., Centeno, A. J., Bisinoti, M. C., & Jardim, W. F. (2007). Substâncias tóxicas persistentes (STP) no Brasil. *Química Nova*, *30*(8), 1976-1985.

ASTDR (2019) Toxicological profile for Mirex and Chlordecone . Georgia, United States of America, 266p.

Azevedo e Silva, C. E., Torres, J. P. M., & Malm, O. (2007). Toxicologia das bifenilas policloradas. *Oecologia Brasiliensis*, *11*(2), 179-187.

Azevedo, A. F., Carvalho, R. R., Kajin, M., Van Sluys, M., Bisi, T. L., Cunha, H. A., & Lailson-Brito Jr, J. (2017). The first confirmed decline of a delphinid population from Brazilian waters: 2000–2015 abundance of *Sotalia guianensis* in Guanabara Bay, south-eastern Brazil. *Ecological Indicators*, *79*, 1-10.

Bachman, M. J., Keller, J. M., West, K. L., & Jensen, B. A. (2014). Persistent organic pollutant concentrations in blubber of 16 species of cetaceans stranded in the Pacific Islands from 1997 through 2011. *Science of the Total Environment*, *488*, 115-123.

Baird, R. W., Webster, D. L., Mahaffy, S. D., McSweeney, D. J., Schorr, G. S., & Ligon, A. D. (2008). Site fidelity and association patterns in a deep-water dolphin: Rough-toothed dolphins (*Steno bredanensis*) in the Hawaiian Archipelago. *Marine Mammal Science*, *24*(3), 535-553.

Bérubé, M., & Palsbøll, P. (1996). Identification of sex in cetaceans by multiplexing with three ZFX and ZFY specific primers. *Molecular Ecology*, *5*(2), 283-287.

Bisi, T. L., Lepoint, G., de Freitas Azevedo, A., Dorneles, P. R., Flach, L., Das, K., Malm, O., & Lailson-Brito, J. (2012). Trophic relationships and mercury biomagnification in Brazilian tropical coastal food webs. *Ecological Indicators*, *18*, 291-302.

Bisi, T. L., Dorneles, P. R., Lailson-Brito, J., Lepoint, G., de Freitas Azevedo, A., Flach, L., Malm, O. & Das, K. (2013). Trophic relationships and habitat preferences of delphinids from the southeastern Brazilian coast determined by carbon and nitrogen stable isotope composition. PLoS One, 8(12).

Bittencourt, L., Carvalho, R. R., Lailson-Brito, J., & Azevedo, A. F. (2014). Underwater noise pollution in a coastal tropical environment. *Marine pollution bulletin*, *83*(1), 331-336.

Braga, E. S. & L. F. H. Niencheski. (2006). Composição das massas de água e seus potenciais produtivos na área entre o Cabo de São Tomé (RJ) e o Chuí (RS). Pp. 161-218. In: Rossi-Wongtschowski, C. L. D. B. & L. S. P. Marureira (Eds.). O ambiente oceanográfico da plataforma continental e do talude na região Sudeste-Sul do Brasil. Brasil, 644p.

Brandini, F. P. (1990). Hydrography and characteristics of the phytoplankton in shelf and oceanic waters off southeastern Brazil during winter (July/August 1982) and summer (February/March 1984). *Hydrobiologia*, *196*(2), 111-148.

Brandini, F. P., & Fernandes, L. F. (1996). Microalgae of the continental shelf off Paraná State, southeastern Brazil: a review of studies. *Revista Brasileira de Oceanografia*, *44*(1), 69-80.

Brandini, F.P., Scheffer da Silva, A., Silva, E.T., & Kolm, H. (2007). Sources of nutrients and seasonal dynamics of chlorophyll in the inner shelf off Paraná state—South Brazil Bight. *Journal of Coastal Research*, 1131-1140.

Campos, E., Miller, J., Müller, T. J., & Peterson, R. (1995). Physical oceanography of the southwest Atlantic Ocean. *Oceanography*, *8*(3), 87-91.

Carson, R. (1962). *Silent spring*. Houghton Mifflin Harcourt.

Carvalho, R. R. (2018) Golfinhos-de-dentes-rugosos, Steno bredanensis (G. Cuvier in Lesson,1878), em águas costeiras do estado do Rio de Janeiro, Brasil. 128 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

Chou *et al.* (***2004***) Congener-Specific Polychlorinated Biphenyls in Cetaceans from Taiwan Waters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 47, 551–560 (2004) DOI: 10.1007/s00244-004-3214-y

Chu, I., Villeneuve, D. C., Becking, G. C., Iverson, F., Ritter, L., Valli, V. E., & Reynolds, L. M. (1980). Short-term study of the combined effects of mirex, photomirex, and kepone with halogenated biphenyls in rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, *6*(2), 421-432.

Connell, D. W., Miller, G. J., Mortimer, M. R., Shaw, G. R., & Anderson, S. M. (1999). Persistent lipophilic contaminants and other chemical residues in the Southern Hemisphere. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *29*(1), 47-82.

Dachs, J., Lohmann, R., Ockenden, W. A., Méjanelle, L., Eisenreich, S. J., & Jones, K. C. (2002). Oceanic biogeochemical controls on global dynamics of persistent organic pollutants. *Environmental science & technology*, *36*(20), 4229-4237.

Damato, C., Torres, J. P., & Malm, O. (2002). DDT (dicloro difenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental-uma revisão. *Quim. Nova*, 995-1002.

Desforges, J. P. W., Sonne, C., Levin, M., Siebert, U., De Guise, S., & Dietz, R. (2016). Immunotoxic effects of environmental pollutants in marine mammals. Environment International, 86, 126-139.

Desforges, J. P., Hall, A., McConnell, B., Rosing-Asvid, A., Barber, J. L., Brownlow, A., De Guise, S., Eulaers, I., Jepson, P.D., Letcher, R.J., Levin, M., Ross, P.S., Samarra, F., Vikingson, G., Sonne, C. & Dietz, R. (2018). Predicting global killer whale population collapse from PCB pollution. *Science*, *361*(6409), 1373-1376.

Di Beneditto, A. P. M., & Ramos, R. M. A. (2001). Stomach contents of delphinids from Rio de Janeiro, southeastern Brazil. *Atlantic*, *2*(2).

Dorneles, P. R., Lailson-Brito, J., dos Santos, R. A., da Costa, P. A. S., Malm, O., Azevedo, A. F., & Torres, J. P. M. (2007). Cephalopods and cetaceans as indicators of offshore bioavailability of cadmium off Central South Brazil Bight. *Environmental Pollution*, *148*(1), 352-359.

Dorneles, P. R., Sanz, P., Eppe, G., Azevedo, A. F., Bertozzi, C. P., Martínez, M. A., secchi, E.R., Barbosa, L.A., Cremer, M., Alonso, M.B., Torres, J. P.M., Lailson-Brito, J., Malm, O., Eljarrat, E., Barceló, D & Das, K. (2013). High accumulation of PCDD, PCDF, and PCB congeners in marine mammals from Brazil: a serious PCB problem. *Science of the total environment*, *463*, 309-318.

EUROCHLOR (2002) Euro Chlor Risk Assessment for the Marine Environment: Hexachlorobenzene. *OSPARCOM,* 56p.

Galligan, T. M., Balmer, B. C., Schwacke, L. H., Bolton, J. L., Quigley, B. M., Rosel, P. E., Ylitalo, G.M & Boggs, A. S. (2019). Examining the relationships between blubber steroid hormones and persistent organic pollutants in common bottlenose dolphins. *Environmental pollution*, *249*, 982-991.

Gannier & West (2005) Distribution of the Rough-Toothed Dolphin (*Steno bredanensis*) around the Windward Islands (French Polynesia); *Pacific Science*; https://doi.org/10.1353/psc.2005.0007

Gauthier, J. M., Metcalfe, C. D., & Sears, R. (1997). Validation of the blubber biopsy technique for monitoring of organochlorine contaminants in balaenopterid whales. *Marine Environmental Research*, *43*(3), 157-179.

Geraci, J. R., & Lounsbury, V. J. (2005). *Marine mammals ashore: a field guide for strandings*. National Aquarium in Baltimore.

Götz, T., Verfuss, U.K. & Schinitzler, H.U. (2006) 'Eavesdropping' in wild rough-toothed dolphins (*Steno bredanensis*)?; *Biology Letters*; doi:10.1098/rsbl.2005.0407

Gray, J. S. (2002). Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. *Marine Pollution Bulletin*, *45*(1-12), 46-52.

Guida, T.S. (2017) Contaminação atmosférica por pesticidas semivoláteis em duas unidades de conservação Montanas no Estado do Rio de Janeiro. Dissertação de mestrado em Ciências biológicas (Biofísica) do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho. Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). 84p.

Hall, A. J., McConnell, B. J., Rowles, T. K., Aguilar, A., Borrell, A., Schwacke, L., Reijnders, J.H. & Wells, R. S. (2006). Individual-based model framework to assess population consequences of polychlorinated biphenyl exposure in bottlenose dolphins. *Environmental Health Perspectives*, *114*(Suppl 1), 60-64.

Hall, A. J., McConnell, B. J., Schwacke, L. H., Ylitalo, G. M., Williams, R., & Rowles, T. K. (2018). Predicting the effects of polychlorinated biphenyls on cetacean populations through impacts on immunity and calf survival. *Environmental pollution*, *233*, 407-418.

Hawker, D. W., & Connell, D. W. (1988). Octanol-water partition coefficients of polychlorinated biphenyl congeners. *Environmental science & technology*, *22*(4), 382-387.

Helle, E., Olsson, M., & Jensen, S. (1976). PCB levels correlated with pathological changes in seal uteri. *Ambio*, 261-262.

Hohn, A. A., Scott, M. D., Wells, R. S., Sweeney, J. C., & Irvine, A. B. (1989). Growth layers in teeth from known-age, free-ranging bottlenose dolphins. *Marine Mammal Science*, *5*(4), 315-342.

Hutzinger, O., Heacock, R. A., & Safe, S. (1974). Chlorobiphenylols: Thin-layer chromatography and colour reactions of some hydroxylated chlorobiphenyls. *Journal of Chromatography A*, *97*(2), 233-247.

IUCN (2018). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2018-1.

Iwata, H., Tanabe, S., Sakai, N., & Tatsukawa, R. (1993). Distribution of persistent organochlorines in the oceanic air and surface seawater and the role of ocean on their global transport and fate. *Environmental Science & Technology*, *27*(6), 1080-1098.

Jefferson, T.A., Webber, M.A., Pitman, R.L. & Gorter, U (2015) Rough-toothed Dolphin – *Steno bredanensis* (G. Cuvier *in* Lesson, 1828). *In* Marine Mammals of the World. (pp. 220-223). Second Edition. Academic Press.

Jepson, P. D., Bennett, P. M., Deaville, R., Allchin, C. R., Baker, J. R., & Law, R. J. (2005). Relationships between polychlorinated biphenyls and health status in harbor porpoises

(Phocoena phocoena) stranded in the United Kingdom. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, *24*(1), 238-248.

Jepson, P. D., Deaville, R., Barber, J. L., Aguilar, À., Borrell, A., Murphy, S., Barry, J., Brownlow, A., Barnet, J., Berrow., S., Cunningham, A. A., Davison, N.J., ten Doeschate, M., Esteban, R., Ferreira, M., Foote, A.D., Genov, T., Giménez, J., Loveridge, J., Llavona, Á., Martin, V., Maxwell., D.L., Papachlimitzou, A., Penrose, R., Perkins, M.W., Smith, B., de Stephanis, R., Tregenza, N., Verborgh, P., Fernandez, A. & Law, R.J. (2016). PCB pollution continues to impact populations of orcas and other dolphins in European waters. *Scientific reports*, *6*, 18573.

Jones, K. C., & De Voogt, P. (1999). Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environmental pollution*, *100*(1-3), 209-221.

Kaiser, K. L. (1974). Mirex: an unrecognized contaminant of fishes from Lake Ontario. *Science*, *185*(4150), 523-525.

Kaiser, K. L. (1978). Pesticide report: the rise and fall of Mirex. *Environmental Science & Technology*, *12*(5), 520-528.

Kajiwara, N., Kamikawa, S., Amano, M., Hayano, A., Yamada, T. K., Miyazaki, N., & Tanabe, S. (2008). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and organochlorines in melon-headed whales, *Peponocephala electra*, mass stranded along the Japanese coasts: maternal transfer and temporal trend. *Environmental pollution*, *156*(1), 106-114.

Kannan, K., Blankenship, A. L., Jones, P. D., & Giesy, J. P. (2000). Toxicity reference values for the toxic effects of polychlorinated biphenyls to aquatic mammals. *Human and Ecological Risk Assessment*, *6*(1), 181-201.

Kuczaj & Yeater (2007) Observations of rough-toothed dolphins (*Steno bredanensis*) off the coast of Utila, Honduras; *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*; doi: 10.1017/S0025315407054999

Lailson-Brito, J. 2007. Bioacumulação de mercúrio, selênio e organoclorados (DDT, PCB E HCB) em cetáceos (Mammalia, Cetacea) da costa Sudeste e Sul do Brasil. Tese de Doutorado em Ciências Biológicas (Biofísica), Universidade Federal do Rio de Janeiro. 253 p.

Lailson-Brito, J., Dorneles, P. R., Azevedo-Silva, C. E., Azevedo, A. F., Vidal, L. G., Zanelatto, R. C., Lozinski, C.P.C. Azeredo, A, Fragoso, A.B.L., Cunha, H.A., Torres, J. P. M. & Malm, O. (2010). High organochlorine accumulation in blubber of Guiana dolphin, *Sotalia*

guianensis, from Brazilian coast and its use to establish geographical differences among populations. *Environmental Pollution*, 158(5), 1800-1808.

Lailson-Brito, J., Dorneles, P. R., Azevedo-Silva, C. E., Bisi, T. L., Vidal, L. G., Legat, L. N., Azevedo, A.F., Torres, J.P.M. & Malm, O. (2012). Organochlorine compound accumulation in delphinids from Rio de Janeiro State, southeastern Brazilian coast. *Science of the total environment*, *433*, 123-131.

Lamour, M. R., Soares, C. R., & Carrilho, J. C. (2004). Mapas de parâmetros texturais de sedimentos de fundo do complexo estuarino de Paranaguá PR. *Boletim Paranaense de Geociências*, *55*.

Lavandier, R., Arêas, J., Dias, P. S., Taniguchi, S., Montone, R., de Moura, J. F., ... & Moreira, I. (2015). An assessment of PCB and PBDE contamination in two tropical dolphin species from the Southeastern Brazilian coast. *Marine pollution bulletin*, *101*(2), 947-953.

Lima, I.M.S., de Andrade, L. G., Ramos de Carvalho, R., Lailson-Brito, J., & de Freitas Azevedo, A. (2012). Characteristics of whistles from rough-toothed dolphins (*Steno bredanensis*) in Rio de Janeiro coast, southeastern Brazil. The Journal of the Acoustical Society of America, 131(5), 4173-4181.

Lodi & Hetzel (1998) O golfinho-de-dentes-rugosos (*Steno bredanensis*); *Bioikos*; 12(1): 29-45.

Lodi, L. & Hetzel, B. (1999) Rough-toothed Dolphin, *Steno bredanensis*, feeding behaviors in Ilha Grande Bay, Brazil. *Biociências*, 7: 29-42.

Lodi, L., Oliveira, R. H. T., Figueiredo, L. D., & Simão, S. M. (2012). Movements of the rough-toothed dolphin (*Steno bredanensis*) in Rio de Janeiro State, south-eastern Brazil. *Marine Biodiversity Records*, *5*.

Lodi, L., Maricato, G. & Simões, B. (2018) Golfinho-de-dentes-rugosos em águas costeiras do Rio de Janeiro, Brasil: Ocorrência, uso do habitat e fidelidade de área. In XII Congreso de la Sociedad Latinoamericana de Especialistas en Mamíferos Acuáticos – RT 18 (SOLAMAC, 2018), Lima, Perú.

Marsili, L., & Focardi, S. (1997). Chlorinated hydrocarbon (HCB, DDTs and PCBs levels in cetaceans stranded along the Italian coasts: an overview. *Environmental Monitoring and Assessment*, *45*(2), 129-180.

Mayr, I., & Ritter, F. (2005). Photo-identification of rough-toothed dolphins (*Steno bredanensis*) off La Gomera (Canary Islands) with new insights into social organization. In *Proceedings of the European Cetacean Society Annual Meeting, La Rochelle, France*.

Melo, C.L.C., Santos, R.A., Bassoi, M., Araújo, A.C., Lailson-Brito, J., Dorneles, P.R. & Azevedo, A.F. (2010) Feeding habits of delphinids (Mammalia:Cetacea) from Rio de Janeiro State, Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 90(8): 1509-1515.

Miyazaki, N. (1980). Preliminary notes on age determination and growth of the rough-toothed dolphin, *Steno bredanensis*, off the Pacific coast of Japan.— *Reports of the International Whaling Commission*, Special Issue 3: 171-179

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

MMA - Ministério do Meio Ambiente. Segurança Química – Agrotóxicos (http://www.mma.gov.br/seguranca-quimica/agrotoxicos), acessado em Dezembro de 2019.

Möller Jr, O. O., Piola, A. R., Freitas, A. C., & Campos, E. J. (2008). The effects of river discharge and seasonal winds on the shelf off southeastern South America. *Continental Shelf Research*, *28*(13), 1607-1624.

Monteiro-Neto *et al* (**2000**) Impact of fisheries on the tucuxi (Sotalia fluviatilis) and rough-toothed dolphin (Steno bredanensis) populations off Ceará state, northeastern Brazil. *Aquatic Mammals*; 26.1, 49– 56

Oremus, M., Poole, M. M., Albertson, G. R., & Baker, C. S. (2012). Pelagic or insular? Genetic differentiation of rough-toothed dolphins in the Society Islands, French Polynesia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *432*, 37-46.

O'shea, T. J., Brownell, J. R., Clark, J. D., Walker, W. A., Gay, M. A., & Lamont, T. G. (1980). Organochlorine pollutants in small cetaceans from the Pacific and south Atlantic Oceans, November 1968-June 1976. *Pesticides Monitoring Journal*, *14*(2), 35-46

Penteado, J. C. P., & Vaz, J. M. (2001). O legado das bifenilas policloradas (PCBs). *Química Nova*, *24*(3), 390-398.

Perrin, W. F. & A. C. Myrick (1980). Report of the workshop on age determination of odontocete cetaceans and sirenians September 1978. In Growth of odontocetes and sirenians:

problems on age determination. PFOC. of the international conference on determining age of odontocete cetaceans (and sirenians). *International Whaling Commission*. (In press)

Perrin, W.F., Würsig, B, Thewissen (2009) Rough-toothed Dolphin (*Steno bredanensis*). In *Encyclopedia of Marine Mammals*. (pp. 990-993) Second Edition. Academic Press.

Piola, A. R., Campos, E. J., Möller Jr, O. O., Charo, M., & Martinez, C. (2000). Subtropical shelf front off eastern South America. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, *105*(C3), 6565-6578.

Piola, A. R., Möller Jr, O. O., Guerrero, R. A., & Campos, E. J. (2008). Variability of the subtropical shelf front off eastern South America: winter 2003 and summer 2004. *Continental Shelf Research*, *28*(13), 1639-1648.

Pires-Vanin, A. M. S., Rossi-Wongtschowski, C. L. D. B., Aidar, E., Mesquita, H. S. L., Soares, L. S. H., Katsuragawa, M., & Matsuura, Y. (1993). Estrutura e função do ecossistema de plataforma continental do Atlântico Sul brasileiro: síntese dos resultados. *Publicação Especial do Instituto Oceanográfico*, *10*, 217-231.

Pitman & Stinchcomb (2002) Rough-Toothed Dolphins (*Steno bredanensis*) as Predators of Mahimahi (*Coryphaena hippurus*); *Pacific Science*; doi: 10.1353/psc.2002.0043

PMC-BS (2016) Relatório Anual – Ciclo 1 e 2 – Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos. Petrobrás, 306p.

PMC-BS (2019) Relatório Anual – Ciclos 1 a 8 – Projeto de Monitoramento de Cetáceos na Bacia de Santos. Petrobrás, 448p.

Reddy, M. L., Reif, J. S., Bachand, A., & Ridgway, S. H. (2001). Opportunities for using Navy marine mammals to explore associations between organochlorine contaminants and unfavorable effects on reproduction. *Science of the Total Environment*, *274*(1-3), 171-182.

Ritter, F. (2002). Behavioural observations of rough-toothed dolphins (*Steno bredanensis*) off La Gomera, Canary Islands (1995-2000), with special reference to their interactions with humans. Aquatic Mammals, 28(1), 46-59. Sambrook, J., & Russell, D. W. (2006). Purification of nucleic acids by extraction with phenol: chloroform. *Cold Spring Harbor Protocols*, *2006*(1), pdb-prot4455.

Santos, M. C. D. O., Laílson-Brito, J., Flach, L., Oshima, J. E., Figueiredo, G. C., Carvalho, R. R., Ventura, E.S.; Molina, J.M.B & Azevedo, A. F. (2019). Cetacean movements in coastal waters of the southwestern Atlantic ocean. *Biota Neotropica*, *19*(2).

Santos, R.A. & Haimovici, M. (2001) Cephalopods in the diet of marine mammals stranded or incidentally caught along southeastern and souther Brazil (21-34°S). *Fisheries Research*. 52: 99-112.

Santos-Neto, E. B., Azevedo-Silva, C. E., Bisi, T. L., Santos, J., Meirelles, A. C. O., Carvalho, V. L., Azevedo, A.F., Guimarães, J.E. & Lailson-Brito, J. (2014). Organochlorine concentrations (PCBs, DDTs, HCHs, HCB and MIREX) in delphinids stranded at the northeastern Brazil. *Science of the total environment*, *472*, 194-203.

Schwacke, L. H., Voit, E. O., Hansen, L. J., Wells, R. S., Mitchum, G. B., Hohn, A. A., & Fair, P. A. (2002). Probabilistic risk assessment of reproductive effects of polychlorinated biphenyls on bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the southeast United States coast. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, *21*(12), 2752-2764.

Siciliano, S., Moura, J. F., Tavares, D. C., Kehrig, H. A., Hauser-Davis, R. A., Moreira, I., Lavandier, R., Lemos, L.S., Emin-Lima, R. & Quinete, N. S. (2018). Legacy Contamination in Estuarine Dolphin Species From the South American Coast. In *Marine Mammal Ecotoxicology* (pp. 95-116). Academic Press.

Siciliano, S., Ramos, R. M. A., Di Beneditto, A. P. M., Santos, M. C. O., Fragoso, A. B., Brito, J. L., Azevedo, A.F., Vicente, A.F.C., Zampirolli, E., Alvarenga, F.S., Barbosa, L. & Lima, N.R.W. (2007). Age and growth of some delphinids in south-eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, *87*(1), 293-303.

Silva, D.M.P., Azevedo, A.F., Secchi, E.R., Barbosa, L.A., Flores, P.A.C., Carvalho, R.R., Bisi, T.L., Lailson-Brito, J., Cunha, H.A. (2015) Molecular taxonomy and population structure of the rough-toothed dolphin *Steno bredanensis* (Cetartiodactyla: Delphinidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 2015: 1-14.

Silva, S. A. (2004) Contaminação por compostos organoclorados da água de distribuição da região metropolitana do Rio de Janeiro: validação de metodologia. 79 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública)-Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2004.

Silveira, I. C. A., Schmidt, A. C. K., Campos, E. J. D., de Godoi, S. S., & Ikeda, Y. (2000). A corrente do Brasil ao largo da costa leste brasileira. *Rev. Bras. Ocean*, *48*(2), 171-183.

Skaar, D. R., Johnson, B. T., Jones, J. R., & Huckins, J. N. (1981). Fate of kepone and mirex in a model aquatic environment: sediment, fish, and diet. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *38*(8), 931-938.

Starek-Świechowicz, B., Budziszewska, B., & Starek, A. (2017). Hexachlorobenzene as a persistent organic pollutant: toxicity and molecular mechanism of action. *Pharmacological Reports*, *69*(6), 1232-1239.

Struntz, W. D., Kucklick, J. R., Schantz, M. M., Becker, P. R., McFee, W. E., & Stolen, M. K. (2004). Persistent organic pollutants in rough-toothed dolphins (Steno bredanensis) sampled during an unusual mass stranding event. *Marine Pollution Bulletin*, *48*(1), 164-173.

Takahashi, S., Tanabe, S., & Kawaguchi, K. (2000). Organochlorine and butyltin residues in mesopelagic myctophid fishes from the western North Pacific. *Environmental science & technology*, *34*(24), 5129-5136.

Tanabe, S. (2002). Contamination and toxic effects of persistent endocrine disrupters in marine mammals and birds. *Marine pollution bulletin*, *45*(1-12), 69-77.

Tanabe, S., Tatsukawa, R., Tanaka, H., Maruyama, K., Miyazaki, N., & Fujiyama, T. (1981). Distribution and total burdens of chlorinated hydrocarbons in bodies of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *Agricultural and Biological Chemistry*, *45*(11), 2569-2578.

The Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants, *opened for signature* May 23, 2001, UN Doc. UNEP/POPS/CONF/4, App. II (2001), *reprinted in* 40 ILM 532 (2001) [hereinafter Stockholm Convention]. The text of the convention and additional information about POPs is available online at the United Nations Environment Programme's (UNEP's) POPs Web site, <http://irptc.unep.ch/pops/>

Tuerk, K. J., Kucklick, J. R., Becker, P. R., Stapleton, H. M., & Baker, J. E. (2005). Persistent organic pollutants in two dolphin species with focus on toxaphene and polybrominated diphenyl ethers. *Environmental science & technology*, *39*(3), 692-698.

UNEP (2002). Protecting the environment from Persistent Organic Pollutants and other persistent toxic substances. UNEP/GEF, Geneva, Switzerland. UNEP's Action in the Framework of the Global Environment Facility.

Vorkamp, K., Christensen, J. H., & Riget, F. (2004). Polybrominated diphenyl ethers and organochlorine compounds in biota from the marine environment of East Greenland. *Science of the Total Environment*, *331*(1-3), 143-155.

Vos, J. G., Bossart, G., Fournier, M., & O'Shea, T. (Eds.). (2002). *Toxicology of marine mammals*. CRC Press.

Wade, T.L. & Cantillo, A.Y. (1994). Use of standards and reference materials in the measurement of chlorinated hydrocarbon residues. Chemistry Workbook. NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 77, Silver Spring, Maryland, 59p.

Wania, F., & Mackay, D. (1996). Peer reviewed: tracking the distribution of persistent organic pollutants. *Environmental science & technology*, *30*(9), 390A-396A.

Yogui, G. T., de Oliveira Santos, M. C., & Montone, R. C. (2003). Chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls in marine tucuxi dolphins (*Sotalia fluviatilis*) from the Cananéia estuary, southeastern Brazil. *Science of the Total Environment*, *312*(1-3), 67-78.

Yogui, G. T., Santos, M. C. D. O., Bertozzi, C. P., & Montone, R. C. (2010). Levels of persistent organic pollutants and residual pattern of DDTs in small cetaceans from the coast of São Paulo, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, *60*(10), 1862-1867.

Zitko, V. (2003). Chlorinated pesticides: Aldrin, DDT, endrin, dieldrin, mirex. In *Persistent organic pollutants* (pp. 47-90). Springer, Berlin, Heidelberg.