

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



**Concentração de metais (Cd, Hg e Pb) nas espécies pelágicas
Engraulis encrasicolus, *Sardina pilchardus* e *Scomber colias*:
avaliação tecidual e espacial ao longo da costa continental
portuguesa**

Patrícia Rosa Correia Martins
Mestrado em Ecologia Marinha

Dissertação orientada por:
Prof. Doutor Pedro Miguel Alfaia Barcia Ré
Doutora Joana Raimundo Pimenta

2022

Esta dissertação de mestrado foi realizada no âmbito do projeto:

- SARDINHA2020, “An Ecosystem Approach to Sardine Fisheries Management”, funded by program MAR2020, IPMA, MAR-01.04.02-FEAMP-0009.



UNIÃO EUROPEIA

Fundo Europeu
dos Assuntos Marítimos
e das Pescas



“Na vida, não existe nada a temer, mas a entender.”
Marie Curie

“O mundo e o Universo são lugares extremamente belos e quanto mais os compreendemos
mais belos eles parecem”
Richard Dawkins

“Não é o mais forte da espécie que sobrevive, nem o mais inteligente. É aquele que melhor
se adapta às mudanças”
Charles Darwin

Agradecimentos

Dedico este trabalho a todas as pessoas que acreditaram mais em mim do que eu própria, pelos beijinhos e abraços e incentivo que me deram e pelo tempo que lhes roubei e aos meus queridos pais Isa e Francisco, avós Rosa Reis e Elizabete Valério e saudosos, Tia Maria da Graça Reis, Tio Joaquim Casimiro, ao avô José Casimiro Correia e ao avô Adriano Martins bem como ao bisavô Manuel Duarte dos Reis, que certamente ficariam bem contentes com a concretização deste meu e seus desejos em prol do meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Agradeço:

Aos orientadores Doutora Joana Raimundo Pimenta e Professor Doutor Pedro Miguel Alfaia Barcia Ré, pela excelente eficácia e qualidade na orientação deste estudo, além da disponibilidade manifestada e do apoio amigo em todos os domínios.

Agradeço a todos os meus professores da Faculdade de ciências da universidade de Lisboa pelos conhecimentos transmitidos e pelas inúmeras aprendizagens que realizei ao longo destes anos.

À Doutora Ângela Serafim, pelo apoio na parte estatística e pelo carinho e compreensão que demonstrou em momentos menos risonhos.

Às professoras Doutoradas Susana Carreira e Clara Cordeiro, pela amizade e exemplo de profissionalismo.

Aos meus pais, pelo carinho, compreensão e apoio nos momentos mais difíceis.

Ao meu companheiro de vida pela paciência, tolerância e força e incentivo nesta etapa.

À Inês Damião, uma das minhas melhores amigas, talvez a melhor amiga de todas, pelo apoio incondicional, incentivando-me com conversas sempre animadoras, amigas e estimulantes.

Aos meus colegas de mestrado, pela camaradagem e encorajamento mútuos e, em especial, à minha colega/amiga Teresa Sofia Alexandre pela ajuda nas tecnologias e pelo apoio emocional e académico no presente mestrado.

Ao meu tio Alcino, pelo exemplo de boa disposição, tranquilidade e prontidão que me transmitiu em momentos de maior preocupação.

Aos meus patudos (Paquito, Pituca, Bondes, Thor e Loki) pelo anti-stress que me proporcionaram ao permitirem que lhes acarinhasse com abraçinhos e mimiños.

Foi uma caminhada muito longa, difícil, repleta de momentos duros, porém, também preenchida por momentos de grande orgulho, alegria, felicidade e uma grande conquista! Este foi, sem dúvida, um sonho tornado realizado! A todos, muito obrigada!

Resumo

A presente investigação teve como principais motivações a preocupação e a preservação do meio ambiente face ao desenvolvimento industrial e à poluição ambiental, nomeadamente nos ecossistemas aquáticos. Deste modo, os principais objetivos da mesma foram: (i) estudar a acumulação de metais não essenciais (Cd, Hg e Pb) em diferentes tecidos/órgãos (brânquias, fígado e músculo), relacionando com a ecologia de cada espécie em estudo (biqueirão - *Engraulius encrasicolus*; sardinha - *Sardina pilchardus* e cavala - *Scomber colis*); (ii) caracterizar a variação espacial da acumulação desses metais nas espécies referidas, ao largo da costa continental portuguesa; (iii) selecionar tecidos mais adequados para monitorizar a concentração de metais presentes no ambiente, definindo-os como bioindicadores e identificar potenciais zonas e espécies mais vulneráveis à contaminação por metais.

As espécies em estudo foram capturadas em três áreas da costa continental portuguesa: Zona ocidental Norte- Caminha-Peniche, designada por área A, Zona ocidental Sul-Peniche-Sagres, designada pela área B e Algarve e parte do golfo de Cádiz designada área C. Os parâmetros biológicos, como comprimento, peso, sexo, estado de maturação e variação do conteúdo estomacal e da gordura, foram avaliados nos espécimes recolhidos. Após dissecação em brânquias, fígado e músculos, foi determinada a concentração de metais não essenciais. A determinação da concentração de Cd e Pb foi realizada por espectrometria de massa com plasma induzido acoplado, enquanto que a deteção de Hg foi efetuada por absorção atómica após decomposição eletrotérmica das amostras. Aos resultados obtidos para a concentração dos metais foram aplicados testes Mann-Whitney e Kruskal-Wallis e ainda uma análise multivariada através do método HJ-Biplot, a qual permitiu detetar similaridades /dissimilaridades entre diferentes grupos da amostra.

Os resultados deste estudo mostraram que a concentração de metais não variou em função dos parâmetros biológicos nas três espécies estudadas. Os tecidos/órgãos que acumularam maior concentração de metais foram o fígado e as brânquias. As áreas onde se verificou maior acumulação de metais foram as áreas A e C. Relativamente aos órgãos/tecidos, o fígado e o músculo foram considerados os mais adequados para a monitorização de Cd e as brânquias para os níveis de Pb.

Todas as espécies estudadas são suscetíveis de serem utilizadas como bioindicadoras de concentração de metais não essenciais no ambiente aquático marinho, no entanto cada espécie parece ser mais adequada dependendo do metal. Para o estudo da contaminação de Cd, a espécie *S. colias* mostrou ser a mais apropriada, a espécie *E. encrasicolus* para o Hg e a espécie *S. pilchardus* para o Pb.

Palavras chave: Espécies pelágicas; metais; tecidos; variação espacial.

Abstract

The present investigation had as main motivations the concern and preservation of the environment facing industrial development and environmental pollution, namely in aquatic ecosystems. Thus, its main aims were: (i) to study the accumulation of non-essential metals (Cd, Hg and Pb) in different tissues/organs (gills, liver and muscle), relating to the ecology of each species under study (anchovy - *Engraulius encrasicolus*; sardines - *Sardina pilchardus* and mackerel - *Scomber colis*); (ii) to characterize the spatial variation of the accumulation of these metals in the mentioned species, along the Portuguese mainland coast; (iii) to select the most suitable tissues to monitor the concentration of metals in the environment, defining them as bioindicators and identifying potential areas and species most vulnerable to contamination by metals.

The species under study were captured in three areas of the Portuguese mainland coast: North West Zone- Caminha-Peniche, designated as Area A, South West Zone- Peniche-Sagres, designated as Area B, and Algarve and part of the Gulf of Cádiz, designated as Area C. The biological parameters, such as length, weight, sex, maturation state and variation of the stomach and fat content, were analysed in the collected species. After dissection in gills, liver and muscle, the non-essential metals concentration was determined. The Cd and Pb concentration were determined by mass spectrometry with coupled induced plasma, whilst the Hg detection was carried out by atomic absorption following electro-thermal decomposition of the samples. The tests Mann-Whitney and Kruskal-Wallis were applied to the results obtained for the metals' concentration. Furthermore, a multivariate analysis was also applied using the HJ-Biplot method, which made it possible to detect similarities/dissimilarities between the different sampled groups.

The results of this study showed that the metals' concentration did not vary according to the biological parameters in the three studied species. The tissues/organs which accumulated the highest concentration of metals were the liver and the gills. The areas where there was greater accumulation were areas A and C. Regarding the organs/tissues, the ones considered most suitable for monitoring metals were the liver and the muscle for Cd and Hg levels and the gills for Pb levels.

In conclusion, all the studied species are susceptible to be used as bioindicators for non-essential metals' concentration in the marine aquatic environment, however each species seems to be more adequate depending on the metal. For the contamination study of Cd, it appears to be the species *S.colias*, the species *E. encrasicolus* for the Hg and the species *S. pilchardus* for the Pb.

Keywords: Pelagic species; metals; tissues; spatial variation.

Índice

Agradecimentos.....	pág. iv
Resumo.....	pág. v
Abstract.....	pág. vi
Lista de tabelas.....	pág. ix
Lista de figuras.....	pág. xi
Simbologia e notações	pág. xii
1.Introdução	pág. 1
1.1 - Contaminantes em pescado para consumo humano	pág. 2
1.1.1 Cádmio	pág. 3
1.1.2 Mercúrio	pág. 4
1.1.3 Chumbo	pág. 4
1.2 - Benefícios e perigos associados ao consumo do pescado	pág. 5
1.3 - Importância comercial	pág. 6
1.4 - Vantagens de utilização de espécies pelágicas para estudo de contaminantes	pág. 6
1.5 - Objetivos	pág. 7
2 - Material e Métodos	pág. 8
2.1- Caracterização das espécies em estudo	pág. 8
2.2 - Locais de amostragem	pág.10
2.3 - Procedimentos em Laboratório	pág. 11
2.3.1 - Amostragem biológica	pág. 11
2.3.2-Determinação de cádmio (Cd) e chumbo (Pb)	pág. 12
2.3.2.1 – Digestão das amostras.....	pág. 12
2.3.2.2 – Determinação analítica.....	pág. 12
2.3.3 - Determinação de mercúrio (Hg)	pág. 13
2.3.4 - Validação do método	pág. 14
2.3.4.1 - Determinação do limite de deteção	pág. 14
2.3.4.2 - Determinação do erro de precisão	pág. 14
2.4 - Análise dos dados	pág. 15
3 - Resultados	pág. 16
3.1 - Caracterização das populações em estudo	pág. 16
3.1.1 - Relação peso- comprimento	pág. 17
3.1.2 - Sexo e estado de maturação	pág. 18
3.1.3 - Variação do conteúdo estomacal e da gordura	pág. 19

3.2 - Concentração de Cd, Hg e Pb metais nas espécies em estudo	pág. 20
3.2.1 - Variação da concentração de metais nos tecidos do biqueirão (<i>E. encrasicolus</i>).....	pág.20
3.2.2 - Variação da concentração de metais nos tecidos da sardinha (<i>S. pilchardus</i>).....	pág. 21
3.2.3 - Variação da concentração de metais nos tecidos da cavala (<i>S. colias</i>)	pág. 22
3.2.4 - Comparação da concentração de metais por tecidos entre as espécies	pág. 23
3.3 - Distribuição espacial	pág. 25
3.3.1 - Variação espacial da concentração de metais nos tecidos do biqueirão (<i>E. encrasicolus</i>).....	pág. 26
3.3.2 - Variação espacial da concentração de metais nos tecidos da sardinha (<i>S. pilchardus</i>)	pág. 27
3.3.3 - Variação espacial da concentração de metais nos tecidos da cavala (<i>S. colias</i>)	pág. 29
3.4 - Análise multivariada	pág. 30
3.4.1 - Análise multivariada para a espécie <i>E. encrasicolus</i>	pág. 30
3.4.2 - Análise multivariada para a espécie <i>S. pilchardus</i>	pág. 33
3.4.3 - Análise multivariada para a espécie <i>S. colias</i>	pág. 36
3.4.4 - Análise multivariada nas três espécies	pág. 39
4 - Discussão	pág. 42
4.1 Concentração de Cd nas espécies.....	pág. 42
4.2 Concentração de Hg nas espécies.....	pág.46
4.3 Concentração de Pb nas espécies.....	pág. 49
5 - Considerações finais	pág. 54
6 - Referências Bibliográficas	pág. 56
Anexos	pág. 71

Lista de tabelas

- Tabela 2.1- Condições experimentais de análise utilizadas para Hg..... pág. 13
- Tabela 2.2- Média e desvio padrão das concentrações (mg/kg, peso seco) certificadas de Cd, Pb e Hg nos padrões DORM-4 e DOLT-5 valores determinados..... pág. 14
- Tabela 3.1- Identificação das espécies, área de captura (A, B e C), número de indivíduos (n°), comprimento (cm) peso (g) e índice de condição de Fulkon (K) de *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus* e *Scomber colias*, capturados em três áreas (A, Caminha-Peniche; B, Peniche-Sagres; e C, Algarve-Cádiz) da costa portuguesa e golfo de Cádiz..... pág. 16
- Tabela 3.2- Sexo e variação do estado de maturação das espécies *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus* e *Scomber colias* capturados em três áreas (A, Caminha-Peniche; B, Peniche-Sagres; e C, Algarve-Cádiz) da costa portuguesa e golfo de Cádiz..... pág. 18
- Tabela 3.3- Cor, enchimento do estômago (Ench) e gordura das espécies *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus* e *Scomber colias* capturados em três áreas (A, Caminha-Peniche; B, Peniche-Sagres; e C, Algarve-Cádiz) da costa portuguesa e golfo de Cádiz..... pág. 19
- Tabela 3.4- Concentrações de Cd, Hg e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) nas brânquias, fígado e músculo da espécie *Engraulis encrasicolus* (ANE) biqueirão..... pág. 20
- Tabela 3.5- Concentrações de Cd, Hg e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) nas brânquias, fígado e músculo da espécie *Sardina pilchardus* (PIL) sardinha..... pág. 21
- Tabela 3.6- Concentrações de Cd, Hg e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) nas brânquias, fígado e músculo da espécie *S. colias* (VMA) cavala..... pág. 22
- Tabela 3.7- Concentração de metais nas áreas A e C por tecido na espécie *E. encrasicolus* biqueirão..... pág. 26
- Tabela 3.8- Concentração de metais nas áreas A, B e C por tecido na espécie *S. pilchardus* sardinha..... pág. 28
- Tabela 3.9- Concentração de metais nas áreas A, B e C por tecido na espécie *S. colias* cavala..... pág. 29
- Tabela 3.10- Caracterização dos clusters resultantes da aplicação do método HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para o biqueirão espécie *E. encrasicolus* (N=160) pág. 31
- Tabela 3.11- Caracterização dos clusters resultantes da aplicação do método HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para a sardinha espécie *S. pilchardus* (N=293) pág. 34
- Tabela 3.12 Caracterização dos clusters resultantes da aplicação do método HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para cavala espécie *S. colias* (N=268) pág. 37
- Tabela 3.13- Caracterização dos clusters resultantes da aplicação do método HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para o biqueirão, sardinha e cavala espécies *E. encrasicolus*, *S. pilchardus* e *S. colias* (N=726) pág. 40
- Tabela 4.1- Comparação dos teores de Cd nas espécies em estudo com os dados obtidos por outros autores pág. 44

Tabela 4.2– Comparação dos teores de Hg nas espécies em estudo com os dados obtidos por outros autores pág. 48

Tabela 4.3– Comparação dos teores de Pb nas espécies em estudo com os dados obtidos por outros autores pág. 51

Lista de figuras

- Figura 1.1- Fontes e sumidouros de metais pesados. Adaptado de Garbarino (1955) pág. 1
- Figura 2.1- *Engraulis encrasicolus*, Linnaeus,1758 (biqueirão) pág. 8
- Figura 2.2- *Sardina pilchardus*, Walbaum,1792 (sardinha)..... pág. 8
- Figura 2.3- *Scomber colias*, Gmelin,1789 (cavala)..... pág.9
- Figura 2.4- Locais amostrados ao largo da costa portuguesa e golfe de Cádiz..... pág. 10
- Figura 3.1- Variação do peso (g) em função do comprimento (cm) nas espécies *Engraulis encrasicolus* (biqueirão), *Sardina pilchardus* (sardinha) e *Scomber colias* (cavala) pág. 17
- Figura 3.2- Medianas, percentis 25 e 75, máximo e mínimo das concentrações de Cd (A), Hg (B), Pb (C) ($\mu\text{g g}^{-1}$, peso seco) nas brânquias das espécies *Scomber colias* (VMA), *Engraulis encrasicolus* (ANE), *Sardina pilchardus* (PIL) capturadas ao longo da costa portuguesa. As letras que se encontram em minúscula (a, b e c) servem para distinguir se são diferentes estatisticamente, letras iguais não apresentam diferenças estatísticas para valores de $p > 0,05$ pág. 23
- Figura 3.3- Medianas, percentis 25 e 75, máximo e mínimo das concentrações de Cd (A), Hg (B), Pb (C) ($\mu\text{g g}^{-1}$, peso seco) no fígado das espécies *Scomber colias* (VMA), *Engraulis encrasicolus* (ANE), *Sardina pilchardus* (PIL) capturadas ao longo da costa portuguesa. As letras que se encontram em minúscula (a, b e c) servem para distinguir se são diferentes estatisticamente, letras iguais não apresentam diferenças estatísticas para valores de $p > 0,05$ pág. 24
- Figura 3.4- Medianas, percentis 25 e 75, máximo e mínimo das concentrações de Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$, peso seco) no fígado das espécies *Scomber colias* (VMA), *Engraulis encrasicolus* (ANE), *Sardina pilchardus* (PIL) capturadas ao longo da costa portuguesa. As letras que se encontram em minúscula (a, b e c) servem para distinguir se são diferentes estatisticamente, letras iguais não apresentam diferenças estatísticas para valores de $p > 0,05$ pág. 25
- Figura 3.5- Gráfico de análise multivariada resultante da aplicação HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para espécie *Engraulis encrasicolus*. (Distância euclidiana e método Ward para a ligação; $p < 0,05$). As cores do gráfico representam os clusters (verde corresponde ao cluster 1, vermelho cluster 2, azul cluster 3) pág. 30
- Figura 3.6- Gráfico de análise multivariada resultante da aplicação HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para espécie *Sardina pilchardus*. (Distância euclidiana e método Ward para a ligação; $p < 0,05$). As cores do gráfico representam os clusters (verde corresponde ao cluster 1, vermelho cluster 2, azul cluster 3) pág. 33
- Figura 3.7- Gráfico de análise multivariada resultante da aplicação HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para espécie *Scomber colias*. (Distância euclidiana e método Ward para a ligação; $p < 0,05$). As cores do gráfico representam os clusters (verde corresponde ao cluster 1, vermelho cluster 2, azul cluster 3) pág. 36
- Figura 3.8- Gráfico de análise multivariada resultante da aplicação HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para as espécies *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus* e *Scomber colias*. (Distância euclidiana e método Ward para a ligação; $p < 0,05$). As cores do gráfico representam os clusters (verde corresponde ao cluster 1, vermelho cluster 2, azul cluster 3) pág. 39

Simbologia e notações

AAS- Espectrometria de Absorção Atômica

ACOPE- Associação de comerciantes do pescado

ANOVA- Análise de variância

ANE- biqueirão

ASAE- Autoridade de Segurança Alimentar e Económica

ATSDR- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (Agência que regista as doenças e substâncias tóxicas.

BEA - Bom Estado Ambiental

BMAP- Boletim mensal de Agricultura e Pescas

Cd- Cádmió

CE- Comissão europeia

DGRM- Direção-Geral de Recursos Naturais, Segurança e Serviços Marítimos

DQEM - Diretiva Quadro Estratégia Marinha

EEA- European Environment Agency (Agência europeia do ambiente)

ETAR - Estação de Tratamento de Águas Residuais

Hg-Mercúrio

HNO₃- Ácido Nítrico

H₂O₂- Peróxido de hidrogénio/ Água oxigenada

H₂O Milli-Q- Água purificada

ICP-MS- Espectrometria de massa de indução com plasma acoplado

INE- Instituto Nacional de Estatística

IPMA- Instituto Português do Mar e da Atmosfera

IUCN-União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais

K- Fator de condição de Fulkon

LD- limite de deteção

Lt- Comprimento total (cm)

Máx- máximo

Med- Mediana

mi- massa insuficiente

Min- mínimo

MR- Material de referência

MRC- Material de referência certificado

n- Número de amostras

Ni- Níquel

NRCC- National Research Council Canadá. (Conselho nacional de pesquisa do Canadá)

p- Peso (g)

p- Probabilidade

Pb- Chumbo

PIL- sardinha

UE - União Europeia

UNEP- United Nations Environment Programme

VMA- cavala

σ - Desvio padrão

$\mu\text{g g}^{-1}$ - microgramas por grama

1. Introdução

A preocupação com a qualidade e preservação do ambiente está cada vez mais na ordem do dia. Os contaminantes entram no ambiente marinho de várias maneiras afetando a vida dos seres vivos e o ecossistema (Ilgar, 2016). As áreas costeiras são zonas de mistura de muitos elementos, incluindo metais. Estes contaminantes são considerados tóxicos e têm efeitos adversos para o ambiente quando em quantidades excessivas (Ilgar, 2016), podendo ter impactos devastadores no equilíbrio ecológico de corpos de água naturais, incluindo a perda de biodiversidade aquática. Com o aumento do uso de uma ampla variedade de metais nas indústrias e na vida cotidiana, existe agora uma maior consciencialização da poluição do ambiente por estes contaminantes. Muitos destes metais tóxicos tendem a permanecer no ecossistema e, eventualmente, a passar de ser vivo para ser vivo, através de transferências na cadeia trófica (Beetsehc e Abrahams, 2013).

Os metais podem ter origem em fontes naturais e/ou antropogénicas. As fontes antropogénicas resultam de uma atividade crescente do homem em processos como a mineração, a queima de combustíveis fósseis e a libertação de águas residuais (Hayase et al., 2009). Além disso, há autores que também consideram outras ações antropogénicas que podem introduzir estes contaminantes no meio ambiente, como por exemplo, o tráfego marinho e a poluição atmosférica (Bryan et al., 1985; Gheorghe et al., 2017).

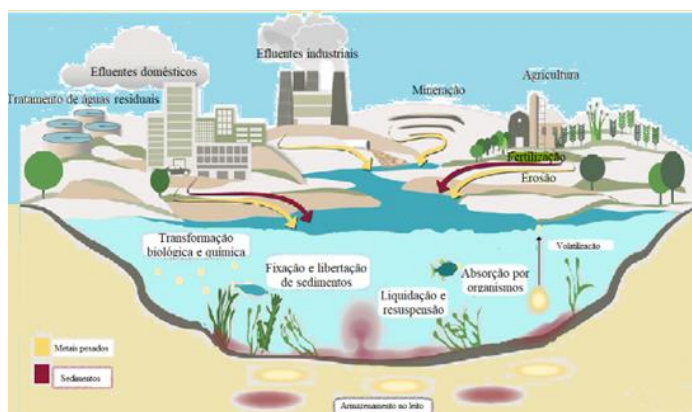


Figura 1.1- Fontes e sumidouros de metais. Adaptado de Garbarino (1955)

As intempéries, a lixiviação do solo (Muniz e Oliveira-Filho., 2006; Maldonado e Wendling, 2009) bem como a erosão, os detritos dos organismos e os produtos de decomposição da matéria orgânica também contribuem para o aumento dos níveis de metais no meio (Caetano, 1992; Niencheski et al., 1994; Souza et al., 2018), os quais são transportados dissolvidos na água, com a matéria particulada ou em complexos com a matéria orgânica (Figura 1.1).

Enquanto há metais essenciais (Fe, Cu, Zn) para as funções metabólicas, há outros em que se desconhece a sua função biológica, como o cádmio (Cd) e o chumbo (Pb) (Trevizani, 2014; Gheorghe et al., 2017; Ali et al., 2019). Os organismos expostos a estes metais podem sofrer perturbações ao nível bioquímico ou celular (Depledge et al., 1995; Goksøyr et al., 1996; Rocha, 2009; Ali et al., 2019). Deste modo, urge conhecer as concentrações de metais nos organismos e os processos de acumulação e eliminação para o estudo de impactes ambientais e prevenção da contaminação nos níveis mais elevados da cadeia trófica, incluindo o Homem (Baby et al., 2010; Ayangbenro et al., 2017).

A contaminação dos organismos por metais é influenciada pela natureza, pela especiação e pela concentração do poluente, características físico-químicas e biológicas dos ecossistemas; a biologia do organismo recetor, bem como a taxa de crescimento, a reprodução e as reservas nutricionais influenciam igualmente a contaminação dos organismos por metais (Baby et al., 2010; Azevedo et al., 2012; Wang et al., 2016). Os metais são uma fonte de

contaminação do pescado, através da ingestão de alimentos que os contêm ou através da passagem da água pelas suas brânquias. A quantidade de presas e alimentos ingeridos vai influenciar o grau de contaminação bem como a quantidade de metais no meio envolvente. A acumulação de metais vai aumentando com o tempo, pelo que os peixes com mais tempo de vida e potencialmente maiores apresentam maiores concentrações.

Os principais órgãos do pescado onde são armazenados os metais são o fígado, o rim e os ossos, os quais não são consumidos pelo humano na América e na Europa (à exceção do óleo de fígado de bacalhau) (Ribeiro, 2012; Authman et al., 2015).

De acordo com Bouquegneau et al. (1982) e Prosi (1979 in Connel e Miller, 1984), a alimentação constitui a principal via de acumulação, apesar dos mecanismos de eliminação significativos. As brânquias e a pele poderão também estar sujeitos à presença de metais via água (Bouquegneau et al., 1982; Ali et al., 2019).

O processo de bioacumulação é o balanço entre dois processos cinéticos, acumulação e eliminação (Connell e Miller, 1984; Wang et al., 2016). No entanto, nem todos os metais são rapidamente eliminados, dependendo do seu tempo de meia-vida. Os organismos ao acumularem elevadas concentrações de metais, essenciais ou não, necessitam de desenvolver sistemas de desintoxicação adequados (Finger e Smith, 1987; Penicaud et al., 2017), que podem estar associados a processos celulares ou a processos fisiológicos como a excreção. Estes processos permitem aos organismos tolerar elevadas concentrações de metais (Bebianno, 1990; Ali et al., 2019) sem que estes sejam tóxicos. Quase todos os metais são bioacumuláveis na cadeia trófica (Bustamante et al., 1998; Authman et al., 2015) e os organismos que se encontram no topo da cadeia trófica possuem uma dieta rica nestes contaminantes (Peden et al., 1973; Wang e Ke, 2002; Ilgar, 2016). A não excreção/eliminação dos metais implica a sua bioacumulação, constituindo fontes potenciais de risco para a saúde humana (Clark, 1997; Ali e Khan, 2018).

1.1. Contaminantes em pescado para consumo humano

De acordo com a Diretiva Quadro “Estratégia Marinha” (DQEM), Diretiva 2008/56/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho de 17 de junho de 2008, os Estados-Membros (EM) devem avaliar a qualidade do meio marinho, determinar o “Bom Estado Ambiental” (BEA) e fixar metas ambientais apropriadas. Para o efeito, e dando cumprimento aos principais objetivos da DQEM (preservar, proteger e valorizar os ambientes marinhos, impedindo que estes sejam danificados e promover a recuperação, bem como prevenir e reduzir a poluição marinha), os EM precisam de elaborar programas de monitorização adequados e adotar estratégias para assegurar o BEA das águas marinhas. Segundo o anexo II da DQEM, a definição de BEA tem de obedecer a um conjunto de características tendo em consideração os 11 descritores qualitativos estabelecidos na DQEM. Na determinação destes descritores são tidos em conta determinados fatores como a conservação dos ecossistemas, a biodiversidade, a qualidade das águas marinhas, as pressões e os impactes no meio marinho de modo a se estabelecer o BEA sob soberania e jurisdição da União Europeia.

O descritor 9 da DQEM, “Os contaminantes nos peixes e mariscos para consumo humano não excedem os níveis estabelecidos pela legislação da União Europeia ou outras normas pertinentes”, avalia a presença de contaminantes nos organismos marinhos acima dos níveis estabelecidos para consumo humano, podendo ter uma influência negativa na saúde do consumidor (WHO, 2016) e conseqüentemente no ambiente. De acordo com a Decisão da

Comissão 2010/477/UE, revogada pela Decisão (UE) 2017/848 da Comissão, relativa aos indicadores e critérios de avaliação do BEA das águas marinhas, “os Estados-Membros devem controlar nos tecidos comestíveis (músculos, fígado, ovas, carne, partes moles, conforme necessário) dos peixes, crustáceos, moluscos e equinodermos, bem como nas algas colhidas ou cultivadas no seu meio natural, a eventual presença de substâncias relativamente às quais estejam fixados níveis máximos determinados ao nível europeu, regional ou nacional, sempre que se trate de produtos destinados ao consumo humano”. Segundo o relatório do segundo ciclo de avaliação do bom estado ambiental das águas marinhas nas subdivisões do Continente e da Plataforma Continental Estendida, em outubro de 2018, para a avaliação do descritor 9, determinam-se os níveis reais de contaminantes detetados e número de contaminantes que excederam os níveis máximos regulamentares baseados nas concentrações de substâncias prioritárias na parte comestível do biota para consumo humano (indicador 9.1.1) e a frequência da superação dos níveis regulamentares (indicador 9.1.2), este último calculado com base nos níveis definidos para o indicador 9.1.1.

No segundo relatório de avaliação do BEA, no período compreendido entre 2013 e 2017, pretendeu-se identificar as espécies que apresentaram níveis superiores para cada contaminante aos estabelecidos pelo Regulamento (CE) N° 1881/2006 da Comissão, de 19 de dezembro, e pelo Regulamento (EU) 2021/1317 da Comissão, de 9 de agosto de 2021, que fixam os teores máximos (TM) de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios, entre eles os TM de determinados metais no pescado, nomeadamente do cádmio, chumbo e mercúrio, na forma inorgânica (CE, 2006), os quais fazem parte deste estudo. Segundo este relatório, o BEA foi atingido mas com um grau de confiança/qualidade entre baixo e médio.

1.1.1. Cádmio

O cádmio (Cd) é tóxico para as espécies marinhas, mesmo em quantidades muito baixas, não sendo conhecidas funções metabólicas. A bioacumulação de Cd é influenciada pelos elevados níveis de contaminação ambiental que poderão resultar da atividade vulcânica e da libertação do mesmo pela vegetação (este é captado eficientemente pelas plantas, entrando assim na cadeia alimentar do Homem e de outros animais) (Robards e Worsfold, 1991; ASAE – Autoridade de Segurança Alimentar Económica, 2020). Embora tenha origem natural, o Cd também pode ser libertado para o meio ambiente por ações antropogénicas, das quais se destacam a atividade mineira e as indústrias de combustíveis fósseis, mediante a libertação de fumos, poeiras e excedentes; anualmente, estima-se que sejam libertadas para o meio ambiente cerca de 30.000 toneladas de cádmio, sendo que 4.000 a 13.000 toneladas são de origem antropogénica (ATSDR, 2012; Veiga, et al., 2012). A bioacumulação varia conforme o teor a que os organismos estão expostos, o tempo de exposição, a velocidade de depuração do metal, o peso corporal, a profundidade e a estação do ano (Fernandes e Mainier, 2014; ASAE, 2020). Face a um elevado número de análises em organismos aquáticos, pode-se concluir que o Cd se encontra bastante concentrado no meio aquático (Authman, 2015; Marques, 2015; Liu et al., 2008), permanecendo no meio ambiente e nos tecidos dos organismos por muito tempo (Robards e Worsfold, 1991). O Cd surge naturalmente em sistemas aquáticos onde pode apresentar concentrações elevadas tendo em conta a área geográfica. Deste modo, as espécies aquáticas acumulam elevadas quantidades deste metal e as que consomem as espécies contaminadas ficam mais expostas a esta contaminação (Liu et al., 2008). A bioacumulação varia conforme o teor a que os organismos estão expostos, O Regulamento (CE) N° 1881/2006 da Comissão de 19 de dezembro estabelece um teor máximo permitido na parte comestível do

peixe para comercialização de 0,05 mg/kg (peso húmido) e de 0,10 mg/Kg (peso húmido) para algumas espécies em particular como o biqueirão e a sardinha.

1.1.2. Mercúrio

O mercúrio (Hg) é o único metal que se consegue encontrar na forma líquida à temperatura ambiente pelo que também é conhecido como prata líquida ou água de prata (Ramalho, 2019). Quanto à sua toxicidade, o Hg é considerado um metal de grande risco para os organismos aquáticos devido à sua bioamplificação ao longo das teias tróficas (Laporte et al., 1997; Fant et al., 2001; Andres et al., 2002; Ali e Khan, 2018). O Hg existe naturalmente no meio ambiente e a sua concentração tem aumentado com a poluição provocada pela atividade humana e industrial (Liu et al., 2008; WHO, 2017), a qual contribui para a contaminação dos solos e das águas (Wuana e Okieimen, 2011). O Hg pode ser encontrado de uma forma elementar, orgânica ou inorgânica (Hg^0 e Hg^{2+}), sempre com características toxicológicas e consequentes efeitos nocivos para vários órgãos das espécies que o ingerem (Sharma et al., 2014), bem como para a saúde humana (Tchounwou et al., 2012; WHO, 2017). É um elemento reconhecido pelos seus sinais de contaminação, visto ser extremamente tóxico para os seres vivos (Liu et al., 2008; Silva, 2016), sendo o metilmercúrio uma das formas mais tóxicas para as espécies marinhas e para os seres humanos (Oliveira et al., 2001; Rai et al., 2019). O metilmercúrio representa cerca de 80 % a 100 % de Hg total presente nos tecidos de peixes e predadores de topo (Claisse et al., 2001; Paiva et al., 2016). O Regulamento (CE) N° 1881/2006 da Comissão de 19 de dezembro estabelece um teor máximo permitido na parte comestível do peixe para comercialização de 0,5 mg/kg (peso húmido).

1.1.3. Chumbo

A contaminação por chumbo (Pb) dos ecossistemas marinhos pode ocorrer através da atmosfera e de escorrências das zonas terrestres (Mahaffey, 1978; Authman, 2015). As concentrações de Pb não são especialmente tóxicas se as compararmos com as de outros metais não essenciais (Clark, 1997). No entanto, segundo Rocha et al. (2017) o Pb, sendo muito usado nas áreas industriais, pode causar elevada toxicidade. Villarreal-Treviño et al. (1986), bem como Moreira e Moreira (2004) indicaram, mediante as suas investigações, que o Pb altera fisiologicamente os sistemas biológicos, inibindo-os. Contudo, o aumento do nível trófico contribui para a diminuição da concentração de Pb por unidade de massa, ou seja, quanto maior for o nível trófico menor será a concentração de Pb nos órgãos (Nriagu, 1978; Santos et al., 2013). O Pb é um metal que se encontra no meio ambiente mediante duas formas tóxicas, o chumbo orgânico (utilizado nas indústrias do plástico, nas construções, entre outras) e o chumbo inorgânico (utilizado nas tintas, nas cerâmicas, entre outras). A forma orgânica, por ser mais facilmente captada e absorvida, é considerada a mais tóxica. A intoxicação por Pb decorre principalmente das partículas dispersas no ar, no solo ou na água (Goyer e Clarkson, 1996; ATSDR, 2007). As espécies aquáticas captam e acumulam o Pb presente no sedimento, na água e no alimento. Nos peixes, o Pb acumula-se particularmente nas brânquias, nos ossos, no fígado e nos músculos. No âmbito das ações antropogénicas, atividades como minerações, fundições e lixos eletrónicos têm contribuído para o aumento dos seus níveis. Além disso, este elemento encontra-se em baterias, canalizações, revestimentos de telhados e em protetores de

radiação na região dos raios-X. Por outro lado, fenómenos naturais como erupções vulcânicas e movimentos tectónicos também têm ajudado a aumentar os níveis de chumbo. O Pb é um metal com baixa solubilidade em água e com interações fortes com determinadas partículas que se encontram nos solos, o que determina que as plantas tenham uma baixa taxa de absorção por este meio. Assim, a principal via de transmissão deste metal tóxico é a aérea, sendo absorvido pelas plantas e pelos vegetais (WHO, 2010).

Embora não sendo um dos metais mais tóxicos, contribui para níveis elevados de intoxicações agudas, quando em concentrações bastante elevadas no meio. O Regulamento (CE) N° 1881/2006 da Comissão de 19 de dezembro estabelece um teor máximo permitido na parte comestível do peixe para comercialização de 0,3 mg/kg (peso húmido).

1.2. Benefícios e perigos associados ao consumo do pescado

Portugal ocupa o primeiro lugar da Europa em termos de consumo de pescado per capita, sendo também um dos países do mundo em que mais se consome. O consumo de pescado em Portugal inclui uma grande diversidade de espécies tendo em conta o consumo de outros países da Europa (ACOPE, 2018). O grande consumo de pescado em Portugal pode dever-se a vários fatores como: a geografia (dimensão de toda a costa portuguesa), os recursos marinhos, as pescas e as pressões socioeconómicas e políticas (Almeida et al., 2015).

Os produtos da pesca têm um grande valor nutricional, a saber: proteínas de elevado valor biológico, lípidos maioritariamente constituídos por ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa, um elevado número de vitaminas e de minerais (Neves, 2012; Almeida, 2016; Bernardino et al., 2018). Vários estudos referem que, comprovadamente, a ingestão de pescado contribui para a diminuição do risco de doenças cardiovasculares (Bandarra et al., 2004; Becker et al., 2007; Chan e Cho, 2009; Soares e Gonçalves, 2012). As espécies mais corpulentas são fontes de vitaminas A e D, que desempenham funções muito importantes no nosso organismo (manutenção e desenvolvimento dos órgãos).

O consumo equilibrado de pescado é aconselhado por muitas organizações ligadas à educação alimentar e dietética, de modo a garantir uma alimentação saudável (Maulvault et al., 2011; Du et al., 2016 a, b, c; Marques, 2018). No entanto, têm surgido restrições aos grupos considerados de risco, nomeadamente, grávidas e crianças (Ramalho, 2019). Segundo resultados de estudos de investigações epidemiológicas, estas restrições devem-se devido a um elevado índice de exposição a metilmercúrio, sendo um composto lipofílico, é facilmente absorvido pelo sistema gastrointestinal a partir do alimento nomeadamente o pescado (Liu et al., 2012), e a outros compostos organoclorados que podem ter efeitos na saúde dos fetos e bebés (Maia, 2016). Deste modo, o consumo de pescado não apresenta só vantagens para a saúde, podendo igualmente implicar alguns riscos para o homem enquanto consumidor (Neves, 2012; Cardoso et al., 2015).

1.3. Importância comercial

Muitas das espécies pelágicas têm um grande valor comercial, em especial a sardinha (*Sardina pilchardus*) que é bastante apreciada, em épocas como os Santos Populares e verão, tendo mesmo sido considerada, num relatório do Observatório Europeu do Mercado dos Produtos da Pesca e da Aquacultura, em 2015, como o peixe com maior valor comercial em Portugal. Ainda no que respeita ao valor comercial de produtos de pesca, segundo as estatísticas de pesca de 2021, a sardinha surge em primeiro lugar relativamente aos peixes marinhos (13,8%), seguindo-se o atum e similares (12,3%), o carapau (10%), o biqueirão (8%) e a cavala (4,3%), espécies estas que no seu conjunto representam cerca de metade do valor comercial das pescas portuguesas de peixes marinhos. O Instituto Nacional de Estatística (INE) divulgou, em maio de 2022, que em 2021 foram capturadas pela frota portuguesa 185.417 toneladas de pescado, mais 13,2% do que em 2020. Em termos de volume de pescado desembarcado, a sardinha está na primeira posição, com 23% do total, seguindo-se a cavala (19,5%), o carapau (14%), o atum e similares (10%) e o biqueirão (8%). Relativamente ao biqueirão segundo o INE (2022), em Portugal, o preço anual médio de venda do mesmo passou de 1,68 euros por Kg (2020) para 1,86 euros por Kg (2021), no caso da cavala passou de 0,40 euros por Kg (2020) para 0,42 euros por Kg (2021), enquanto o da sardinha passou de 1,52 euros por Kg (2020) para 1,13 euros por Kg (2021). Relativamente à sardinha este decréscimo no preço em 2021 resultou do aumento do seu volume de pescas, contrariamente às espécies biqueirão e cavala em que o preço médio aumentou, apesar do volume de pesca ter aumentado também na espécie biqueirão.

Segundo o Boletim Mensal Agricultura e Pescas (2022), o volume de pescado em Portugal aumentou devido, não só ao aumento do número de captura de crustáceos e moluscos, mas também ao aumento da captura de peixes marinhos, dos quais se inclui o biqueirão e a sardinha, atendendo às medidas de gestão da quota atribuída a Portugal.

1.4. Vantagens de utilização de espécies pelágicas para estudo de contaminantes

Na escolha de organismos indicadores de contaminação ambiental deve ter-se em conta: a abundância, a facilidade de amostragem e identificação taxonómica, a distribuição geográfica, o conhecimento acerca da fisiologia e ecologia dos organismos, o sedentarismo podendo fornecer informação espacial (Phililips e Segar, 1986; Ansari et al., 2004), a capacidade para acumular quantidades suficientes de poluente sem recorrer a concentrações prévias da amostra (Rainbow e Phillips, 1993; Ansari et al., 2004), a tolerância ambiental específica, a capacidade para sobreviver a níveis de contaminação, a existência de uma correlação simples entre o teor de poluente no organismo e no meio, a baixa variabilidade intraespecífica, os efeitos verificados e a longevidade (Authman et al., 2015).

As espécies pelágicas, peixes que vivem geralmente em cardumes, nadando livremente na coluna de água, apresentam vantagens na sua utilização para o estudo de contaminantes visto que:

- ✓ são abundantes no local;
- ✓ são facilmente amostradas e identificadas taxonomicamente;
- ✓ apresentam uma ampla distribuição geográfica;
- ✓ há conhecimentos aprofundados sobre a sua fisiologia e ecologia;
- ✓ embora apresentem mobilidade, têm tendência a fixarem-se num determinado local, fornecendo informação espacial (Phililips e Segar, 1986);

- ✓ têm capacidade para acumular quantidades suficientes de poluente sem recorrer a concentrações prévias da amostra (Rainbow e Phillips, 1993);
- ✓ têm tolerâncias ambientais específicas, uma vez que o seu organismo apresenta respostas mensuráveis e distintas das variações naturais;
- ✓ têm a capacidade para sobreviver a níveis de contaminação que se pretendem monitorizar;
- ✓ têm uma longevidade suficiente para efetuar uma amostragem etária, se necessária.

1.5. Objetivos

O presente estudo pretende avaliar os níveis de metais não essenciais, com reconhecida toxicidade (Cd, Hg e Pb), em diferentes tecidos de três espécies pelágicas, nomeadamente *Engraulis encrasicolus* (biqueirão), *Sardina pilchardus* (sardinha) e *Scomber colias* (cavala) e desta forma contribuir para uma melhor avaliação da DQEM, pois poderá fornecer informação adicional para o Descritor 9 (Contaminantes nos peixes e mariscos para consumo humano).

Assim, este estudo tem a finalidade de avaliar a distribuição de Cd, Pb e Hg nas brânquias, fígado e músculo nas três espécies pelágicas referidas em distintas áreas da costa continental portuguesa, particularmente na zona ocidental norte, na zona ocidental sul e no Algarve e ainda Golfo de Cádiz. Para o efeito, este trabalho pretende alcançar os seguintes objetivos específicos:

1. Identificar qual(is) os tecidos que apresentam maior concentração de metais (Cd, Hg e Pb), relacionando com a ecologia de cada espécie;
2. Caracterizar a variação espacial da acumulação de metais nas espécies anteriormente referidas ao largo da costa continental portuguesa;
3. Selecionar tecidos mais adequados para monitorizar a concentração de metais presentes no ambiente, definindo-os como bioindicadores;
4. Identificar potenciais zonas e espécies mais vulneráveis à contaminação por metais.

2. Material e Métodos

2.1. Caracterização das espécies em estudo

Neste estudo utilizaram-se três espécies pelágicas, nomeadamente o biqueirão (*E. encrasicolus*, Linnaeus, 1758), a sardinha (*S. pilchardus*, Walbaum, 1792) e a cavala (*S. colias*, Gmelin, 1789).

Biqueirão (*Engraulis encrasicolus*)

O biqueirão, *E. encrasicolus*, é uma espécie pelágica e migradora que se encontra desde o Mar do Norte ao sudeste da África, incluindo toda a bacia do Mediterrâneo (Garrido et al., 2012). É a única espécie representativa da família Engraulidae no noroeste do atlântico e no mar mediterrâneo (Ré, 1996). Tem um corpo alongado e estreito de secção oval. As suas escamas caem facilmente, sendo duas delas alongadas na base da barbatana caudal. Tem um focinho cónico e projetado para a frente da maxila superior. Apresenta uma coloração entre o verde e o azul, com os flancos prateados e marginados superiormente por uma banda longitudinal escura (Martins e Carneiro, 2018) (Fig. 2.1).



Figura 2.1 – *Engraulis encrasicolus*, Linnaeus, 1758 (Biqueirão)

Fonte: <https://adriaticnature.com/archives/326>

O biqueirão resiste a uma importante atividade pesqueira e económica para os países que fazem fronteira com a Península Ibérica e o Mar Mediterrâneo (Uriarte et al., 1996; Lleonart e Maynou, 2003; Laso et al., 2018). Devido ao seu valor de mercado, produção e ampla distribuição em vários países do Atlântico e Mediterrâneo, é um recurso valioso na região (Uriarte et al., 1996). O biqueirão ocorre em toda a Península Ibérica sendo principalmente abundante no Golfo da Biscaia, no Golfo de Cádiz, costa ocidental de Portugal (~ 40° N). Na maioria dos anos o biqueirão teve uma abundância relativa reduzida na costa ocidental, mas este facto mudou em anos recentes, onde o seu aumento de abundância nesta zona tem sido muito elevado. De facto, 2017 foi o primeiro ano em que a abundância do stock foi maior ocidentalmente quando comparado ao componente do Golfo de Cádiz (Sánchez-Garrido et al., 2019).

Sardinha (*Sardina pilchardus*)

A distribuição da sardinha é muito ampla, encontrando-se desde o Mar do Norte até ao Senegal e em particular, no caso de Portugal continental, encontra-se ao longo de toda a plataforma continental portuguesa até aos 100 m de profundidade, embora diminua a sua abundância de norte para sul (Zwolinsky et al., 2007; IPMA, 2019).



Figura 2.2 – *Sardina pilchardus*, Walbaum, 1792 (Sardinha)

Fonte: <https://www.cienciaviva.pt/peixes>

Os indivíduos mais jovens encontram-se nas zonas mais costeiras e produtivas (até cerca de

50 m de profundidade), próximo das embocaduras dos rios e rias (Climent et al., 2017), nomeadamente na costa noroeste entre o Porto e a Figueira da Foz e na região de Lisboa (IPMA, 2019). Devido à sua elevada mobilidade, forma cardumes (gregária) na coluna de água (pelágica), que podem ultrapassar 100 m² e 10 toneladas (IPMA, 2019). A abundância e a distribuição da sardinha relacionam-se com o afloramento costeiro (“upwelling”). A sardinha tem um papel importante no ecossistema porque é uma presa essencial para várias espécies de cetáceos, de aves marinhas e de peixes (Silva, 2012). Como espécie pelágica, tem preferência por zonas costeiras entre os 25 a 100 m de profundidade (Braga et al., 2017). A sua época de reprodução é de outubro a abril, altura em que esta espécie está mais magra, sendo mais intensa entre dezembro e fevereiro (Silva, 2011; Nunes et al., 2011). É capturada por técnicas de redes de arrasto e com cerco, sendo o seu tamanho mínimo de captura 11 cm (DOCAPESCA, 2017). É comercializada fresca, congelada e em conservas (principal espécie usada na indústria conserveira portuguesa, absorvendo quase metade das capturas da frota nacional), sendo este um alimento uma boa fonte de ácidos gordos ω 3 (Barcarena, 2015).

A sardinha, *S. pilchardus*, tem um corpo fusiforme, coberto de escamas de cor azul prateado no dorso e de cor prateada no ventre (Fig. 2.2). Esta espécie cresce rapidamente, atingindo cerca de 90% do comprimento máximo durante os primeiros dois anos de vida; vive até aos 14 anos de idade e pode atingir os 27 cm de comprimento. Contudo, na costa portuguesa, predominam as sardinhas mais jovens (até 6-7 anos) e pequenas (até 21-22 cm) (IPMA, 2019). A sardinha alimenta-se exclusivamente de plâncton quer por filtração passiva, quer por predação ativa (Garrido et al., 2007; Costalago et al., 2015).

Cavala (*Scomber colias*)

A cavala, *S. colias*, é uma espécie costeira pelágica/bentopelágica com uma distribuição geográfica muito ampla, sendo mais abundante nas águas quentes e temperadas no Atlântico Norte, no Mar Mediterrâneo e zonas adjacentes, podendo atingir os 250 m de profundidade (Vasconcelos et al., 2011; Cikeš Keč e Zorica, 2013). Em Portugal, encontra-se por toda a costa continental, bem como nas águas costeiras dos arquipélagos dos Açores e Madeira (Perrota et al., 2005; Vasconcelos et al., 2012; Martins et al., 2013). Tem uma cabeça pontiaguda, um corpo alongado onde o seu dorso apresenta uma cor azul-esverdeado de listas pretas, e o seu ventre de cor prateada (Martins e Carneiro, 2015) (Fig. 2.3). O método de captura desta espécie é por redes de cerco e arrasto, sendo o seu tamanho mínimo de captura de 20 cm (Direção-Geral de Recursos Naturais, 2011). É comercializado fresco e em conservas, sendo este alimento uma boa fonte de ácidos gordos (Bandarra et al., 2004).



Figura 2.3 - *Scomber colias*, Gmelin 1789 (Cavala)

Fonte:
<https://www.fishbase.de/photos/PicturesSummary.php?StartRow=0&ID=54736&what=species&TotRec=3>

A cavala, *S. colias*, tem uma distribuição espacial inter-relacionada com a distribuição da sardinha e também com alguma influência da variação climática (Zwolinski et al., 2007). A ocorrência da cavala influencia a ocorrência da sardinha em termos qualitativos e não em termos quantitativos, através da competição por alimento durante os estágios larval/juvenil, já que ambas consomem principalmente zooplâncton (Zardoya et al., 2004; Velasco et al., 2011). A cavala tem um comportamento alimentar omnívoro e desta forma partilha recursos

alimentares com muitas outras espécies, com igual interesse comercial em Portugal. A sua biologia e predação provocam flutuações populacionais noutras espécies de pequenos peixes pelágicos, tais como o biqueirão, a sardinha e larvas destes (Martins et al., 2013; Fátima et al., 2015). Além disso, a sardinha e a cavala podem exercer predação uma sobre a outra. Segundo Martins et al. (2013), na costa portuguesa a cavala intercala em abundância com *S. pilchardus*. Esta relação é associada à competição por alimento (zooplâncton), à predação de larvas e juvenis de sardinha pela cavala e às alterações climáticas, uma vez que o aumento da temperatura favorece a desova da cavala, mas inibe este processo na sardinha.

A cavala desova no inverno-primavera, quando a temperatura sobe de 1°C a 2°C, acima do mínimo. As diferenças na época de desova entre a cavala e sardinha indiciam que a cavala nas fases iniciais da vida possa ser mais tolerante a temperaturas mais altas do que a sardinha (Martins et al., 2013). A expansão para o norte da cavala em Portugal pode ser parte de uma expansão mais geral para o norte de espécies “meridionais”, possivelmente ligadas ao aquecimento do mar (ICES, 2017).

2.2. Locais de amostragem

Os espécimes de biqueirão (*E. encrasicolus*), sardinha (*S. pilchardus*) e cavala (*S. colias*) foram capturados em 84 estações ao longo da costa portuguesa, mais precisamente na zona ocidental Norte (entre Caminha e Peniche - local A), zona ocidental Sul (entre Peniche e Sagres - local B), Algarve (Costa Algarvia - local C) e Cádiz (Golfo de Cádiz - local D). Os dados dos locais C e D foram agrupados, sendo considerada a zona C ao longo deste estudo. As capturas foram efetuadas utilizando várias artes de pesca como o arrasto de fundo, o arrasto pelágico e o cerco com o navio NI Noruega do IPMA, durante a campanha “Pelago 18”, no

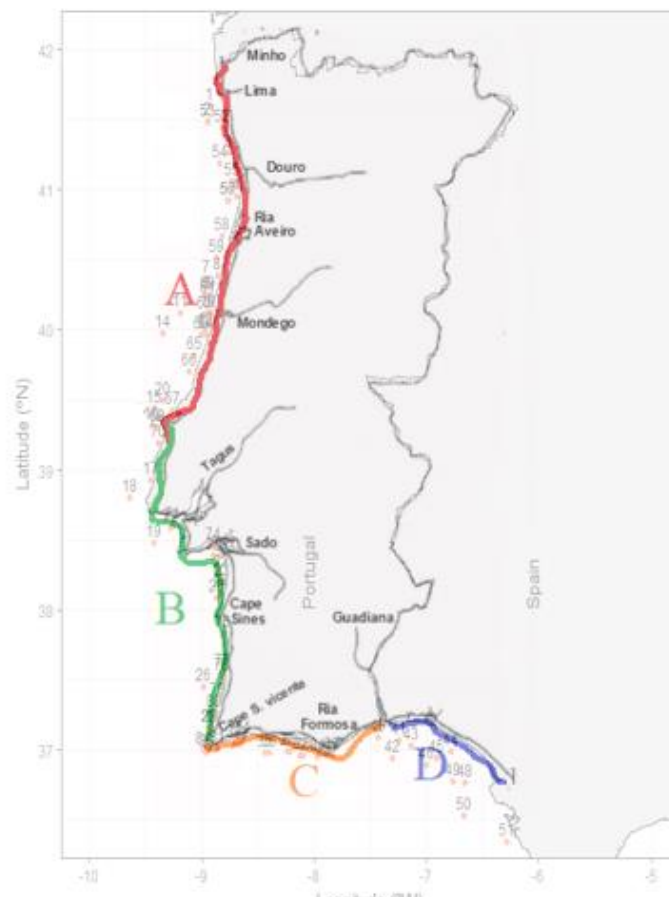


Figura 2.4 - Locais amostrados ao largo da costa portuguesa e golfe de Cádiz

projeto Sardinha 2020 (MAR2020), entre abril e maio de 2018, cobrindo a área desde Caminha até Vila Real de Santo António na Costa Portuguesa e a parte espanhola do Golfo de Cádiz (Fig. 2.4). As análises foram feitas no âmbito do Projeto CEIC (MAR2020).

2.3. Procedimentos em Laboratório

2.3.1. Amostragem biológica

Procedeu-se à descongelação e seleção dos indivíduos. Fez-se a contagem do número de indivíduos das três espécies em estudo e a sua identificação; os indivíduos selecionados foram dissecados, tendo-lhes sido retirado os seus órgãos/tecidos, mais precisamente as brânquias, o fígado e o músculo.

Após dissecação, as amostras foram congeladas para posterior liofilização. Assim, todas as amostras foram liofilizadas, de forma a remover todo o teor em água existente. Este processo variou entre 12 e 48 horas, dependendo do tamanho do tecido, e do seu teor em água.

Para todos os indivíduos foram registados o comprimento total e o peso, antes e depois da dissecação, estabelecendo-se classes de tamanhos.

As gónadas foram pesadas, sendo determinado o sexo de cada indivíduo (F-fêmea; M-macho; I-indefinido), bem com o estado de maturação de acordo com Afonso Dias et al. (2007): 1-imaturo; 2-pouco maturo; 3-pré desova; 4-desova; 5-pós desova (ver anexos I e II). De acordo com Cunha et al. (2005), observou-se e procedeu-se à codificação da cor: 1-esbranquiçado; 2-acastanhado; 3-esverdeado, e do enchimento: 1-vazio; 2-meio cheio; 3-cheio e 4- muito cheio (adaptado de a rebentar), dos estômagos (ver anexo III). No que diz respeito à gordura, esta foi observada de acordo com a escala de Furnestin (1945): 1-magro; 2-pouco gordo; 3-gordo; 4-muito gordo (ver anexo IV).

O conhecimento da relação peso-comprimento permite descrever aspetos da biologia e ecologia das espécies (Wang et al., 2012; Lima et al., 2017). Esta relação constitui um meio fácil e rápido de descrever o crescimento independentemente da idade do peixe daí a sua importância na aplicação na biologia pesqueira (Ritcher et al., 2000; Lima et al., 2017). Neste estudo, a relação peso-comprimento foi determinada através da seguinte equação (Le Cren, 1951; Lima et al., 2017):

$$W_t = a.L_t^b$$

Onde:

W_t = peso total (g);

L_t = comprimento total (cm);

a e b = estimativas dos parâmetros de regressão.

A classificação do tipo de crescimento baseou-se nos valores do coeficiente angular b, sendo que $b=3$ corresponde a crescimento isométrico, $b<3$ crescimento alométrico negativo e $b>3$ crescimento alométrico positivo. Assim,

$$b=3 \quad L_t = W_t$$

$$b<3 \quad L_t > W_t$$

$$b>3 \quad L_t < W_t$$

O fator de condição de um peixe reflete as circunstâncias físicas e biológicas e as flutuações por interação entre condições de alimentação, infeções parasitárias e fatores

fisiológicos. No presente estudo calculou-se o índice de condição de Fulkon (K) segundo a fórmula:

$$K = \frac{p \times 100}{L_t^3}$$

em que: K- Fator de condição

p – peso (g)

L_t - comprimento total (cm)

O índice de condição de Fulkon (K) varia entre um valor máximo de K=1 e um mínimo de K=0,01, sendo que o K=1 significa boa condição física, enquanto que K=0,01 significa má condição física.

2.3.2. Determinação de cádmio (Cd) e chumbo (Pb)

2.3.2.1. Digestão das amostras

Para o processo de digestão, pesou-se cerca de 200 mg de cada amostra previamente liofilizada de músculo, fígado e brânquias, de cada uma das espécies em estudo. Em seguida, transferiu-se para vasos de teflon (que estavam devidamente numerados e descontaminados¹) e adicionou-se 4 ml de HNO₃ destilado; fecharam-se os vasos e colocaram-se na estufa a 60°C, durante 12h. Posteriormente, colocou-se a estufa a 100°C, durante uma hora, ao fim da qual, se aguardou pelo arrefecimento dos vasos, tendo-lhes depois sido adicionados 2 ml de H₂O₂ a 30%. Os vasos foram colocados de novo na estufa a 80°C durante uma hora (Ferreira et al., 1997). No final desse período, abriu-se a estufa novamente para que os vasos de teflon arrefecessem, passando-se o respetivo conteúdo para tubos volumétricos e aferindo-se a 50 ml com H₂O Mili-Q (Ferreira et al., 1990; Kramer et al., 1994).

2.3.2.2. Determinação analítica

Fizeram-se diluições de todas as amostras. A diluição utilizada variou tendo em conta o tipo de tecido. Assim, para as amostras de músculos e brânquias diluíram-se 5 ml da amostra inicial para um volume final de 10 ml (diluição de 1:2), enquanto que nos fígados diluíram-se 2 ml da amostra inicial para um volume final de 10 ml (diluição de 1:5). As diluições foram sujeitas a análise elementar de metais por espectrometria de massa com plasma induzido acoplado (Thermo Elemental, X-Series). Esta técnica, de elevada sensibilidade, permite uma análise multielementar e isotópica.

¹ Descontaminação: Após utilização os vasos de teflon foram colocados em recipientes com extran e água Milli-Q durante cerca de 30 minutos para, posteriormente, serem lavadas com um escovilhão, colocando-se depois ácido nítrico destilado durante 3 dias, para remover todos os resíduos que pudessem estar presentes.

2.3.3. Determinação de mercúrio (Hg)

Para a determinação de Hg, utilizou-se um método baseado na decomposição eletrotérmica das amostras e na detecção de Hg por absorção atômica. As amostras liofilizadas foram colocadas em recipientes de Ni e sujeitas a um processo de secagem (105°C), ao que se seguiu a decomposição eletrotérmica com controlo térmico. Os produtos da decomposição foram levados por um fluxo de oxigénio para o interior de um tubo catalítico e mantidos a temperatura constante (aproximadamente 750°C). Após o término da decomposição, os halogéneos e óxidos de azoto e enxofre foram retidos no catalisador. Os restantes produtos de decomposição foram transportados por uma amálgama que se encontrava a 120°C para evitar a condensação da água, que absorve ao mesmo comprimento de onda que o Hg, podendo, por este modo, interferir na determinação da concentração de Hg (Scerbo e Barghigiani, 1998). Finalmente, a amálgama foi aquecida a 700°C, o vapor de Hg libertado e medido por absorção atômica a 254 nm.

As determinações de Hg foram efetuadas por um analisador de mercúrio, modelo AMA 254 LECO Instruments. Houve sempre o cuidado de se fazer a limpeza do espectrofotómetro. O tempo de cada uma das etapas utilizadas no processo da quantificação de Hg nas amostras dos diferentes tecidos (brânquias, músculo e fígado) das espécies em estudo encontra-se descrito na tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Condições experimentais de análise utilizadas para Hg.

Hg ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)			
Segundos (s)	Brânquias	Músculo	Fígado
Tempo de Secagem	60	60	60
Tempo de decomposição	150	150	150
Tempo com temperatura constante	50	50	50

Na quantificação de Hg, foram utilizados cerca de 3 a 4 mg das amostras e dos materiais de referência. A leitura do material de referência fez-se sempre antes da leitura das amostras e seguindo o mesmo procedimento. De referir que foi realizada a análise de Hg em brancos através de um recipiente de níquel sem amostra.

2.3.4. Validação dos métodos analíticos

Na validação dos métodos analíticos foi determinado o limite de detecção e o erro de precisão do método, tendo em vista a precisão e a exatidão dos resultados obtidos.

2.3.4.1. Determinação do limite de detecção

O limite de detecção (LD) é a menor concentração de analítico capaz de produzir um sinal diferente do sinal do branco (Anonymous, 1987). O limite de detecção foi calculado pelo produto do desvio padrão (σ) com parâmetro t'Student, para (n-1) graus de liberdade e para um grau de confiança de 95% ($p < 0,05$) (Gonçalves, 1990):

$$LD = \sigma_{n-1} \times$$

Os limites de detecção para o Cd e Pb foram 0,083 e 0,14 mg/kg, respetivamente. Enquanto, que o limite de detecção de Hg foi 0,090 mg/kg.

2.3.4.2. Determinação do erro de precisão

A exatidão dos resultados obtidos foi avaliada através da análise de padrões internacionais certificados (NRCC): DORM-4 (proteína de peixe) e DOLT-5 (fígado de peixe). A Tabela 2.2 apresenta os valores certificados e obtidos para os metais estudados nestes padrões.

Tabela 2.2 - Média e desvio padrão das concentrações (mg/kg, peso seco) certificadas de Cd, Pb e Hg nos padrões DORM-4 e DOLT-5 valores determinados.

		Hg	Cd	Pb
Padrões		mg/kg		
DORM-4	Certificado	0,412±0,036	0,299±0,018	0,404±0,062
	Obtido	0,437±0,022	0,306±0,015	0,416±0,053
DOLT-5	Certificado	0,44±0,18	14,5±0,6	0,162±0,032
	Obtido	0,402±0,019	14,5±0,7	0,162±0,032

2.4. Análise dos Dados

A análise estatística foi efetuada no programa SPSS® Statistics, v. 21 e Microsoft® Excel 2010. Primeiramente foi realizada uma análise estatística descritiva. Para as variáveis categóricas (nominais e ordinais) foram determinadas as frequências absolutas e relativas; para as variáveis numéricas determinaram-se as medidas de localização central e de dispersão.

Foi utilizada a mediana, para expressar a concentração de metais, em $\mu\text{g. g}^{-1}$, nos tecidos/órgãos, tendo em conta as áreas e as espécies em estudo, uma vez que é uma medida de tendência central não afetada por valores muito díspares (Zar, 1996). Todos os pontos outliers foram excluídos durante o estudo.

Utilizaram-se testes não paramétricos porque a transformação dos dados não resultou na sua normalização. Aos resultados obtidos para a concentração dos metais foram aplicados testes Mann-Whitney e Kruskal-Wallis.

Foi aplicada uma análise multivariada através do método HJ-Biplot, a qual permitiu relacionar todos os dados obtidos. Os métodos Biplot (Serafim et al., 2012; Vicente-Villardón, 2022) são técnicas de inspeção de dados multivariados, os quais permitem detetar grupos onde se identificam, através de gradientes, não só as tendências como as similaridades /dissimilaridades entre diferentes grupos da amostra estudada. Para tal foi utilizado o software MULTBILOT (MULTivariate Analysis using BILOT). A análise dos *clusters* (grupos) foi efetuada utilizando a distância Euclidiana através do HJ-BILOT.

3. Resultados

3.1. Caracterização das populações em estudo

Na tabela 3.1 encontra-se a identificação das espécies, o número de indivíduos, os intervalos de comprimento e de peso dos indivíduos capturados nas três áreas ao largo da costa portuguesa e golfo de Cádiz, assim como o índice condição de Fulkon (K).

Tabela 3.1- Identificação das espécies, área de captura (A, Caminha-Peniche; B, Peniche-Sagres; e C, Algarve-Cádiz), número de indivíduos (n°), comprimento (cm), peso (g) e índice de condição de Fulkon (K) de *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus* e *Scomber colias*, na costa portuguesa e golfo de Cádiz.

Espécies e área	n°	Comprimento (cm)	Peso (g)	K
<i>Engraulis encrasicolus</i> (ANE)	80			
A	21	9,6-10,5	5,3-7,0	0,57
C	59	9,5-13,0	5,0-15,8	0,60
<i>Sardina pilchardus</i> (PIL)	124			
A	20	10,8-12,9	11,6-15,7	0,71
B	19	17,5-20,6	50,9-84,3	0,82
C	85	7,6-17,2	3,3-48,0	0,70
<i>Scomber colias</i> (VMA)	121			
B	12	19,8-20,7	51,7-65,3	0,80
C	109	15,2-30,1	23,9-265,6	0,83

A espécie *E. encrasicolus* (biqueirão) foi encontrada nas áreas A (21 espécimes) e C (59 espécimes). Os indivíduos capturados nas duas áreas apresentaram tamanhos e pesos semelhantes, variando entre 9,5 e 13 cm, e entre 5,0 e 15,8 g, respetivamente. O peso médio desta espécie foi $7,85 \pm 1,78$ g e a classe de tamanho mais abundante foi a de 100 cm (Tabela 3.1).

Relativamente à espécie *S. pilchardus* (sardinha), um total de 124 indivíduos foi capturado, incluindo 20 na área A, 19 na área B e 85 indivíduos na área C. O comprimento variou entre 7,6 e 20,6 cm, sendo que os espécimes mais pequenos foram capturados nas áreas A (10,8-12,9 cm) e C (7,6-17,2 cm) e os maiores na área B (17,5-20,6 cm). O peso destes indivíduos variou entre 3,3 e 84,3 g. O peso médio desta espécie foi $23,5 \pm 12,9$ g e a classe de tamanho mais abundante foi a de 8,5 cm (Tabela 3.1).

Por outro lado, a espécie *S. colias* (cavala) não foi encontrada na área A. Na área B, capturaram-se 12 indivíduos cujos comprimentos variaram entre 19,8 e 20,7 cm. O peso destes indivíduos variou entre 51,7 e 65,3 g. Na área C, foi capturado o maior número de cavalas, 109 indivíduos, com comprimentos entre 15,2 e 30,1 cm, apresentando uma variação de peso entre 23,9 e 265,5 g. O peso médio desta espécie foi $75,9 \pm 35,5$ g e a classe de tamanho mais abundante foi a de 19,5 cm (Tabela 3.1).

No geral, foi na área C onde se capturou o maior número de indivíduos das três espécies. De referir, que as espécies capturadas em todas as áreas em estudo encontravam-se em boa condição física, com valores de K sempre superiores a 0,5.

3.1.1. Relação peso-comprimento

O estado nutricional das populações de pequenos peixes pelágicos pode ser avaliado através das relações entre o peso e o comprimento dos organismos. As três espécies em estudo demonstraram uma correlação isométrica, uma vez que o coeficiente angular b resultante do ajuste entre o peso e comprimento apresentou um valor de 3 (fig. 3.1).

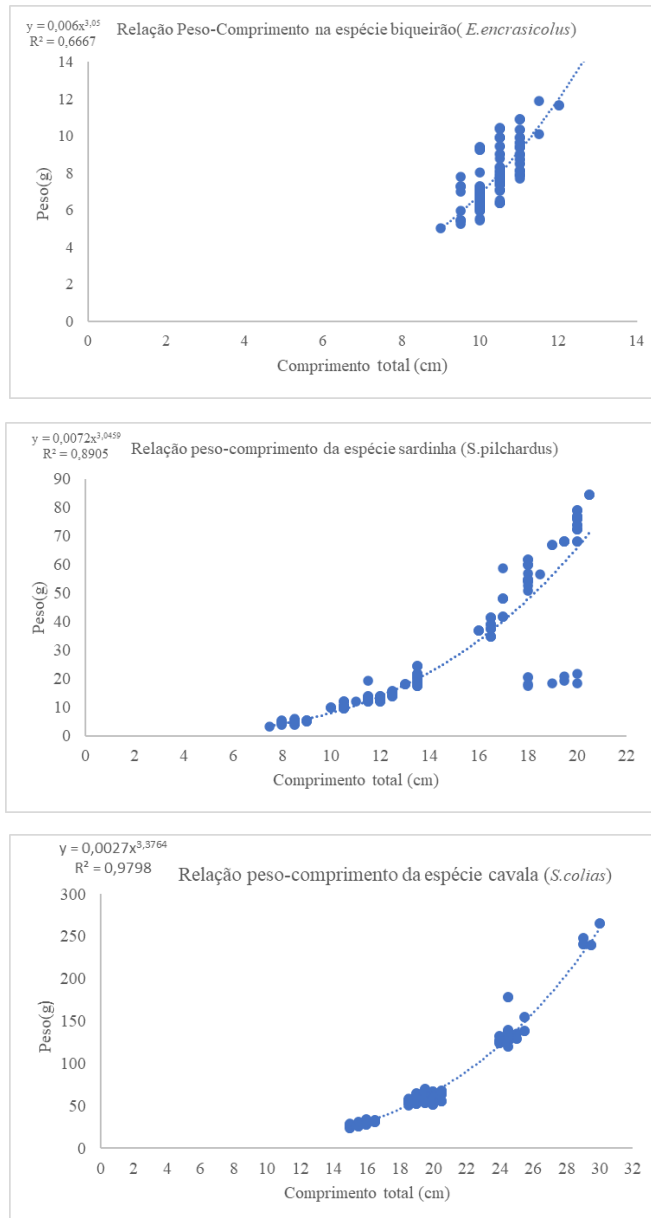


Figura 3.1 - Variação do peso (g) em função do comprimento (cm) nas espécies *Engraulis encrasicolus* (Biqueirão) *Sardina pilchardus* (Sardinha) e *Scomber colias* (Cavala).

3.1.2. Sexo e estado de maturação

O sexo e estado de maturação das espécies capturadas nas três áreas em estudo são apresentados na tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Sexo e variação do estado de maturação das espécies *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus* e *Scomber colias* capturadas em três áreas (A, Caminha-Peniche; B, Peniche-Sagres; e C, Algarve-Cádiz) da costa portuguesa e golfo de Cádiz.

Espécies	Sexo	Estado de Maturação	
<i>Engraulis encrasicolus</i> (ANE)			<u>Sexo</u>
A	F-13; M-8	2 a 5	I-Indefinido
C	F-19; M-40	2 a 5	F-Fêmeas
<i>Sardina pilchardus</i> (PIL)			M-Macho
A	I-20	-	<u>Estado de maturação</u>
B	F-8; M-11	2 a 5	1-Virgem
C	I-68; F-5; M-12	2 a 4	2-Em desenvolvimento
<i>Scomber colias</i> (VMA)			3-Pré desova
B	I-2; F-6; M-4	1 a 2	4- Desova
C	I-39; F-36; M-34	1 a 5	5- Pós desova

A espécie *E. encrasicolus* (biqueirão) apresentou um número de fêmeas (13) ligeiramente superior ao número de machos (8) na área A, o que não se verificou na área C, em que o número de machos (40) foi superior ao número de fêmeas (19). Quanto ao estado de maturação este variou nas duas áreas (A e C) entre “em desenvolvimento” e “pós desova”. No geral, os indivíduos do sexo masculino encontraram-se em maior número (M-48 indivíduos) e o estado de maturação mais frequente foi o estado 3 (pré desova), indicando que esta amostra contém maioritariamente indivíduos que ainda podem vir a reproduzir-se (Tabela 3.2).

Para os indivíduos da espécie *S. pilchardus* (sardinha), capturados na área A, não foi possível identificar o sexo e conseqüentemente o seu estado de maturação. Na área B, destacou-se algum equilíbrio entre o número de machos (11) e fêmeas (8). Dos poucos indivíduos em que se identificou o estado de maturação, este variou entre “em desenvolvimento” e “pós desova”. Na área C, na maioria dos indivíduos (68) não foi possível identificar o sexo ou estado de maturação; nos restantes espécimes foram identificados mais machos (12) do que fêmeas (5). Dos indivíduos em que foi possível identificar o sexo, os indivíduos do sexo masculino encontraram-se em maior número (M- 23 indivíduos) e o estado de maturação mais frequente foi o estado 1 (virgem), indicando que esta amostra é representada na maioria por indivíduos jovens (Tabela 3.2).

Para a espécie *S. colias* (cavala), na área B, o número de fêmeas (6) foi semelhante ao número de machos (4). Em dois dos indivíduos capturados não foi possível identificar o sexo e o estado de maturação. Na área C, o número de machos (34) foi semelhante ao número de fêmeas (36) e também ao número de indivíduos sem identificação do sexo (39). O estado de maturação foi identificado em grande parte dos indivíduos (66%), os quais na área B variaram entre o estado “virgem” e “em desenvolvimento”, enquanto que na área C variaram entre “virgem” e “pós desova”. Dos indivíduos em que foi possível identificar o sexo, as fêmeas encontraram-se em maior número (F- 42 indivíduos) e o estado de maturação mais frequente foi o estado 1 (virgem), indicando que esta amostra é representada na maioria por indivíduos jovens (Tabela 3.2).

3.1.3. Variação do conteúdo estomacal e da gordura

A cor, o enchimento do estômago e a gordura das espécies capturadas nas três áreas em estudo encontram-se apresentados na tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Cor, enchimento do estômago e gordura das espécies *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus* e *Scomber colias* capturados em três áreas (A, Caminha-Peniche; B, Peniche-Sagres; e C, Algarve-Cádiz) da costa portuguesa e golfo de Cádiz.

Espécies	Estômago		Gordura
	Côr	Enchimento	
<i>Engraulis encrasicolus</i> (ANE)			
A	1 a 2	1 a 3	1 a 3
C	1 a 3	1 a 4	1 a 3
<i>Sardina pilchardus</i> (PIL)			
A	1 a 3	1 a 4	1 a 3
B	1 a 3	1 a 3	2 a 3
C	1 a 3	1 a 4	1 a 3
<i>Scomber colias</i> (VMA)			
B	1 a 2	1 a 3	1 a 3
C	1 a 3	1 a 4	1 a 4

Cor

- 1- Esbranquiçado
- 2- Acastanhado
- 3- Verde

Enchimento

- 1- Vazio
- 2- Meio cheio
- 3- Cheio
- 4- Muito cheio

Gordura

- 1- Magro
- 2- Pouco gordo
- 3- Gordo
- 4- Muito gordo

O biqueirão (*E. encrasicolus*), na área A, apresentou uma cor de estômago que variou entre o esbranquiçado (1) e o acastanhado (2), enquanto que na área C se observou uma cor que variou entre o esbranquiçado (1) e o verde (3). Na área A, esta mesma espécie apresentou estômagos desde vazios (1) até cheios (3); já na área C apresentou uma variação de vazio (1) a muito cheio (4). O teor de gordura variou entre magro (1) e gordo (3) em ambas as áreas de incidência. A cor de estômago mais frequente nesta espécie é esbranquiçada (1) e o conteúdo estomacal é mais frequentemente representado pelo número 2 (pouco cheio). O teor de gordura é mais frequentemente representado pelo número 1 (magro) (Tabela 3.3).

A sardinha (*S. pilchardus*), nas áreas A, B e C, revelou uma variação de cor do estômago de esbranquiçado (1) a verde (3). Nas áreas A e C, esta mesma espécie apresentou estômagos desde vazios (1) até muito cheio (4); já na área B apresentou uma variação de vazio (1) a cheio (3). Foi possível observar que, no geral, nas três áreas, esta espécie apresentou algum teor de gordura. A cor mais frequente na espécie *S. pilchardus* é esverdeada (2), o conteúdo estomacal é mais frequentemente representado pelo número 2 (pouco cheio) e o teor de gordura é frequentemente representado pelo número 2 (pouco gordo) (Tabela 3.3).

A cavala (*S. colias*), na área B, apresentou uma cor de estômago que variou entre o esbranquiçado (1) e o acastanhado (2), enquanto que na área C apresentou uma cor que variou entre o esbranquiçado (1) e o verde (3). A variação do teor de gordura na espécie *S. colias* é grande, desde magra (1) até muito gorda (4). Na área B, esta mesma espécie apresentou estômagos desde vazios (1) até cheios (3); na área C, apresentou uma variação de vazio (1) a muito cheio (4). A cor mais representativa na espécie *S. colias* é a 1 (esbranquiçado), o conteúdo estomacal é mais frequentemente representado pelo número 2 (pouco cheio) e o teor de gordura é frequentemente representado pelo número 2 (pouco gordo) (Tabela 3.3).

3.2. Concentração de Cd, Hg e Pb nas espécies em estudo

A distribuição da concentração dos diferentes metais pelos tecidos/órgãos em estudo foi avaliada para cada espécie, tendo em consideração todos os dados obtidos, uma vez que os parâmetros biológicos não afetaram os níveis de metais encontrados. Assim, os níveis de Cd, Hg e Pb foram comparados nas brânquias, fígado e músculo nas três espécies em estudo.

3.2.1. Variação da concentração de metais nos tecidos do biqueirão (*E. encrasicolus*)

Para a espécie *E. encrasicolus*, a distribuição dos metais estudados variou nos diferentes tecidos (tabela 3.4).

Tabela 3.4 - Concentrações de Cd, Hg e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) nas brânquias, fígado e músculo da espécie *Engraulis encrasicolus* (ANE), biqueirão.

	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Brânquias			
Med	0,080 ^a	0,14 ^a	0,58 ^a
min-máx	0,080-0,14	0,080-0,24	0,15-1,2
Fígado			
Med	0,96 ^b	0,46 ^b	0,43 ^b
min-máx	0,090-2,7	0,12-1,2	0,15-2,4
Músculo			
Med	<LD	0,13 ^a	<LD
min-máx	<LD	0,070-0,21	<LD

<LD (abaixo do limite de deteção).

Med (valor mediano em $\mu\text{g g}^{-1}$), min (valor mínimo em $\mu\text{g g}^{-1}$), máx (valor máximo em $\mu\text{g g}^{-1}$)

Letras diferentes (a, b e c) assinalam diferenças significativas ($p < 0,05$), enquanto que letras iguais não apresentam diferenças estatísticas ($p > 0,05$). A diferença estatística é verificada para cada metal nos diferentes tecidos. Teste Kruskal-Wallis e Teste Mann-Whitney

Os níveis de Cd nas brânquias, variaram entre 0,080 e 0,14 $\mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de 0,08 $\mu\text{g g}^{-1}$. No fígado, os níveis de Cd variaram entre 0,090 e 2,7 $\mu\text{g g}^{-1}$, com um valor mediano de 0,96 $\mu\text{g g}^{-1}$. O músculo apresentou níveis abaixo do limite de deteção para este metal, não podendo ser comparado estatisticamente com os outros tecidos para este elemento. O fígado apresentou níveis de Cd significativamente superiores aos das brânquias ($p < 0,05$) (tabela 3.4).

As concentrações de Hg nas brânquias variaram entre 0,080 e 0,24 $\mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de 0,14 $\mu\text{g g}^{-1}$. No fígado, os níveis de Hg variaram entre 0,12 e 1,2 $\mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de 0,46 $\mu\text{g g}^{-1}$. Já no músculo, os níveis de Hg variaram entre 0,070 e 0,21 $\mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de 0,13 $\mu\text{g g}^{-1}$. Os níveis de Hg no fígado foram significativamente superiores ($p < 0,05$) aos das brânquias e do músculo, os quais não apresentaram diferenças significativas entre si ($p > 0,05$) (tabela 3.4).

Os níveis de Pb nas brânquias variaram entre 0,15 e 1,2 $\mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de 0,58 $\mu\text{g g}^{-1}$. No fígado os níveis de Pb variaram entre 0,15 e 2,4 $\mu\text{g g}^{-1}$,

apresentando um valor mediano de $0,43 \mu\text{g g}^{-1}$. O músculo apresentou níveis abaixo do limite de deteção sem variação para o elemento Pb, não podendo ser comparado estatisticamente com os outros tecidos para este elemento. As brânquias apresentaram níveis de Pb significativamente superiores aos do fígado ($p < 0,05$) (tabela 3.4).

3.2.2. Variação da concentração de metais nos tecidos da sardinha (*S. pilchardus*)

Tal como no biqueirão, para a espécie *S. pilchardus* (sardinha), a distribuição dos metais estudados variou nos diferentes tecidos (tabela 3.5).

Tabela 3.5 - Concentrações de Cd, Hg e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) nas brânquias, fígado e músculo da espécie *Sardina pilchardus* (PIL), sardinha.

	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Brânquias			
Med	0,10 ^a	0,090 ^a	0,89 ^a
min-máx	0,10-0,23	0,040-0,17	0,13-2,8
Fígado			
Med	0,55 ^b	0,19 ^b	0,47 ^b
min-máx	0,10-1,7	0,004-0,39	0,14-2,5
Músculo			
Med	<LD	0,11 ^c	<LD
min-máx	<LD	0,040-0,23	<LD

<LD (abaixo do limite de deteção).

Med (valor mediano em $\mu\text{g g}^{-1}$), min (valor mínimo em $\mu\text{g g}^{-1}$), máx (valor máximo em $\mu\text{g g}^{-1}$)

Letras diferentes (a, b e c) assinalam diferenças significativas ($p < 0,05$), enquanto que letras iguais não apresentam diferenças estatísticas ($p > 0,05$). A diferença estatística é verificada para cada metal nos diferentes tecidos. Teste Kruskal-Wallis e Teste Mann-Whitney

Os níveis de Cd nas brânquias, variaram entre 0,10 e $0,23 \mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de $0,10 \mu\text{g g}^{-1}$. No fígado, os níveis deste elemento variaram entre 0,10 e $1,7 \mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de $0,55 \mu\text{g g}^{-1}$. O músculo apresentou níveis abaixo do limite de deteção, não podendo ser comparado estatisticamente com os outros tecidos. O fígado apresentou níveis de Cd significativamente superiores aos das brânquias ($p < 0,05$) (tabela 3.5).

Relativamente aos níveis de Hg nas brânquias, a concentração deste metal variou entre 0,004 e $0,17 \mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de $0,090 \mu\text{g g}^{-1}$. No fígado, os níveis de Hg variaram entre 0,004 e $0,39 \mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de $0,19 \mu\text{g g}^{-1}$. Quanto ao músculo, variaram entre 0,040 e $0,23 \mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de $0,11 \mu\text{g g}^{-1}$. Os diferentes órgãos/tecidos apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre si relativamente aos níveis de Hg. Assim, a concentração de Hg apresentou a seguinte ordem: fígado > músculo > brânquias ($p < 0,05$).

Os níveis de Pb nas brânquias variaram entre 0,13 e $2,8 \mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de $0,89 \mu\text{g g}^{-1}$. No fígado, os níveis de Pb variaram entre 0,14 e $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de $0,47 \mu\text{g g}^{-1}$. O músculo apresentou níveis abaixo do limite de deteção sem variação para o elemento Pb, não podendo ser comparado estatisticamente com

os outros tecidos para este elemento. As brânquias apresentaram níveis de Pb significativamente superiores aos do fígado ($p < 0,05$).

3.2.3. Variação da concentração de metais nos tecidos da cavala (*S. colias*)

Tal como nas espécies anteriormente analisadas, na espécie *S. colias* (cavala) a distribuição dos metais estudados variou nos diferentes tecidos (tabela 3.6).

Tabela 3.6 - Concentrações de Cd, Hg e Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$) nas brânquias, fígado e músculo da espécie *S. colias* (VMA), cavala.

	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Brânquias			
Med	0,24 ^a	0,19 ^a	0,63 ^a
min-máx	0,080-0,30	0,080-0,30	0,14-1,9
Fígado			
Med	7,5 ^b	0,30 ^b	0,21 ^b
min-máx	1,9-24	0,070-0,67	0,14-0,71
Músculo			
Med	<LD	0,19 ^a	<LD
min-máx	<LD	0,080-0,30	<LD

<LD (abaixo do limite de deteção). Med (valor mediano em $\mu\text{g g}^{-1}$), min (valor mínimo em $\mu\text{g g}^{-1}$), máx (valor máximo em $\mu\text{g g}^{-1}$).

Letras diferentes (a, b e c) assinalam diferenças significativas ($p < 0,05$), enquanto que letras iguais não apresentam diferenças estatísticas ($p > 0,05$). A diferença estatística é verificada para cada metal nos diferentes tecidos. Teste Kruskal-Wallis e Teste Mann-Whitney

Os níveis de Cd nas brânquias variaram entre 0,080 e 0,30 $\mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de 0,24 $\mu\text{g g}^{-1}$. No fígado, os níveis de Cd variaram entre 1,9 e 24 $\mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de 7,5 $\mu\text{g g}^{-1}$. Assim, o fígado apresentou níveis de Cd significativamente superiores ($p < 0,05$) comparativamente aos das brânquias. O músculo apresentou níveis abaixo do limite de deteção para o Cd não podendo ser comparado estatisticamente com os outros tecidos para este elemento (tabela 3.6).

Os níveis de Hg nas brânquias variaram entre 0,080 e 0,30 $\mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de 0,19 $\mu\text{g g}^{-1}$. No órgão fígado, os níveis de Hg variaram entre 0,070 e 0,67 $\mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de 0,30 $\mu\text{g g}^{-1}$. Os níveis de Hg no tecido músculo variaram entre 0,080 e 0,30 $\mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de 0,19 $\mu\text{g g}^{-1}$. Assim, verificou-se que o fígado apresentou níveis de Hg significativamente superiores ($p < 0,05$) aos das brânquias e dos músculos, os quais apresentaram valores semelhantes (tabela 3.6).

Por último, os níveis de Pb nas brânquias variaram entre 0,14 e 1,9 $\mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de 0,63 $\mu\text{g g}^{-1}$. No fígado, os níveis de Pb variaram entre 0,14 e 0,71 $\mu\text{g g}^{-1}$, apresentando um valor mediano de 0,21 $\mu\text{g g}^{-1}$. O músculo apresentou níveis abaixo do limite de deteção sem variação para o Pb, não podendo ser comparado estatisticamente com os outros tecidos para este elemento. As brânquias apresentaram níveis de Pb significativamente superiores ($p < 0,05$) aos do fígado (tabela 3.6).

3.2.4. Comparação da concentração de metais por tecidos entre as espécies

No sentido de analisar as diferenças entre as espécies em estudo, os níveis de metais nos diferentes tecidos foram comparados.

Brânquias. As concentrações de Cd, Hg e Pb registadas nas brânquias de biqueirão (*E. encrasicolus*), de sardinha (*S. pilchardus*) e de cavala (*S. colias*) são apresentadas na figura 3.2.

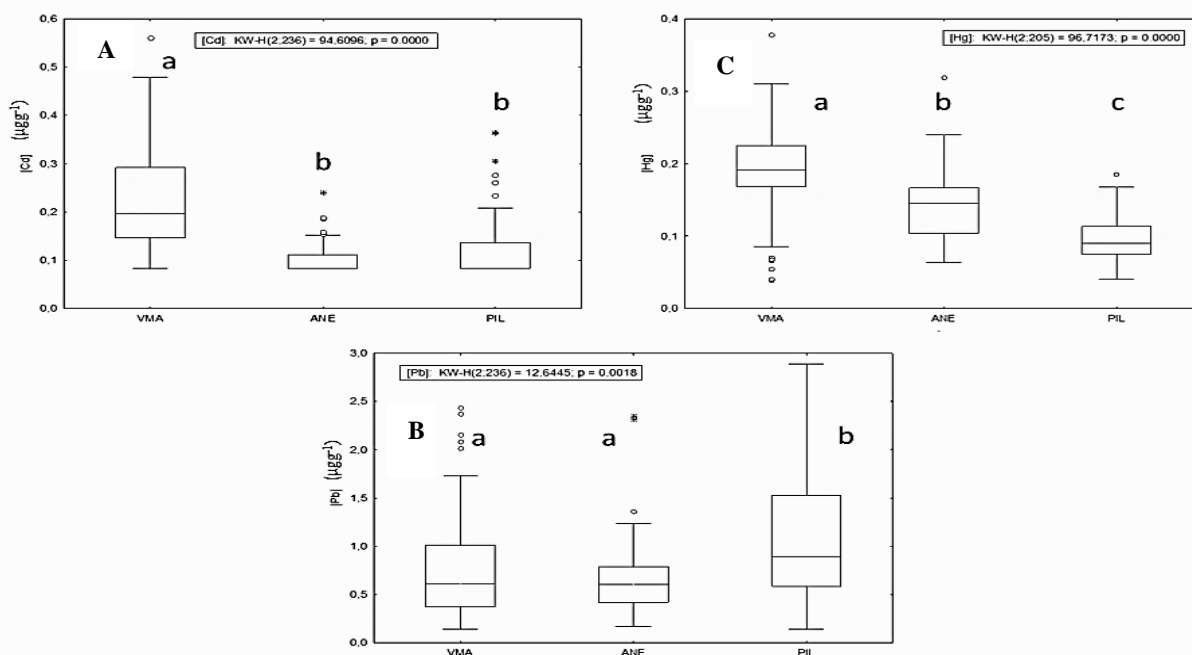


Figura 3.2 - Medianas, percentis 25 e 75, máximo e mínimo das concentrações de Cd (A), Hg (B) e Pb (C) ($\mu\text{g g}^{-1}$, peso seco) nas brânquias das espécies *S. colias* (VMA), *E. encrasicolus* (ANE) e *S. pilchardus* (PIL) capturadas ao longo da costa portuguesa.

As letras que se encontram em minúscula (a, b e c) servem para distinguir se são diferentes estatisticamente, letras iguais não apresentam diferenças estatísticas para valores de $p > 0,05$.

Os níveis de Cd, nas brânquias, foram significativamente superiores na cavala ($0,20 \mu\text{g g}^{-1}$), comparativamente com a sardinha ($0,090 \mu\text{g g}^{-1}$) e o biqueirão ($0,083 \mu\text{g g}^{-1}$). Os valores de concentração de Cd não foram significativamente diferentes entre o biqueirão (*E. encrasicolus*) e a sardinha (*S. pilchardus*) ($p > 0,05$) (figura 3.2A). As concentrações de Hg foram mais elevadas na cavala ($0,19 \mu\text{g g}^{-1}$) seguidas do biqueirão ($0,14 \mu\text{g g}^{-1}$) e da sardinha ($0,090 \mu\text{g g}^{-1}$). Todas as concentrações de Hg, nas brânquias, foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) entre as espécies (figura 3.2B). As concentrações de Pb foram significativamente superiores nas brânquias da sardinha (*S. pilchardus*) ($0,90 \mu\text{g g}^{-1}$) comparativamente às da cavala (*S. colias*) ($0,70 \mu\text{g g}^{-1}$) e do biqueirão (*E. encrasicolus*) ($0,65 \mu\text{g g}^{-1}$) ($p < 0,05$), embora a concentrações de Pb nas brânquias da cavala (*S. colias*) e do biqueirão (*E. encrasicolus*) não apresentassem diferenças significativas entre si ($p > 0,05$) (figura 3.2C).

Fígado. As concentrações de Cd, Hg e Pb registadas no fígado de biqueirão (*E. encrasicolus*), de sardinha (*S. pilchardus*) e de cavala (*S. colias*) são apresentadas na figura 3.3.

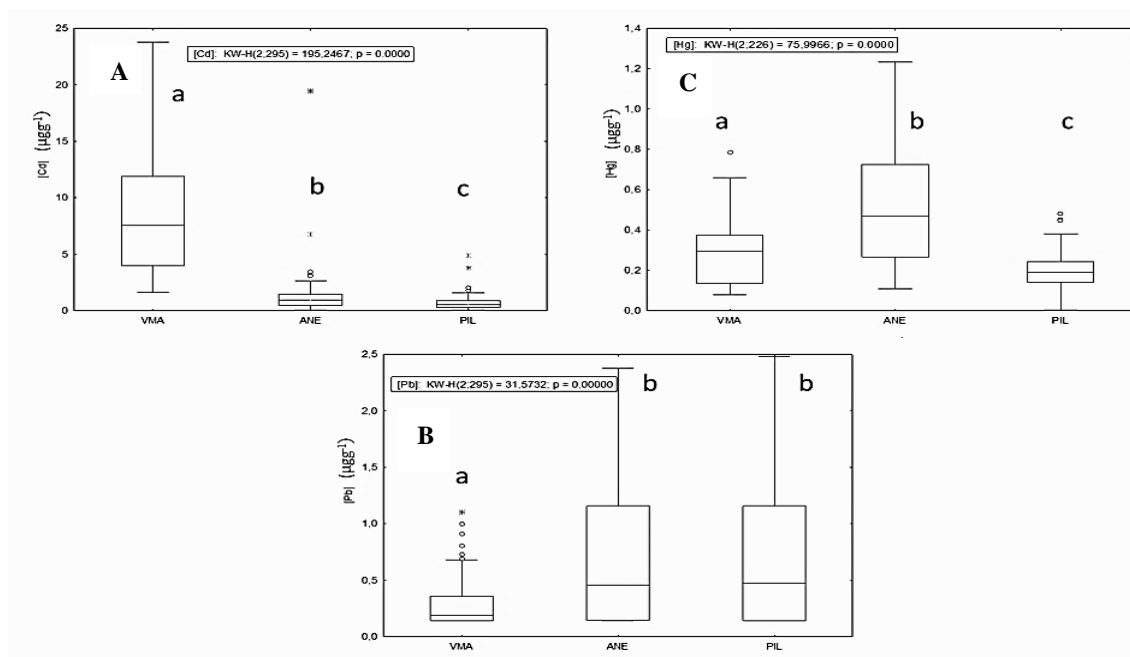


Figura 3.3 - Medianas, percentis 25 e 75, máximo e mínimo das concentrações de Cd (A), Hg (B) e Pb (C) ($\mu\text{g g}^{-1}$, peso seco) no fígado das espécies *S. colias* (VMA), *E. encrasicolus* (ANE) e *S. pilchardus* (PIL) capturadas ao longo da costa portuguesa.

As letras que se encontram em minúscula (a, b e c) servem para distinguir se são diferentes estatisticamente, letras iguais não apresentam diferenças estatísticas para valores de $p > 0,05$. Teste Kruskal-Wallis e Teste Mann-Whitney

O fígado de cavala (*S. colias*) apresentou teores de Cd ($7,5 \mu\text{g g}^{-1}$) mais elevados do que o biqueirão (*E. encrasicolus*) ($0,62 \mu\text{g g}^{-1}$) e a sardinha (*S. pilchardus*) ($0,31 \mu\text{g g}^{-1}$). Registaram-se diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) no fígado das três espécies (figura 3.3A). O biqueirão (*E. encrasicolus*) apresentou teores mais elevados de Hg ($0,44 \mu\text{g g}^{-1}$), seguido da cavala (*S. colias*) ($0,30 \mu\text{g g}^{-1}$) e da sardinha (*S. pilchardus*) ($0,20 \mu\text{g g}^{-1}$). As diferenças entre espécies foram significativas ($p < 0,05$) (figura 3.3B). As concentrações de Pb foram superiores na sardinha (*S. pilchardus*) ($0,54 \mu\text{g g}^{-1}$), seguindo-se o biqueirão (*E. encrasicolus*) ($0,47 \mu\text{g g}^{-1}$) e a cavala (*S. colias*) ($0,19 \mu\text{g g}^{-1}$). As concentrações de Pb foram significativamente mais baixas no fígado da cavala quando comparadas com os fígados dos biqueirões e das sardinhas ($p < 0,05$). O fígado do biqueirão e da sardinha apresentaram concentrações semelhantes de Pb ($p > 0,05$) (figura 3.3C).

Músculo. Só foi possível fazer a comparação entre as espécies para as concentrações de Hg no músculo, uma vez que os teores de Cd e Pb, neste tecido, foram abaixo do limite de detecção. O músculo da cavala (*S. colias*) apresentou os teores mais elevados ($0,21 \mu\text{g g}^{-1}$), seguido do biqueirão (*E. encrasicolus*) ($0,17 \mu\text{g g}^{-1}$) e da sardinha (*S. pilchardus*) ($0,11 \mu\text{g g}^{-1}$). As variações dos níveis de Hg entre as 3 espécies estudadas foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$) (figura 3.4).

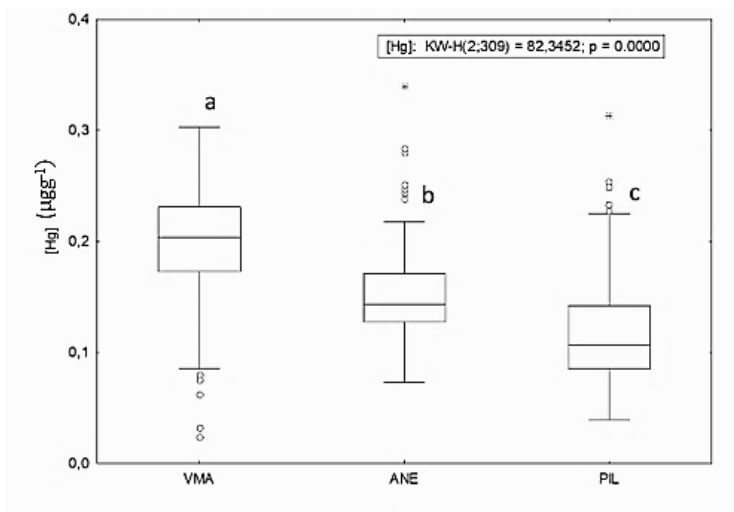


Figura 3.4 - Medianas, percentis 25 e 75, máximo e mínimo das concentrações de Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$, peso seco) no músculo das espécies *S. colias* (VMA), *E. encrasicolus* (ANE) e *S. pilchardus* (PIL) capturadas ao longo da costa portuguesa.

As letras que se encontram em minúscula (a, b e c) servem para distinguir se são diferentes estatisticamente, letras iguais não apresentam diferenças estatísticas para valores de $p > 0,05$. Teste Kruskal-Wallis e Teste Mann-Whitney

3.3. Distribuição espacial

A concentração dos metais nas três espécies foi avaliada em três áreas distintas, ao longo da costa portuguesa. As áreas em estudo abrangeram a área A - Caminha a Peniche, área B - Peniche a Sagres e a área C - Algarve a Cádiz, incluindo parte do golfo de Cádiz.

3.3.1 Variação espacial da concentração de metais nos tecidos do biqueirão (*E. encrasicolus*)

Na espécie *E. encrasicolus*, os valores de Cd registados para as brânquias encontraram-se abaixo do limite de deteção na área C, enquanto que na área A variaram entre 0,070 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 0,14 $\mu\text{g g}^{-1}$, com o valor mediano de 0,11 $\mu\text{g g}^{-1}$. As concentrações de Cd apresentadas no fígado, na área A (valor mediano 1,7 $\mu\text{g g}^{-1}$), foram superiores às da área C (valor mediano 0,79 $\mu\text{g g}^{-1}$), sendo estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$). Os valores de Cd para o músculo nestas áreas encontraram-se abaixo do limite de deteção (tabela 3.7).

Na área A, foi inviabilizada a comparação da concentração de Hg nas brânquias desta espécie, devido a uma quantidade insuficiente deste órgão (m i). Na área C, nas brânquias, as concentrações variaram entre 0,060 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 0,23 $\mu\text{g g}^{-1}$, com o valor mediano de 0,19 $\mu\text{g g}^{-1}$. Os valores da concentração de Hg apresentados no fígado, na área C (0,54 $\mu\text{g g}^{-1}$) foram superiores aos da área A (0,25 $\mu\text{g g}^{-1}$), apresentando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Na área C, a concentração de Hg no músculo (variando entre 0,12 e 0,23 $\mu\text{g g}^{-1}$, com valor mediano de 0,15 $\mu\text{g g}^{-1}$), foi semelhante aos valores registados na área A (variando entre 0,080 e 0,18 $\mu\text{g g}^{-1}$, com valor mediano de 0,13 $\mu\text{g g}^{-1}$), não tendo apresentado diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) (tabela 3.7).

Na área A, o Pb, nas brânquias da espécie *E. encrasicolus*, apresentou maior concentração (valor mediano de 0,75 $\mu\text{g g}^{-1}$) quando comparada à área C (valor mediano de 0,57 $\mu\text{g g}^{-1}$), apresentando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). A concentração de Pb no fígado também foi superior na área A (valor mediano 0,64 $\mu\text{g g}^{-1}$) comparativamente à área C (valor mediano 0,42 $\mu\text{g g}^{-1}$), apresentando também diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). O valor mediano da concentração de Pb para o músculo, na área A, foi de 0,25 $\mu\text{g g}^{-1}$ (variando entre 0,21 e 0,28 $\mu\text{g g}^{-1}$), enquanto que na área C se encontrou abaixo do limite de deteção (tabela 3.7).

Tabela 3.7 - Concentração de metais nas áreas A e C por tecido na espécie *E. encrasicolus* (biqueirão).

	Área A			Área C		
	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Brânquias						
Med	0,11	m i	0,75 ^a	<LD	0,19	0,57 ^b
min-máx	0,070-0,14	m i	0,35-1,3	<LD	0,060-0,23	0,14-1,0
Fígado						
Med	1,7 ^a	0,25 ^a	0,64 ^a	0,79 b	0,54 ^b	0,42 ^b
min-máx	0,57-3,4	0,17-0,37	0,21-1,8	0,080-1,5	0,12-1,5	0,14-2,4
Músculo						
Med	<LD	0,13 a	0,25	<LD	0,15 ^a	<LD
min-máx	<LD	0,080-0,18	0,21-0,28	<LD	0,12-0,23	<LD

m i- massa insuficiente, <LD (abaixo do limite de deteção), med (valor mediano em $\mu\text{g g}^{-1}$), min (valor mínimo em $\mu\text{g g}^{-1}$), máx (valor máximo em $\mu\text{g g}^{-1}$), área A (Caminha - Peniche) e área C (Algarve - parte do Golfo de Cádiz). As letras que se encontram em minúscula (a, b e c) servem para distinguir se são diferentes estatisticamente, letras iguais não apresentam diferenças estatísticas para valores de $p > 0,05$. Teste Kruskal-Wallis e Teste Mann-Whitney

3.3.2. Variação espacial da concentração de metais nos tecidos da sardinha (*S. pilchardus*)

Na espécie *S. pilchardus*, os valores de Cd registados para as brânquias encontraram-se abaixo o limite de deteção nas áreas B e C, enquanto que na área A as concentrações variaram entre $0,080 \mu\text{g g}^{-1}$ e $0,31 \mu\text{g g}^{-1}$, com o valor mediano de $0,14 \mu\text{g g}^{-1}$.

Nas áreas A e B, as concentrações de Cd apresentadas no fígado foram muito semelhantes (valores medianos de $0,81 \mu\text{g g}^{-1}$ e $0,80 \mu\text{g g}^{-1}$, respetivamente), não apresentando diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$). Contudo, os valores registados nestas áreas foram superiores aos da área C (valor mediano de $0,39 \mu\text{g g}^{-1}$), verificando-se que o fígado, na área C, apresentou concentrações estatisticamente mais baixas ($p < 0,05$). Os valores de Cd para o músculo em todas as áreas encontraram-se abaixo do limite de deteção (tabela 3.8).

Os organismos capturados nas 3 áreas apresentaram concentrações semelhantes de Hg nas brânquias, não apresentando diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$). Todavia, os valores da concentração de Hg foram ligeiramente superiores na área A (valor mediano de $0,10 \mu\text{g g}^{-1}$) comparativamente às áreas B e C, ambas com valor mediano de $0,09 \mu\text{g g}^{-1}$. Nas áreas B e C, os valores da concentração de Hg apresentados no fígado foram iguais (valor mediano de $0,17 \mu\text{g g}^{-1}$), pelo que este órgão não apresentou diferenças estatisticamente significativas nestas duas áreas ($p > 0,05$). Contudo, comparativamente à área A, os valores da concentração de Hg foram inferiores, a qual apresentou um valor mediano de $0,25 \mu\text{g g}^{-1}$, daí que o fígado tenha apresentado diferenças estatisticamente significativas em comparação com as áreas B e C ($p < 0,05$). A concentração de Hg no músculo foi superior na área B (valor mediano de $0,19 \mu\text{g g}^{-1}$) comparativamente às áreas A e C. A área A apresentou um valor mediano de $0,13 \mu\text{g g}^{-1}$ e a área C de $0,10 \mu\text{g g}^{-1}$ (tabela 3.8), apresentando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

Na área A, a concentração de Pb nas brânquias foi superior ($1,9 \mu\text{g g}^{-1}$), quando comparada às áreas B ($0,78 \mu\text{g g}^{-1}$) e C ($0,71 \mu\text{g g}^{-1}$), apresentando diferenças estatisticamente significativas entre as áreas ($p < 0,05$). A concentração de Pb no fígado só foi possível comparar nas áreas A e C, uma vez que na área B as concentrações estavam abaixo do limite de deteção. Como tal, os valores da concentração de Pb na área A ($0,62 \mu\text{g g}^{-1}$) foram superiores aos da área C ($0,59 \mu\text{g g}^{-1}$), pelo que o fígado apresentou diferenças estatisticamente significativas para estas duas áreas ($p < 0,05$).

Os valores da concentração de Pb no músculo, nas três áreas, encontravam-se abaixo do limite de deteção (tabela 3.8).

Tabela 3.8 - Concentração de metais nas áreas A, B e C por tecido na espécie *Sardina pilchardus* (sardinha).

	área A			área B			área C		
	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Brânquias									
Med	0,14	0,10 ^a	1,9 ^a	<LD	0,090 ^a	0,78 ^b	<LD	0,090 ^a	0,71 ^c
min-máx	0,080-0,31	0,050-0,18	0,17-3,6	<LD	0,070-0,14	0,38-1,3	<LD	0,040-0,14	0,16-2,8
Fígado									
Med	0,81 ^a	0,25 ^a	0,62 ^a	0,80 ^a	0,17 ^b	<LD	0,39 ^b	0,17 ^b	0,59 ^b
min-máx	0,23-1,2	0,11-0,45	0,12-2,4	0,080-1,6	0,11-0,25	<LD	0,070-1,5	0,005-0,38	0,16-2,9
Músculo									
Med	<LD	0,13 ^a	<LD	<LD	0,19 ^b	<LD	<LD	0,10 ^a	<LD
min-máx	<LD	0,11-0,14	<LD	<LD	0,12-0,24	<LD	<LD	0,050-0,16	<LD

<LD (abaixo do limite de deteção), Med (valor mediano em $\mu\text{g g}^{-1}$), min (valor mínimo em $\mu\text{g g}^{-1}$), máx (valor máximo em $\mu\text{g g}^{-1}$), área A (Caminha-Peniche), área B (Peniche- Sagres) e área C (Algarve - parte do Golfo de Cádiz). As letras que se encontram em minúscula (a, b e c) servem para distinguir se são diferentes estatisticamente, letras iguais não apresentam diferenças estatísticas para valores de $p>0,05$. Teste Kruskall-Wallis e Teste Mann-Whitney

3.3.3. Variação espacial da concentração de metais nos tecidos da cavala (*S. colias*)

Para a espécie *S. colias* só foi possível comparar as concentrações dos metais nos seus tecidos nas áreas B e C, uma vez que a mesma não se encontrou na área A. A comparação de valores no fígado da espécie *S. colias* foi inviabilizada devido à pouca massa obtida para este órgão nos organismos da área B.

As concentrações de Cd registados nas brânquias foram semelhantes nas duas áreas (valor mediano de 0,25 $\mu\text{g g}^{-1}$ na área B e 0,24 $\mu\text{g g}^{-1}$ na área C), não apresentando diferenças estatisticamente significativas ($p>0,05$). Os valores da concentração de Cd no tecido músculo encontravam-se abaixo do limite de deteção nas duas áreas (tabela 3.9).

A concentração de Hg nas brânquias desta espécie foi superior na área B (0,19 $\mu\text{g g}^{-1}$) embora não diferindo da concentração da área C (0,17 $\mu\text{g g}^{-1}$), não apresentando diferenças estatisticamente significativas ($p>0,05$). A concentração de Hg no músculo, na área C (valor mediano de 0,22 $\mu\text{g g}^{-1}$), foi superior à concentração na área B (valor mediano de 0,18 $\mu\text{g g}^{-1}$) (tabela 3.9). Este tecido apresentou diferenças estatisticamente significativas entre as duas áreas ($p<0,05$).

Na área C os valores de Pb nas brânquias da espécie *S. colias*, foram superiores (valor mediano de 0,63 $\mu\text{g g}^{-1}$) quando comparada à área B (0,56 $\mu\text{g g}^{-1}$), apresentando diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$). Os valores da concentração de Pb no músculo nas duas áreas encontravam-se abaixo do limite de deteção (tabela 3.9).

Tabela 3.9 - Concentração de metais nas áreas A, B e C por tecido na espécie *Scorpaenopsis colias* (cavala).

	área B			área C		
	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cd ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Hg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Brânquias						
Med	0,25 ^a	0,19 ^a	0,56 ^a	0,24 ^a	0,17 ^a	0,63 ^b
min-máx	0,11-0,41	0,17-0,27	0,28-0,98	0,16-0,31	0,070-0,31	0,14-2,0
Fígado						
Med	m i	m i	m i	7,8	0,22	<LD
min-máx	m i	m i	m i	1,8-24	0,080-0,66	0,14-0,69
Músculo						
Med	<LD	0,18 ^a	<LD	<LD	0,22 ^b	<LD
min-máx	<LD	0,16-0,24	<LD	<LD	0,070-0,30	<LD

<LD (abaixo do limite de deteção) mi - massa insuficiente, Med (valor mediano em $\mu\text{g g}^{-1}$), min (valor mínimo em $\mu\text{g g}^{-1}$), máx (valor máximo em $\mu\text{g g}^{-1}$), área A (Caminha - Peniche), área B (Peniche - Sagres) e área C (Algarve - parte do Golfo de Cádiz). As letras que se encontram em minúscula (a, b e c) servem para distinguir se são diferentes estatisticamente, letras iguais não apresentam diferenças estatísticas para valores de $p>0,05$. Teste Kruskal-Wallis e Teste Mann-Whitney

3.4. Análise multivariada

A aplicação de uma análise multivariada através do método HJ-Biplot permitiu relacionar a concentração de metais pesados (Cd, Hg e Pb) com os outros dados obtidos nomeadamente os parâmetros biométricos (classe de comprimento e peso), intensidade de alimentação (cor, gordura e enchimento), número de machos/fêmeas, estado de maturação (adultos/juvenis), área e tecidos amostrados. Esta análise foi efetuada separadamente para cada uma das espécies em estudo e considerando a totalidade das espécies.

Desta forma, esta análise foi efetuada separadamente para cada uma das espécies em estudo e ainda considerando a totalidade das espécies. Assim, e apesar de não existirem relações significativas na variação da concentração de metais em função dos parâmetros biológicos determinados no presente trabalho, quando analisados os clusters podemos encontrar alguns padrões, os quais serão descritos.

3.4.1. Análise multivariada para a espécie *E. encrasicolus*

Na figura 3.5 encontra-se a representação gráfica da distribuição dos dados resultante da aplicação da análise multivariada na espécie *E. encrasicolus*. O primeiro eixo justifica cerca de 53,20% da variabilidade dos dados, enquanto que o segundo eixo justifica 27,43%.

De referir que a análise permitiu distinguir 3 grupos (clusters) com características distintas (Fig. 3.8). Na Tabela 3.10 encontra-se a caracterização dos clusters resultantes da aplicação do método HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para *E. encrasicolus* (biqueirão).

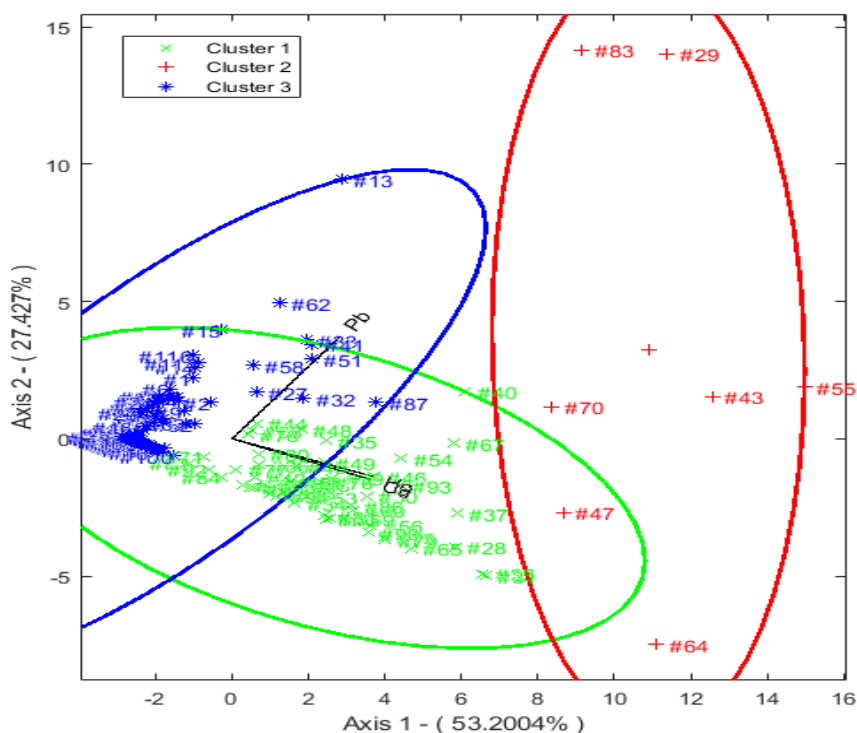


Figura 3.5. Gráfico de análise multivariada resultante da aplicação HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para espécie *Engraulis encrasicolus*. (Distância euclidiana e método Ward para a ligação; $p < 0,05$ $p < 0,05$). As cores do gráfico representam os clusters (verde - cluster 1, vermelho - cluster 2, azul - cluster 3)

Tabela 3.10 – Caracterização dos clusters resultantes da aplicação do método HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para o biqueirão espécie *E. encrasicolus* (N=160).

	CLUSTER 1 (n=48)	CLUSTER 2 (n=7)	CLUSTER 3 (n=105)
Caracterização da população			
Classe de Comprimento (cm)	Moda: 10;10,5	Moda: 11	Moda: 10;10,5
Peso (g)	7,76±1,46	8,02±1,41	8,06±1,93
Intensidade de alimentação – análise dos estômagos			
• Cor ^a	1	1	1
• Gordura ^b	1	1	1
• Enchimento ^c	1	2	2
Nº machos/Nº fêmeas	26/22	6/1	105/0
Estado de maturação (Adultos/juvenis)	48/0	7/0	105/0
Área	C	A+C	A
Tecidos	F	F	B-M
Concentração de metais (média ± dp)			
• Cd (µg g ⁻¹)	1,08±0,78	1,4±0,74*	0,12±0,16
• Hg (µg g ⁻¹)	0,54±0,29	1,2±0,65*	0,17±0,080
• Pb (µg g ⁻¹)	0,38±0,31	2,6±1,9*	0,39±0,46

* p<0,05; a – 1: esbranquiçado; 2: esverdeado; 3: acastanhado; b – 1: magro; 2: pouco gordo; 3: gordo; 4: muito gordo; c- 1: vazio; 2: meio cheio; 3: cheio; 4: muito cheio

Cluster 1 inclui 48 amostras com um valor mais frequente de classe de comprimento de 10 e 10,5 cm, com peso médio 7,76±1,46 g representando os indivíduos da espécie de *E. encrasicolus* com menor peso. A sua intensidade de alimentação apresentou um valor frequente de cor (1) correspondente à cor esbranquiçado, nível de gordura (1) correspondente a pouco gordo e relativamente ao enchimento apresentou também um valor frequente de (1) correspondendo a estômagos vazios. Contém 26 machos (54% das amostras) e 22 fêmeas (46% das amostras). Considera-se o estado de maturação como adultos ou juvenis. Neste cluster apenas estão representados adultos (48 adultos e 0 juvenis). A localização deste cluster é predominantemente na área C e tecido mais representativo é o fígado (F). As concentrações de metais variam de modos diferentes de acordo com metal. O Cd e o Hg apresentam respetivamente os valores médios de 1,08±0,78 µg. g⁻¹ e de 0,54±0,29 µg. g⁻¹, representando os valores intermédios de concentração relativamente aos outros clusters para estes metais. O Pb apresenta um valor médio de 0,38±0,31 µg. g⁻¹ representando um valor inferior comparativamente aos outros clusters (tabela 3.10).

Cluster 2 inclui 7 amostras com valor mais frequente de classe de comprimento 11 cm, peso médio 8,0±1,4 g representando os indivíduos da espécie de *E. encrasicolus* com o peso intermédio relativamente aos outros clusters. A sua intensidade de alimentação apresentou um valor frequente de cor (1) correspondente à cor esbranquiçado, nível de gordura (1)

correspondente a pouco gordo e relativamente ao enchimento apresentou um valor frequente de (2) correspondendo a estômagos meio cheio revelando assim que alimentação (quantidade) pode alterar variação da concentração de metais nesta espécie. Contém 6 machos (85,7% das amostras) e 1 fêmea (14,3% das amostras). Considera-se o estado de maturação como adultos ou juvenis. Neste cluster apenas estão representados adultos (7 adultos e 0 juvenis). A localização deste cluster é predominantemente na área C e tecido mais representativo é o fígado (F). As concentrações de metais variam de modos diferentes de acordo com metal e o tecido. O Cd, o Hg e o Pb apresentam respetivamente os valores médios de $1,44 \pm 0,74 \mu\text{g g}^{-1}$, de $1,25 \pm 0,65 \mu\text{g g}^{-1}$ e de $2,58 \pm 1,89 \mu\text{g g}^{-1}$ representando os valores mais elevados de concentração relativamente aos outros clusters para estes metais. Este cluster apesar de ser o menos representativo em termos de amostras é o que se destaca com concentrações mais elevadas relativamente aos metais não essenciais revelando que os parâmetros biométricos influenciam as concentrações destes metais nos tecidos da espécie *E. encrasicolus* (tabela 3.10).

Cluster 3 inclui 105 amostras com um valor de classe de comprimento semelhante ao cluster 1 (10 e 10,5 cm), com peso médio $8,1 \pm 1,9 \text{ g}$ representando os indivíduos da espécie de *E. encrasicolus* com maior peso embora muito semelhantes ao cluster 2. A sua intensidade de alimentação apresentou um valor frequente de cor (1) correspondente à cor esbranquiçado, nível de gordura (1) correspondente a pouco gordo e relativamente ao enchimento apresentou um valor frequente de (2) correspondendo a estômagos meio cheio revelando assim que alimentação (quantidade) pode alterar variação da concentração de metais nesta espécie. Contém 105 machos (100% das amostras) e 0 fêmeas. Considera-se o estado de maturação como adultos ou juvenis. Neste cluster apenas estão representados adultos (105 adultos e 0 juvenis). Este Cluster destaca-se de os outros pelo facto da sua localização ser predominantemente na área A contrariamente aos outros clusters. Os tecidos que predominam neste cluster são as brânquias e os músculos (B-M). As concentrações de metais variam de modos diferentes de acordo com o metal e o tecido. O Cd e o Hg apresentam respetivamente os valores médios de $0,12 \pm 0,16 \mu\text{g g}^{-1}$ e de $0,17 \pm 0,08 \mu\text{g g}^{-1}$, representando os valores mais baixos de concentração relativamente aos outros clusters para estes metais. O Pb apresenta um valor médio de $0,39 \pm 0,46 \mu\text{g g}^{-1}$, representando o valor intermédio relativamente aos outros clusters para este mesmo metal. Este cluster, apesar de ser o mais representativo em termos de amostras e de se destacar com concentrações menos elevadas relativamente ao Cd e Hg, revela que as brânquias e os músculos acumulam menos estes elementos que o fígado da espécie *E. encrasicolus* noutros clusters (tabela 3.10).

3.4.2. Análise multivariada para a espécie *S. pilchardus*

O resultado da análise multivariada para espécie *S. pilchardus* encontra-se na figura 3.9. Os dois primeiros eixos justificam 82,1% da variabilidade dos dados.

Tal como para espécie *E. encrasicolus*, esta análise permitiu distinguir 3 grupos (clusters) com características distintas (Fig. 3.6). Na Tabela 3.11 encontra-se a caracterização dos clusters resultantes da aplicação do método HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para *S. pilchardus* (sardinha).

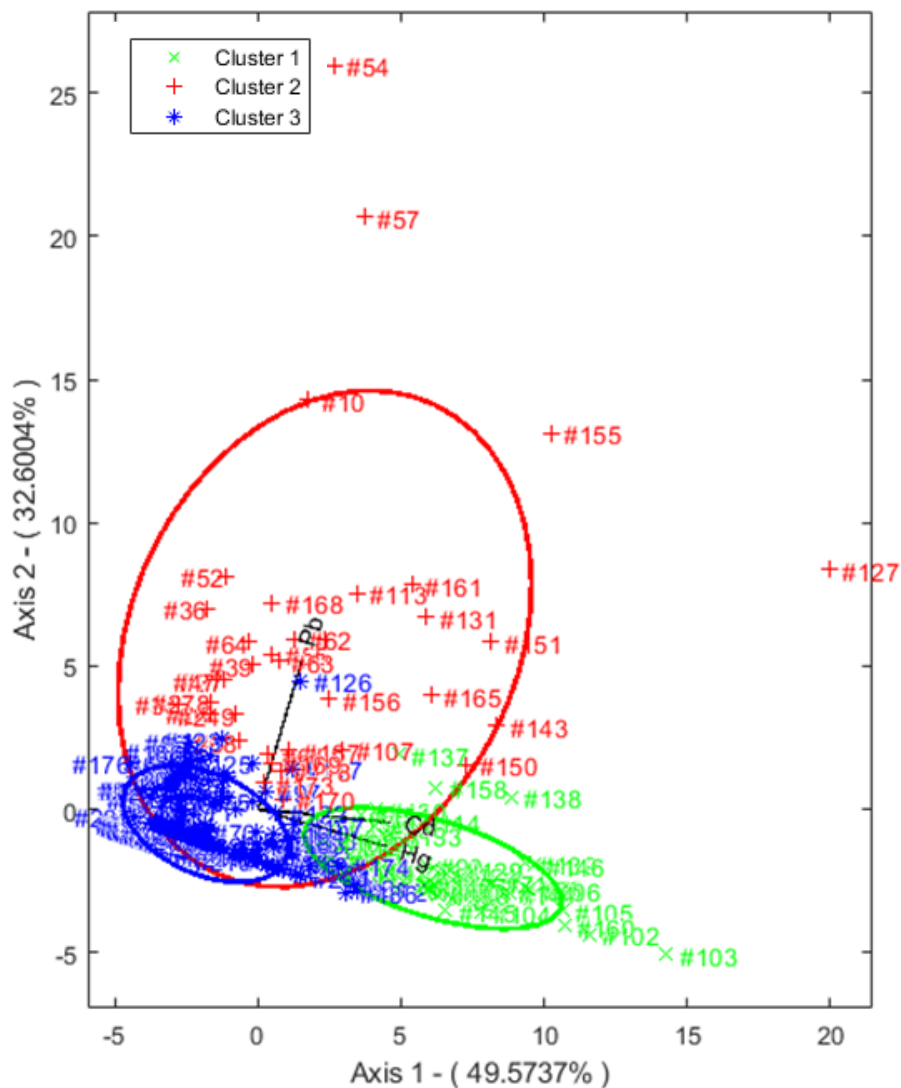


Figura 3.6 - Gráfico de análise multivariada resultante da aplicação HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para espécie *Sardina pilchardus*. (Distância euclidiana e método Ward para a ligação; $p < 0,05$ $p < 0,05$). As cores do gráfico representam os clusters (verde - cluster 1, vermelho - cluster 2, azul - cluster 3)

Tabela 3.11 - Caracterização dos clusters resultantes da aplicação do método HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para a sardinha espécie (N=293).

	CLUSTER 1 (n=49)	CLUSTER 2 (n=35)	CLUSTER 3 (n=209)
Características da população			
Classe de Comprimento (cm) - moda	8,5; 12; 13,5	8,5	8,5; 13,5
Peso (g)	28,96±24,82	13,79±14,90	24,33±23,74
Intensidade de alimentação – análise dos estômagos			
• Cor ^a	2	1	2
• Gordura ^b	2	1	2
• Enchimento ^c	2	2	2
Nº machos/Nº fêmeas/Indiferenciados	17/7/25	5/1/29	64/35/110
Estado de maturação (Adultos/juvenis)	25/24	6/29	93/116
Área	C	A-C	C
Tecidos	F	B-F	M
Concentração de metais (média ± dp)			
• Cd (µg. g ⁻¹)	0,87±0,38*	0,36±0,41	0,13±0,13
• Hg (µg. g ⁻¹)	0,24±0,090*	0,16±0,080	0,12±0,050
• Pb (µg. g ⁻¹)	0,44±0,44	3,14±2,13*	0,36±0,35

* p<0,05; a – 1: esbranquiçado; 2: esverdeado; 3: acastanhado; b – 1: magro; 2: pouco gordo; 3: gordo; 4: muito gordo; c- 1: vazio; 2: meio cheio; 3: cheio; 4: muito cheio

Cluster 1 inclui 49 amostras com valores de classe de comprimento mais frequentes de 8,5; 12 e de 13,5 cm com peso médio de 28,96±24,82 g, representando os indivíduos da espécie de *S. pilchardus* com os maiores pesos relativamente aos outros clusters. A sua intensidade de alimentação apresentou um valor frequente de cor (2) correspondente à cor esverdeado, nível de gordura (2) correspondente a pouco gordo e relativamente ao enchimento apresentou também um valor frequente de (2) correspondendo a estômagos meio cheios. Contém 17 machos (34,7% das amostras), 7 fêmeas (14,3% das amostras) e 25 indivíduos indiferenciados (51% das amostras). Considera-se o estado de maturação como adultos ou juvenis. Neste cluster estão representados adultos (25) e juvenis (24). A localização deste cluster é predominantemente na área C e o tecido/órgão mais representativo é o fígado (F). As concentrações de metais variam de modos diferentes de acordo com metal e o tecido. O Cd e o Hg apresentam respetivamente os valores médios de 0,87±0,38 µg. g⁻¹ e de 0,24±0,09 µg g⁻¹, representando os valores mais elevados de concentração relativamente aos outros clusters para estes metais. O Pb apresenta um valor médio de 0,44±0,44 µg g⁻¹, representando um valor intermédio relativamente aos outros clusters (tabela 3.11).

Cluster 2 inclui 35 amostras com valor de classe de comprimento mais frequente de 8,5 cm com peso médio de 13,79±14,90 g representando os indivíduos da espécie *S. pilchardus* com menor peso relativamente aos outros clusters. A sua intensidade de alimentação apresentou um valor frequente de cor (1) correspondente à cor esbranquiçado, nível de gordura (1) correspondente a sem gordura e relativamente ao enchimento apresentou também um valor frequente de (2) correspondendo a estômagos meio cheios. Contém 5 machos (14,3% das

amostras), 1 fêmea (2,9% das amostras) e 29 indivíduos indiferenciados (82,8% das amostras). Considera-se o estado de maturação como adultos ou juvenis. Neste cluster estão representados adultos (6) e juvenis (29). As localizações predominantes deste cluster são na área A e na área C e os tecidos/órgãos mais representativos são as brânquias (B) e o fígado (F). As concentrações de metais variam de modos diferentes de acordo com metal e o tecido. O Cd e o Hg apresentam respetivamente os valores médios de $0,36 \pm 0,41 \mu\text{g g}^{-1}$ e de $0,16 \pm 0,08 \mu\text{g g}^{-1}$, representando os valores intermédios de concentração relativamente aos outros clusters para estes metais. O Pb apresenta um valor médio de $3,14 \pm 2,13 \mu\text{g g}^{-1}$ representando o valor mais elevado relativamente aos outros clusters. Este cluster apesar de ser o menos representativo em termos de amostras destaca-se em termos de concentrações de Pb revelando que as brânquias acumulam mais este elemento que o fígado e os músculos da espécie *S. pilchardus* (tabela 3.11).

Cluster 3 inclui 209 amostras com valores de classe de comprimento mais frequente de 8,5 e 13,5 cm com peso médio de $24,33 \pm 23,74$ g representando os indivíduos da espécie *S. pilchardus* com pesos intermédios relativamente aos outros clusters. A sua intensidade de alimentação é semelhante ao cluster 1, apresentando um valor frequente de cor (2) correspondente à cor esverdeado, nível de gordura (2) correspondente a pouco gordo e relativamente ao enchimento apresentou também um valor frequente de (2) correspondendo a estômagos meio cheios. Contém 64 machos (30,6% das amostras), 35 fêmea (16,7% das amostras) e 110 indivíduos indiferenciados (52,7% das amostras). Considera-se o estado de maturação como adultos ou juvenis. Neste cluster estão representados adultos (93) e juvenis (116). A localização predominante deste cluster é a área C e o tecido mais representativo são os músculos (M). As concentrações de metais variam de modos diferentes de acordo com metal e o tecido. O Cd, o Hg e o Pb apresentam respetivamente os valores médios de $0,13 \pm 0,13 \mu\text{g g}^{-1}$, de $0,12 \pm 0,05 \mu\text{g g}^{-1}$ e de $0,36 \pm 0,35 \mu\text{g g}^{-1}$ representando os valores mais baixos de concentração relativamente aos outros clusters para estes metais. Este cluster apesar de ser o mais representativo em termos de amostras é o que se destaca com concentrações menos elevadas relativamente ao Cd, Hg e Pb revelando que os músculos acumulam menos estes elementos que as brânquias e o fígado da espécie *S. pilchardus* neste cluster (tabela 3.11).

3.4.3. Análise multivariada para a espécie *S.colias*

Na figura 3.7 encontra-se a representação gráfica da distribuição dos dados resultante da aplicação da análise multivariada na espécie *S. colias*. Os dois primeiros eixos justificam cerca de 80,5% da variabilidade dos dados. De referir que a análise permitiu distinguir 3 grupos (clusters) com características distintas (Fig. 3.8), tal como nas espécies anteriores. Na Tabela 3.12 encontra-se a caracterização dos clusters resultantes da aplicação do método HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para a espécie *S. colias* (cavala).

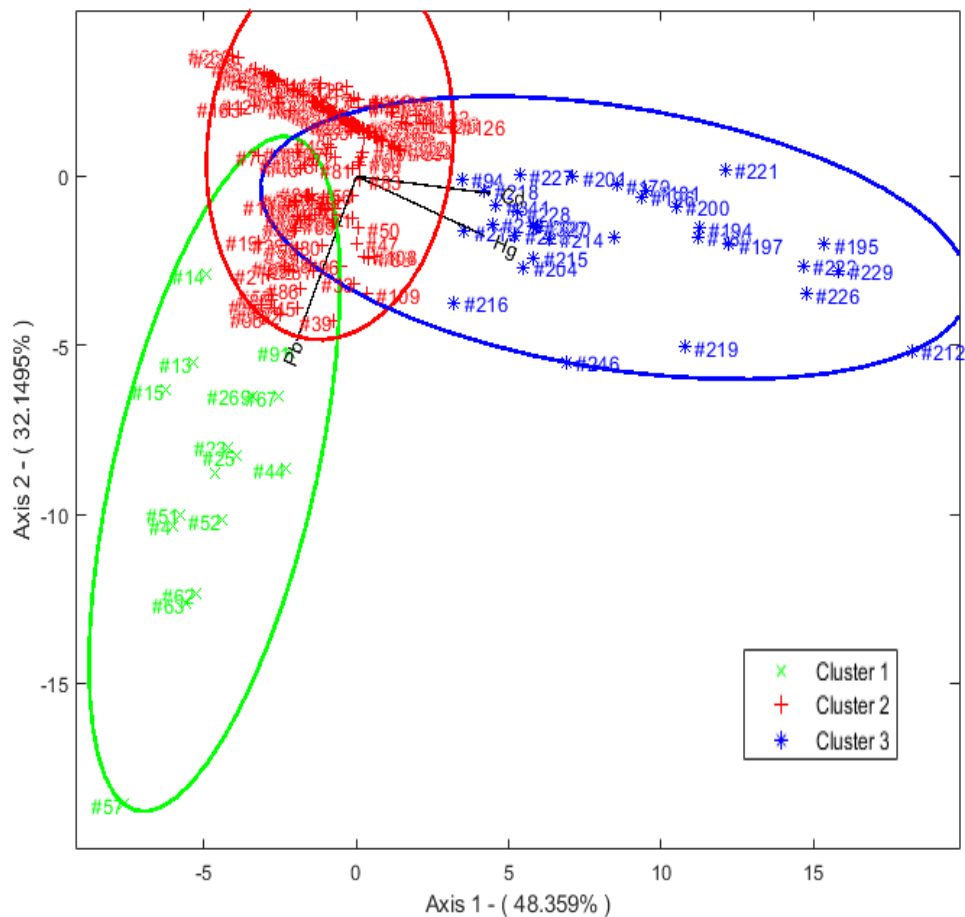


Figura 3.7 - Gráfico de análise multivariada resultante da aplicação HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para espécie *Scomber colias*. (Distância euclidiana e método Ward para a ligação; $p < 0,05$ $p < 0,05$). As cores do gráfico representam os clusters (verde - cluster 1, vermelho - cluster 2, azul - cluster 3)

Tabela 3.12 Caracterização dos clusters resultantes da aplicação do método HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para Cavala espécie (N=268).

	CLUSTER 1 (n=15)	CLUSTER 2 (n=222)	CLUSTER 3 (n=31)
Características da população			
Classe de Comprimento (cm) moda	19,5	19,5; 20; 24,5	24,5
Peso (g)	60,01±35,49	71,35±47,30	126,66±64,18
Intensidade de alimentação – análise dos estômagos			
• Cor ^a	1	1	1
• Gordura ^b	2	2	2
• Enchimento ^c	3	2	1-2
Nº machos/Nº fêmeas/Indiferenciados	7/2/6	61/76/85	15/13/3
Estado de maturação (Adultos/juvenis)	10/5	137/85	28/3
Área	C	C	C
Tecidos	B	M	F
Concentração de metais (média ± dp)			
• Cd (unidade)	0,25±0,12	0,48±1,0	6,21±2,78*
• Hg	0,17±0,060	0,19±0,060	0,42±0,13*
• Pb	1,85±0,58*	0,31±0,26	0,25±0,15

* p<0,05; a – 1: esbranquiçado; 2: esverdeado; 3: acastanhado; b – 1: magro; 2: pouco gordo; 3: gordo; 4: muito gordo; c- 1: vazio; 2: meio cheio; 3: cheio; 4: muito cheio

Cluster 1 inclui 15 amostras com valor de classe de comprimento mais frequentes de 19,5 cm com peso médio de 60,01±35,49 g representando os indivíduos da espécie de *S. colias* com os menores pesos relativamente aos outros clusters. A sua intensidade de alimentação apresentou um valor frequente de cor (1) correspondente à cor esbranquiçado, nível de gordura (2) correspondente a pouco gordo e relativamente ao enchimento apresentou um valor frequente de (3) correspondendo a estômagos cheios. Contém 7 machos (47% das amostras), 2 fêmeas (13 % das amostras) e 6 indivíduos indiferenciados (40% das amostras). Considera-se o estado de maturação como adultos ou juvenis. Neste cluster estão representados adultos (10) e juvenis (5). A localização deste cluster é predominantemente na área C e o tecido/órgão mais representativo são as brânquias (B). As concentrações de metais variam de modos diferentes de acordo com metal e o tecido. O Cd e o Hg apresentam respetivamente os valores médios de 0,25±0,12 µg g⁻¹ e de 0,17±0,06 µg g⁻¹ e de 0,36±0,35 µg g⁻¹ representando os valores mais baixos de concentração relativamente aos outros clusters para estes metais. O Pb apresenta um valor médio de 1,85±0,58 µg g⁻¹ representando um valor mais elevado relativamente aos outros clusters. Este cluster, apesar de ser o menos representativo em termos de amostras, destaca-se em termos de concentrações de Pb revelando que as brânquias acumulam mais este elemento que o fígado e os músculos da espécie *S. colias* (tabela 3.12).

Cluster 2 inclui 222 amostras com valores de classe de comprimento mais frequentes de 19,5; 20; 24,5 cm com peso médio de $71,35 \pm 47,30$ g representando os indivíduos da espécie *S. colias* com um peso intermédio relativamente aos outros clusters. A sua intensidade de alimentação apresentou um valor frequente de cor (1) correspondente à cor esbranquiçado, nível de gordura (2) correspondente a pouco gordo e relativamente ao enchimento apresentou também um valor frequente de (2) correspondendo a estômagos meio cheios. Contém 61 machos (27,5% das amostras), 76 fêmea (34,2% das amostras) e 85 indivíduos indiferenciados (38,3% das amostras). Considera-se o estado de maturação como adultos ou juvenis. Neste cluster estão representados adultos (137) e juvenis (85). A localização predominante deste cluster é na área C e o tecido mais representativos são os músculos (M). As concentrações de metais variam de modos diferentes de acordo com metal e o tecido. O Cd, o Hg e o Pb apresentam respetivamente os valores médios de $0,48 \pm 1,01 \mu\text{g g}^{-1}$, de $0,19 \pm 0,06 \mu\text{g g}^{-1}$ e de $0,31 \pm 0,26 \mu\text{g g}^{-1}$ representando os valores intermédios de concentração relativamente aos outros clusters para estes metais. Este cluster apesar de ser o mais representativo em termos de amostras não se destaca em termos de concentrações de Cd, Hg e Pb revelando que os músculos acumulam menos estes elementos que as brânquias e o fígado da espécie *S. colias* para estes metais (tabela 3.12).

Cluster 3 inclui 31 amostras com valor de classe de comprimento mais frequente de 24,5cm com peso médio de $126,66 \pm 64,18$ g representando os indivíduos da espécie *S. colias* com pesos mais elevados relativamente aos outros clusters. A sua intensidade de alimentação é semelhante ao cluster 2, apresentando um valor frequente de cor (1) correspondente à cor esbranquiçado, nível de gordura (2) correspondente a pouco gordo e relativamente ao enchimento apresentou valores frequentes de (1) e de (2) correspondendo a estômagos vazios e meio cheios. Contém 15 machos (48,4% das amostras), 13 fêmea (41,9% das amostras) e 3 indivíduos indiferenciados (0,10% das amostras). Considera-se o estado de maturação como adultos ou juvenis. Neste cluster estão representados adultos (28) e juvenis (3). A localização predominante deste cluster é na área C e o tecido mais representativo é o fígado (F). As concentrações de metais variam de modos diferentes de acordo com metal e o tecido. O Cd e o Hg apresentam respetivamente os valores médios de $6,21 \pm 2,78 \mu\text{g g}^{-1}$ e de $0,42 \pm 0,13 \mu\text{g g}^{-1}$ e de $0,36 \pm 0,35 \mu\text{g g}^{-1}$ representando os valores mais elevados de concentração relativamente aos outros clusters para estes metais. O Pb apresenta um valor médio de $0,25 \pm 0,15 \mu\text{g g}^{-1}$ representando o valor mais baixo relativamente aos outros clusters para este metal. Este cluster apesar de ser intermedicamente representativo em termos de amostras é o que se destaca com concentrações mais elevadas relativamente ao Cd e Hg revelando que o fígado acumula mais estes elementos que as brânquias e os músculos da espécie *S. colias* (tabela 3.12).

3.4.4 Análise multivariada nas três espécies

O resultado da análise multivariada para as espécies *E. encrasicolus*, *S. pilchardus* e *S. colias* encontra-se na figura 3.11. O primeiro eixo justifica cerca de 41,0 % da variabilidade dos dados, enquanto que o segundo eixo justifica 33,1%. Na Tabela 3.13 encontra-se a caracterização dos clusters resultantes da aplicação do método HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para as três espécies em estudo.

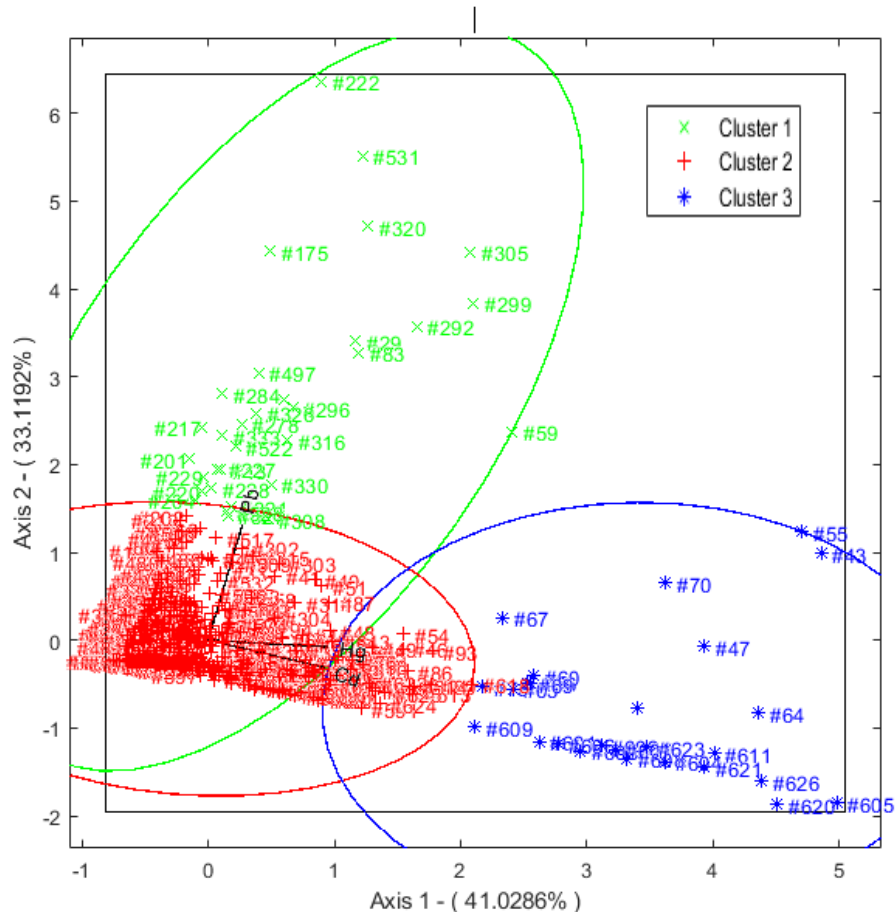


Figura 3.8 - Gráfico de análise multivariada resultante da aplicação HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para as espécies *Engraulis encrasicolus*, *Sardina pilchardus* e *Scomber colias*. (Distância euclidiana e método Ward para a ligação; $p < 0,05$). As cores do gráfico representam os clusters (verde - cluster 1, vermelho - cluster 2, azul - cluster 3)

Tabela 3.13– Caracterização dos clusters resultantes da aplicação do método HJ-BIPLLOT aos dados obtidos para o biqueirão, sardinha e cavala espécies (N=726).

	CLUSTER 1 (n=31)	CLUSTER 2 (n=670)	CLUSTER 3 (n=25)
Espécie mais representativa (moda)	Sardinha	Sardinha + Cavala	Cavala + Biqueirão
Classe de Comprimento (cm) (moda)	8,5; 12; 19,5	8,5; 10,5; 20	10,5; 19,5
Peso (g)	21,09±8,85	40,09±14,66	61,58±16,23
Intensidade de alimentação – análise dos estômagos			
• Cor ^a	1-2	1	1
• Gordura ^b	1-2	2	1-2
• Enchimento ^c	2	2	2
Nº machos/Nº fêmeas/Indiferenciados	9/2/20	249/182/239	14/9/2
Estado de maturação (Adultos/juvenis)	10/21	363/305	20/5
Área	A+ C	C	C
Tecidos	F+B	M	F
Concentração de metais (média ± dp)			
• Cd (unidade)	0,94±0,53	0,43±0,18	6,50±2,39*
• Hg	0,19±0,05	0,19±0,080	0,82±0,32*
• Pb	4,17±1,69*	0,40±0,22	0,25±0,15

* p<0,05; a – 1: esbranquiçado; 2: esverdeado; 3: acastanhado; b – 1: magro; 2: pouco gordo; 3: gordo; 4: muito gordo; c- 1: vazio; 2: meio cheio; 3: cheio; 4: muito cheio

Cluster 1 inclui 31 amostras com valores de classe de comprimento mais frequentes de 8,5 cm ;12 cm e de 19,5 cm com peso médio de 21,09±8,85 g representando os indivíduos apenas da espécie de *S. pilchardus* com os menores pesos relativamente aos outros clusters. A sua intensidade de alimentação apresentou valores frequentes de cor (1) correspondente à cor esbranquiçado e (2) correspondente à cor esverdeado, nível de gordura (1) correspondente magro e (2) correspondente a pouco gordo e relativamente ao enchimento apresentou um valor frequente de (2) correspondendo a estômagos meio cheios. Contém 9 machos (29% das amostras), 2 fêmeas (6% das amostras) e 20 indivíduos indiferenciados (65% das amostras). Considera-se o estado de maturação como adultos ou juvenis. Neste cluster estão representados adultos (10) e juvenis (21). A localização deste cluster é predominante nas áreas A e C e os tecidos/órgãos mais representativos são as brânquias (B) e o fígado (F). As concentrações de metais variam de modos diferentes de acordo com metal e o tecido. O Cd com o valor médio de 0,94±0,53 µg g⁻¹, representa um valor intermédio relativamente aos outros clusters para este elemento. O Hg com valor médio de 0,19±0,05 µg g⁻¹ representa um valor mais baixo de concentração relativamente ao cluster 3 para este metal, mas igual ao cluster 2. O Pb apresenta um valor médio de 4,17±1,69

$\mu\text{g g}^{-1}$ representando o valor mais elevado relativamente aos outros clusters. Este cluster, embora tenha um valor intermédio em termos de representatividade no número de amostras, apresenta o valor mais elevado de Pb entre espécies, sendo de salientar que o mesmo integra apenas sardinhas (tabela 3.13).

Cluster 2 inclui 670 amostras com valores de classe de comprimento mais frequentes de 8,5 cm, 10,5 e 20 cm com peso médio de $40,09 \pm 14,66$ g representando os indivíduos das espécies *S. pilchardus* e *S. colias* com um peso intermédio relativamente aos outros clusters. A sua intensidade de alimentação apresentou um valor frequente de cor (1) correspondente à cor esbranquiçado, nível de gordura (2) correspondente a pouco gordo e relativamente ao enchimento apresentou também um valor frequente de (2) correspondendo a estômagos meio cheios. Contém 249 machos (37% das amostras), 182 fêmea (27% das amostras) e 239 indivíduos indiferenciados (36% das amostras). Considera-se o estado de maturação como adultos ou juvenis. Neste cluster estão representados adultos (363) e juvenis (305). A localização predominante deste cluster é na área C e o tecido mais representativo é o músculo (M). As concentrações de metais variam de modos diferentes de acordo com metal e o tecido. O Cd e o Hg apresentam respetivamente os valores médios de $0,43 \pm 0,18 \mu\text{g g}^{-1}$ e de $0,19 \pm 0,08 \mu\text{g g}^{-1}$ representando um valor mais baixo de Cd relativamente aos outros clusters e um valor igual para o Hg no cluster 1, mas inferior ao cluster 3. O Pb apresenta um valor médio de $0,40 \pm 0,22 \mu\text{g g}^{-1}$ representando o valor intermédio relativamente aos outros clusters. Este cluster apesar de ser o mais representativo em termos de amostras não se destaca em termos de concentrações de Cd, Hg e Pb, revelando que o músculo acumula menos estes elementos que as brânquias e o fígado das espécies *S. pilchardus* e *S. colias* (tabela 3.13).

Cluster 3 inclui 25 amostras com valores de classe de comprimento mais frequentes de 10,5 cm e 19,5 cm com peso médio de $61,58 \pm 16,23$ g representando os indivíduos das espécies *E. encrasicolus* e *S. colias* com pesos mais elevados relativamente aos outros clusters. A sua intensidade de alimentação é semelhante ao cluster 2, apresentando um valor frequente de cor (1) correspondente à cor esbranquiçado, nível de gordura (1) correspondente a magro e (2) correspondente a pouco gordo e relativamente ao enchimento apresentou valor frequente de (2) correspondendo a estômagos meio cheios. Contém 14 machos (56% das amostras), 9 fêmea (36% das amostras) e 2 indivíduos indiferenciados (8% das amostras). Considera-se o estado de maturação como adultos ou juvenis. Neste cluster estão representados adultos (20) e juvenis (5). A localização predominante deste cluster é nas áreas B e C e o tecido/órgão mais representativo é o fígado (F). As concentrações de metais variam de modos diferentes de acordo com metal e o tecido. O Cd e o Hg apresentam respetivamente os valores médios de $6,50 \pm 2,39 \mu\text{g g}^{-1}$ e de $0,82 \pm 0,32 \mu\text{g g}^{-1}$ representando os valores mais elevados de concentração relativamente aos outros clusters para estes metais. O Pb apresenta um valor médio de $0,25 \pm 0,15 \mu\text{g g}^{-1}$ representando o valor mais baixo relativamente aos outros clusters. Este cluster, apesar de ser o menos representativo, em termos de amostras, é o que se destaca com concentrações mais elevadas relativamente ao Cd e Hg evidenciando que o fígado acumula mais estes elementos que as brânquias e os músculos das espécies *E. encrasicolus* e *S. colias*, as quais integraram o mesmo (tabela 3.13).

4. Discussão

A presente investigação teve como principais motivações a preocupação e a preservação do meio ambiente face ao desenvolvimento industrial e à poluição ambiental, nomeadamente nos ecossistemas aquáticos. No que concerne às espécies de pequenos peixes pelágicos em estudo, estes são elementos fundamentais dos ecossistemas marinhos, não só porque contribuem para a pesca mundial como representam uma considerável biomassa nos níveis intermédios da rede trófica pelágica, revelando, assim, um papel preponderante na ligação entre níveis tróficos superiores e inferiores, mais propriamente nas áreas de afloramento costeiro (FAO, 2012).

A sardinha (*S. pilchardus*) tem uma elevada importância ecológica e económica. Ocupa uma posição intermédia na teia trófica e é muito sensível às alterações ambientais, o que aliado à atividade antropogénica, tem contribuído para um decréscimo da sua população, quase que abaixo dos níveis de biomassa biologicamente sustentáveis (FAO, 2020).

A cavala (*S. colias*), sendo também um dos principais recursos de pesca pelágica no Atlântico Nordeste, é um elemento influente na economia portuguesa, verificando-se um aumento significativo de desembarques comerciais na Península Ibérica nos últimos anos, no entanto, as informações relativas à estrutura populacional desta espécie, ainda se mantêm escassas (Muniz, 2018). Esta espécie ocupa uma posição intermédia na teia trófica, tal como as outras espécies deste estudo. De grande importância ecológica, tem alguma capacidade de resistência às alterações climáticas. Segundo vários autores, a cavala constitui uma população única no Atlântico Nordeste (Zardoya et al., 2004), apresentando outras populações distantes entre si no Atlântico Sul, Este, Oeste e Mar Mediterrâneo e com variabilidade morfológica (Muniz, 2018).

O biqueirão (*E. encrasicolus*) também tem uma grande importância económica, além de que, à semelhança das outras espécies deste estudo, assume uma extrema importância ecológica já que ocupa um nível trófico intermédio na teia alimentar, com sobreposição da alimentação em que o plâncton constitui a base principal da alimentação e por sua vez constituem a base da dieta dos predadores de topo, contribuindo, assim, para o equilíbrio dos ecossistemas (Fonseca, 2020).

Os metais não essenciais, como o caso do Cd, Hg e Pb, podem ser acumulados pelos peixes e estes, ao serem ingeridos pelos humanos e concentrados nos seus tecidos acima dos níveis aceitáveis podem tornar-se nocivos, constituindo um problema de saúde pública (Ozuni et al., 2010). Assim, o consumo do pescado é uma fonte de exposição aos metais para os seres humanos. De facto, os peixes podem acumular níveis superiores de metais, quando comparado com outros alimentos como os vegetais, cereais e raízes o que pode gerar maior preocupação dado que a alimentação à base de peixe está em crescimento contínuo (Rubio et al., 2006). De referir que o Hg, principalmente na forma orgânica (MeHg), além da bioacumulação nos organismos vivos, também sofre bioamplificação ao longo da cadeia alimentar registando-se uma concentração mais elevada no topo da cadeia alimentar (Clifton, 2007; Rice et al., 2014; Sharma et al., 2014).

Deste modo, o presente estudo pretende contribuir na caracterização da variação espacial e tecidual da acumulação de metais (Cd, Hg e Pb), nas espécies anteriormente referidas ao largo da costa continental portuguesa. De forma a selecionar os tecidos mais adequadas para monitorização da concentração de metais na coluna de água, definindo-os como bioindicadores e identificar potenciais zonas e espécies mais vulneráveis à contaminação por metais.

4.1 Concentração de Cd nas espécies

Os metais não essenciais podem apresentar distribuições variadas dependendo das características dos tecidos nas diferentes espécies de peixe, de acordo com as suas afinidades (Wei et al., 2014). Os resultados do presente estudo mostram que a distribuição de Cd pelos diferentes

tecidos foi semelhante nas três espécies em análise, em que os teores deste metal foram superiores no fígado, seguidos das brânquias e por fim dos músculos. Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores ao estudarem diferentes espécies, nomeadamente *S. colias* (Raimundo et al., 2013), *S. pilchardus* (Ates et al., 2014), *Engraulis encrasicolus* (Afandi et al., 2018), *Scomber japonicus* (Aytekin et al., 2019), *Sparus aurata* e *Stolephorus indicus* (Alizada et al., 2020), em que o fígado também apresenta concentrações mais elevadas deste metal relativamente a outros tecidos.

De facto, o fígado representa um órgão com alta atividade metabólica e acumula mais elementos comparativamente a outros tecidos com menor atividade metabólica, como o músculo (Ploetz et al., 2007 e Diop et al., 2016). Por outro lado, este tecido é rico em proteínas (como as metalotioneínas) que estabelecem ligações químicas com os metais, permitindo que estes acumulem um nível significativamente maior de metais (Roesijadi 1996; Jaricet al., 2011; Afandi et al., 2018).

De acordo com Rejomon et al. (2010) e Weber et al. (2013), a acumulação de metais em peixes pode ser altamente influenciada pelos locais de amostragem e habitats. Os níveis de Cd encontram-se normalmente com baixa concentração no meio aquático, mas o uso indiscriminado de fertilizantes fosfatados e as indústrias contribuem para a introdução de Cd neste ambiente. Neste estudo a variação espacial da concentração de Cd, mostrou que os tecidos das espécies *E. encrasicolus* e *S. Pilchardus* apresentaram de um modo geral, níveis superiores na área A, relativamente às outras áreas; embora esta última espécie não tivesse apresentado diferenças significativas entre as áreas A e B. Para a espécie *S. colias*, não podemos verificar esta relação uma vez que esta espécie não foi recolhida nesta área, no entanto, não foram observadas diferenças significativas nos teores deste metal entre as áreas B e C, nos diferentes tecidos amostrados. Também Afandi et al. (2018) ao estudar a espécie *E. encrasicolus* encontrou níveis mais elevados deste metal em zonas onde o seu alimento (zooplâncton) apresentava níveis altos deste metal.

A análise multivariada permitiu reforçar os resultados obtidos, verificando-se que nos clusters onde os teores de Cd foram mais elevados nos tecidos das espécies analisadas (Tabelas 3.10, 3.11 e 3.12), o fígado foi o tecido que caracterizou estes clusters, assim como a prevalência destes indivíduos na zona A. Por outro lado, e apesar deste estudo não ter encontrada uma relação significativa entre a concentração de Cd e os parâmetros biológicos ao serem considerados todos os dados, também podemos observar que os clusters com teores mais elevados de Cd correspondiam de um modo geral a indivíduos de classes de tamanho superior. Esta relação já foi apontada por Costa et al. (2020) ao estudar a espécie *E. encrasicolus* verificando que espécimes adultos apresentavam teores mais elevados de Cd, resultante de uma maior bioacumulação e bioamplificação. Embora as evidências de bioamplificação de Cd sejam inconsistentes para Vieira et al. (2011), o estudo de Afandi et al. (2018) atribui a elevada acumulação de metais ao hábito alimentar e à posição trófica dos peixes, evidenciando, por exemplo, que o tecido hepático de um peixe predador como a cavala contém teores significativamente mais elevados de Cd, devido à sua alimentação em níveis tróficos mais elevados, portanto, pela bioacumulação e bioamplificação dos elementos através da cadeia alimentar. Além disso, estes resultados também se enquadram na investigação de Lozano-Bilbao et al. (2021) em que a espécie *S. colias* apresentou níveis mais elevados de Cd que as outras espécies, devido ao facto de a mesma viver junto à costa, onde a poluição marinha é mais elevada devido à influência do afloramento costeiro africano.

Quando comparados os teores de Cd nos diferentes tecidos das espécies em estudo com os obtidos por outros autores (Tabela 4.1), verificamos que estes encontram-se dentro da mesma gama de valores, mas de um modo geral são inferiores aos encontrados noutras regiões. Assim no

caso das brânquias, a espécie *E. encrasicolus* apresentou concentrações de Cd inferiores às mencionadas em outros estudos (Alkan et al., 2013; Botwe, 2021; Kayhan et al., 2017). O mesmo padrão foi observado para a espécie *S. pilchardus* (El-Moselhy et al., 2014; Zagh e Bachari, 2019), com exceção da área A em que a concentração foi superior à mencionada na investigação de Chouveleon et al. (2019) (tabela 4.1). A espécie *S.colias* também apresentou valores de concentração de Cd muito abaixo dos valores mencionados por Kareem et al., (2015), Makedonski (2017), Botwe (2021) e Saha et al. (2021), referentes a outras zonas (tabela 4.1).

Tabela 4.1 – Comparação dos teores de Cd nos diferentes tecidos das espécies em estudo com os obtidos por outros autores

Espécie	Tecido	Área	[Cd] ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Fonte
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Mar Negro, Turquia	0,21 ± 0,01	Alkan et al., 2013
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Golfe da Guiné, Costa do Gana	<10-LD	Botwe, 2021
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Mar Mármara, Turquia	1,65±1,16	Kayhan et al., 2017
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Caminha-Peniche	0,11	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Algarve- Golfe de Cádiz	<LD	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Marrocos	13,009 ± 5,67	Afandi et al., 2018
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Trabzon Coasts, Mar Negro	0,23 ± 0,07	Türkmen et al., 2008
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Yalova Coast, Mar Mármara	0,09 ± 0,02	Türkmen et al., 2008
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Zona Nordeste, Mar Egeu- Grécia	0,07 ± 0,03	Türkmen et al., 2008
<i>Stolephorus indicus</i>	Fígado	Golfo da Pérsia- Emirades Árabes Unidos Ajman	3,99 ± 0,4	Alizada et al., 2020
<i>S. indicus</i>	Fígado	Golfo da Pérsia- Emirades Árabes Unidos Sharjah	4,86 ± 1,9	Alizada et al., 2020
<i>S. indicus</i>	Fígado	Golfo da Pérsia- Emirades Árabes Unidos Umm Al Quwain	7,99 ± 0,7	Alizada et al., 2020
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Zona central, Mar Egeu- Grécia	0,69 ± 0,18	Türkmen et al., 2008
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Caminha-Peniche	1,7	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Algarve- Golfe de Cádiz	0,79	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Mar Negro	0,30 ± 0,03	Alkan et al., 2014
<i>E. encrasicolus</i>	Parte edível	Mar Negro	0,2 ± 0,05	Aygun e Abanoz, 2011
<i>E. encrasicolus</i>	Parte edível	Mar Negro	ND	Bat et al., 2014
<i>E. encrasicolus</i>	Parte edível	Galiza, Espanha	50	Blanco et al., 2008
<i>E. encrasicolus</i>	Parte edível	Mar Negro, Turquia	0,037±0,013	Ergönül e Altındağ, 2014
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Mar Marmara, Turquia	1,10±1,02	Kayhan et al., 2017
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Golfo da Guiné, Costa do Gana	<10- <LD	Botwe, 2021
<i>E. encrasicolus</i>	Parte edível	Mar Marmara, Turquia	0,027 ± 0,0353	Keskin et al., 2007
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Caminha-Peniche	<LD	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Algarve- Golfe de Cádiz	<LD	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Baia de Argel, Argélia	0,11 ± 0,05	Zagh e Bachari, 2019
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Golfo de Leons, Noroeste do Mar do Mediterrâneo	0,06 ± 0,01	Chouveleon et al., 2019

<i>Sardinella. sp</i>	Brânquias	Mar Vermelho, Egipto	0,49 ± 0,09	El-Moselhy et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Caminha-Peniche	0,14	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Peniche-Sagres	<LD	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Algarve-Golfe de Cádiz	<LD	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Marrocos	7,215 ± 2,77	Afandi et al., 2018
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Yalova, Turquia	200 ± 50	Ates et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Mar Egeu central, Turquia	1110 ± 490	Ates et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Mar e costa da baía de Mersin, Turquia	730 ± 20	Ates et al., 2014
<i>Sardinella sp</i>	Fígado	Mar Vermelho, Egipto	0,42 ± 0,08	El-Moselhy et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Caminha-Peniche	0,81	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Peniche-Sagres	0,8	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Algarve-Golfe de Cádiz	0,39	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Parte edível	Mar Mármara, Turquia	8	Keskin et al., 2007
<i>S. pilchardus</i>	Parte edível	Galiza, Espanha	100	Blanco et al., 2008
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Marrocos	67 ± 67	Afandi et al., 2018
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Mar Egeu, Turquia	10 ± 1	Ates et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Caminha-Peniche	<LD	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Peniche-Sagres	<LD	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Algarve-Golfe de Cádiz	<LD	Presente estudo
<i>S. scombrus</i>	Brânquias	Ibadan, Sudoeste da Nigéria	91 ± 12	Kareem et al., 2015
<i>S. colias</i>	Brânquias	Lago Varna, Índia	34 ± 8	Saha et al., 2021
<i>S. colias</i>	Brânquias	Mar Negro-Bulgária	90 ± 36	Makedonski, 2017
<i>S. colias</i>	Brânquias	Golfe da Guiné, Costa do Gana	<10	Botwe, 2021
<i>S. colias</i>	Brânquias	Peniche-Sagres	0,25	Presente estudo
<i>S. colias</i>	Brânquias	Algarve-Golfe de Cádiz	0,24	Presente estudo
<i>S. japonicus</i>	Fígado	Marrocos	50,072 ± 20,3	Afandi et al., 2018
<i>S. colias</i>	Fígado	Arquipélago dos Açores	26	Raimundo et al., 2013
<i>S. colias</i>	Fígado	Mares Egeu e Mediterrâneo	0,33 ± 0,10	Türkmen et al., 2009
<i>S. colias</i>	Fígado	Peniche-Sagres	mi	Presente estudo
<i>S. colias</i>	Fígado	Algarve-Golfe de Cádiz	7,8	Presente estudo
<i>S. Scombrus</i>	Parte edível	Mar Mármara, Turquia	21 ± 15	Keskin et al., 2007
<i>S. japonicus</i>	Músculo	Marrocos	0,198 ± 0,318	Afandi et al., 2018
<i>S. colias</i>	Músculo	Golfe da Guiné, Costa do Gana	<10-LD	Botwe, 2021
<i>S. japonicus</i>	Músculo	Zona nordeste e este central do oceano Atlântico em águas Portuguesas	8,4 ± 3,6	Vieira et al., 2011
<i>S. colias</i>	Músculo	Peniche-Sagres	<LD	Presente estudo
<i>S. colias</i>	Músculo	Algarve-Golfe de Cádiz	<LD	Presente estudo

LD – Limite de deteção

mi – massa insuficiente

Relativamente aos níveis de Cd no fígado comparados com o mesmo tecido noutros estudos, constatou-se que a espécie *E. encrasicolus* apresentou concentrações inferiores às referidas nos estudos de Alizada et al. (2020) e de Afandi et al. (2018), mas superiores às mencionados na investigação de Türkmen et al. (2008) (tabela 4.1). As concentrações de Cd no fígado da espécie *S. pilchardus* nas áreas foram muito inferiores às referidas nos estudos de Afandi et al. (2018) e de Ates et al. (2014), mas relativamente às áreas A e B, foram superiores aos apresentados no estudo de El-Moselhy et al. (2014) com a espécie *Sardinella sp.* A espécie *S. colias* apresentou um valor de concentração de Cd inferior aos referidos nos estudos de Raimundo et al. (2013) e de Afandi et al. (2018), mas superior ao apresentado pela investigação de Türkmen et al. (2009) (tabela 4.1).

As três espécies deste estudo (*E. encrasicolus*, *S. pilchardus* e *S. colias*) apresentaram uma concentração de Cd no músculo abaixo do limite de deteção, enquanto outros autores registaram concentrações deste metal neste tecido. Também no estudo Botwe (2021), os valores da concentração de Cd no músculo das espécies *E. encrasicolus* e *S. colias* encontravam-se abaixo do limite de deteção e na investigação de Bat et al. (2014), os valores não foram detetados, o que reforça os dados encontrados no presente estudo (tabela 4.1).

4.2 Concentração de Hg nas espécies

Tal como a concentração de Cd, a distribuição pelos diferentes tecidos foi semelhante nas três espécies em estudo, relativamente ao facto de o fígado apresentar concentrações superiores de Hg quando comparado com os outros tecidos. As espécies *E. encrasicolus* e *S. colias* apresentaram níveis de Hg semelhantes nas brânquias e no músculo, no entanto, os teores de Hg na espécie *S. pilchardus* foram superiores no músculo relativamente aos das brânquias. Estes resultados, mais uma vez, reforçaram dados de outras investigações nas espécies *E. encrasicolus* e *S. pilchardus* (Gilmartin e Revelante, 1975; Aissioui et al., 2022).

Efetivamente, tecidos metabolicamente ativos como, por exemplo, fígado e rins contêm, geralmente, concentrações mais elevadas da maioria dos oligoelementos, incluindo Hg, comparativamente com outros tecidos metabolicamente menos ativos como músculo (Kljakovi'c-Gašpi'c et al., 2002; Storelli e Marcotrigiano, 2004; Storelli et al., 2005; Kojadinovic et al., 2007; Renzi et al., 2014; Moiseenko e Gashkina, 2020; Kljakovi'c-Gašpi'c e Tičina, 2021).

No que diz respeito à distribuição espacial verificou-se que a concentração de Hg variou, quer em função dos tecidos quer das espécies. Assim, nas brânquias os teores de Hg não variaram entre áreas, nas espécies *S. pilchardus* e *S. colias* e na espécie *E. encrasicolus* não foi possível comparar tendo em conta que a massa foi insuficiente. Relativamente ao fígado, os níveis de Hg oscilaram em função das espécies, verificando-se que a espécie *E. encrasicolus* obteve concentrações superiores na área C e a espécie *S. pilchardus* na área A e para a espécie *S. colias* não se obteve massa suficiente. Quanto ao músculo a distribuição espacial também variou, sendo que na área B a espécie *S. pilchardus* obteve níveis superiores de Hg e na área C foi a espécie *S. colias*. Desta forma, a concentração de Hg obtida variou em função da espécie e do órgão/tecido e da área em estudo, predominando, no entanto, concentrações mais altas na área C na espécie *E. encrasicolus* no fígado e na espécie *S. colias*, no músculo. Vários autores defendem que os locais de amostragem e os habitats influenciam os teores de metais no ambiente, causando, deste modo, uma variação na concentração dos mesmos metais, incluindo Hg, entre as espécies e os tecidos nos peixes (Afandi et al., 2018; Rejomon et al., 2010; Hosseini et al., 2013; Weber et al., 2013). Os mesmos autores referem ainda que o regime alimentar influi na concentração de Hg nos organismos. Por outro lado, Velusamy et al. (2014) salienta que poderá existir uma correlação

entre o tamanho dos organismos e a acumulação de metais nos tecidos, o que poderá justificar os níveis mais elevados de Hg no músculo da espécie *S. colias*, neste estudo, visto a mesma apresentar comprimentos maiores que as restantes espécies.

Os resultados obtidos foram corroborados pela análise multivariada. Assim, verificou-se: nos clusters que apresentaram níveis de Hg mais elevados, o fígado foi o órgão com maior representatividade relativamente aos outros tecidos das espécies em estudo (Tabelas 3.10, 3.11 e 3.12), integrando maioritariamente indivíduos da área C. Os níveis superiores de concentração de Hg nos clusters corresponderam de um modo geral aos indivíduos maiores e mais pesados o que, na ótica de Costa et al. (2020) este fator poderá contribuir para uma maior acumulação de Hg, resultante de uma maior bioacumulação e bioamplificação. Por outro lado, Vieira et al. (2011) estabelece uma ligação direta entre o hábito alimentar e a posição trófica, mostrando que o órgão fígado pode conter maior concentração de Hg, como por exemplo na cavala devido à sua alimentação em níveis tróficos mais elevados. Resultados similares também foram apontados por outros autores (Kim e Kang, 2015; Mehoul et al., 2019). Por outro lado, a acumulação de Hg nas espécies, também é justificável devido ao facto das mesmas se situarem em zonas de afloramento costeiro, onde a poluição marinha é mais elevada, bem como de outros fatores como a variação sazonal e do tempo de exposição do peixe ao metal (Da Silva et al., 2020).

Os teores de Hg encontrados nos diferentes tecidos das espécies em estudo, de um modo geral, apresentaram valores muito diversificados (ou muito inferiores ou muito superiores) aos encontrados noutras regiões por outros autores (Tabela 4.2).

Como tal, relativamente às brânquias, a espécie *E. encrasicolus* apresentou concentrações de Hg superiores às mencionadas em outros estudos (Gilmartin e Revelante, 1975; Knouer e Martin, 1972 com a espécie *E. mordax*), mas bastante inferiores às do estudo de Chouvelon et al., 2019. Na mesma linha, a espécie *S. pilchardus* apresentou concentrações de Hg superiores às encontradas nas investigações de Gilmartin e Revelante (1975) e Chahid et al. (2014), mas bastante inferiores às encontradas na investigação de Chouveleon et al. (2019) (Tabela 4.2). Por outro lado, a espécie *S. colias* apresentou valores de concentração de Hg abaixo de todos os valores encontrados para a espécies *S. scombrus* amostrados noutras áreas (Khoshnood et al., 2012; Shabani et al., 2014; Botwe, 2021) (Tabela 4.2).

Quanto ao fígado, a espécie *E. encrasicolus* apresentou teores de Hg superiores às referenciadas nos estudos de Alizada et al. (2020) com a espécie *Stolephorus indicus*. No entanto, os valores da concentração do fígado na área A foram inferiores aos apresentados por Afandi et al. (2018) (Tabela 4.2). As concentrações de Hg no fígado da espécie *S. pilchardus* na área A foram superiores às apresentadas nos estudos de Gilmartin e Revelante (1975), Afandi et al. (2018) e Aissioui et al. (2022). Nas áreas B e C foram inferiores às referidas nos estudos de Gilmartin e Revelante (1975) e Aissioui et al. (2022), mas superiores às encontradas por Afandi et al. (2018) (Tabela 4.2). A espécie *S. colias* apresentou um valor de concentração de Hg no fígado na área C na mesma gama que o mencionado por Afandi et al. (2018) com a espécie *S. japonicus* (Tabela 4.2).

A espécie *E. encrasicolus* apresentou valores de Hg no músculo superiores às encontradas por Bat et al. (2014) e Afandi et al. (2018) mas muito inferiores às apresentadas nos estudos de Keskin et al., (2007), Blanco et al., (2009), Costa et al., (2019) e Botwe (2021) (Tabela 4.2). O mesmo padrão foi observado para espécie *S. pilchardus*, em que os valores da concentração de Hg, no músculo, foram menores do que os recolhidos noutras investigações, nomeadamente de Keskin et al. (2007), Blanco et al. (2009), Vieira et al. (2011) e Costa et al. (2019), mas superiores aos encontrados por Afandi et al. (2018) (Tabela 4.2). A espécie *S. colias* também apresentou valores de concentração de Hg abaixo dos valores de referência (Keskin et al., 2007; Vieira et al., 2011; Costa et al., 2019 e Botwe, 2021) mas superiores aos de Afandi et al. (2018) (Tabela 4.2).

O valor da concentração de Hg no músculo foi superior para a espécie *S. colias*, quando comparado com o valor de Hg no músculo das restantes espécies e das restantes áreas.

Tabela 4.2 – Comparação dos teores de Hg nos diferentes tecidos das espécies em estudo com os obtidos por outros autores.

Espécie	Tecido	Área	[Hg] ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Fonte
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Zona nordeste Mar Adriático	0,045	Gilmartin e Revelante,1975
<i>E. mordax</i>	Brânquias	Baía de Monterey, Califórnia	0,098	Knouer e Martin, 1972
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Golfo de Leons, Noroeste do Mar Mediterrâneo	248 \pm 52	Chouvelon et al., 2019
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Caminha-Peniche	mi	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Algarve- Golfe de Cádiz	0,19	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Marrocos	0,49 \pm 0,00	Afandi et al., 2018
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Caminha-Peniche	0,25	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Algarve- Golfe de Cádiz	0,54	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Marrocos	0,052 \pm 0,011	Afandi et al., 2018
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Oceano Atlântico, Costa Portuguesa	34 \pm 22	Costa et al., 2019
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Golfe da Guiné-Costa do Gana	< 50	Botwe, 2021
<i>E. encrasicolus</i>	Parte edível	Galiza, Espanha	180	Blanco et al., 2009
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Mar Mármara, Turquia	550 \pm 40	Keskin et al., 2007
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Caminha-Peniche	0,13	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Algarve- Golfe de Cádiz	0,15	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Zona nordeste Mar Adriático	0,035	Gilmartin e Revelante,1975
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Agadir, sul de Marrocos	0,066 \pm 0,09	Chahid et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Dakhla,sul de Marrocos	0,042 \pm 0,012	Chahid et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Lagyoune,sul de Marrocos	0,002 \pm 0,001	Chahid et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Sidi Ifni, sul de Marrocos	0,001 \pm 0,002	Chahid et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Essaouira, sul de Marrocos	0,042 \pm 0,006	Chahid et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Golfo de Leons,zona Noroeste do Mar Mediterrâneo	134 \pm 35	Chouvelon et al., 2019
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Caminha-Peniche	0,1	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Peniche-Sagres	0,09	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Algarve-Golfe de Cádiz	0,09	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Marrocos	0,10 \pm 0,129	Afandi et al., 2018
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Zona nordeste Mar Adriático	0,19	Gilmartin e Revelante,1975

<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Costa da Argélia	0,2 ± 0,07	Aissioui et al., 2022
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Caminha-Peniche	0,25	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Peniche-Sagres	0,17	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Algarve-Golfe de Cádiz	0,17	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Zona nordeste e este central do oceano Atlântico em águas Portuguesas	18,2 ± 5,0	Vieira et al., 2011
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Mar Marmara, Turquia	242 ± 33,3	Keskin et al., 2007
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Marrocos	0,037 ± 0,015	Afandi et al., 2018
<i>S. pilchardus</i>	Parte edível	Galiza, Espanha	<100	Blanco et al., 2009
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Oceano Atlântico, Costa Portuguesa	2,5 ± 13	Costa et al., 2019
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Caminha-Peniche	0,13	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Peniche-Sagres	0,19	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Algarve-Golfe de Cádiz	0,1	Presente estudo
<i>Scomberomorous commerson</i>	Brânquias	Norte do Golfo da Pérsia	372 ± 31	Khoshnood et al., 2012
<i>S. guttatus</i>	Brânquias	Norte do Golfo da Pérsia	214 ± 34	Khoshnood et al., 2012
<i>S. colias</i>	Brânquias	Golfo da Guiné	370 ± 40	Botwe, 2021
<i>Katsuwonus pelamis</i>	Brânquias	Mar Oman, Irão	3,07±0,09	Shabani et al., 2014
<i>S. colias</i>	Brânquias	Peniche-Sagres	0,19	Presente estudo
<i>S. colias</i>	Brânquias	Algarve-Golfe de Cádiz	0,17	Presente estudo
<i>S. japonicus</i>	Fígado	Marrocos	0,210 ± 0,09	Afandi et.,2018
<i>S. colias</i>	Fígado	Peniche-Sagres	mi	Presente estudo
<i>S. colias</i>	Fígado	Algarve-Golfe de Cádiz	0,22	Presente estudo
<i>S. colias</i>	Músculo	Golfo da Guiné	110 ± 10	Botwe, 2021
<i>S. colias</i>	Músculo	Oceano Atlântico, Costa Portuguesa	34 ± 13	Costa et al., 2019
<i>S. scombrus</i>	Músculo	Mar Marmara, Turquia	13 ± 3,8	Keskin et al.,2007
<i>S. japonicus</i>	Músculo	Marrocos	0,094 ± 0,042	Afandi et al.,2018
<i>S. japonicus</i>	Músculo	Zona nordeste e este central do oceano Atlântico em águas Portuguesas	95,6 ± 159,2	Vieira et al., 2011
<i>S. colias</i>	Músculo	Peniche-Sagres	0,18	Presente estudo
<i>S. colias</i>	Músculo	Algarve-Golfe de Cádiz	0,22	Presente estudo

mi- massa insuficiente

4.3 Concentração de Pb nas espécies

Os resultados do presente estudo mostram que a distribuição pelos diferentes tecidos foi semelhante nas três espécies em estudo, no entanto contrariamente aos metais anteriores foram as brânquias apresentarem concentrações superiores de Pb quando comparadas com o fígado e o músculo, sendo que este último apresentou níveis de concentração abaixo do limite de deteção,

verificando-se que a espécie *S.pilchardus* apresentou níveis mais altos do que as restantes espécies.

Estes resultados estão de acordo com Wei et al. (2014), já que a concentração de Pb foi superior nas brânquias e não no fígado. Os peixes quando expostos a metais com origem antropogénica absorvem-nos através da biodisponibilidade na água e comida, via brânquias (Nair et al., 2006), sendo que quanto maior for a concentração no ambiente aquático maior será acumulação nos seus órgãos/tecidos (George et al., 2010, 2012, 2021). Os valores mais elevados de Pb encontrados nas brânquias destas espécies poderão advir do facto deste órgão ter uma área de superfície muito ampla que facilita a rápida difusão de metais na água nomeadamente Pb (Nędzarek et al., 2021; Tahity et al., 2022), além de que os metais quando bioacumulados nas brânquias são basicamente concentrados a partir da água (Bawuro et al., 2018).

No que diz respeito à distribuição espacial, verificou-se que os tecidos das espécies *E. encrasicolus* e *S. pilchardus* apresentaram níveis superiores na área A comparativamente às outras áreas. Não foi possível distinguir espacialmente as concentrações de Pb no órgão fígado da espécie *S. colias*, uma vez que não foram capturados indivíduos desta espécie na área A, a massa obtida foi insuficiente na área B e na área C as concentrações estavam abaixo do limite de deteção. A espécie *S. pilchardus* não apresentou diferenças significativas no teor de Pb no músculo nas três áreas. A concentração de Pb obtida variou em função da espécie e do órgão/tecido e da área em estudo, predominando nas espécies *S. pilchardus* e *E. encrasicolus* na área A, para as brânquias. Na espécie *S. colias*, para as brânquias na área C. Estes resultados vão ao encontro das investigações de Mehoul et al. (2019) e Aissoui et al. (2022) em que a espécie *S. pilchardus* apresentou níveis mais elevados de Pb que as outras espécies, devido ao facto de a mesma viver junto à costa, onde a poluição marinha é mais elevada.

A análise multivariada permitiu reforçar os resultados obtidos, destacando-se que nos clusters onde os teores de Pb foram mais elevados nos tecidos das espécies (Tabelas 3.10,3.11 e 3.12) as brânquias foram o tecido que caracterizou estes clusters, bem como a predominância nas destes indivíduos nas áreas A e C. Neste caso, os teores de Pb no fígado não prevaleceram como nas concentrações de Cd e Hg. Efetivamente, tendo em conta o que refere Wei et al. (2014), as concentrações de metais podem variar em função do tecido da espécie do peixe, tal como sucedeu com a espécie *Scomberomorus cavalla* no estudo de Ploetz et al. (2007), em que o fígado da mesma espécie obteve concentrações de Pb inferiores a outro tecido (músculo).

A concentração de Pb encontrada nos diferentes tecidos e nas diferentes áreas, nas três espécies em estudo, de um modo geral, apresentou valores muito diversificados (ou muito inferiores ou muito superiores) quando comparados com outras regiões (Tabela 4.3).

A espécie *E. encrasicolus* apresentou concentrações de Pb nas brânquias inferiores às mencionadas em outros estudos (Gilmartin e Revelante,1975; Botwe, 2021) mas superiores às encontradas por Alkan et al. (2013). Na mesma linha, a espécie *S. pilchardus* apresentou concentrações de Pb, no mesmo órgão, superiores às encontradas nos estudos de Chahid et al. (2014) mas inferiores às encontradas por Gilmartin e Revelante (1975) e Botwe (2021) (Tabela 4.3). Todavia, a espécie *S. colias* apresentou valores de concentração de Pb muito abaixo de todos os valores referidos por Botwe (2021), Saha et al. (2021) e Makedonski (2017) referentes a outras zonas (Tabela 4.3).

A espécie *E. encrasicolus* apresentou concentrações de Pb no fígado superiores às referenciadas nos estudos de Afandi et al. (2018) mas inferiores às mencionadas por Türkmen et al. (2008) referentes ao Mar Mármara. Os níveis de Pb encontrados na espécie *E. encrasicolus* variaram em função das áreas relativamente ao estudo de Türkmen et al. (2008) no Mar Negro e no Mar Egeu (Tabela 4.3). As concentrações de Pb no fígado da espécie *S. pilchardus* foram inferiores às mostradas nas investigações de El-Moselhy et al. (2014), Ates et al. (2014) em vários

locais na Turquia mas superiores aos encontrados por Afandi et al. (2018) em Marrocos (Tabela 4.3). A espécie *S. colias* apresentou um valor de concentração de Pb no fígado inferior ao mencionado por Afandi et al. (2018), com a espécie *S. japonicus* e por Karayakar et al. (2017), mas superior aos resultados encontrados por Raimundo et al. (2013) (Tabela 4.3).

A espécie *E. encrasicolus* apresentou valores de Pb no músculo superiores às encontradas por Afandi et al. (2018) e Türkmen et al. (2008) na costa de Trabzon Mar Negro, mas inferiores às apresentadas nos estudos de Türkmen et al. (2008) na zona nordeste do Mar Egeu, na costa Yalova no Mar Marmara e nas costas Bartin no Mar Negro (Botwe, 2021 e Keskin et al., 2007) (Tabela 4.3). Um padrão semelhante foi observado para a espécie *S. pilchardus*, em que os valores da concentração de Pb, no músculo, foram menores do que os recolhidos noutras investigações, nomeadamente de El-Moselhy et al. (2014), Vieira et al. (2011), Keskin et al. (2007) e Ates et al. (2014) mas superiores aos encontrados por Afandi et al. (2018) (Tabela 4.3). A espécie *S. colias* também apresentou um padrão idêntico às restantes espécies, com valores de concentração de Pb abaixo dos valores de referência (Vieira et al., 2011; Botwe, 2021; Keskin et al., 2007; Saha et al., 2021) mas superiores aos de Raimundo et al. (2013) e de Afandi et al. (2018) (Tabela 4.3).

Estes resultados reforçam outros já observados por Ali et al. (2019) e Olayinka-Olagunju et al. (2021), onde salientam que tecidos metabolicamente ativos, como brânquias, fígado, rins, acumulam mais metais do que outros tecidos, como músculos e pele.

Tabela 4.3 - Comparação dos teores de Pb nos diferentes tecidos das espécies em estudo com os obtidos por outros autores.

Espécie	Tecido	Área	[Pb] ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Fonte
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Zona nordeste do Mar Adrático	3,6	Gilmartin e Revelante,1975
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Golfe da Guiné- Costa do Gana	<50	Botwe,2021
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Mar Negro	0,21 \pm 0,03	Alkan et al., 2013
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Caminha-Peniche	0,75	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Brânquias	Algarve- Golfe de Cádiz	0,57	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Marrocos	0,078 \pm 0,02	Afandi et al., 2018
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Trabzon Coasts,Mar Negro	0,47 \pm 0,13	Türkmen et al., 2008
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Yalova Coast, Mar Marmara	0,88 \pm 0,20	Türkmen et al., 2008
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Zona Nordeste, Mar Egeu- Grécia	0,44 \pm 0,05	Türkmen et al., 2008
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Zona nordeste do Mar Adrático	1,2	Gilmartin e Revelante,1975
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Costas Bartin, Mar Negro	3,38 \pm 0,55	Türkmen et al., 2008
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Caminha-Peniche	0,64	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Fígado	Algarve- Golfe de Cádiz	0,42	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Trabzon Coasts,Mar Negro	0,12 \pm 0,03	Türkmen et al., 2008
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Yalova Coast, Mar Marmara	0,37 \pm 0,04	Türkmen et al., 2008
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Zona Nordeste, Mar Egeu- Grécia	0,36 \pm 0,08	Türkmen et al., 2008
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Costas Bartin, Mar Negro	0,87 \pm 0,40	Türkmen et al., 2008
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Marrocos	0,06 \pm 0,037	Afandi et al., 2018
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Golfe da Guiné-Costa do Gana	<50	Botwe, 2021

<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Mar Marmara, Turquia	99 ± 18,8	Keskin et al., 2007
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Caminha-Peniche	0,25	Presente estudo
<i>E. encrasicolus</i>	Músculo	Algarve- Golfo de Cádiz	0,14	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Zona nordeste do Mar Adriático	2,9	Gilmartin e Revelante,1975
<i>S. aurita</i>	Brânquias	Golfo da Guiné	<50	Botwe,2021
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Agadir, sul de Marrocos	0,049 ± 0,008	Chahid et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Dakhla,sul de Marrocos	0,049 ± 0,007	Chahid et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Lagyoune,sul de Marrocos	0,030 ± 0,006	Chahid et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Sidi Ifni, sul de Marrocos	0,004 ± 0,004	Chahid et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Essaouira, sul de Marrocos	0,037 ± 0,006	Chahid et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Caminha-Peniche	1,9	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Peniche-Sagres	0,78	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Brânquias	Algarve-Golfo de Cádiz	0,71	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Marrocos	0,03 ± 0,04	Afandi et al., 2018
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Yalova,Turquia	1920 ± 390	Ates et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Mar Egeu central,Turquia	4710 ± 490	Ates et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Mar e costa da baía de Mersin,Turquia	1130 ± 90	Ates et al., 2014
<i>Sardinella. sp</i>	Fígado	Mar Vermelho, Egipto	1,05 ± 0,45	El-Moselhy et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Caminha-Peniche	0,62	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Peniche-Sagres	0,14	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Fígado	Algarve-Golfo de Cádiz	0,59	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Mar Mármara, Turquia	142 ± 45,3	Keskin et al., 2007
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Zona nordeste e este central do oceano Atlantico em águas portuguesas	37,9 ± 30,3	Vieira et al., 2011
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Mar Egeu, Turquia	420 ± 60	Ates et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Marrocos	0,035 ± 0,033	Afandi et al., 2018
<i>Sardinella sp</i>	Músculo	Mar Vermelho, Egipto	0,25 ± 0,08	El-Moselhy et al., 2014
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Caminha-Peniche	0,14	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Peniche-Sagres	0,14	Presente estudo
<i>S. pilchardus</i>	Músculo	Algarve-Golfo de Cádiz	0,14	Presente estudo
<i>S. colias</i>	Brânquias	Lago Varna, India	130 ± 70	Saha et., 2021
<i>S. colias</i>	Brânquias	Golfo da Guiné-Costa do Gana	<50	Botwe,2021
<i>S. colias</i>	Brânquias	Mar Negro-Bulgária	1470 ± 111800	Makedonski, 2017
<i>S. colias</i>	Brânquias	Peniche-Sagres	0,56	Presente estudo
<i>S. colias</i>	Brânquias	Algarve-Golfo de Cádiz	0,63	Presente estudo
<i>S. japonicus</i>	Fígado	Marrocos	0,218 ± 0,09	Afandi et.,2018
<i>S. colias</i>	Fígado	Arquipélago dos Açores	0,049	Raimundo et al., 2013
<i>S. colias</i>	Fígado	Turquia	0,95 ± 0,06	Karayakar et al., 2017
<i>S. colias</i>	Fígado	Peniche-Sagres	mi	Presente estudo
<i>S. colias</i>	Fígado	Algarve-Golfo de Cádiz	0,15	Presente estudo

<i>S. colias</i>	Músculo	Mar Mármara, Turquia	74 ± 43,1	Keskin et al., 2007
<i>S. colias</i>	Músculo	Arquipélago dos Açores	0,028	Raimundo et al., 2013
<i>S. colias</i>	Músculo	Lago Varna, Índia	120 ± 60	Saha et., 2021
<i>S. colias</i>	Músculo	Golfo da Guiné-Costa do Gana	<50	Botwe,2021
<i>S. japonicus</i>	Músculo	Marrocos	0,035 ± 0,028	Afandi et al., 2018
<i>S. japonicus</i>	Músculo	Zona nordeste e este central do oceano Atlântico em águas portuguesas	36,5 ± 29,8	Vieira et al., 2011
<i>S. colias</i>	Músculo	Peniche-Sagres	<LD	Presente estudo
<i>S. colias</i>	Músculo	Algarve-Golfe de Cádiz	<LD	Presente estudo

LD – Limite de deteção
mi – massa insuficiente

5. Considerações finais

Nesta investigação, verifica-se que, globalmente, os órgãos/tecidos que apresentam maior concentração são o fígado e as brânquias e por fim o músculo. Todavia, esta relação varia de acordo com o metal acumulado, sendo que para o Cd e Hg a relação estabelecida é fígado>brânquias>músculo e para o Pb é brânquias>fígado>músculo.

A acumulação de contaminantes em peixes pelágicos ao largo da costa continental portuguesa pode variar tendo em conta fatores como a época do ano, a distribuição espacial das espécies, o seu teor em gordura, a alimentação das mesmas e os seus comportamentos alimentares, a concentração dos poluentes no meio envolvente, a temperatura do meio, o nível da cadeia trófica, o habitat, a bioacumulação, a bioamplificação, entre outros.

Deste modo, e tendo em conta a variação espacial da acumulação de metais nas espécies, neste estudo, destaca-se que relativamente ao Cd a área A que se registou os valores mais elevados (Zona ocidental norte - Caminha-Peniche), enquanto o Hg foi na área C (Algarve - parte do Golfe de Cádiz). Já no que diz respeito ao Pb, a área A apresentou valores superiores às áreas B e C. É de realçar que a zona C era a única onde se encontravam as três espécies em estudo. Já no que diz respeito à área B (Peniche - Sagres) os valores são significativamente inferiores aos das outras áreas. A zona ocidental norte e zona sul da costa continental portuguesa foram as áreas onde houve maior acumulação de contaminantes nos tecidos dos peixes pelágicos, o que pode ser justificado devido a estas zonas serem mais industrializadas e mais populosas. Na zona ocidental norte pode-se acrescentar a presença dos sistemas fluvio-estuarinos em conjugação com os emissários submarinos que poluem a zona costeira, como por exemplo o porto de Leixões e a refinaria de Matosinhos. Alguns dos argumentos que podem justificar a elevada concentração de metais na zona sul podem ser a existência de muito turismo sazonal, além dos três sistemas estuarinos (Ria Formosa, Arade e Guadiana). A relação da concentração dos três metais nas três áreas foi muito variável.

No que diz respeito à vulnerabilidade das espécies aos contaminantes, verificou-se que as espécies *S. colias* e *E. encrasicolus* foram as que apresentaram valores mais elevados de Cd e Hg, enquanto que a espécie *S. pilchardus* apresentou maiores concentrações de Pb comparativamente às outras espécies. Face a estes resultados, não se poderá definir uma única espécie como bioindicador de concentração de metais no ambiente aquático marinho, salientando-se que as três espécies são suscetíveis de serem bioindicadores, embora a cada espécie se associe um metal distinto. Como tal, para o Cd será a espécie *S. colias*, para o Hg será a espécie *E. encrasicolus* e para o Pb a espécie *S. pilchardus*.

Relativamente aos órgãos/tecidos que se podem considerar mais adequados para fornecer informação adicional para o descritor 9 da DQEM são o fígado para os níveis de Cd e Hg e as brânquias para os níveis de Pb.

De referir, que apesar da variação da concentração dos diferentes metais observada nas espécies em estudo, estas apresentaram sempre valores inferiores aos teores máximos permitidos na parte comestível do peixe para comercialização estabelecidos no Regulamento (CE) N° 1881/2006 da Comissão de 19 de dezembro. De facto, os teores de Cd no músculo das três espécies apresentaram-se abaixo do limite de deteção. Os teores de Pb também foram abaixo do limite de deteção para a sardinha e cavala; no biqueirão, apresentaram um teor máximo de 0,07 mg/Kg (peso húmido), muito inferior a 0,3 mg/kg (peso húmido) referido no Regulamento N° 1881/2006. Já os níveis de Hg foram detetados no músculo de todas as espécies, com valores máximos entre 0,06 e 0,08 mg/kg (peso húmido), os quais também foram muito inferiores ao estabelecido pelo Regulamento N° 1881/2006 com um valor de 0,5 mg/kg (peso húmido).

A finalizar, é de realçar que a maior parte dos estudos relativos a esta temática se concentram em áreas como a Turquia, Marrocos, Bulgária, Nigéria entre outras, sendo deficitária na costa continental Portuguesa. Além disso, os estudos incidem principalmente no músculo e tecido hepático, verificando-se alguma escassez de dados no que diz respeito às brânquias. Nesta linha, pretende-se que este estudo seja uma mais-valia para o reforço científico neste campo de investigação, uma vez que poderá contribuir para outras áreas de conhecimento, nomeadamente da biologia, saúde, ecotoxicologia e educação ambiental.

6. Referências Bibliográficas

- Afandi, I., Talba, S., Benhra, A., Benbrahim, S., Chfiri, R., Labonne, M., ... Bouthir, F. Z. (2018). Trace metal distribution in pelagic fish species from the north-west African coast (Morocco). *International Aquatic Research*, 10(2), 191–205. <https://doi.org/10.1007/s40071-018-0192-7>
- Afonso-Dias, I., Amorim, P., & Silva, A. (2008). Problems with assigning the ovaries of sardine (*Sardina pilchardus*) to the appropriate macroscopic maturity stage. *Marine Biodiversity Records*, 1.
- Aissioui, S., Poirier, L., Amara, R., & Ramdane, Z. (2022). Concentrations of lead, cadmium and mercury in sardines, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) from the Algerian coast and health risks for consumers. *Journal of Food Composition and Analysis* Volume 109 (104490) <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104490>
- Ali, H. and Khan, E. (2018) Bioaccumulation of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in freshwater fish. Risk to Human Health. *Environmental Chemistry Letters*, 16, 903-917. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0734-7>
- Ali, H., Khan, E., & Ilahi, I. (2019). Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2019/6730305>
- Alizada, N., Malik, S., & Muzaffar, S. B. (2020). Bioaccumulation of heavy metals in tissues of Indian anchovy (*Stolephorus indicus*) from the UAE coast, Arabian Gulf. *Marine Pollution Bulletin*, 154, 111033. <https://doi:10.1016/j.marpolbul.2020.1110>
- Alkan, N., Alkan, A., Gedik, K., & Fisher, A. (2013). Assessment of metal concentrations in commercially important fish species in the Black Sea. *Toxicology and Industrial Health*, 32(3), 447–456. <https://doi:10.1177/0748233713502840>
- Almeida, C., Karadzic, V., Vaz, S., (2015). “The Seafood Market in Portugal: Driving Forces and Consequences”. *Marine Policy*, 61, 87-94.
- Almeida, I.G. (2016). *Relatório de Estágio Profissionalizante Controlo de Qualidade Alimentar e Gestão Industrial no Setor do Pescado* Instituto politécnico de Coimbra Escola Superior Agrária. Mestrado em Engenharia Alimentar– Sociedade de Conservação e Comércio de Peixe, Lda Coimbra,
- Andres, S.; Laporte, J. & Mason, R. (2002). Mercury accumulation and flux across the gills and the intestine of the blue crab (*Callinectes sapidus*). *Aquatic Toxicology*, 56:303- 320.
- Anonymous (1987). Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit. *Analyst*, 112: 199-204.
- Ansari, T.M., Marr, I.L. & Tariq, N (2004). Heavy Metals in Marine Pollution Perspective–A Mini Review. *Journal of Applied Sciences*, 4: 1-20.
- ASAE, (2020). *Riscos e alimentos*, nº 20, Lopes, C., Campos, G.& Sol, M.
- ATSDR, A. f. (Setembro de 2012). Toxicological Profile for Cadmium. Atlanta, Georgia: Division of Toxicology and Human Health Sciences

- Authman, M., Zaki, M., Khallaf, E. & Abbas, Hossam. (2015). Use of Fish as Bio-indicator of the Effects of Heavy Metals Pollution. *J Aquaculture Research and Development. J Aquaculture Research and Development*. <https://dx.doi.org/10.4172/2155-9546.1000328>.
- Ayangbenro, A. S., & Babalola, O. O. (2017). A New Strategy for Heavy Metal Polluted Environments: A Review of Microbial Biosorbents. *International journal of environmental research and public health*, 14(1), 94. <https://doi.org/10.3390/ijerph14010094>
- Aygun, S.F., Abanoz, F. (2011). Determination of Heavy Metal in Anchovy (*Engraulis encrasicolus* L 1758) and Whiting (*Merlangius merlangus euxinus* Nordman, 1840) Fish in The Middle Black Sea. *Journal* 17 (Suppl A): S145-S152, 2011. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2011.4058>
- Aytekin, T., Kargın, D., Çoğun, H. Y., Temiz, Ö., Varkal, H. S., & Kargın, F. (2019). Accumulation and health risk assessment of heavy metals in tissues of the shrimp and fish species from the Yumurtalik coast of Iskenderun Gulf, Turkey. *Heliyon*, 5(8), e02131. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02131>
- Azevedo, J.S., Hortellani, M. A. & Sarkis, Jorge E.S. (2012). Accumulation and distribution of metals in the tissues of two catfish species from Cananéia and Santos - São Vicente Estuaries. *Brazilian Journal of Oceanography*, v.60, n.4, p.463-472. <http://repositorio.ipen.br/handle/123456789/4174>
- Baby, J., Raj, JS, Biby, ET, Sankarganesh, P., Jeevitha, MV, Ajisha, SU, & Rajan, SS (2010). Toxic effect of heavy metals in the aquatic environment. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 4 (4). <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v4i4.62976>
- Bandarra, N., Calhau, M.A., Oliveira, L., Ramos, M., Dias, M.G., Bartolo, H., Faria, M.R., Fonseca, M.C., Gonçalves, J., Batista, I., Nunes, M.L., 2004. Composição e Valor Nutricional dos Produtos da Pesca Mais Consumidos em Portugal. in Publicações avulsas do IPIMAR. 11: 1-103
- Barcarena, H. (2015). Nutritional composition and toxicological risk of fish consumed in Portugal, Scientific Article of Final Systematic Review, Degree in Nutrition, New Atlântica University institution of Portugal.
- Bat, L., Kaya, Y. & Öztekin, H.C. (2014). Heavy Metal Levels in the Black Sea Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) as Biomonitor and Potential Risk of Human Health. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 14, 845-851. http://doi.org/10.4194/1303-2712-v14_4_01
- Bawuro, A.A., Voegborlo, R.B. & Adimado, A.A. (2018). Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of fish in Lake Geriyo, Adamawa State, Nigeria. *Journal of Environmental and Public Health*, 185-4892. <https://doi.org/10.1155/2018/185-4892>
- Bebianno, M. (1990). Metallothionein induction and metal binding in *Littorina littorea* and *Mytilus edulis* on exposure to cadmium. Tese de Doutorado, Departamento de Zoologia, Universidade de Reading, UK.
- Beetsehc, I., & Abrahams, J. O. (2013). Bioaccumulation hazards of some heavy metals consumed in sardines and mackerel (ice fish) in Benue State, Nigeria. *Civil and environmental research*, 3, 60-65.
- Bouquegneau, J.; Lomboat, F.; Verthe, C. e Disteche, A. (1982). The accumulation of heavy metals in marine organisms. Marine Environmental Quality Committee. 1-17 pp.

- Blanco, S.L., González, J.C. & Vieites, J.M. (2008). Mercury, cadmium and lead levels in samples of the main traded fish and shellfish species in Galicia, Spain. *Food Addit. Contam. Part B Surveill.* 1, 15–21. <https://doi.org/10.1080/19393210802236893>
- Botwe, BO (2021). Heavy metal concentrations in five fish species from the Gulf of Guinea and their human health implications. *Regional Studies in Marine Science, Journal* 44, 101763. <https://doi:10.1016/j.rsma.2021.101763>
- Braga, HO, Azeiteiro, UM, Oliveira, HM, & Pardal, MA (2017). To assess fishermen's conservation attitudes and local ecological knowledge of European sardines (*Sardina pilchardus*), Peniche, Portugal. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 13(1), 1-12.
- Bryan, G. Langston, W., Hummerstone, L. & Burt, G. (1985). A guide to the assessment of heavy metals contamination in estuaries using biological indicators. *Marine Biological Association of the United Kingdom*, Vol 4 . England 92p.
- Bustamante, P.; Cherel, Y.; Caurant, F. e Miramand, P. (1998). Cadmium, copper and zinc in octopuses from Kergulen Islands, Southern Indian Ocean. *Polar Biology*, 19: 264-271.
- Caetano, M. (1992). Distribuição de organoclorados e metais em dois sistemas de aquacultura. Tese de Licenciatura em Química Tecnológica, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Portugal, 166 p.
- Cardoso, C., Afonso, C., Lourenço, H.M. & Nunes, M.L. (2015). Assessing risks and benefits of consuming fish muscle and liver: Novel statistical tools. *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 38, 112–120 pp
- CEIC, "Teores de contaminantes em espécies de interesse comercial capturadas na Área Marítima Portuguesa", funded by program MAR2020, IPMA, MAR-01.04.02-FEAMP-0012
- Chaid, A., Hilali, M. Benlhachemi, A. Kadmiri, I.M. & Bouzid, T. (2014). Concentrations of heavy metals in muscle, liver and gill of *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792): Risk assessment for the consumers. *Journal of Environmental and Occupational Science*, 3(1), 47-52. <https://doi.org/10.5455/jeos.20140220085459>
- Chouvelon, T., Strady, E., Harmelin-Vivien, M., Radakovitch, O., Brach-Papa, C., Crochet, S., ... & Chiffolleau, J.F. (2019). Patterns of trace metal bioaccumulation and trophic transfer in a phytoplankton-zooplankton-small pelagic fish marine food web. *Marine Pollution Bulletin*, 146: 1013-1030. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.07.047>
- Cikeš Keč, V. & Zorica, B. (2013). Length–weight relationship, age, growth and mortality of Atlantic chub mackerel *Scomber colias* in the Adriatic Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 93. [10.1017/S0025315412000161](https://doi.org/10.1017/S0025315412000161).
- Claisse, D.; Cossa, D.; Bretaudeau-Sanjuan, J.; Touchard, G. & Bombled, B. (2001). Methylmercury in molluscs along the French coast. *Marine Pollution Bulletin* 42(4): 329-332.
- Clark, R. (1997). *Marine Pollution*, Claredon Press, 4thEd., Inglaterra, 161 p.
- Connell, D.W. & Miller, G.J. (1984). *Pollution Chemistry and Ecotoxicology*. Wiley InterScience, New York
- Costa, F., Coelho, J. P., Baptista, J., Martinho, F., Pereira, M. E. & Pardal, M. A. (2019). Mercury accumulation in fish species along the Portuguese coast: Are there potential risks to human health. *Marine Pollution Bulletin* 150(1), 110740. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110740>

- Costalago, D., Garrido, S., & Palomera, I. (2015). Comparison of the feeding apparatus and diet of European sardines *Sardina pilchardus* of Atlantic and Mediterranean waters: Ecological implications. *Journal of Fish Biology*, 86(4), 1348–1362. <https://doi.org/10.1111/jfb.12645>
- Cunha, M.E., Garrido, S., & Pissarra, J. (2005). The use of stomach fullness and color indices to assess the feeding of *Sardina pilchardus*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 85(2), 425–431. <https://doi.org/10.1017/s0025315405011367h>
- Da Silva, J.M., Alves, L.M.F., Laranjeiro, M.I., Silva, A., Angelico, M.M., Norte, A.C. & Ceia, F.R. (2020). Mercury levels in commercial mid-trophic fish along the Portuguese coast - Relationship with trophic niche and oxidative damage. *Ecological Indicators*, 116, 106500. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106500>
- Depledge, M.; Aagaard, A. e Györkös, P. (1995). Assessment of trace metal toxicity using molecular, physiological and behavioural biomarkers. *Marine Pollution Bulletin*, 31(1-3): 19-27.
- Diop, M., Howsam, M., Diop, C., Goossens, J. F., Diouf, A., & Amara, R. (2016). Assessment of trace element contamination and bioaccumulation in algae (*Ulva lactuca*), mussels (*Perna perna*), shrimp (*Penaeus kerathurus*), and fish (*Mugil cephalus*, *Saratherondon melanotheron*) along the Senegalese coast. *Marine Pollution Bulletin*, 103(1-2), 339–343. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.12.038>
- DU, 2016a. Fish classification according to their fat content [WWW Document]. URL <http://www.diabetesuptodate.com/como-se-clasifican-los-pescadossegun-su-contenido-graso/> (accessed 3.24.18).
- DU, 2016b. The Benefits of Oily Fish and Omega 3 as cardiovascular protectors [WWW Document]. Diabetes Up to Date. URL <http://www.diabetesuptodate.com/beneficios-del-pescado-azul-y-elomega-3-como-protectores-cardiovasculares/> (accessed 3.24.18).
- DU, 2016c. Health benefits of blue fish fatty acids [WWW Document]. Diabetes Up to Date. URL <http://www.diabetesuptodate.com/beneficios-para-lasalud-de-los-acidos-grasos-del-pescado-azul/> (accessed 3.24.18).
- El-Moselhy, K. M., Othman, A. I., Abd El-Azem, H., & El-Metwally, M. E. A. (2014). Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of fish in the Red Sea, Egypt. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(2), 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2014.06.001>
- Ergonul, M. B. & Altındağ, A. (2014). Heavy Metal Concentrations in the Muscle Tissues of Seven Commercial Fish Species from Sinop Coasts of the Black Sea. *Rocznik Ochrona Srodowiska* 16. 34-51
- Fant, M.; Nyman, M.; Helle, E. & Rudback, E. (2001). Mercury, Cadmium, Lead and Selenium in ringed seals (*Phoca hispida*) from the Baltic Sea and from Svalbard. *Environmental Pollution*, 111: 493-501.
- Fátima, W.; Tojo, N.; Ramzi, A.; Somoue, L.; Manchih, K.; Errhif, A. (2015). Seasonal and size-dependent variability in diet of *Scomber colias* (Gmelin, 1789) of the Atlantic Coast of the Northwest Africa. *International Journal of Advanced Research* Volume 3, Issue 12, 485 – 497.
- Fernandes, L.H. & Mainier, F.B. (2014). Os Riscos da Exposição Ocupacional ao Cádmiio. *Sistemas & Gestão*. 9, 2 (jun. 2014), 194–199.
- Ferreira, A.; Micaelo, C. e Vale, C (1997). Levels of metals and PCB congeners in living resources from the Tagus Estuary and adjoining coastal area. In: Actas do 2º simpósio sobre a margem continental Ibérico Atlântica, Cadiz, 349 p.

- Finger, J. e Smith, J. (1987). Molecular association of Cu, Zn, Cd and 210 Po in the digestive gland of the squid *Nototodarus gouldi*. *Marine Biology*, 95: 87-91.
- Franco-Fuentes, E., Moity, N., Ramírez - González, J., Andrade-Vera, S. González-Weller, D., Hardisson, A., Paz, S.; Rubio, C. & Gutiérrez, A. J. (2021). Metal and metalloids concentration in Galapagos fish liver and gonad tissues. *Marine Pollution Bulletin*, 173, 112953. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112953>
- Furnestin, J. (1945). Contribution à l'étude biologique de la sardine atlantique, *Rev. Trav. Off. Pêches Marit*, 13, 1-4.
- Garrido, S., Marçalo, A., Zwolinski, J., & Van Der Lingen, C. D. (2007). Laboratory investigations on the effect of prey size and concentration on the feeding behaviour of *Sardina pilchardus*. *Marine Ecology Progress Series*, 330 (January 2014), 189–199. <https://doi.org/10.3354/meps330189>
- George, R., Nair, M. & Joseph, T. (2010). Trace metal dynamics in fishes from the southwest coast of India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 167:243–255. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-1046-y>
- George, R., Martin, G. D., Nair, S. M. & Kumar, N. C. (2012). Biomonitoring of trace metal pollution using fishes from the Cochin backwaters. *Environmental Forensics*, 13: 272–283. <https://doi.org/10.1080/15275922.2012.702334>
- George, R., Biju, A., Martin, G.D. & Gerson, V.J. (2021). Distribution and concentration of trace metals in pelagic and demersal fish tissues from the coastal waters of Cochin. *Environmental Forensics*, 1–18. <https://doi.org/10.1080/15275922.2021.1907820>
- Gheorghe, S., Stoica, C., Vasile, G. G., Nita-Lazar, M., Stanescu, E., & Lucaciu, I. E. (2017). *Metals Toxic Effects in Aquatic Ecosystems: Modulators of Water Quality*. *Water Quality*. <https://doi.org/10.5772/65744>
- Gilmartin, M., & Revelante, N. (1975). The concentration of Mercury, Copper, Nickel, Silver, Cadmium and Lead in northern *Adriatic anchovy*, *Engraulis encrasicolus* and *Sardina pilchardus*. *Fisheries Bulletin*, 73 (1).
- Goksøy, A.; Beyer, J.; Egaas, E.; Grøsvik, B.; Hylland, K.; Sandvik, M. e Skaare, J. (1996). Biomarker responses in flounder (*Platichthys flesus*) and their use in pollution monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, 33(1-6): 36-45.
- Gonçalves, M. (1990). Métodos instrumentais para análise de soluções, análise quantitativa. Fundação Calouste Gulbenkian, 2ª Ed., Portugal. 789 p.
- Hall, B.D., Bodaly, R.A., Fudge, R.J.P., Rudd, J.W.M. & Rosenberg, D.M. (1997). Food as the dominant pathway of methylmercury uptake by fish. *Water Air Soil Pollution*, 100, 13-24. <https://doi.org/10.1023/A:1018071406537>
- Hayase, D., Horai, S., Isobe, T., William, T., Takahashi, S., Omori, K., & Tanabe, S. (2009). Monitoring of trace elements in coastal waters using sardines as a bioindicator. *Interdisciplinary Studies in Environmental Chemistry-Environmental Research in Asia*, Eds., Y. Obayashi, T. Isobe, A. Subramanian, S. Suzuki and S. Tanabe, 187-175. <https://doi.org/10.1.1.596.2639&rep=rep1&type=pdf>
- Hosseini, M., Nabavi, S. M., & Parsa, Y. (2013). Bioaccumulation of trace mercury in trophic levels of benthic, benthopelagic, pelagic fish species, and sea birds from Arvand River,

Iran. *Biological trace element research*, 156(1-3), 175-180. <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9841-2>

ICES (2017). Manual of the IBTS North Eastern Atlantic Surveys. Series of ICES Survey Protocols SISP 15. 92 pp. <http://doi.org/10.17895/ices.pub.3519>

Ilgar, R. (2016). A Study on Heavy Metal Content of Sardine (*Sardina Pilchardus*) Caught in the Dardanelles. *Journal of Geography and Geology*. 8. 35. <http://dx.doi.org/10.5539/jgg.v8n3p35>

Kareem, O.K., Orisasona, O. & Olanrewaju, A.N. (2016). Determination of heavy metal levels in some frozen fish commonly consumed in Ibadan, southwest Nigeria. *Journal of Environmental Toxicology Research*, 10(1), 82-87. <https://doi.org/10.3923/rjet.2016.82.87>

Karsli, B. (2021). Determination of metal content in anchovy (*Engraulis encrasicolus*) from Turkey, Georgia and Abkhazia coasts of the Black Sea: Evaluation of potential risks associated with human consumption. *Marine Pollution Bulletin*, 165, 112108. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112108>

Keskin, Y., Baskaya, R., Özyaral, O., Yurdun, T., Lüleci, N.E. & Hayran, O. (2007). Cadmium, Lead, Mercury and Copper in Fish from the Sea of Marmara, Turkey. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 78, 258-261. <https://doi.org/10.1007/s00128-007-9123-9>

Khemis, I.B., Aridh, N.B., Hamza N., M'Hetli M. & Sadok S. (2017). Heavy metals and minerals contents in pikeperch (*Sander lucioperca*), carp (*Cyprinus carpio*) and flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) from Sidi Salem Reservoir (Tunisia): Health risk assessment related to fish consumption. *Environmental Science and Pollution Research*, 24:19494–19507. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9586-0>

Kim, J.H., & Kang, J.C. (2015). The lead accumulation and hematological findings in juvenile rockfish *Sebastes schlegelii* exposed to dietary lead (II) concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 115, 33-39. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.02.009>

Kljaković-Gašpić, Z., Ujević, I. & Barić, A. (2002). The Mediterranean blue mussel as an environmental indicator of metal pollution in the coastal area of Eastern Adriatic. *Fresenius Environmental Bulletin*, 11, 620-625.

Kljaković-Gašpić, Z. & Tičina, V. (2021). Mercury and selenium levels in archival samples of wild Atlantic bluefin tuna from the Mediterranean Sea. *Chemosphere*, 284, 131402. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131402>

Kojadinovic, J., Potier, M., Le Corre, M., Cosson, R.P. & Bustamante, P. (2007). Bioaccumulation of trace elements in pelagic fish from the Western Indian Ocean. *Environmental Pollution*, 146, 548–566. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.07.015>

Kramer, K.; Brockmann, U. & Warwick, R. (1994). Tidal estuaries: manual of sampling and analytical procedures, A. Balkema, Holanda, 304p.

La Colla, N.S. (2016). *Bioacumulación de metales en peces marinos y su distribución en la columna de agua, bajos gradientes en el estuario de Bahía Blanca*. Universidad Nacional del Sur, Argentina, Tesis Doctoral, <http://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/2642>

Lafuente, J.G. & Ruizet, J. (2006). The Gulf of Cádiz pelagic ecosystem: a review. *Progress in Oceanography*, 74 (2-3), 228-251. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2007.04.001>

Laporte, J.; Truchot, J.; Ribeyre, F. & Boudou, A. (1997). Combined effects of water pH and salinity on the bioaccumulation of inorganic mercury and methylmercury in the shore crab *Carcinus maenas*. *Marine Pollution Bulletin*, 34(11): 880-893.

- Laso, J., Vázquez-Rowe, I., Margallo, M., M. Crujeiras, R. M., Irabien, A. & Aldaco, R. (2018) Life Cycle Assessment of European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) landed by purse seine vessels in northern Spain, 23: 1107. <https://doi.org/10.1007/s11367-017-1318-7>
- LeCren, ED (1951). The length-weight relationship and seasonal cycle on the weight and condition of perch gonads (*Perca fluviatilis*). *The Journal of Animal Ecology*, 201-219.
- Lima, E. M. M., Sousa, K. N. S., Santos, P. R. B., Ferreira, L. A. R., Rodrigues, A. F., & dos Santos Pantoja, A. (2017). Relação peso-comprimento e fator de condição da pescada branca (*Plagioscion squamosissimus*, Heckel 1840) comercializada no município de Santarém, Pará, Brasil. *Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)*, 7(2), 44-48.
- Liu, J., Goyer, R. A., & Waalkes, M. P. (2008). Toxic Effects of Metals. Em C. a. Doull's, Toxicology: The Basic Science of Poisons (pp. 932-971). New-York, EUA: McGraw-Hill Companies.
- Liu L., Hu L.L., Tang J.J., Li Y.F., Zhang Q. & Chen X. (2012). Food safety assessment of planting patterns of four vegetable-type crops grown in soil contaminated by electronic waste activities. *Journal of Environmental Management*;93(1):22–30. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.08.021>.
- Lleonart, Jordi & Maynou, Francesc. (2003). Fish stock assessments in the Mediterranean: State of the art. *Scientia Marina*. 67. [10.3989/scimar.2003.67s137](https://doi.org/10.3989/scimar.2003.67s137). <https://doi.org/10.3989/scimar.2003.67s137>
- Lozano-Bilbao E., Alcázar-Treviño J. & Fernández J.J. (2018). Determination of $\delta^{15}\text{N}$ in *Anemonia sulcata* as a pollution bioindicator. *Ecological Indicators*, 90, 179-183. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.03.017>
- Lozano-Bilbao E., Díaz Y., Lozano G., Jurado-Ruzafa A., Hardisson A., Rubio C., Jiménez S., González-Weller D. & Gutiérrez Á.J. (2019). Metal Content in Small Pelagic Fish in the NorthWest Africa. *Thalass: An International Journal Marine Sciences*, 35, 643-653. <https://doi.org/10.1007/s41208-019-00141-7>
- Lozano-Bilbao, E., Lozano, G., Jiménez, S., Jurado-Ruzafa, A., Hardisson, A., Rubio, C., Weller, D. G., Paz, S., & Gutiérrez, Á. J. (2021). Influence of Biometric and Seasonal Parameters on the Metal Content of *Scomber colias* in Northwestern African Waters. *Biological trace element research*, 199(10), 3886–3897. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02493-1>
- Lozano-Bilbao, E., Raimundo, J., Jurado-Ruzafa, A., Lozano, G., Jiménez, S., Hardisson, A., Rubio, C., Weller, D.G., Paz, S. & Gutierrez, A. (2021). Comparing the content of elements in small species of pelagic fish from different fisheries in the Central-Eastern Atlantic Ocean. Risk assessment. *Thalassa: An International Journal of Marine Sciences*, 37, 861-869. <https://doi.org/10.1007/s41208-021-00340-1>
- Mahaffey, K. (1978). Environmental exposure to lead. In: Nriagu, J. The Biogeochemistry of lead in the environment. Part B. North-Holland Biomedical Press, Canadá, 1-36 pp.
- Maia, C.M.S. (2016). *O consumo de peixe durante a gravidez* Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
- Makedonski, L., Peycheva, K. & Stancheva, M. (2017). Determination of heavy metals in selected species of black sea fish. *Food Control*, volume 72, Part B, 313-318. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.08.024>

- Maldonado, A. C. D., & Wendling, B. (2009). Manejo de ecossistemas aquáticos contaminados por metais pesados. *Agropecuária Técnica*, 30(1), 33–36. <https://doi.org/10.25066/agrotec.v30i1.3237>
- Marques, H. S. A. (2015). *Composição nutricional e risco toxicológico do pescado consumido em Portugal*, Bachelor's thesis.
- Marques, M. I. S. (2018). *Os Macro e Micronutrientes do Pescado: Recomendações, Consumo e Benefícios Aliados à Dieta Mediterrânica* (Doctoral dissertation, Instituto Politecnico de Viseu (Portugal)).
- Martins, M. M., Skagen, D., Marques, V., Zwolinski, J., & Silva, A. (2013). Changes in the abundance and spatial distribution of the Atlantic chub mackerel (*Scomber colias*) in the pelagic ecosystem and fisheries off Portugal. *Scientia Marina*, 77(4), 551–563. <https://doi.org/10.3989/scimar.03861.07B>
- Martins, R., & Carneiro, M. (2015) Handbook of bony fish identification. *European Journal of Taxonomy*, 73, 1-73.
- Maulvault, AL, Machado, R., Afonso, C., Lourenço, HM, Nunes, ML, Coelho, I., ... & Marques, A. (2011). Bioaccessibility of Hg, Cd and As in cooked black swordfish and edible crab. *Food and Chemical Toxicology*, 49(11), 2808-2815.
- Mehouel, F., Bouayad, L., Hammoudi, A. H., Ayadi, O. & Regad, F. (2019). Evaluation of the heavy metals (mercury, lead, and cadmium) contamination of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) fished in three Algerian coasts. *Veterinary world*, 12(1), 7-11. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.7-11>
- Meng, C., Wang, K. & Xu, G. (2022). Metals in ten commercial demersal fish from the East China Sea: Contribution to Aquatic Product Nutrition and Toxic Risk Assessment. *Biological trace element research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-03087-1>
- Moiseenko, T.I. & Gashkina, N.A. (2020). Distribution and bioaccumulation of heavy metals (Hg, Cd and Pb) in fish: influence of the aquatic environment and climate. *Environmental Research Letters*, 15(115013). <https://doi.org/10.1088/1748-9326/abbf7c>
- Moreira, F. R., & Moreira, J. C. (2004). Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. *Rev Panam Salud Publica*.
- Muniz, D; Oliveira-Filho, E. (2006). Metais pesados provenientes de rejeitos de mineração e seus efeitos sobre a saúde e o meio ambiente. *Universitas: Ciências da Saúde*, v. 4, n. 1 / 2, p. 83-100,. <https://doi.org/10.5102/UCS.V4I1.24>
- Naima K. Z. & Nour El Islam B. (2019). Study of toxic contaminants cadmium and lead in sardines (*Sardina pilchardus*) in the Bay of Algiers (Algeria), *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 28(6), 667-676. <https://doi.org/10.1080/10498850.2019.1628150>
- Nair, M., Jayalakshmy, K. V., Balachandran, K. K. & Joseph, T. (2006). Bioaccumulation of toxic metals by fish in a semi-enclosed tropical ecosystem. *Environmental Forensics*, 7:197–206. <https://doi.org/10.1080/15275920600840438>
- Nędzarek A., Rybczyk A., Bonisławska M., Tański A. & Tórz A. (2021). Bioaccumulation of metals in tissues of *Rutilus rutilus* and *Perca fluviatilis* from lakes with poor ecological status – risk assessment for human health, *The European Zoological Journal*, 88:1, 1084-1095, <https://doi.org/10.1080/24750263.2021.1988160>

- Neves, D. (2012) Estudo da bioacessibilidade do Mercúrio e Metilmercúrio presente em produtos da pesca usando um modelo de digestão in vitro, mestrado em Aquacultura e Piscas (via Pesca) Especialização em Pesca, Universidade do Algarve Faculdade de Ciências e Tecnologia, p 1.
- Niencheski, L.; Windom, H. e Smith, R. (1994). Distribution of Particulate trace metal in Patos Lagoon Estuary (Brazil). *Marine Pollution Bulletin*, 28(4): 96-102.
- Nriagu, J. (1978). The global copper cycle. In: Nriagu, J. Copper in the environment. Part 1. John Wiley & Sons, Canadá, 1-18 pp.
- Nunes, C., Silva, A., Soares, E., & Gaias, K. (2011). Use of hepatic and somatic indices and histological information to characterize the reproductive dynamics of the Atlantic sardine *Sardina pilchardus* from the Portuguese coast. *Marine and Coastal Fisheries*, 3(1), 127-144.
- Olayinka-Olagunju, J. O., Dosumu, A. A. & Olatunji-Ojo, A. M. (2021). Bioaccumulation of Heavy Metals in Pelagic and Benthic Fishes of Ogbese River, Ondo State, South-Western Nigeria. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(2). <https://doi.org/10.1007/s11270-021-04987-7>
- Oliveira, R.; Malm, O. e Guimarães, J. (2001). Distribution of methylmercury and inorganic mercury in neonate hamsters dosed with methylmercury during fetal life. *Environmental Research Section A*, 86: 73-76.
- Opeoluwa, O.F. (2020): Extension of biplot methodology to multivariate regression analysis, *Journal of Applied Statistics*, 1-17. <https://doi.org/10.1080/02664763.2020.1779192>
- Paiva, E., Alves, J., Milani, R., Boer, B., Quintaes, K. & Morgano, M. (2016). Sushi commercialized in Brazil: Organic Hg levels and exposure intake evaluation. *Food Control*. 69. <https://doi.org/115-123>. 10.1016/j.foodcont.2016.04.029.
- Peden, J.; Crothers, J.; Waterfall, C. e Beasley, J. (1973). Heavy metals in somerset organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 4(1): 7-9.
- Penicaud, V., Lacoue-Labarthe, T. & Bustamante, P. (2017). Metal bioaccumulation and detoxification processes in cephalopods: a review. *Environmental Research*, 155, 123-133
- Perrota RG, N Carvalho & E Isidro. 2005. Comparative study on growth of chub mackerel (*Scomber japonicus* Houttuyn, 1782) from three different regions: NW Mediterranean, NE and SW Atlantic. *Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero* 17: 67-79.
- Phillips, G.R., Lenhart, T.E. & Gregory, R.W. (1980). Relationship between trophic position and mercury accumulation among fish from the Tongue River Reservoir, Montana. *Environmental Research*, 22(1), 73-80. [https://doi.org/10.1016/0013-9351\(80\)90120-6](https://doi.org/10.1016/0013-9351(80)90120-6)
- Phillips, D. e Segar, D. (1986). Use of bio-indicators in monitoring conservative contaminants: programme design imperatives. *Marine Pollution Bulletin*. 17(1):10-17
- Ploetz, D.M., Fitts, B.E. & Rice, T.M. (2007) Differential Accumulation of Heavy Metals in Muscle and Liver of a Marine Fish, (King Mackerel, *Scomberomorus cavalla* Cuvier) from the Northern Gulf of Mexico, USA. *Bulletin Environmental Contamination Toxicology* 78, 134–137. <https://doi.org/10.1007/s00128-007-9028-7>
- Prosi, F. (1979). Heavy metals in Aquatic Organisms. In: Ed. U. Förstner and G.T.W. Wittman, *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. Springer-Verlag, Berlin, 271-323 pp.
- Rai, PK, Lee, SS, Zhang, M., Tsang, YF, & Kim, K.-H. (2019). Heavy metals in food crops: health risks, fate, mechanisms and management. *Environment International*, 125, 365-385. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.067>

- Raimundo, J., Vale, C., Canário, J., Branco, V. & Moura, I. (2010). Relationships between mercury, methyl mercury and selenium in tissues of *Octopus vulgaris* from the Portuguese coast. *Environmental Pollution*, 158(6), 2094-2100. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.03.005>
- Raimundo, J., Pereira, P., Vale, C., Canário, J. & Gaspar, M. (2014). Relations between total mercury, methylmercury and selenium in five tissues of *Sepia officinalis* captured in the south Portuguese coast. *Chemosphere*, 108, 190-196. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.037>
- Rainbow, P. e Phillips, D. (1993). Cosmopolitan biomonitors of trace metals. *Marine pollution Bulletin*, 26(11):593-601.
- Rajkowska M. & Protasowicki M. (2013). Distribution of metals (Fe, Mn, Zn, Cu) in fish tissues in two lakes of different trophy in Northwestern Poland. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185: 3493–3502. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2805-8>
- Ramalho, R. (2019). Controlo Oficial de Contaminantes no Pescado. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, p 8.
- Rebordo, F., Simões, M., Jorge, C., Mancuso, J. M., Martinez, J., Guerra, M., Ramalho, J.C., Pessoa, M.F. & Lidon, F. (2019). Metal content in edible crops and agricultural soils due to the intensive use of fertilizers and pesticides in Terras da Costa de Caparica (Portugal). *Environmental Science Pollution Research* 26, 2512–2522. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3625-3>
- Regulamento (CE) N.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de Dezembro de 2006, que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios
- Rejomon, G., Nair, M. & Joseph, T. (2010). Trace metal dynamics in fish from the southwest coast of India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 167(1), 243-255. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-1046-y>
- Renieri, E.A., Alegakis, A.K., Kiriakakis, M., Vinceti, M., Ozcagli, E., Wilks, M.F. & Tsatsakis, A.M. (2014). Biomonitoring of Cd, Pb and Hg in fish from the Mediterranean region and risk estimates in fish consumption. *Toxics*, 2(3), 417-442. <https://doi.org/10.3390/toxics2030417>
- Renieri, E. A., Safenkova, I. V., Alegakis, A. K., Slutskaya, E. S., Kokaraki, V., Kentouri, M., Dzantiev, B. B. & Tsatsakis, A. M. (2019). Cadmium, lead and mercury in muscle tissue of gilthead seabream and seabass: Risk evaluation for consumers. *Food and Chemical Toxicology*, volume 124, 439- 449. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.12.020>
- Renzi, M., Cau, A., Bianchi, N. & Focardi, S.E. (2014). Levels of mercury and polychlorobiphenyls in bluefin tuna from the western Mediterranean Sea: a food safety issue? *Journal Environmental Protection*, 5(2), 106 -113. <https://doi.org/10.4236/jep.2014.52014>
- Ribeiro.A.P.O.N, (2012). *Avaliação de pescado congelado no posto de inspecção fronteira do porto de leixões* Tese de mestrado em Inovação Alimentar, Universidade Católica Portuguesa, Porto
- Richter, H. C., Luckstadt, C., Focker, U.& Becker, K. (2000). An improved procedure to assess fish condition on the basis of length-weight relationships. *Archive of Fishery and Marine Research*, v. 48, n. 3, p.255-264
- Robards, K. & Worsfold, P. (1991). Cadmium: Toxicology and Analysis. *Analyst*, 116: 549- 568.

- Rocha, A. (2009). *Espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo-ICP-MS: implementação e validação de um método para determinação de metais em águas para consumo humano*, pp 12-43, Dissertação de mestrado, Universidade da Beira Interior, Covilhã. <http://hdl.handle.net/10400.6/3913>
- Rocha, A. (2009). “Cádmio, Chumbo, Mercúrio – A problemática destes metais pesados na Saúde Pública?” *Cadmium, Lead, Mercury – The issue of these metals in Public Health?*, Monografia, Faculdade de ciências da nutrição e alimentação, Universidade do Porto, Porto
- Rocha, R., Pezzini, M., Poeta, J., 2017. “The Lead Contamination Sources and its Toxic Effects on Occupational Health”. *Ciência em Movimento – Biociências e Saúde*, 19, 25-27.
- Rodríguez Iturbe, I. (2020). *Efecto del nivel de harina de pescado en piensos de *Seriola dumerili* en la concentración de metales pesados en el músculo*. Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/162916>
- Sánchez-Garrido, J.C., Werner, F.E., Fiechter, J., Rose, K.A., Curchitser, E.N., Ramos, A. ... & Santana, A.R. (2019). Decadal-scale variability of sardines and anchovies simulated with an end-to-end coupled model of the Canary Current ecosystem. *Progress in Oceanography*, 171, 212-230.
- Santos LFP, Trigueiro INS, Lemos VA, et al. 2013. Assessment of cadmium and lead in commercially important seafood from São Francisco do Conde, Bahia, Brazil. *Food Control* 33:193–9
- Scerbo, R. e Barghigiani, C. (1998). Organic mercury determination in fish samples using an automatic Mercury Analyser. *Environmental Technology*, 19: 339-342.
- Serafim A., Company R., Lopes B., Silva N., Castela E., Bebianno M.J. & Castela, G. (2012). Profile analysis of mothers susceptible to contaminant exposure in the Algarve region: Application of the HJ-BIPLLOT method. *Biometrical Letters*. 49(1): 57-66
- Shabani, S., Ezzatpanah, H., Boojar, M. M. A., Ardebili, M. S. & Givianrad, M. H. (2015). Total mercury and arsenic concentrations in edible and non-edible tissues of Iranian tuna fish. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 7(4), 509–515. <https://doi.org/10.3920/QAS2013.0267>
- Sharma, B., Singh, S. & Siddiqi, J, N. (2014). "Biomedical Implications of Heavy Metal-Induced Imbalances in Redox Systems", *BioMed Research International*, vol. 2014, 26 p <https://doi.org/10.1155/2014/640754>
- Silva, L. M. R. D. (2012). *Ecologia do recrutamento de pequenos pelágicos: capacidades natatórias e condição nutricional de larvas de sardinha (*Sardina pilchardus*, Walbaum 1792)*.
- Silva, A. V. A. D. (2011). *Crescimento diário de juvenis de sardinha, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792): relação com actividade reprodutiva e condições ambientais* (Doctoral dissertation).
- Soares, Karoline & Gonçalves, Alex Augusto. (2012). Quality and safety of fish. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. 71. 1-10
- Sobhanardakani S, Tayebi L, Farmany A, Charaghi M. (2011). Analysis of trace elements (Cu, Cd, and Zn) in the muscle, gill, and liver tissues of some fish species using anodic stripping voltammetry. *Environmental Monitoring and Assessment* 184 (11):6607–6611. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2445-4>

- Sofoulaki, K., Kalantzi, I., Zeri, C., Machias, A., Pergantis, S.A. & Tsapakis, M. (2022). Sardines and anchovies as bioindicators of metallic content in Greek coastal waters. *Mediterranean Marine Science*, 23(3), 546-560. <https://doi.org/10.12681/mms.29426>
- Souad A., Laurence P., Rachid A. & Zouhir R. (2022). Concentrations of lead, cadmium and mercury in sardines, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) from the Algerian coast and health risks for consumers. *Journal of Food Composition and Analysis*, Volume 109 (104490), <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104490>
- Storelli, M.M., Giacominielli S. R. & Marcotrigiano G. O. (1998). Total mercury in muscles of benotic and pelagic fish from the Southern Adriatic Sea (Italy). *Food Additives & Contaminants*, 15:8, 876-883. <https://doi.org/10.1080/02652039809374724>
- Storelli, M. M. & Marcotrigiano, G. O. (2001). Heavy metal monitoring in fish, bivalve molluscs, water, and sediments from Varano Lagoon, Italy. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 66(3), 365-370. <https://doi.org/10.1007/s00128-001-0014-1>
- Storelli, M.M. & Giacominielli-Stuffler, R., Storelli, A., D'Addabbo, R., Palermo, C. & Marcotrigiano, G.O. (2003). Survey of total mercury and methylmercury levels in edible fish from the Adriatic Sea. *Food Additives & Contaminants*, 20, 1114–1119. <https://doi.org/10.1080/02652030310001622773>
- Storelli, M.M. & Marcotrigiano, G.O. (2004). Content of mercury and cadmium in fish (*Thunnus alalunga*) and cephalopods (*Eledone moschata*) from the south-eastern Mediterranean Sea. *Food Additives & Contaminants*, 21, 1051-1056. <https://doi.org/10.1080/02652030400023127>
- Storelli, M., Storelli, A., Giacominielli-Stuffler, R. & Marcotrigiano, G. (2005). Mercury speciation in the muscle of two commercially important fish, hake (*Merluccius merluccius*) and striped mullet (*Mullus barbatus*) from the Mediterranean Sea: estimated weekly intake. *Food Chemistry*, 89, 295-300. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.036>
- Storelli, M.M., Marcotrigiano, G.O. (2010). Fish for human consumption: risk of contamination by mercury. *Food Additives & Contaminants*, 17(12), 1007-1011. <https://doi.org/10.1080/02652030050207792>
- Souza, A. K. R., & Morassuti, C. Y. (2018). Poluição do ambiente por metais pesados e utilização de vegetais como bioindicadores. *Acta Biomedica Brasiliensia*, 9(3), 95-106. <https://doi.org/10.18571/acbm.189>
- Veiga, A., Lopes, A., Carrilho, E., Dias, M. B., Seabra, M. J., Borges, M., Ferreira, S. (2012). Perfil de Risco dos Principais Alimentos Consumidos em Portugal. Lisboa: Autoridade de Segurança Alimentar e Económica - ASAE.
- Tahity, T., Islam, M.R.U., Bhuiyan, N.Z., Choudhury, T.R., Yu, J., Noman, M.A., Hosen, M.M., Quraishi, S.B., Paray, B.A. Arai, T. & Hossain, M.B. (2022). Heavy Metals Accumulation in Tissues of Wild and Farmed Barramundi from the Northern Bay of Bengal Coast, and Its Estimated Human Health Risks. *Toxics*, 10(8), 410. <https://doi.org/10.3390/toxics10080410>
- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. *Experientia supplementum*, 101, 133–164. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6
- viTrevizani, T.; (2014). Bioacumulação de metais pesados e avaliação da bio magnificação na biota da baía do Almirantado, ilha rei George, Antártica. Dissertação em Oceanografia química, Instituto Oceanográfico da universidade de São Paulo

Türkmen, A., Tepe, Y. & Türkmen, M. (2008). Metal Levels in Tissues of the European Anchovy, *Engraulis encrasicolus* L., 1758, and *Picarel, Spicara smaris* L., 1758, from Black, Marmara and Aegean Seas. *Environmental Contamination and Toxicology Bulletin*, 80(6), 521-525. <https://doi.org/10.1007/s00128-008-9429-2>

Türkmen, M., Türkmen, A., Tepe, Y. & Töre, Y. & Ateş, A. (2009). Determination of metals in fish species from Aegean and Mediterranean Seas. *Food Chemistry*, 113(1). 233-237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.071>

Uriarte, A., Prouzet P. & Villamor, B (1996). Bay of Biscay and Ibero Atlantic anchovy populations and their fisheries *Scientia Marina*, 60, pp. 237-255

Vasconcelos, J., M.A. Dias & G. Faria 2011. Age and growth of the Atlantic chub mackerel *Scomber colias* Gmelin, 1789 off Madeira Island. Arquipelago. *Life and Marine Sciences* 28:57-70.

Velasco, E., M.; Arbol, J. D.; Baro, J.; Sobrino, I. (2011). Age and growth of the Spanish chub mackerel *Scomber colias* off southern Spain: a comparison between samples from the NE Atlantic and the SW Mediterranean. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* Vol. 46, N°1: 27-34, abril 2011.

Vasconcelos, J., M. Afonso-Dias & G. Faria 2012. Atlantic chub mackerel (*Scomber colias*) spawning season, size and age at first maturity in Madeira waters. Arquipelago. *Life and Marine Sciences* 29: 43-51

Vetsis E., Kalantzi I., Pergantis S.A., Kokokiris L., Karakassis I. (2021). Metals in tissues of marine fish from the Thermaikos Gulf, Eastern Mediterranean Sea: Detection of changes with trophic level. *Mar Pollution Bulletin*, 173(A). <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113024>

Vicente-Villardón JL (2022). MULTBILOT: A package for multivariate analysis using biplots. Departamento de Estadística. Universidad de Salamanca. <http://biplot.usal.es/multbiplot>

Vieira, C., Morais, S., Ramos, S., Delerue-Matos, C., & Oliveira, M. B. P. P. (2011). Mercury, cadmium, lead and arsenic levels in three pelagic fish species from the Atlantic Ocean: Intra- and inter-specific variability and human health risks for consumption. *Food and Chemical Toxicology*, 49(4), 923-932. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.12.016>

Villarreal-Treviño, C.; Obregón-Morales, M.; Lozano-Morales, J. e Villegas-Navarro, A. (1986). Bioaccumulation of lead, copper, iron and zinc by fish in a transect of the Santa Catarina River in Cadereyta Jiménez, Nuevo León, México. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*, 37: 395-401.

Wang, W. e Ke, C. (2002). Dominance of dietary intake of cadmium and zinc by two marine predatory gastropods. *Aquatic Toxicology*, 56: 153-165.

Wang, T.; Wang, H. S.; Sun, G. W.; Huang, D. & Shen, J. H. (2012). Length–weight and length–length relationships for some Yangtze River fishes in Tian-e-zhou Oxbow, China. *Journal of Applied Ichthyology*, v. 28, p. 660-662

Wang, Y., Wei, Y., Guo, P., Pan, J., Wu, Q., and Liu, N. (2016). Distribution Variation of Heavy Metals in Maricultural Sediments and Their Enrichment, Ecological Risk and Possible Source—A Case Study From Zhelin Bay in Southern China. *Marine. Pollution. Bulletin*. 113 (1-2), 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.09.028>

Weber P., Behr E.R., Knorr, C.D.L., Vendruscolo, D.S., Flores, E.M., Dressler, V.L. & Baldisserotto, B. (2013). Metals in the water, sediment, and tissues of two fish species from

different trophic levels in a subtropical Brazilian river. *Microchemical Journal*, 106:61-66. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.05.004>

Wei, Y., Wei, H., Zhang, J., Zhang, D., Tu, T. & Luo, L. (2014). Metal concentrations in various fish organs of different fish species from Poyang Lake, China. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 104, 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.03.001>

WHO, 2010. “Exposure to Lead: A Major Public Concern”. Geneva, World Health Organization, Preventing Disease Through Healthy Environments, 1-3.

World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations and the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Meeting (80th: 2015, Rome, Italy) . (2016). Assessment of Certain Food Additives and Contaminants: Eightieth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204410>

WHO, 2016. Joint fao/who expert committee on food additives. Summary report of the eighty-third meeting of JECFA. JECFA/83/SC.

World Health Organization. (2017). World health statistics 2017: health monitoring for the SDGs, sustainable development goals. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255336>

Wong, C. K., Wong, P. P. K. & Chu, L. M. (2001). Heavy metal concentrations in marine fishes collected from fish culture sites in Hong Kong. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40(1), 60-69. <https://doi.org/10.1007/s002440010148>

Wuana, R. & Okieimen, F. (2011). Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. ISRN Ecology. 2011. <https://doi.org/10.5402/2011/402647>.

Zahra, K., Reza, K., Amin, M., Maryam, E., Majid, A. & Aida, K. (2012). Determination of Cd, Pb, Hg, Cu, Fe, Mn, Al, As, Ni and Zn in important commercial fish species in the northern Persian Gulf. *Journal of Cell and Animal Biology*, 6(1), 1-9. <https://doi.org/10.5897/JCAB11.078>

Zar, J. (1996). Biostatistical Analysis. Prentice-Hall Inc. Inglaterra, 662p.

Zardoya, R.; Castilho, R.; Grande, C.; Favre-Krey, L.; Caetano, S.; Marcato, S.; Krey, G.; Patarnellos, T. (2004). Differential population structuring of two closely related fish species, the mackerel (*Scomber scombrus*) and the chub mackerel (*Scomber japonicus*), in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology* (2004) 13, 1785–1798.

Zhang, H. & Reynolds, M. (2019). Cadmium exposure in living organisms: A short review. *Science of The Total Environment*, 678, 761-767. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.395>

Zwolinski, J., Morais, A., Marques, V., Stratoudakis, Y., & Fernandes, P. G. (2007). Diel variation in the vertical distribution and schooling behaviour of sardine (*Sardina pilchardus*) off Portugal. *ICES Journal of Marine Science*, 64(5), 963–972. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsm075>

{HYPERLINK “<https://acope.pt/noticias/1115-portugal-e-o-pais-da-uniao-europeia-com-maior-consumo-de-peixe.html>”}

{HYPERLINK “<https://adriaticcnature.com/archives/326>”}











{HYPERLINK “<https://www.cienciaviva.pt/peixes>”}

{HYPERLINK“[https://www.fishbase.de/photos/PicturesSummary.php?StartRow=0&ID=54736
&what=species&TotRec=3](https://www.fishbase.de/photos/PicturesSummary.php?StartRow=0&ID=54736&what=species&TotRec=3)”}

Anexos









Anexo I

Tabela Escala de classificação macroscópica do estado de maturação sexual das fêmeas

ESTADO		ASPECTO MACROSCÓPICO DAS GÔNADAS		
1	<i>Virgem ou em repouso</i>	Ovários de pequenas dimensões, translúcidos com um sistema de vasos sanguíneos delicado mas bem definido; restrito à parte posterior da cavidade corporal.		
2	<i>Em desenvolvimento</i>	O ovário torna-se granular e opaco. Através da membrana ovárica é possível observar vários grânulos opacos pequenos correspondendo a oócitos que iniciaram o seu desenvolvimento.		
3	<i>Pré-desova ou Pós-desova /recuperação</i>	Oócitos claramente opacos, visíveis através da membrana ovárica e distribuídos regularmente em bandas paralelas, dando ao ovário a aparência granular.		
4	<i>Desova</i>	Ovários grandes e completamente cheios; bandas oblíquas cheias de oócitos firmemente acondicionados; a presença de oócitos translúcidos dá à gônada um aspecto particularmente gelatinoso.		
5	<i>Pós-desova</i>	Ovários vazios e muito flácidos com muitos vasos sanguíneos rebentados que dão ao ovário uma coloração avermelhada; presença de nódulos esbranquiçados (correspondendo a oócitos residuais em fase de reabsorção).		



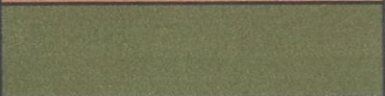
Anexo II

Tabela Escala de classificação macroscópica do estado de maturação sexual dos machos

ESTADO		ASPECTO MACROSCÓPICO DAS GÓNADAS		
1	Virgem ou em repouso	Testículos com a forma de duas lamelas com o bordo inferior cortante com dimensões variáveis nos adultos e muito pequenos nos indivíduos virgens. Nestes, os testículos têm cor homogênea cinzenta clara, por vezes ligeiramente rosada, enquanto que nos primeiros a cor é semelhante mas não homogênea. Testículos quase transparentes, permitindo observação fácil da vascularização interna da gónada. Têm grande consistência e por compressão não se obtém produtos susceptíveis de observação microscópica.		
2	Em desenvolvimento	Macroscopicamente os testículos mantêm uma consistência firme. A coloração é homogênea, branco-marfim, por vezes acinzentado. Superficialmente não se observam vasos sanguíneos ou quaisquer outras estruturas. Por compressão liberta-se um líquido branco e espesso.		
3	Pré-desova ou Pós-desova /recuperação	Testículos túrgidos. As dimensões nesta fase são máximas. Coloração superficial heterogênea com numerosas figuras estreladas correspondentes a ramificações terminais de vascularização interna da gónada ou coloração semelhante à do estado 5 com tons de vermelho sanguíneo. Em toda a superfície do testículo observa-se um mosaico irregular em virtude dos canais seminíferos se encontrarem cheios de aglomerados de espermatozoides.		
4	Desova	Testículos intumescidos muito vascularizados, com superfície lisa e brilhante, não se observando as figuras estreladas do estado anterior. A superfície observa-se a presença de mosaicos correspondentes aos canais seminíferos. Coloração branca marmórea, semelhante à dos estados II e III. Consistência flácida que, por compressão, permite a formação de depressões à superfície. Nesta fase, quando o peixe é comprimido na região abdominal, derrama-se esperma pelo orifício urogenital.	Foto n/ disponível	Foto n/ disponível
5	Pós-desova	Testículos flácidos, ligeiramente enrugados e muito finos, permitindo por transparência a observação da vascularização interna. Após a expulsão total do esperma a coloração varia de branco róseo a cinzento róseo. A compressão dá origem à libertação dum líquido que inclui restos celulares e espermatozoides em pequeno número.		

Anexo III

Tabela Escalas de classificação macroscópica do estado dos estômagos (cor e enchimento)

Escala de cor		Escala de enchimento
1		1 – Vazio
2		2 – Meio cheio
3		3 – Cheio
		4 – A rebentar

Anexo IV

Tabela Escala de classificação macroscópica do estado de gordura visceral

Estado		Aspecto
I	<i>Magro</i>	Sem gordura sobre o tubo digestivo.
II	<i>Pouco gordo</i>	Visível um fino cordão de gordura ao longo dos intestinos.
III	<i>Gordo</i>	O cordão de gordura é mais largo podendo envolver completamente o tubo digestivo.
IV	<i>Muito Gordo</i>	Todo o tubo digestivo, bem como toda a cavidade abdominal estão envoltos em gordura.