

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA BIOLÓGICA

A CAMADA DE GORDURA DAS TONINHAS, *PONTOPIRIA BLAINVILLEI*
(MAMMALIA, CETACEA) NO LITORAL SUL DO RS: VARIAÇÃO NA
ESPESSURA E NA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM RESPOSTA A
FATORES AMBIENTAIS E FISIOLÓGICOS

DENISE MIRIAN DE ARAUJO

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do
grau de Mestre

Orientadora: Dra. Mônica M. C. Muelbert

RIO GRANDE

Setembro, 2005

*“Nunca estamos apartados do que é natureza.
Somos um só ser com o ritmo de sua inteligência viva.
Nosso corpo é morada essencial da água; feito da
carne da terra; aceso de amor no fogo do espírito e
passagem de sonho e leveza do ar.”*
(Bené Fonteles)

Aos meus pais, Azeli
e Leopoldo, por todo o
amor e apoio recebidos

Agradecimentos

À orientadora, Profa. Mônica Muelbert, pelas sugestões e críticas na elaboração deste estudo.

Aos estagiários do Laboratório de Mamíferos Marinhos e Tartarugas Marinhas da FURG e do Laboratório de Mamíferos Marinhos do Museu Oceanográfico do Rio Grande (Neko, Paula, “Jusp”, Pedro, Mateus e Munir), à Lília e demais colaboradores e funcionários do Museu que participaram da coleta e organização das amostras utilizadas neste estudo.

Aos membros da banca examinadora, Jorge Pablo Castello, Eliana Furlong e Mirtha Lewis, pela leitura crítica e pelas correções sugeridas.

Ao Eduardo Secchi pela idealização/coordenação do Projeto Toninhas e por todo o apoio e incentivo indispensáveis.

Ao pessoal do GEMARS, pela parceria no Projeto Toninhas, e ao Glauco Caon, pela ajuda bibliográfica e disposição em atender minhas dúvidas.

Ao Prof. Tabajara pela atenção e pelas dicas estatísticas.

Ao Prof. Walter Ruiz por todo o apoio logístico do Laboratório de Química Instrumental (Depto. Química). E à Profa. Márcia Padilha, pela paciência, pela ajuda grandiosa na elaboração da técnica de extração e análise dos graxos e principalmente, pelo seu otimismo e confiança depositados neste estudo, OBRIGADA!

À Profa. Eliana Furlong (Laboratório de Análise de Alimentos do Depto. Química) pela disponibilização do cromatógrafo e pela assistência.

À Aleta Hohn pelos ensinamentos e pela colaboração na determinação das idades das toninhas.

À colega Silvina Botta pela amizade e companheirismo e pela colaboração na análise de dados de idade e maturidade. Aos colegas Michel Gianeti e Fernanda Colabuono pela “acolhida” no lar do A. B. C. Aos demais colegas da Pós-Graduação e amigos do curso de Oceanologia, obrigada pelos bons momentos compartilhados. Aos amigos rio-grandinos pela convivência agradável e pela hospitalidade. Embora sem nomeá-los aqui, pois são muitos, vocês sabem da importância que tiveram na realização deste trabalho e na minha vida.

Às companheiras de casa Aina, Fernanda Brant e Mércia por dividir momentos alegres ou difíceis durante esta trajetória.

Amigos, de perto e de longe, todos vocês foram muito importantes para que eu não desistisse de concluir este trabalho.

A todos que, de alguma forma, ajudaram na realização deste estudo, mas que não foram nomeados aqui, sintam-se contemplados e recebam minha gratidão.

Aos meus pais, Azeli e Leopoldo, por possibilitarem que eu estudasse em Rio Grande e por todo o apoio, respeito, compreensão e amor incondicionais. Agradeço também ao meu “Paitrocínio”, e à minha mãe, em especial, por ter despertado em mim o amor pela natureza desde os primeiros passos.

E a eles, mamíferos marinhos, obrigada por existirem e por fascinarem-me.

Este estudo contou com o financiamento do Fundo Nacional do Meio Ambiente, Fundação Yaqu Pacha, CAPES e CNPq.

Sumário

Dedicatória	III
Agradecimentos	IV
Sumário	VI
Lista de Tabelas	
Capítulo I	IX
Capítulo II	X
Lista de Figuras	
Capítulo I	XI
Capítulo II	XIII
RESUMO	01
ABSTRACT	04
INTRODUÇÃO GERAL	06
Referências Bibliográficas	11
CAPÍTULO I: A espessura da camada de gordura pode servir como um indicador da condição corporal em <i>P. blainvillei</i> ?	17
Resumo	18
Abstract	19
1. Introdução	20
2. Material e Métodos	24
2.1. Coleta dos dados	24
2.2. Análise da condição corporal	27
3. Resultados	29

4. Discussão	43
5. Conclusões	48
6. Referências Bibliográficas	50
CAPÍTULO II: Composição e estratificação de ácidos graxos da camada de gordura da toninha	54
Resumo	55
Abstract	57
1. Introdução	59
2. Material e Métodos	63
2.1. Obtenção das amostras	63
2.2. Obtenção e identificação de ácidos graxos	65
2.3. Determinação de idade	69
2.4. Tratamento estatístico	70
3. Resultados	72
3.1. Composição e estratificação de ácidos graxos	73
3.2. Variação da composição e estratificação de ácidos graxos de acordo com a idade	76
3.3. Variação da composição e estratificação de ácidos graxos de acordo com o sexo	84
3.4. Variação da composição e estratificação de ácidos graxos de acordo com o sexo e a idade	88
3.4.1. Fêmeas juvenis x machos juvenis	91
3.4.2. Fêmeas adultas x machos adultos	93
4. Discussão	95

4.1. Composição e estratificação de ácidos graxos	95
4.2. Variação da composição e estratificação de ácidos graxos de acordo com a idade	102
4.3. Variação da composição e estratificação de ácidos graxos de acordo com o sexo	105
4.4. Variação da composição e estratificação de ácidos graxos de acordo com o sexo e a idade	107
5. Conclusões	110
6. Considerações Finais	112
7. Referências Bibliográficas	114
Anexo: Padrões de ácidos graxos utilizados	120

Lista de Tabelas

Capítulo I

Tabela 1: Medidas de espessura obtidas para os indivíduos de *Pontoporia blainvillei* capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Tabela 2: Índice de Condição Corporal Relativa (Kn) das toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003, expresso como média \pm desvio padrão.

Tabela 3: Espessura da camada de gordura na região dorsal (média \pm DP) nas diferentes classes de maturidade dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (n=110).

Tabela 4: Parâmetros obtidos para as fêmeas maduras grávidas (n= 4) e não-grávidas (n= 6) de *Pontoporia blainvillei* capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Tabela 5: Espessura da camada de gordura dorsal (média \pm DP) de indivíduos de *Pontoporia blainvillei* capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, durante as estações de primavera e inverno dos anos 2000, 2001 e 2002.

Lista de Tabelas

Capítulo II

Tabela 1: Composição de ácidos graxos por estratos da camada de gordura das toninhas (n=30) capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Tabela 2: Composição de ácidos graxos (Média \pm DP) por estratos da camada de gordura de machos (n=15) e fêmeas (n=15) de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Tabela 3: Estratificação de ácidos graxos na camada de gordura de diferentes espécies de cetáceos.

Lista de Figuras

Capítulo I

Figura 1: Toninhas, *Pontoporia blainvillei*, (mãe e filhote) capturadas acidentalmente em rede de emalhe no litoral sul do Rio Grande do Sul.

Figura 2: Área de distribuição de *Pontoporia blainvillei*.

Figura 3: Locais de medição da espessura da camada de gordura ao longo da circunferência C4.

Figura 4: Relação entre comprimento total (cm) e peso total (kg) das toninhas (n= 116) capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 5: Correlação entre a espessura da camada de gordura na região dorsal (log natural) com: **A)** comprimento total (cm); **B)** peso total (Kg) dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 6: Variação da espessura da camada de gordura dorsal com relação à maturidade das toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 7: Variação da espessura da camada de gordura dorsal com relação à maturidade em fêmeas de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 8: Variação sazonal da espessura da camada de gordura ventral dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 9: Variação interanual da espessura da camada de gordura dorsal dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, nas estações de primavera e inverno.

Lista de Figuras

Capítulo II

Figura 1: Esquema da amostra de camada de gordura da toninha com os pontos de corte dos estratos indicados pelas setas.

Figura 2: Distribuição etária dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* (n=30) capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 3: Composição relativa (%) de ácidos graxos por estratos da camada de gordura das toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003. a) filhotes (n=7); b) juvenis (n=15); c) adultos (n=8).

Figura 4: Índice de Estratificação Relativa dos principais ácidos graxos da camada de gordura de filhotes (n=7), juvenis (n=15) e adultos (n=8) de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 5: Composição relativa (%) de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados por cada estrato da camada de gordura de filhotes (n=7), juvenis (n=15) e adultos (n=8) de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 6: Correlação entre o total de ácidos graxos saturados (%) no estrato externo da camada de gordura e a idade das toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 7: Correlação entre o total de ácidos graxos poliinsaturados (%) no estrato interno da camada de gordura e a idade das toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 8: Correlação entre o total de ácidos graxos saturados (%) no estrato externo da camada de gordura e a idade de machos (n=15) e fêmeas (n=15) de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 9: Correlação entre o total de ácidos graxos monoinsaturados (%) no estrato externo da camada de gordura e a idade de machos (n=15) e fêmeas (n=15) de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 10: Correlação entre o total de ácidos graxos poliinsaturados (%) no estrato interno da camada de gordura e a idade de machos (n=15) e fêmeas (n=15) de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 11: Índice de Estratificação Relativa dos ácidos graxos da camada de gordura de fêmeas (n=7) e machos (n=8) juvenis de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 12: Composição relativa (%) de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados por cada estrato da camada de gordura de machos (n= 8) e fêmeas (n= 7) juvenis de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 13: Índice de Estratificação Relativa dos ácidos graxos da camada de gordura de fêmeas (n=5) e machos (n=3) adultos de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Figura 14: Composição relativa (%) de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados por cada estrato da camada de gordura de machos (n= 3) e fêmeas (n= 5) adultos de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

RESUMO

A camada de gordura das toninhas, *Pontoporia blainvillei*, foi estudada partir de medidas de espessura e análise da composição de ácidos graxos. Os animais analisados foram capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande (32° 05' S e 52° 08' W), entre 1999 e 2003. Com objetivo de investigar a possibilidade do uso da espessura da camada de gordura na estimativa da condição corporal nesta espécie, foram tomadas medidas de espessura em 116 indivíduos. As medidas de espessura foram obtidas nas regiões dorsal, ventral e lateral de uma mesma circunferência do corpo, localizada entre as nadadeiras peitoral e dorsal. A maturidade sexual dos animais foi determinada a partir do exame macroscópico e histológico das gônadas. A composição e a estratificação de ácidos graxos (AG) foi estudada a partir de amostras da região médio-ventral da camada de gordura de 30 indivíduos, sendo a idade destes estimada através dos grupos de camadas de crescimento dos dentes. As amostras da camada de gordura foram subdivididas em três estratos de profundidade (pele-músculo). Os lipídios de cada estrato foram extraídos utilizando-se solução (2:1) de clorofórmio-metanol e os ésteres metílicos de ácidos graxos foram extraídos com solução BF₃ – metanol e posteriormente analisados por cromatografia gás-líquida. A identificação de cada ácido graxo foi feita pela comparação dos tempos de retenção das amostras com o de misturas-padrão comercializadas. Os filhotes apresentaram menor espessura de camada de gordura na região dorsal em relação aos maduros e imaturos. Enquanto os machos não apresentaram diferenças entre maduros e imaturos com relação à espessura, fêmeas maduras possuíram maior espessura da camada de gordura dorsal do que as imaturas. Foi detectada variação sazonal a partir da espessura da camada de gordura

apenas na região ventral, sendo que as menores espessuras foram registradas no outono e as maiores no inverno. A variação interanual foi evidenciada na espessura dorsal da camada, sendo que os indivíduos capturados em 2002 apresentaram melhor condição corporal do que os indivíduos capturados em 2000 e 2001, o que possivelmente foi resultante de mudanças nas condições ambientais e na disponibilidade de presas. Um total de 27 ácidos graxos foram identificados, sendo que o 16:1n-7 e o 18:1n-9 estiveram presentes em maiores concentrações (em média 37,14% e 19,70%, respectivamente). A maioria dos AG apresentou gradiente contínuo através dos estratos, aumentando ou diminuindo de concentração do sentido externo (adjacente à pele) para o interno (adjacente ao músculo). Os AG saturados e monoinsaturados de cadeias mais curtas (12:0, 18:0, 14:1n-5 e 15:1) apresentaram os maiores graus de estratificação, aumentando de concentração no sentido do estrato externo. Já os AG poliinsaturados (PUFAs) 20:3, 20:5n-3, 22:6n-3, 20:4n-6 e 22:2 e o monoenólico 24:1n-9 apresentaram maior estratificação no sentido do estrato interno. A composição e a estratificação dos AG também foram diferentes entre as classes etárias e entre os sexos. O total de PUFAs no estrato interno aumentou com a idade e esta relação foi mais forte em machos. O total de AG saturados presentes no estrato externo diminuiu com a idade, sendo esta relação mais forte em fêmeas. Não foram encontradas correlações entre a idade e a razão de omega-3/ omega-6 para os estratos externo ou interno. Entre os adultos, os machos apresentaram maior grau de estratificação do que fêmeas. O presente estudo mostra a possibilidade de utilizar-se a espessura da camada de gordura na região dorsal como um indicador da condição corporal em toninhas e evidencia variabilidade na composição de AG dos indivíduos, dando aporte para futuras investigações sobre

análises de dieta ou diferenciação de estoques populacionais nesta espécie através da composição de AG.

Palavras-chave: *Pontoporia blainvillei*, toninha, camada de gordura, condição corporal, ácidos graxos

ABSTRACT

In order to investigate the usefulness of blubber thickness to estimate the body fat condition in *Pontoporia blainvillei*, axillary girth measurements were taken from dorsal, ventral and lateral regions, between the pectoral flipper and the dorsal fin. Blubber measurements were obtained for 116 franciscana dolphins, accidentally caught by the coastal artisanal fishery from Rio Grande (32° 05' S e 52° 08' W), between 1999 e 2003. Sexual maturity was determined from macroscopic and histological analysis of gonads. Dorsal blubber thickness (DBT) had the highest variation among the 3 measurements taken, and was considered the best measurement assess body fat condition in this species. DBT was lowest for pups and highest for mature females. Immature and mature males did not differ in DBT measurements. Dorsal blubber thickness also exhibited inter-annual variation such that 2002 individuals had thicker layers and thus better body condition than those accidentally caught in 2000 and 2001. Ventral blubber thickness (VBT) did not vary as much as DBT but seemed to be affected by seasonality. VBT was lowest in the fall and highest in the winter. Inter-annual variation in blubber thickness may be the result of changing environment conditions and/or prey composition, condition and availability. This study showed the potential use of blubber thickness as a proxy to estimate body fat condition in franciscana dolphins. Additionally, the fatty acid composition and stratification of the blubber layer (skin-muscle) at the middle-ventral region was studied in 30 franciscanas. The lipids were extracted using chloroform-methanol and fatty acids methyl esters were obtained using BF₃-methanol. Analyses were performed by gas-liquid chromatography. Fatty acids were identified by comparison of the retention time against commercial

standards. Age determination estimated by counting GLGs (Growth Layer Groups) from teeth. Twenty-seven fatty acids were quantified (27/37), of which 16:1n-7 (37,14%) and 18:1n-9 (19,70%) exhibited the highest concentrations. Stratification of fatty acid concentration across the blubber layer was found where a continuous gradient of FA concentrations was evident either increasing or decreasing from the inner layer towards the skin. The shorter-chain saturated and monounsaturated fatty acids (12:0, 18:0, 15:1 and 14:1n-5) exhibited the highest relative amounts in the outer layer whereas polyunsaturated fatty acids (PUFA) 20:3, 20:5n-3, 22:6n-3, 20:4n-6 and 22:2 and the monounsaturated fatty acid 24:1n-9 exhibited the highest relative amounts in the inner blubber layer. The array of fatty acids identified differed among age categories and between females and males. Total PUFA in the inner layer increased with the age and this relationship was stronger for male franciscanas. On the other hand, total saturated fatty acids found in the outer layer decreased with the age and this relationship was stronger for females. There was no correlation between the ratio omega-3/ omega-6 and the age of the individuals for either the outer or inner blubber layer. The strongest degree of stratification was exhibited by adult males. This study describes for the first time the existence of stratification and the fatty acid composition of the blubber layer of franciscana dolphins from FMA IIIs.

Key-words: *Pontoporia blainvillei*, franciscana, blubber thickness, body condition, fatty acid composition, blubber stratification

INTRODUÇÃO GERAL

Os mamíferos marinhos, com exceção do urso polar (*Ursus maritimus*) e da lontra marinha (*Enhydra lutris*), possuem, caracteristicamente, uma camada de gordura densa e vascularizada sob a pele, também chamada de “blubber”. Este tecido é quase contínuo ao longo do corpo e estende-se aderido acima da musculatura, mas não fortemente fixado (San Gil, 1997; Iverson, 2002). Este é o principal local de armazenamento energético em mamíferos marinhos (Pond, 1978). Além da importância de manter estoque energético, a camada de gordura tem outras funções. Ela atua como um isolante térmico para animais que vivem em ambientes marinhos frequentemente frios, sendo essencial para o processo de termorregulação. A camada de gordura também auxilia na flutuabilidade e torna a locomoção hidrodinâmica eficiente (Ryg *et al.* 1988).

A partir de estudos da camada de gordura, pode-se inferir sobre hábitos alimentares do indivíduo, com respeito ao forrageio em escalas espacial e temporal. A camada de gordura também pode refletir o estado nutricional dos animais (Iverson, 2002).

Uma das técnicas mais modernas para o estudo de dieta, e que fornece maiores informações quanto à ecologia alimentar dos animais, é a análise da composição de ácidos graxos (Iverson, 1993). A composição de ácidos graxos de uma presa é espécie-específica (Barros & Clarke, 2002). Os ácidos graxos permanecem intactos na circulação e aqueles encontrados nas reservas corporais, principalmente na camada de gordura subcutânea, refletem a composição da dieta original (Iverson, 1993; Smith *et al.*, 1997). Já que os ácidos graxos da dieta são depositados nos tecidos corporais sem sofrer modificação (ou sofrem modificações mínimas), é possível distinguir entre os ácidos graxos que poderiam ser biossintetizados pelo animal e aqueles que somente

poderiam ter origem na dieta. Assim, os ácidos graxos presentes na camada de gordura podem representar o histórico alimentar do indivíduo, com a vantagem de refletir o consumo alimentar ao longo de vários meses (Iverson, 1993). A técnica de análise de dieta a partir dos ácidos graxos ainda é pouco explorada na América do Sul. A composição bioquímica da camada de gordura das toninhas do litoral norte do Rio Grande do Sul foi estudada por Caon (2002), incluindo a composição de ácidos graxos. Naquele estudo foram registrados 15 ácidos graxos com cadeias maiores de 15 carbonos, sendo então os únicos dados conhecidos sobre a composição de ácidos graxos para a espécie até o momento.

A camada de gordura também vem sendo utilizada em estudos de condição corporal (e. g. Lockyer *et al.* 1985; Lockyer, 1986, 1987, 1995; Read, 1990; Ryg *et al.*, 1990; Aguilar & Borrell, 1990; Koopman, 1998). Caon & Fialho (1999) avaliaram a condição corporal das toninhas a partir de medidas diretas e indiretas da camada de gordura. A espessura da camada de gordura é variável entre espécies e entre indivíduos da mesma espécie, segundo a idade e região do corpo (San Gil, 1997). Sugere-se que variações na espessura da camada de gordura refletem mudanças na quantidade de energia estocada e então têm sido relacionadas a mudanças na condição corporal dos indivíduos (e. g. Lockyer *et al.* 1985; Lockyer, 1986 e 1995; Ryg *et al.*, 1990).

Pontoporia blainvillei (Gervais & D'Orbigny, 1844), conhecida popularmente como toninha, franciscana, boto-amarelo ou boto-cachimbo, é um pequeno cetáceo que apresenta caracteristicamente um rostro longo e afilado e possui coloração cinza-amarronzada (Hetzl & Lodi, 1993). O macho pode atingir 158 cm e a fêmea 174 cm de comprimento total (Lahille, 1903 *apud* Pinedo, 1982). A toninha possui hábito costeiro, sendo registrada em profundidades de até 30 metros (Pinedo *et al.*, 1989). A

distribuição da espécie se dá ao longo da costa Atlântica central e sul da América do Sul, desde Itaúnas/ES (18°25' S, 30°42' W) (Moreira e Siciliano, 1991) até Golfo Nuevo (42°35' S, 64°48' W), Península Valdés, Argentina (Crespo *et al.*, 1998).

P. blainvillei é considerado o pequeno cetáceo mais ameaçado no Atlântico Sul Ocidental, devido à alta mortalidade ocasionada pela pesca acidental em redes de emalhe. Além disso, a degradação ambiental provocada pelas atividades portuárias e industriais da região em que a espécie se distribui também é uma ameaça. De acordo com Pinedo & Polacheck (1999) e Kinas (2002) a população de toninhas do Rio Grande do Sul está decrescendo. Secchi *et al.* (2001) estimaram a densidade da espécie em 0,657 indivíduos/ km² a partir de sobre-vôos que cobriram as águas costeiras do Rio Grande do Sul e Uruguai. Este valor combinado às estimativas de mortalidade acidental levou a concluir que 1,1% a 3,5% do estoque de toninhas do Rio Grande do Sul e Uruguai está sendo removido a cada ano pela pesca acidental, o que seria suficiente para tornar esta população insustentável. Kinas (2002), a partir dos dados disponíveis na literatura, estimou o impacto das capturas acidentais concluindo que provavelmente a população entrará em “quase colapso” em 25 anos, se os níveis de mortalidade forem mantidos.

São conhecidas pelo menos duas populações principais de toninhas baseando-se por análises morfológicas (Pinedo, 1991) e moleculares (Secchi *et al.*, 1998). Estes estudos revelaram que a forma geográfica da região norte da distribuição da espécie (ao norte do Estado de Santa Catarina, 27° C) é menor do que a forma geográfica da região sul de distribuição (ao sul do Estado de Santa Catarina, 32° C) (Pinedo, 1991). Análises de DNA mitocondrial também diferenciaram estas duas formas geográficas analisando indivíduos do Brasil (Secchi *et al.*, 1998). Posteriormente, animais do Uruguai e da

Argentina foram incluídos na forma geográfica da região sul de distribuição, baseando-se em estudo de DNA mitocondrial. Secchi *et al.* (2003) sugeriram que cada uma das formas geográficas da toninhas fosse subdividida em dois estoques de manejo, aplicando o conceito de estoque de Dizon *et al.* (1992). Assim sendo, foram definidas quatro áreas de manejo da toninha (*Franciscana Management Área*, FMA) para propiciar ações a curto prazo para a conservação da espécie. A FMA I inclui os animais das águas costeiras dos Estados do Espírito Santo e do Rio de Janeiro; a FMA II inclui os animais da costa dos Estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina; a FMA III inclui os animais do Rio Grande do Sul e do Uruguai e a FMA IV inclui a área costeira da Argentina.

A toninha está classificada na categoria “Dados Deficientes” na Lista Vermelha das Espécies Ameaçadas (IUCN, 2004), porém o estoque populacional da FMA III (Rio Grande do Sul e Uruguai) foi considerado “Vulnerável”. Em 2001, o Plano de Ação de mamíferos aquáticos do Brasil (IBAMA, 2001) listava, entre os projetos e ações prioritárias para a conservação de *P. blainvillei* a determinação de idades, a composição por sexo dos exemplares capturados acidentalmente ou encalhados e o estudo de hábitos alimentares. Recentemente, a categoria da toninha na Lista Oficial de Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção, foi reavaliada e a espécie figura na categoria “Em Perigo” (IBAMA, 2003).

A alimentação de *P. blainvillei* no sul do Rio Grande do Sul consiste predominantemente de peixes teleósteos juvenis e cefalópodes, mas camarões também são encontrados (*e.g.* Pinedo, 1982; Bassoi, 1997; Mehse, 2004). Existem evidências de que indivíduos de diferentes idades apresentem diferenças quanto à preferência por presas, já que os camarões são mais frequentes na dieta dos juvenis (Pinedo, 1982;

Basso, 1997). Também há evidências de variações sazonais na composição da dieta, com maior diversidade de presas no verão e outono (Basso, 1997).

Uma parte importante da dieta da toninha no Rio Grande do Sul é constituída por espécies de peixes de valor comercial. A pescada-olhuda (*Cynoscion guatucupa*) representou o principal item alimentar da toninha segundo os estudos de Pinedo (1982) e Ott (1994) e foi o segundo principal item alimentar no estudo de Basso (1997) e de Mehse (2004). No estudo de Mehse (2004) a manjubinha (*Anchoa marinii*) foi a presa mais importante da dieta de *P. blainvillei*. A pressão de pesca sobre *C. guatucupa* é de intensidade moderada (Haimovici *et al.*, 1997; Haimovici, 1998). No entanto, outras espécies de presas importantes na dieta da toninha, como a corvina (*Micropogonias furnieri*) e a pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*) têm sido sobre-exploradas no sul do Brasil (Haimovici *et al.*, 1997; Haimovici, 1998). A ocorrência de *M. furnieri* e *M. ancylodon* diminuiu drasticamente na dieta da toninha (Basso & Secchi, 2000) e ambas espécies não ocorreram nos conteúdos estomacais analisados por Mehse (2004). Isto implica dizer que sobre-esforços de pesca podem facilmente afetar a disponibilidade de presas e, assim, influenciar a composição da dieta em *P. blainvillei*. Mehse (2004) sugere ainda que fenômenos de escala global, como o El Niño, podem ter acarretado em mudanças na composição da dieta da toninha. Embora sem conhecermos os efeitos das mudanças que vêm ocorrendo na dieta de *P. blainvillei* e qual a capacidade adaptativa da espécie, conseqüências energéticas devem ser levadas em conta (Secchi & Wang, 2002). A redução na disponibilidade de alimento ou um aumento nos custos de forrageio levarão a ajustes no comportamento típico do predador, podendo diminuir seu sucesso reprodutivo e suas chances de sobrevivência (Bowen *et al.*, 2002).

Neste estudo, a variação nas reservas energéticas em *P. blainvillei* será abordada em dois capítulos independentes. O primeiro investiga as variações na espessura da camada de gordura como indicadores da condição corporal, e o segundo capítulo avalia a composição e estratificação de ácidos graxos da camada de gordura subcutânea.

Referências Bibliográficas

- AGUILAR, A. & BORRELL, A. 1990. Patterns of lipid content and stratification in the blubber of fin whales (*Balaenoptera physalus*). *J. Mamm.*, 71(4): 544–554.
- BARROS, N. B. & CLARKE, M. R. 2002. Diet. *In*: Perrin, W.F.; Bernd, W.; Thewissen, J.G.M. (eds.). *Encyclopedia of marine mammals*. Academic Press, San Diego, 323-327.
- BASSOI, M. 1997. Avaliação da dieta alimentar de toninha, *Pontoporia blainvillei* (Gervais e D'Orbigny, 1844), capturadas acidentalmente na pesca costeira de emalhe no sul do Rio Grande do Sul. Dissertação de Bacharelado, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande. 68 pp.
- BASSOI, M. & SECCHI, E. R., 2000. Temporal variation in the diet of franciscana, *Pontoporia blainvillei* (Cetacea, Pontoporiidae) as a consequence of fish stocks depletion off southern Brazil. Trabalho Técnico WP9 apresentado no *IV Workshop para a Coordenação da Pesquisa e Conservação da Franciscana, Pontoporia blainvillei, no Atlântico Sul Ocidental*, 05-09 de Novembro de 2000, Porto Alegre. 5 pp.

- BOWEN, W. D.; READ, A. J. & ESTES, J. A. 2002. Feeding ecology. *In*: HOELZEL, A.R. (ed.). *Marine Mammal biology. An evolutionary approach*. Blackwell Publishing, Oxford, 217-246.
- CAON, G. S. 2002. Composição da camada de gordura e do leite da toninha (*Pontoporia blainvillei*) (Mammalia, Cetacea) no litoral norte do Rio Grande do Sul. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- CAON, G. & FIALHO, C. 1999. Morphometric measurements to estimate body fat condition in franciscana dolphin (*Pontoporia blainvillei*) in Rio Grande de Sul state, Southern Brazil. *In*: Thirteenth Biennial Meeting of the Society for Marine Mammalogy. Realizado de 28 de Novembro a 03 de Dezembro de 1999. Maui, Hawaii. p. 26.
- CRESPO, E. A.; HARRIS, G.; GONZÁLEZ, R. 1998. Group size and distributional range of the franciscana, *Pontoporia blainvillei*. *Mar. Mamm. Sci.*, 14: 845-849.
- DIZON, A. E.; LOCKYER, C.; PERRIN, W. F.; DEMASTER, D. P. & SEISSON, J. 1992. Rethinking the stock concept: a phylogeographic approach. *Conservation Biology*, 6: 24-36.
- HAIMOVICI, M. 1998. Present state and perspectives for the southern Brazil shelf demersal fisheries. *Fishery Management and Ecology*, 5: 277-289.
- HAIMOVICI, M.; CASTELLO, J. P. & VOOREN, C. M. 1997. Fisheries. *In*: Seeliger, U., Odebrecht, C. & Castello, J. P. (eds.) *Subtropical Convergence Environments – the coasts and sea in the southwestern Atlantic*. Springer-Verlag, Berlin, 184-196.
- HETZEL, B. & LODI, L. 1993. Baleias, Botos e Golfinhos - Guia de Identificação para o Brasil. Ed. Nova Fronteira. Rio de Janeiro. 279 pg.

- IBAMA. 2001. Mamíferos aquáticos do Brasil: plano de ação, versão II. Brasília, Edições IBAMA. 102 pp.
- IBAMA. 2003. Lista das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção. www.ibama.gov.br
- IUCN 2004. *2004 IUCN Red List of Threatened Species*. Downloaded on 17 June 2005. www.iucnredlist.org
- IVERSON, S.J. 1993. Milk secretion in marine mammals in relation to foraging: can milk fatty acids predict diet? *Symp. zool. Soc. Lond.* 66: 263-291.
- IVERSON, S.J. 2002. Blubber. *In*: Perrin, W.F.; Wursig, B.; Thewissen, J.G.M. (Eds.). *Encyclopedia of Marine Mammals*. Academic Press, San Diego, 107–112.
- KINAS, P. G. 2002. The impact of incidental kills by gill nets on the franciscana dolphin (*Pontoporia blainvillei*) in Southern Brazil. *Bull. Mar. Sci.*, 70 (2): 409-421.
- KOOPMAN, H. T. 1998. Topographical distribution of the blubber of Harbour Porpoises (*Phocoena phocoena*). *J. Mamm.*, 79(1): 260-270.
- LOCKYER, C. 1986. Body fat condition in northeast Atlantic fin whales, *Balaenoptera physalus*, and its relationship with reproduction and food resource. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43: 142–147.
- LOCKYER, C. 1987. Evaluation of the role of fat reserves in relation to the ecology of North Atlantic fin and sei whales. *In*: Huntley, A.C., Costa, D.P., Worthy, A.J., Castellini, M.A. (Eds.). *Approaches to Marine Mammal Energetics*, 183-223. (Society for Marine Mammalogy/Special Publication No. 1).
- LOCKYER, C. 1995. Aspects of the Morphology, Body Fat Condition and Biology of the Harbour Porpoise, *Phocoena phocoena*, in British Waters. *In*: *The Biology of*

- the Phocoenids (Eds. Björge, A. and Donovan, G. P.). *Rep. Int. Whal. Comm.* (Special Issue 16): 199- 209.
- LOCKYER, C.; MCCONNELL, L.C. & WATERS, T.D. 1985. Body condition in terms of anatomical and biochemical assessment of body fat in north Atlantic fin and sei whales. *Can. J. Zool.*, 63: 2328–2338.
- MEHSEN, M. 2004. Análise de conteúdos estomacais de toninha, *Pontoporia blainvillei* (Gervais & D'Orbigny, 1844), capturadas acidentalmente em redes de emalhe costeiro no litoral sul do Rio Grande do Sul durante ano de El Niño (ENSO). Dissertação de Bacharelado, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande. 27 pp.
- MOREIRA, L. M. de P. & S. SICILIANO. 1991. Northward extension range for *Pontoporia blainvillei*. In: IX Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals. 05-09 Dezembro, 1991. Chicago, EUA. (Resumos). p. 48.
- OTT, P. H. 1994. Estudo da ecologia alimentar de *Pontoporia blainvillei* (Gervais & D'Orbigny, 1844) (Cetacea, Pontoporiidea) no litoral norte do Rio Grande do Sul, Sul do Brasil. Dissertação de Bacharelado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 69 pp.
- PINEDO, M. C. 1982. Análise dos conteúdos estomacais de *Pontoporia blainvillei* (Gervais e D'ORBIGNY, 1844) e *Tursiops gephyreus* (Lahille, 1908) (CETACEA, PLATANISTIDAE e DELPHINIDAE) na zona estuarial e costeira de Rio Grande, RS, Brasil. Dissertação de Mestrado, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande. 95 pp.

- PINEDO, M. C. 1991. Development and variation of the franciscana, *Pontoporia blainvillei*. PhD Thesis. University of California, Santa Cruz, Estados Unidos. 406 pp.
- PINEDO, M. C. & POLACHECK, T. 1999. Trends in franciscana (*Pontoporia blainvillei*) stranding rates in Rio Grande do Sul, Southern Brazil (1979-1998). *J. Cetacean Res. Manage.*, 1 (2): 179-189.
- PINEDO, M. C.; PRADERI, R. & BROWNELL Jr., R. L. 1989. Review of the biology and status of the franciscana, *Pontoporia blainvillei*. In: Perrin, W. F., Brownell Jr., R. L., Kaya, Z. & Jiankang, L. (eds.). *Biology and Conservation of the River Dolphins* (Oceass. Pap. IUCN SSC 3. Gland.), 46-51.
- POND, C. M. 1978. Morphological aspects and the ecological and mechanical consequences of fat deposition in wild vertebrates. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 9: 519-570.
- READ, A.J., 1990. Estimation of body condition in harbour porpoises, *Phocoena phocoena*. *Can. J. Zool.*, 68: 1962-1966.
- RYG, M.; SMITH, T. G. & ORITSLAND, N. A. 1988. Thermal significance of the topographical distribution of blubber in ringed seals (*Phoca hispida*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 45: 985-992.
- RYG, M.; LYDERSEN, C.; MARKUSSEN, N. H.; SMITH, T. G. & ORITSLAND, N. A. 1990. Estimating the blubber content of phocid seals. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 47: 1223-1227.
- SAN GIL, L. D. 1997. Ballenas y delfines - vida y secretos. Durandeu, Buenos Aires. p. 60-62.

- SECCHI, E. R.; WANG, J. Y.; MURRAY, B.; ROCHA-CAMPOS, C. C. & WHITE, B. N. 1998. Population differentiation in the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) from two geographic locations in Brazil as determined from sequences of mitochondrial DNA control region sequences. *Can. J. Zool.*, 76: 1622-1627.
- SECCHI, E. R.; OTT, P. H.; CRESPO, E. A.; KINAS, P. G.; PEDRAZA, S. N.; BORDINO, P. 2001. A first estimate of franciscana (*Pontoporia blainvillei*) abundance off southern Brazil. *J. Cetacean Res. Manage.*, 3(1): 95-100.
- SECCHI, E. R.; DANILEWICZ, D. & OTT, P. H. 2003. Applying the phylogeographic concept to identify franciscana dolphin stocks: implications to meet management objectives. *J. Cetacean Res. Manage.*, 5(1): 61-68.
- SECCHI, E.R. & WANG, J. Y. 2002. Assesment of the conservation status of a franciscana (*Pontoporia blainvillei*) stock in the Franciscana Management Area III following the IUCN Red List process. *LAJAM*, 1 (1) (Special Issue 1): 183-190.
- SMITH, S. J.; IVERSON, S. J. & BOWEN, W. D. 1997. Fatty acid signatures and classification trees: new tools for investigating the foraging ecology of seals. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 54: 1377-1386.

CAPÍTULO I

**A espessura da camada de gordura pode servir como um
indicador da condição corporal em *P. blainvillei*?**

Resumo

Com objetivo de investigar a possibilidade do uso da espessura da camada de gordura na estimativa da condição corporal em toninhas, *Pontoporia blainvillei*, foram tomadas medidas de espessura em 116 indivíduos. Os animais analisados foram capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande (32° 05' S e 52° 08' W), entre 1999 e 2003. As medidas de espessura foram obtidas nas regiões dorsal, ventral e lateral de uma mesma circunferência do corpo, localizada entre as nadadeiras peitoral e dorsal. A maturidade sexual dos animais foi determinada a partir do exame macroscópico e histológico das gônadas. A espessura na região dorsal foi a que evidenciou maior variabilidade, sendo, portanto, o melhor local para estudar a condição corporal nesta espécie, entre as três medidas estudadas. Os filhotes apresentaram menor espessura de camada de gordura em relação aos maduros e imaturos. Enquanto os machos não apresentaram diferenças entre maduros e imaturos com relação à espessura, fêmeas maduras possuíram maior espessura da camada de gordura do que as imaturas. Foi detectada variação sazonal a partir da espessura da camada de gordura apenas na região ventral, sendo que as menores espessuras foram registradas no outono e as maiores no inverno. A variação interanual foi evidenciada na espessura dorsal da camada, sendo que os indivíduos capturados em 2002 apresentaram melhor condição corporal do que os indivíduos capturados em 2000 e 2001, o que possivelmente foi resultante de mudanças nas condições ambientais e na disponibilidade de presas. O presente estudo mostra a possibilidade de utilizar-se a espessura da camada de gordura na região dorsal como um indicador da condição corporal em toninhas.

Palavras-chave: *Pontoporia blainvillei*, toninha, espessura, camada de gordura, condição corporal

Abstract

Blubber thickness measurements were obtained for 116 franciscana dolphins, *Pontoporia blainvillei* accidentally caught by the coastal artisanal fishery from Rio Grande (32° 05' S e 52° 08' W), between 1999 e 2003. In order to investigate the usefulness of blubber thickness to estimate the body fat condition in this species, measurements were taken on dorsal, ventral and lateral regions of a body girth, between pectoral flipper and dorsal fin. Sexual maturity was determinate from macroscopic and histological analysis of gonads. Because of the dorsal blubber thickness had the highest variation among the 3 measurements taken, it was the best measurement to study the body fat condition in this specie. Pups presented the thinnest thickness compared with the mature and immature animals. Males didn't differ on blubber thickness between immature and mature individuals. Mature females had thicker blubber than immature females. Significant difference was observed in ventral blubber thickness in relation to the seasonal changes, thinnest blubber was observed in the autumn and thickest blubber was observed in the winter. Inter-annual variation was found in dorsal blubber thickness, with better body fat condition in individuals caught in 2002 than individuals caught in 2000 and 2001. This inter-annual variation may be result of changes on environment conditions and prey availability. This study showed the possibility of using the dorsal blubber thickness like a tool to estimate body fat condition in franciscana.

Key-words: *Pontoporia blainvillei*, franciscana, blubber thickness, body fatty condition

1. Introdução

A condição corporal está relacionada ao sucesso reprodutivo e às chances de sobrevivência de um indivíduo e, por conseguinte, da população (Hanks,1981). A condição corporal nos mamíferos pode ser medida por uma série de índices fisiológicos, tais como depósitos de gordura, bioquímica sanguínea e taxas de crescimento, que representam, de uma forma geral, a condição nutricional de um animal (Hanks, 1981). Mudanças nos índices fisiológicos podem ser resultantes de variações na disponibilidade ou qualidade de recursos alimentares e/ou de perturbações ambientais e vêm sendo utilizadas como medidas de resiliência¹ de um indivíduo ou da população (Hanks, 1981). Um indivíduo com baixa condição nutricional teria menor capacidade de sobreviver à escassez de alimento ou de recuperar-se numa situação de estresse ambiental quando comparado a um indivíduo bem nutrido.

Variações nas reservas de gordura em mamíferos aquáticos influenciam a “performance” reprodutiva, afetando o início da maturidade sexual e as taxas de prenhez (Guinet *et al.*,1998). Isto se deve ao alto custo energético da reprodução, especialmente para fêmeas lactantes, que necessitam investir no rápido crescimento dos filhotes (Costa, 2002). Há evidências de que uma melhora da condição corporal, resultante de aumento de recurso alimentar, pode conduzir a um aumento de fecundidade, em consequência do aumento da taxa de ovulação (Lockyer, 1986).

Medidas diretas da massa da camada de gordura ou massa de lipídios por dissecção ou extração de gordura do corpo inteiro do animal são difíceis de se obter, portanto é comum o uso de algum tipo de índice para avaliar a condição nutricional (Ryg *et al.*, 1990). Assim, variações na espessura da camada de gordura têm sido relacionadas a

mudanças no estoque energético, sendo utilizadas como um índice de condição corporal (e. g. baleia-fim, *Balaenoptera physalus*, Lockyer *et al.*, 1985, Lockyer, 1986 e 1987; baleia-sei, *Balaenoptera borealis*, Lockyer *et al.*, 1985 e Lockyer, 1987; golfinho-do-porto, *Phocoena phocoena*, Read, 1990, Lockyer, 1995 e Koopman, 1998; focídeos, Ryg *et al.*, 1990; toninha, *Pontoporia blainvillei*, Caon & Fialho, 1999). No entanto, além de promoverem variações na espessura da camada, mudanças na condição corporal afetam também sua composição, particularmente a concentração lipídica (Aguilar & Borrell, 1990), e esta pode variar independentemente da espessura (Ackman *et al.*, 1975a; Rosen & Renouf, 1997) o que faz com que a aplicabilidade da espessura da camada como um índice de condição corporal venha sendo questionada (e.g. Evans *et al.*, 2003). As variações na espessura estão relacionadas ao aumento ou redução dos vacúolos nos adipócitos e não à perda celular propriamente dita. Uma hipótese é que exista um valor mínimo de espessura, sob o qual a percentagem de lipídio possa diminuir com pouco efeito em perda de espessura (Klem, 1935 *apud* Ackman *et al.*, 1975b). Por isso, a variação nas demandas energéticas entre os sexos ou entre categorias reprodutivas pode não necessariamente ser refletida na espessura da camada (Evans *et al.*, 2003). No estudo de Evans *et al.* (*op. cit.*), a espessura da camada de gordura não proveu uma boa indicação da condição corporal em cachalote, *Physeter macrocephalus*, quando medida em um só local, porém o local escolhido para medição poderia não ter como função principal o estoque energético, visto as múltiplas funções da camada de gordura e a falta de dados em relação à topografia da camada nesta espécie. É possível que a distribuição topográfica da camada de gordura, característica dos mamíferos marinhos, possa servir para solucionar os conflitos entre as suas múltiplas funções (Ryg

¹ A resiliência indica o grau no qual um indivíduo ou uma população pode recuperar-se de um distúrbio de qualquer natureza.

et al., 1988), sendo que as funções poderiam variar de acordo com a região do corpo, e esta topografia é espécie-específica. Em *P. phocoena*, foi observado que a camada de gordura na região torácica-abdominal teria como funções principais o estoque energético e o isolamento térmico, enquanto na região posterior, a função seria de manter a forma hidrodinâmica do pedúnculo caudal (Koopman, 1998).

De acordo com a recomendação de Lockyer *et al.* (1985) e Ryg *et al.* (1988), um índice baseado no local do corpo cuja variação das medidas de espessura for máxima deve ser preferível para estudos de condição corporal. Aplicando esta recomendação, Ryg *et al.* (1990), verificaram correlação significativa entre a espessura e a massa da camada de gordura em foca-da-Groenlândia (*Phoca groenlandica*), foca-cinzenta (*Halichoerus grypus*) e foca-anelada (*P. hispida*). Em estudo da condição corporal da toninha no litoral norte do Rio Grande do Sul, foi verificada maior variação de espessura da camada de gordura entre os indivíduos na região dorsal, anteriormente à nadadeira dorsal e posteriormente à peitoral, portanto, segundo os autores, este seria o local mais indicado para estimar a condição corporal da espécie através da espessura (Caon & Fialho, 1999).

Há evidências de variação intraespecífica na espessura da camada atribuída ao sexo e à idade em *P. phocoena* (Lockyer, 1995). Também existem evidências, para algumas espécies, de que indivíduos de diferentes classes reprodutivas possuam diferenças significativas na espessura da camada de gordura, sendo que em geral as fêmeas adultas, principalmente as grávidas, possuem camada mais espessa em relação às demais classes, tais como fêmeas imaturas, machos imaturos e machos maduros, sendo que as lactantes eram as que possuíam a menor espessura (*e.g.* baleia-sei, Lockyer, 1981 e

Lockyer *et al.* 1985; baleia-fim, Lockyer, 1981 e 1986 e Lockyer *et al.* 1985; foca-anelada, *Phoca hispida*, Ryg *et al.*, 1988; *P. phocoena*, Read, 1990).

Em algumas espécies de pinípedes foi verificada a existência de variação sazonal na espessura da camada de gordura, como no caso da foca-anelada, *P. hispida* (Ryg *et al.*, 1988), e da foca-do-porto, *Phoca vitulina concolor* (Rosen & Renouf, 1997). A variação na espessura pode ocorrer também anualmente (*e.g.* baleia-sei, Lockyer *et al.* 1985; baleia-fim, Lockyer *et al.* 1985 e Lockyer, 1986; golfinho-do-porto, Read, 1990). As variações sazonal e anual estão associadas com a disponibilidade de recursos alimentares, influenciadas pela produtividade marinha. A variação sazonal também pode ser influenciada por fatores fisiológicos, como o ciclo reprodutivo da espécie e a termorregulação (Costa, 2002). A sazonalidade é mais marcada em pinípedes e mysticetos que apresentam separação espaço-temporal das atividades de alimentação e de reprodução (Lockyer, 1981; Aguilar & Borrell, 1990).

O objetivo deste estudo é testar a aplicabilidade da medição da espessura da camada de gordura como indicadora da condição corporal das toninhas capturadas acidentalmente no litoral sul do RS. Levando-se em conta a topografia da camada de gordura e dados biométricos dos indivíduos, será investigada a influência do dimorfismo sexual, maturidade sexual e variações temporais (sazonal e interanual) na condição corporal das toninhas.

2. Material e Métodos

2.1. Coleta dos dados

Os espécimes de *P. blainvillei* analisados (n=116) foram capturados acidentalmente em redes de emalhe (Figura 1), obtidos através do programa de monitoramento da frota pesqueira do município do Rio Grande (32° 05' S e 52° 08' W) que opera no litoral sul do Rio Grande do Sul, entre Mostardas (31° 13' S) e Chuí (33° 45' S) (Figura 2). As atividades desta arte de pesca geralmente ocorrem em profundidades de 10 a 30 metros. O monitoramento acompanhou os desembarques de 10%-15% da frota costeira de emalhe, correspondendo a 15 embarcações no período de outubro de 1999 a agosto de 2003. As necropsias foram realizadas no Museu Oceanográfico “Prof. Eliézer de Carvalho Rios”, de 1 a 5 dias *post mortem*. Previamente à coleta de material biológico, foi feita a medição do comprimento total (CT) e do peso total (PT) e a determinação do sexo pelo exame das gônadas. A espessura da camada de gordura, incluindo-se a pele, foi medida nas regiões dorsal, ventral e lateral da circunferência C4 (localizada entre a nadadeira dorsal e a peitoral) (Figura 3), com o uso de um paquímetro, possuindo precisão de 1mm.



Figura 1: Toninhas, *Pontoporia blainvillei*, (mãe e filhote) capturadas acidentalmente em rede de emalhe no litoral sul do Rio Grande do Sul (foto: Lauro Barcelos).

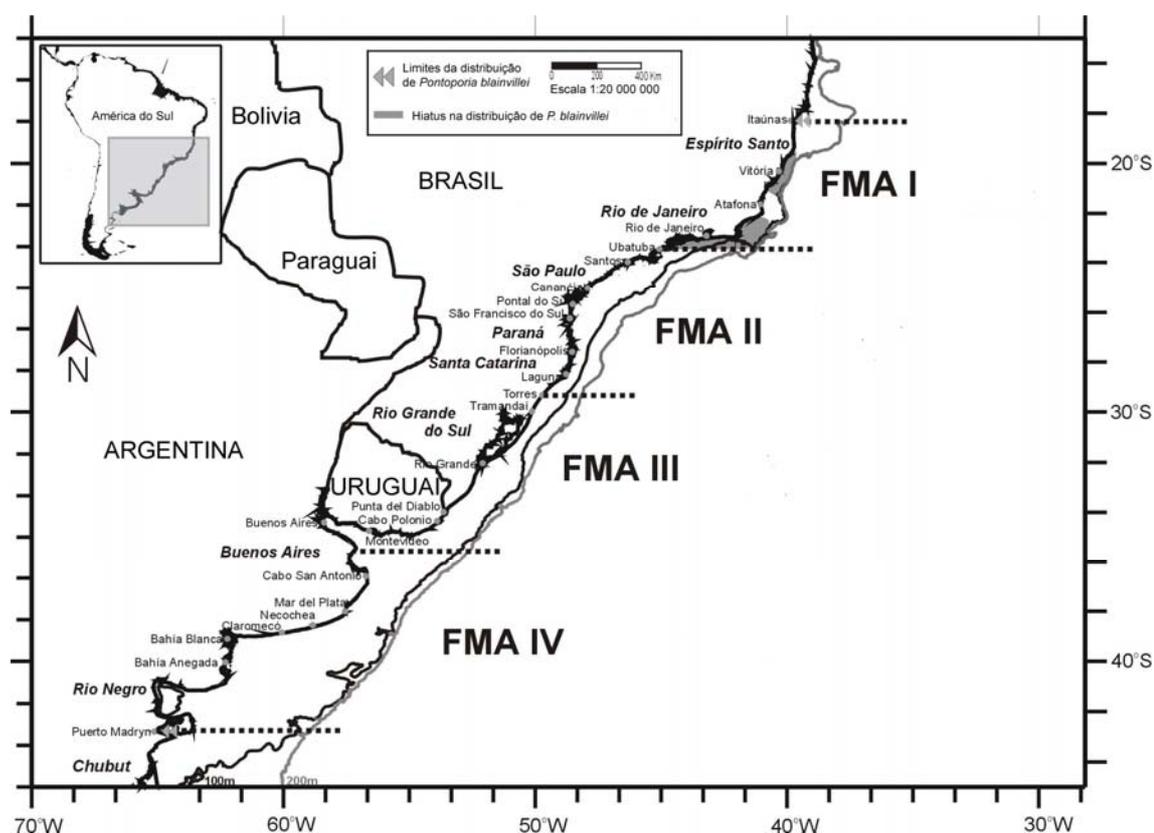


Figura 2: Área de distribuição de *Pontoporia blainvillei* (FMA= *Franciscana Management Area*; a área de estudo incluiu indivíduos da FMA III, capturados acidentalmente no litoral sul do Rio Grande do Sul) (modificado de Secchi *et al.* 2003).

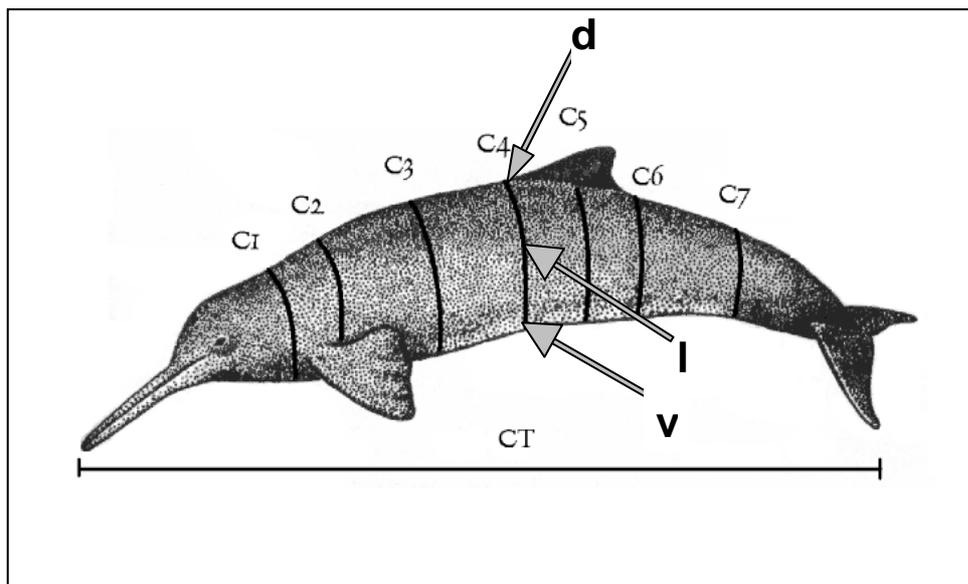


Figura 3: Locais de medição da espessura da camada de gordura ao longo da circunferência C4. d=dorsal; l=lateral; v=ventral (Desenho de Daniela Weil modificado de Hetzel & Lodi, 1993).

Os indivíduos foram classificados em três classes de maturidade: filhotes, imaturos e maduros sexualmente. A classificação da maturidade sexual das fêmeas foi feita a partir da análise macroscópica das gônadas, com auxílio de uma lupa. Consideraram-se maduras as fêmeas que possuíam no mínimo um corpo lúteo ou um corpo *albicans* em qualquer um dos ovários, o que indica a ocorrência prévia de ovulação, de acordo com a classificação de Perrin & Donovan (1984). A maturidade sexual dos machos foi determinada com base nas características histológicas dos testículos, seguindo a metodologia utilizada por Hohn *et al.* (1985). Os indivíduos púberes foram incluídos dentro da categoria dos imaturos neste estudo. Devido à impossibilidade da determinação da idade de todos os indivíduos, foram considerados filhotes, unicamente para esta análise, os indivíduos com CT menor que 100 cm, conforme estabelecido por Caon (2002).

A sazonalidade foi determinada a partir da data de captura dos animais, dividindo-os pelas quatro estações do ano.

2.2. Análise da condição corporal

As diferenças entre dados biométricos de machos e fêmeas (peso total e comprimento total) foram comparados através do teste-t *Student*.

A curva comprimento-peso foi obtida plotando-se todos os indivíduos (n=116). O Índice de Condição Corporal Relativa (Kn) de Le Cren (1951) foi calculado, onde PT(obs) é o peso total observado (kg) e PT(est) é o peso total estimado (kg) pela curva comprimento-peso:

$$Kn = PT(obs) / PT(est)$$

Os valores de Kn obtidos para os diferentes sexos e categorias de maturidade foram comparados através de ANOVA -2 vias, após verificação dos pré-requisitos. A normalidade foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov (K-S test, $p > 0,05$) e a homocedasticidade, pelo teste de Levene ($p > 0,05$).

Estudaram-se as relações da espessura da camada de gordura com o comprimento total (CT) e o peso total (PT) dos indivíduos, através do Coeficiente de Correlação de Pearson, separadamente para cada região medida. As medidas de espessura da camada de gordura foram substituídas pelos seus respectivos logaritmos naturais para preencher os pré-requisitos da análise estatística.

Foi utilizado o teste ANOVA -2 vias para estudar a influência do sexo e da maturidade dos indivíduos na variação da espessura da camada de gordura nas três

regiões medidas. A análise também foi feita separadamente para fêmeas (excluindo-se os filhotes) na região dorsal através do teste ANOVA -1 via, para verificar se haviam diferenças entre maduras e imaturas e entre maduras grávidas e não-grávidas.

A relação entre a sazonalidade de captura e a espessura da camada de gordura nas três regiões medidas foi estudada separadamente, a partir do teste ANOVA -1 via, devido à impossibilidade de ter indivíduos de ambos os sexos e diferentes classes em todas as estações. A análise foi feita incluindo-se todos os indivíduos maduros e imaturos. Os filhotes foram excluídos para evitar que a interação da maturidade na análise pudesse mascarar as diferenças sazonais, por se tratar de um grupo que apresentou valores menores de espessura, com tendência a uma diminuição das médias em estações com maiores proporções de filhotes. A análise da sazonalidade não foi efetuada separadamente para: a) fêmeas maduras, devido ao baixo número amostral (verão, n=1, inverno, n= 1); e b) machos, devido à ausência de machos nas coletas do verão.

Variação interanual na região dorsal da camada de gordura foi estudada para os anos 2000, 2001 e 2002 incluindo-se somente as estações da primavera (n=33) e do inverno (n=22) e somente indivíduos maduros e imaturos, mediante o teste ANOVA - 2 vias para os fatores ano e estação. Foram utilizados registros de capturas acidentais das duas estações com número amostral suficiente para realizar a análise estatística.

Os testes *a posteriori* de Duncan ou de Tukey foram utilizados para determinar quais as categorias que se diferenciavam entre as variáveis analisadas. Todos os testes estatísticos foram realizados a um nível de significância $\alpha = 0,05$, utilizando-se o programa *Statistica* v. 5.0 (StatSoft, Inc., 1997).

3. Resultados

Os indivíduos amostrados foram representativos da população, incluindo filhotes, juvenis e adultos, cujos comprimento e peso totais representavam o espectro de dimorfismo sexual da espécie para esta região de estudo (Pinedo, 1991). As fêmeas apresentaram maiores médias de CT e PT ($127,53 \pm 18,44$ cm e $25,32 \pm 8,36$ kg; n= 51) em relação aos machos ($119,36 \pm 13,65$ cm e $21,77 \pm 5,30$ kg; n= 65) ($p= 0,0233$ e $0,0006$; respectivamente). O comprimento total variou de 86,90 cm a 171 cm em fêmeas e de 77 cm a 146 cm em machos. O peso total variou de 11,60 kg a 44,60 kg em fêmeas e de 6,60 kg a 34,20 kg em machos. A camada de gordura na região ventral apresentou a maior média de espessura entre todos os indivíduos ($=1,60$ cm), seguida da região dorsal ($=1,55$ cm) e da lateral (1,47 cm) (Tabela 1).

A curva comprimento-peso estimada para as toninhas capturadas acidentalmente foi: PT (kg) = $0,0008$ CT (cm)^{2,1275} ($R^2= 0,8566$; n= 116; Figura 4).

O Índice de Condição Corporal Relativa (Kn) variou de 0,74 a 1,36 (média= 1,02; DP= 0,12; n= 116). Não houve diferenças entre machos e fêmeas ou entre as categorias de maturidade quanto ao Kn ($F= 1,7638$; $p= 0,1871$; n=116 e $F= 0,2446$; $p= 0,7835$; n= 110, respectivamente; Tabela 2).

Tabela 1: Medidas de espessura obtidas para os indivíduos de *Pontoporia blainvillei* capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (DP= desvio padrão, n= número amostral).

	Categoria (n)	Média ± DP	Mínimo	Máximo
Camada de gordura dorsal* (cm)	Fêmeas (51)	1,55 ± 0,33	0,90	2,40
	Machos (65)	1,55 ± 0,29	1,00	2,50
	Todos (116)	1,55 ± 0,31	0,90	2,50
Camada de gordura ventral* (cm)	Fêmeas (50)	1,59 ± 0,29	0,90	2,20
	Machos (64)	1,61 ± 0,30	1,05	2,60
	Todos (114)	1,60 ± 0,30	0,90	2,60
Camada de gordura lateral* (cm)	Fêmeas (51)	1,48 ± 0,27	1,00	2,20
	Machos (65)	1,47 ± 0,30	1,00	2,50
	Todos (116)	1,47 ± 0,29	1,00	2,50

* localização das medições da camada de gordura: ver Figura 3.

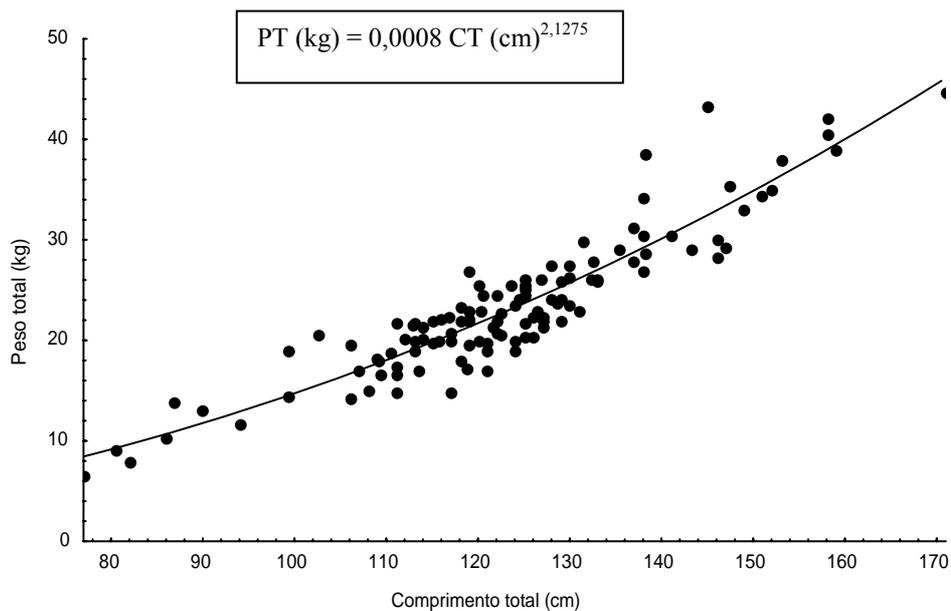


Figura 4: Relação entre comprimento total (cm) e peso total (kg) das toninhas (n= 116) capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

Tabela 2: Índice de Condição Corporal Relativa (Kn) das toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003, expresso como média \pm desvio padrão.

Categoria	N	Kn
Fêmeas	51	1,024 \pm 0,112
Machos	65	1,023 \pm 0,129
Filhotes	9	1,035 \pm 0,186
Imaturos	64	1,025 \pm 0,117
Maduros	37	1,028 \pm 0,116
Todos	116	1,023 \pm 0,121

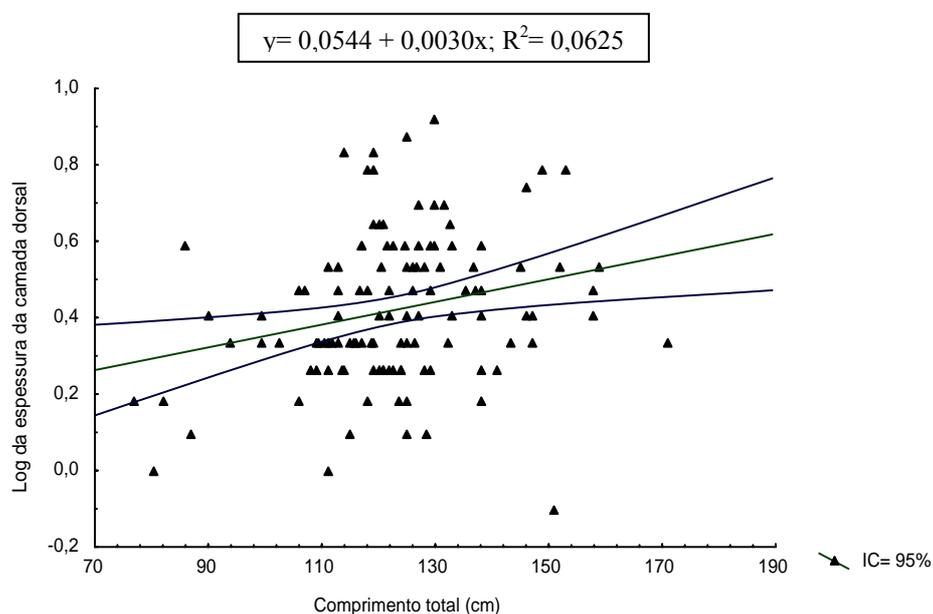
A região dorsal apresentou o maior Coeficiente de Variação (20,03%, n= 116) entre as três medições, seguida da região lateral (19,45%, n= 116) e ventral (18,54%, n= 114).

A variação da espessura da camada de gordura não pode ser explicada em função do tamanho dos indivíduos, visto que a correlação entre a espessura e o comprimento total (CT) dos indivíduos foi muito fraca para a região dorsal ($R^2= 0,0625$; $p= 0,0070$; n= 116) (Figura 5-A) e não houve correlação entre CT e espessura da camada de gordura nas regiões ventral ($p= 0,5575$; n=114) e lateral ($p= 0,1220$; n=116).

O peso corporal também não explica a variação da espessura da camada de gordura, visto que a correlação entre a espessura e o peso total (PT) dos indivíduos foi muito baixa para a região dorsal ($R^2= 0,0537$; $p= 0,0123$; n= 116) (Figura 5-B) e não houve correlação para as demais regiões: ventral ($p= 0,6043$; n=114) e lateral ($p= 0,1676$; n=116).

Seis indivíduos não foram classificados quanto às classes de maturidade sexual, devido à falta de dados com relação às gônadas (não coletadas ou não encontradas na coleção). Assim, a amostra incluiu 8,2% de filhotes (9/110, sendo 6 machos e 3 fêmeas), 58,2% de indivíduos imaturos (64/110) e 33,6% de indivíduos maduros (37/110). Do total de machos, 43,5% eram maduros (27/62), enquanto que apenas 20,8% das fêmeas eram maduras (10/48).

A)



B)

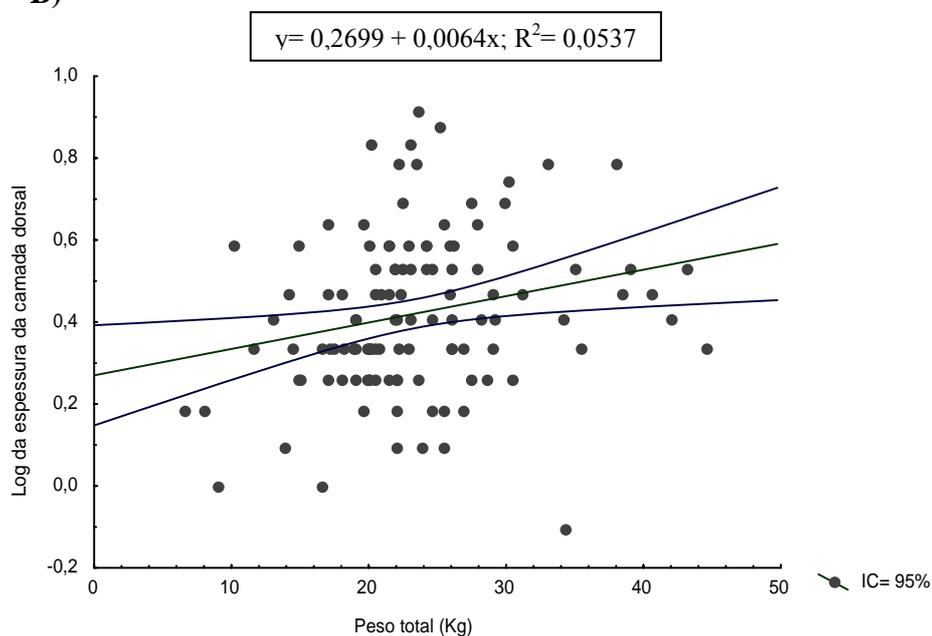


Figura 5: Correlação entre a espessura da camada de gordura na região dorsal (log natural) com: **A)** comprimento total (cm); **B)** peso total (Kg) dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (r = Coeficiente de Correlação de Pearson; IC= Intervalo de Confiança; n = 116).

A variação na espessura da camada na região dorsal foi atribuída à maturidade sexual ($F= 4,0299$; $p= 0,0206$; $n=110$) (Figura 6), e não houve diferenças significativas entre os sexos ($F= 0,0853$; $p= 0,7708$; $n=110$) nem interação entre sexo e as classes de maturidade ($F= 1,7828$; $p= 0,1733$; $n=110$). Apenas os filhotes diferiram dos maduros e dos imaturos (teste *a posteriori* de Duncan, $p= 0,0013$ e $p= 0,0302$, respectivamente), sendo que a média de espessura dos filhotes significativamente menor em relação às demais classes. Porém, os imaturos não diferiram dos maduros ($p= 0,2269$; Tabela 3 e Figura 6).

A variação das medidas obtidas nas regiões ventral e lateral da camada de gordura não foram influenciadas pela maturidade sexual ($F= 0,6327$, $p= 0,5332$ e $n= 108$; $F= 0,3499$, $p= 0,7056$ e $n= 110$, respectivamente), nem foram encontradas diferenças entre as medidas machos e fêmeas ($F= 0,0734$, $p= 0,7870$ e $n= 108$; $F= 0,3239$, $p= 0,5705$ e $n= 110$, respectivamente para as regiões ventral e lateral).

Tabela 3: Espessura da camada de gordura na região dorsal (média \pm DP) nas diferentes classes de maturidade dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (n=110).

<i>Classe de maturidade</i>	<i>N</i>	<i>Espessura da camada dorsal</i> ¹ (cm)	<i>Categorias</i> ²
Filhotes	9	1,34 \pm 0,24	A
Imaturos	64	1,54 \pm 0,31	B
(machos)	29	1,58 \pm 0,28	B
(fêmeas)	35	1,51 \pm 0,34	B
Maduros	37	1,62 \pm 0,31	B
(machos)	27	1,58 \pm 0,31	B
(fêmeas)	10	1,75 \pm 0,31	B
Todos	110	1,55 \pm 0,32	

¹ localização da região dorsal: ver Figura 3.

² Letras iguais representam ausência de significância estatística entre as categorias, sendo que A < B.

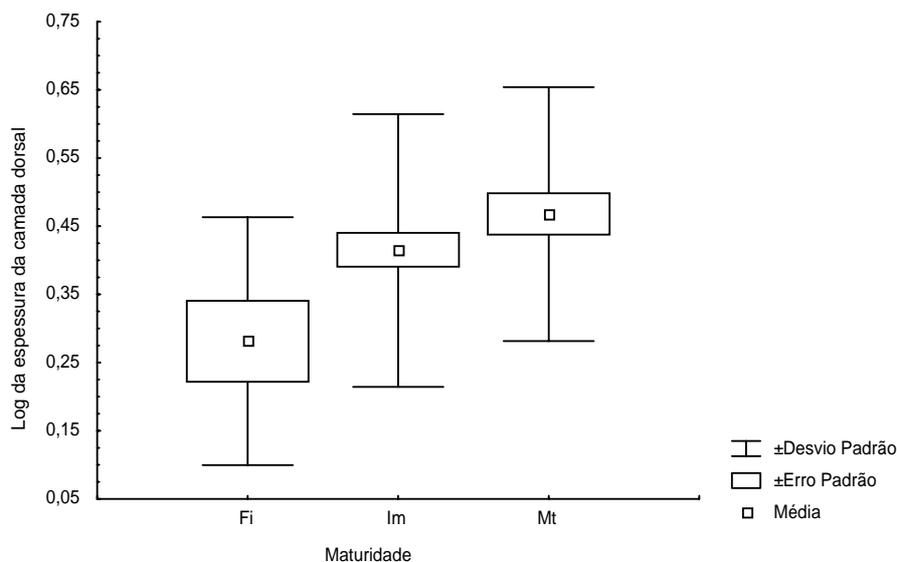


Figura 6: Variação da espessura da camada de gordura dorsal com relação à maturidade das toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (Fi= filhotes, Im= imaturos, Mt= maduros; sendo que espessura Fi < espessura Im, $p= 0,0302$; espessura Fi < espessura Mt, $p= 0,0013$; espessura Im \cong espessura Mt; $p= 0,2269$; $n=110$).

Já que na amostra total as diferenças entre as classes poderiam estar mascaradas devido à igualdade de médias obtidas entre machos imaturos e maduros (= 1,58 cm) (Tabela 3), foi feita uma análise separadamente para as fêmeas, excluindo-se filhotes. As fêmeas maduras possuíam maior média de espessura na camada de gordura dorsal do que as imaturas ($F= 4,2115$; $p= 0,0463$; $n= 45$) (Figura 7).

Entre as fêmeas maduras ($n=10$), havia quatro toninhas grávidas, uma das quais também era lactante. O maior PT (44,60 Kg) e o maior CT (171 cm) de todos os indivíduos foi registrado para uma toninha grávida. Considerando-se apenas as medidas obtidas para as fêmeas maduras, as diferenças encontradas na espessura na camada de gordura dorsal entre grávidas e não-grávidas não foram significativas ($p= 0,7619$; Tabela 4).

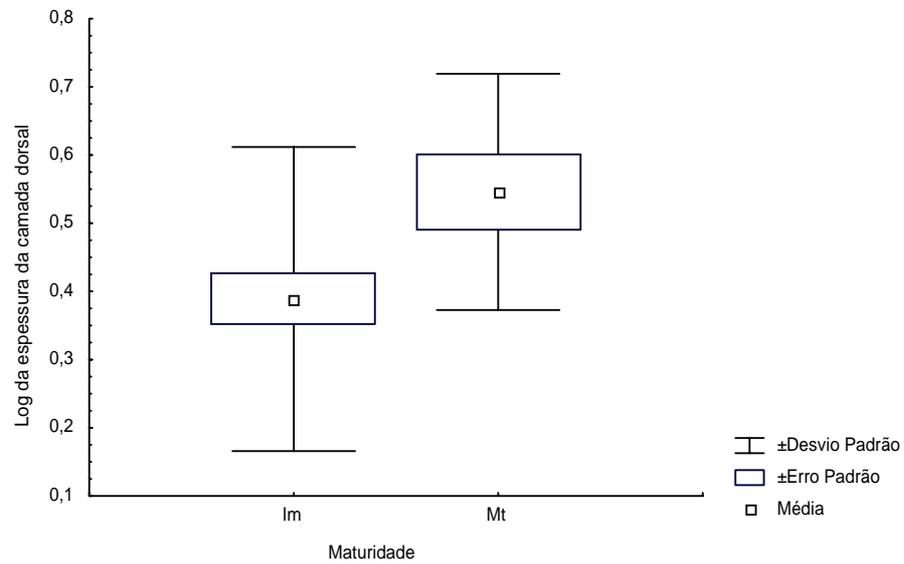


Figura 7: Variação da espessura da camada de gordura dorsal com relação à maturidade em fêmeas de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (Im= imaturas, Mt= maduras; sendo que espessura Mt > espessura Im; $p= 0,0463$; $n= 45$).

Tabela 4: Parâmetros obtidos para as fêmeas maduras grávidas (n= 4) e não-grávidas (n= 6) de *Pontoporia blainvillei* capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (PT= peso total, CT= comprimento total).

	Categoria	Média ± DP	Mínimo	Máximo
<i>PT (Kg)</i>	Grávidas	38,67 ± 6,33	30,10	44,60
	Não-grávidas	37,70 ± 3,87	33,00	43,20
<i>CT (cm)</i>	Grávidas	157,00 ± 10,55	146,00	171,00
	Não-grávidas	151,72 ± 5,74	145,00	159,00
<i>Camada de gordura dorsal (cm)</i>	Grávidas	1,80 ± 0,41	1,40	2,20
	Não-grávidas	1,72 ± 0,26	1,40	2,20

Não foram evidenciadas diferenças significativas quanto à sazonalidade na variação da espessura da camada de gordura dorsal ($F= 1,1894$, $p= 0,3179$ e $n= 101$). No entanto, foi observada uma tendência de menores medidas de espessuras nos indivíduos capturados no outono (média= 1,42 cm, DP= 0,20 cm, n=11) em relação àqueles capturados no inverno (média= 1,62 cm, DP= 0,33 cm, n= 37). Os indivíduos capturados na primavera e no verão apresentaram valores intermediários (média= 1,57 cm, DP= 0,33 cm, n= 51 e média= 1,55 cm, DP= 0,21 cm, n= 2; respectivamente). Resultados semelhantes foram encontrados para a região lateral da camada de gordura,

onde não houve variação significativa de espessura em função da sazonalidade ($F=1,6243$, $p=0,1887$ e $n=101$).

A espessura da camada de gordura na região ventral diferiu entre as estações do ano ($F=2,7765$, $p=0,0455$ e $n=99$). O teste *a posteriori* de Tukey evidenciou que a espessura da camada de gordura dos indivíduos do outono (média= 1,40 cm, DP= 0,27 cm, $n=11$) foi significativamente menor em relação à espessura dos indivíduos capturados no inverno (média= 1,69 cm, DP= 0,35 cm, $n=35$) ($p=0,0260$; Figura 8).

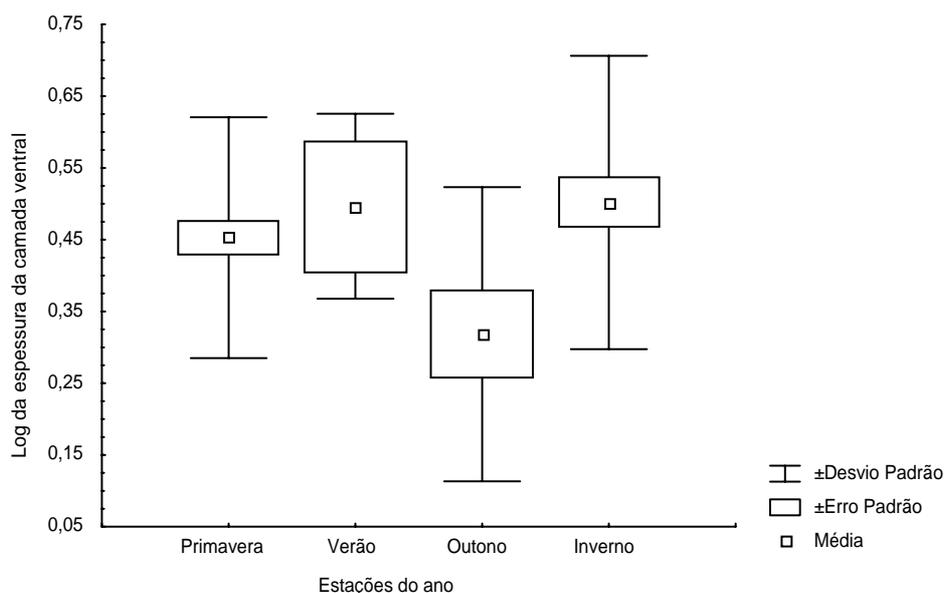


Figura 8: Variação sazonal da espessura da camada de gordura ventral dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (outono < inverno, $p=0,0260$; primavera \cong verão \cong inverno, $p>0,6250$; primavera \cong verão \cong outono, $p>0,1352$; $n=99$).

Foi evidenciada uma variação interanual na espessura da camada de gordura na região dorsal ($F= 19,5857$, $p < 0,0001$ e $n= 55$) para os anos de 2000, 2001 e 2002. Porém, não houve diferenças na espessura entre as duas estações analisadas ($F= 2,4420$, $p= 0,1246$ e $n= 55$) e não houve interação entre ano e estação ($F= 0,0551$, $p= 0,9464$ e $n= 55$). Os indivíduos de 2002 apresentaram melhor condição corporal, em termos de espessura da camada de gordura, em relação aos anos de 2000 ($p= 0,0002$) e 2001 ($p= 0,0001$) (teste *a posteriori* de Duncan). Os indivíduos de 2000 e 2001 não apresentaram diferenças nos valores de espessura ($p= 0,7354$) (Tabela 5 e Figura 9).

Tabela 5: Espessura da camada de gordura dorsal (média \pm DP) de indivíduos de *Pontoporia blainvillei* capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, durante as estações de primavera e inverno dos anos 2000, 2001 e 2002 (nº amostral entre parênteses).

<i>Ano</i>	<i>Estação</i>	<i>Espessura da camada de gordura dorsal (cm)</i>
2000	Primavera	1,31 \pm 0,18 (9)
	Inverno	1,41 \pm 0,15 (10)
2001	Primavera	1,25 \pm 0,13 (4)
	Inverno	1,40 \pm 0,00 (2)
2002	Primavera	1,74 \pm 0,30 (20)
	Inverno	1,87 \pm 0,37 (10)
Todos		1,58 \pm 0,34 (55)

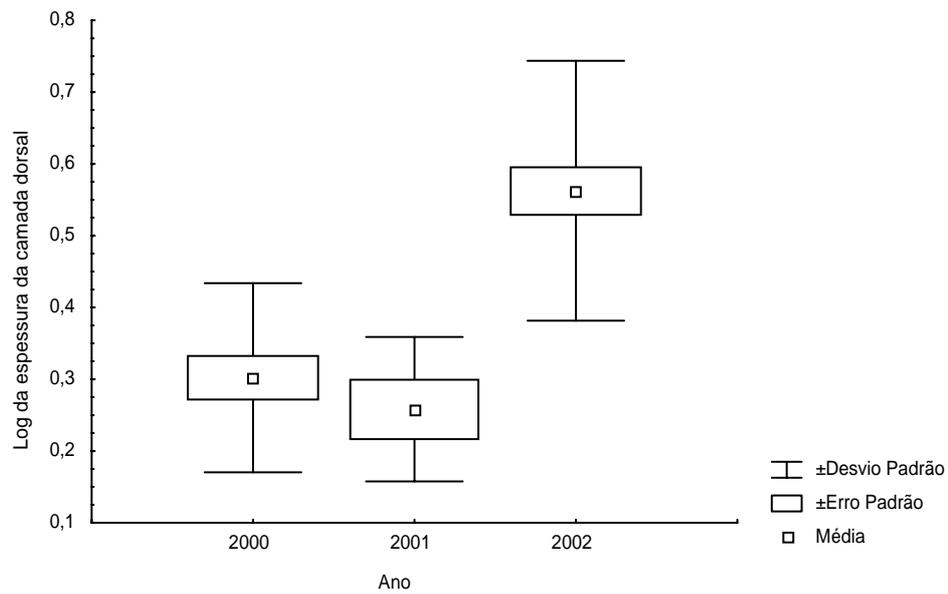


Figura 9: Variação interanual da espessura da camada de gordura dorsal dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, nas estações de primavera e inverno (2002 > 2000, $p= 0,0002$; 2002 > 2001, $p= 0,0001$; 2000 \cong 2001, $p= 0,7354$; $n=55$).

4. Discussão

A região dorsal (C4) apresentou a maior variabilidade entre as três regiões medidas. Este resultado corrobora o estudo de Caon & Fialho (1999), no qual a região equivalente à C4-dorsal apresentou a maior variabilidade da espessura da camada entre os indivíduos. As diferenças encontradas para as três regiões da camada de gordura estudadas confirmam a existência de topografia na camada de gordura da toninha, provavelmente associada com as diferentes funções da camada de gordura (Ryg *et al.*, 1988; Koopman, 1998). A espessura na região dorsal parece refletir melhor a diferença esperada no acúmulo de gordura em indivíduos de diferentes classes de maturidade (Figura 6).

O Índice de Condição Corporal Relativa (Kn) foi aproximadamente igual a 1,0 para machos e fêmeas e para as diferentes categorias de maturidade (Tabela 2), o que denota que os dados obtidos quanto às variações de espessura são representativos de uma população saudável em termos nutricionais, com médias de peso observado \cong peso esperado.

Enquanto os machos não apresentaram diferenças entre maduros e imaturos (Tabela 3), fêmeas maduras possuíam melhor condição corporal do que as imaturas, evidenciadas pelo aumento em espessura da camada de gordura (Figura 7). Esta diferenciação entre os sexos pode estar relacionada a um maior investimento das fêmeas para a época da reprodução, envolvendo gestação e lactação, enquanto nos machos o investimento fica restrito à procura e competição por fêmeas (Costa, 2002). Diferença entre os sexos quanto às reservas energéticas também foi evidenciada por Caon & Fialho (1999) para *P. blainvillei* do litoral norte do Rio Grande do Sul. O referido

estudo evidenciou que as fêmeas possuíam maiores médias de peso da camada de gordura e peso relativo da camada do que os machos. Estes resultados corroboram o estudo de Lockyer (1995) para *Phocoena phocoena*, no qual as fêmeas em atividade reprodutiva demonstraram possuir maior deposição de gordura em relação às imaturas, com grávidas apresentando maiores CTs e PTs; embora no presente estudo não houvesse diferenciação entre maduras grávidas e não-grávidas (Tabela 4). Diferenças significativas na espessura da camada de gordura entre classes de maturidade (fêmeas maduras possuindo camada mais espessa em relação às demais classes, tais como fêmeas imaturas e machos imaturos e maduros) foram encontradas para mysticetos (e.g. *B. borealis*, Lockyer, 1981 e Lockyer *et al.* 1985; *B. physalus*, Lockyer, 1981, 1986 e Lockyer *et al.* 1985), para o focídeo *P. hispida* (Ryg *et al.*, 1988) e para o odontoceto *P. phocoena* (Read, 1990).

Quanto às diferenças na espessura da camada de gordura em relação à sazonalidade dos indivíduos capturados, estas foram significativas apenas para a região ventral, indicando menores espessuras dos indivíduos capturados no outono em relação aos indivíduos capturados no inverno (Figura 8). Deve-se levar em consideração que o número amostral disponível de amostras do verão (n=2) pode não ter sido adequado para evidenciar estatisticamente as diferenças entre todas as estações. A tendência sazonal para as outras medidas (dorsal e lateral) acompanhou o resultado obtido para as medidas ventrais, sendo caracterizada por menores espessuras dos indivíduos capturados no outono e maiores espessuras dos animais obtidos no inverno, com espessuras intermediárias para os indivíduos capturados na primavera e no verão. Esta tendência é condizente com o ciclo reprodutivo da espécie, mais do que com a termorregulação. Na primavera é iniciada a reprodução, sendo que os nascimentos nesta

espécie ocorrem entre outubro e janeiro, após um período de cerca de 11 meses de gestação (Danilewicz, 2003). Portanto, é esperado que os indivíduos estoquem mais energia no inverno ao prepararem-se para o período reprodutivo, e que este estoque energético vá diminuindo durante a primavera e o verão, chegando a espessuras menores no outono. Se a relação entre espessura e sazonalidade fosse direcionada apenas pela temperatura, esperar-se-ia que os indivíduos apresentassem maiores espessuras no outono em relação à primavera e ao verão.

É importante ressaltar a necessidade de maiores investigações para ter-se uma resposta conclusiva com relação à influência da sazonalidade em mudanças da espessura da camada. A disponibilidade de uma amostra que inclua indivíduos de todas as classes de maturidade de maneira equitativa nas estações pode tornar os dados mais adequados à análise estatística para o fator sazonal e assim, revelar diferenças significativas entre todas as estações e/ou nas demais regiões medidas. Ou, numa segunda hipótese, as diferenças na espessura da camada de *P. blainvillei* são acentuadas apenas entre outono e inverno, marcando respectivamente a preparação e o final do período reprodutivo, e melhor refletidas na região ventral da camada de gordura. Em pequenos odontocetos, que se alimentam continuamente, mesmo durante o período reprodutivo, espera-se que a variação sazonal não seja tão marcada como nos mysticetos (Evans *et al.* 2003). Além disso, como a camada de gordura também tem importância como um isolante térmico e auxilia na flutuabilidade (Ryg *et al.*, 1988; Rosen & Renouf, 1997; Iverson, 2002), espera-se que o indivíduo deva manter uma espessura mínima para que não haja perda de tais funções, principalmente em situação de escassez de alimento (Evans *et al.*, 2003). É importante observar que a espessura média da camada de gordura é muito menor em odontocetos do que em mysticetos (Iverson,

2002), logo a magnitude das diferenças entre a espessura mínima e máxima deve ser menor nos odontocetos.

Embora no estudo de Caon e Fialho (1999), a espessura da camada de gordura nos diferentes locais medidos tenha apresentado baixa correlação com o peso da camada de gordura em *P. blainvillei*, o que poderia sugerir que a espessura não refletisse com fidelidade as mudanças na condição corporal, os resultados do presente estudo sugerem que a espessura da camada de gordura na região dorsal pode ser utilizada como uma medida indireta da condição corporal. A variabilidade na espessura mostrou diferenças significativas esperadas entre as classes de maturidade (diferenciando filhotes das demais classes) e entre os sexos, diferenciando fêmeas imaturas das maduras, e não diferenciando machos imaturos de maduros, devido ao maior investimento energético para a atividade reprodutiva por parte das fêmeas.

A variação interanual detectada na região dorsal da camada de gordura (Figura 9) pode ser explicada por variações na disponibilidade de recursos alimentares. Isto pode ser resultado de diferentes taxas de recrutamento das presas de toninha e/ou do aumento no esforço de pesca sobre espécies que também façam parte da dieta da toninha, ou ainda de variações das condições ambientais. Mudanças climáticas associadas a eventos de larga escala, como o El Niño, podem interferir na produção primária e assim, afetar a abundância de peixes (Garcia, 1999) e outras presas da toninha. Vale ressaltar a coincidência temporal entre a ocorrência de El Niño no ano de 2002, de intensidade fraca a moderada (CPTEC, 2003), com alterações na composição da dieta de *P. blainvillei* (Mehsen, 2004) e uma melhor condição corporal das toninhas capturadas em 2002. É possível que o tipo de presa consumida em 2002 contivesse maior riqueza lipídica do que as presas consumidas em anos anteriores (2000 e 2001). Uma

investigação da composição da camada de gordura e do teor energético das presas disponíveis nos diferentes anos pode ajudar a esclarecer esta dúvida. Além disso, é importante a realização de estudos integrados e multi-disciplinares para investigar a composição da dieta, composição corporal das presas e da camada de gordura simultaneamente e suas relações para obtenção de um quadro mais preciso.

5. Conclusões

A espessura da camada de gordura na região dorsal foi, entre as três medidas avaliadas, aquela que melhor refletiu as diferenças esperadas no acúmulo de gordura ao longo do desenvolvimento do animal, diferenciando filhotes (menor espessura da camada) em relação aos indivíduos mais velhos, imaturos ou maduros.

Enquanto os machos não apresentaram diferenças na espessura da camada de gordura em função da maturidade sexual (entre maduros e imaturos), fêmeas maduras possuíam maior espessura da camada de gordura dorsal do que as imaturas. Portanto, as diferenças existentes na demanda energética para a atividade reprodutiva entre os sexos, sendo maior nas fêmeas, são refletidas em nível de espessura da camada de gordura nesta espécie.

A variação sazonal na espessura foi evidenciada na região ventral, pelas diferenças significativas entre outono (menores espessuras) e inverno (maiores espessuras), o que sugere que a tendência na variação das espessuras ao longo do ano, acompanhe a demanda energética para a atividade reprodutiva da espécie, e não as mudanças de temperatura do ambiente.

Os indivíduos capturados em 2002 apresentaram maiores espessuras da camada de gordura do que os indivíduos de 2000 e 2001. É necessária uma investigação mais detalhada dos fatores que possam ter causado estas diferenças, incluindo a comparação da composição lipídica da camada de gordura entre estes anos avaliados.

O presente estudo evidenciou que a espessura da camada de gordura na região “C4 dorsal” pode ser usada como indicadora da condição corporal de *P. blainvillei*. Ao investigar a condição corporal de indivíduos encontrados mortos na mesma região de

estudo, pode-se utilizar como índices os valores médios de espessura apresentados neste estudo, considerando que estes são esperados para indivíduos em boa condição corporal, já que não foram incluídos animais de encalhes na amostra. No entanto, é importante a observância das informações sobre a classe de maturidade sexual e da época de captura dos animais ao se determinar a condição corporal em *Pontoporia blainvillei*.

6. Referências Bibliográficas

- ACKMAN, R.G.; HINGLEY, J.H.; EATON, C.A.; LOGAN, V.H. & ODENSE, P.H. 1975 a. Layering and tissue composition in the blubber of the northwest Atlantic sei whale (*Balaenoptera borealis*). *Can. J. Zool.*, 53: 1340–1344.
- ACKMAN, R.G.; HINGLEY, J.H.; EATON, C.A.; SIPOS, J.C. & MITCHELL, E.D. 1975 b. Blubber fat deposition in mysticeti whales. *Can. J. Zool.*, 53: 1332-1339.
- AGUILAR, A. & BORRELL, A. 1990. Patterns of lipid content and stratification in the blubber of fin whales (*Balaenoptera physalus*). *J. Mamm.*, 71(4): 544–554.
- CAON, G. S. 2002. Composição da camada de gordura e do leite da toninha (*Pontoporia blainvillei*) (Mammalia, Cetacea) no litoral norte do Rio Grande do Sul. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- CAON, G. & FIALHO, C. 1999. Morphometric measurements to estimate body fat condition in franciscana dolphin (*Pontoporia blainvillei*) in Rio Grande de Sul state, Southern Brazil. In: Thirteenth Biennial Meeting of the Society for Marine Mammalogy. Realizado de 28 de Novembro a 03 de Dezembro de 1999. Maui, Hawaii. p. 26.
- COSTA, D. P. 2002. Energetics. In: Perrin, W.F.; Wursig, B.; Thewissen, J.G.M. (Eds.). *Encyclopedia of Marine Mammals*. Academic Press, San Diego, 387–394.
- CPTEC. 2003. Infoclima- Boletim de informações climáticas. Ano 10. Nº 3. www.cptec.inpe.br/infoclima
- DANILEWICZ, D. 2003. Reproduction of female franciscana (*Pontoporia blainvillei*) in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *LAJAM*, 2 (2): 67-78.

- EVANS, K.; HINDELL, M. A. & THIELE, D. 2003. Body fat and condition in sperm whales, *Physeter macrocephalus*, from southern Australian waters. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 134: 847–862.
- GARCIA, A. M. 1999. Variações na estrutura da assembléia de peixes das zonas rasas do estuário da Lagoa dos Patos, RS, Brasil, durante os eventos La Niña 1995-1996 e El Niño 1997-1998. Dissertação de mestrado. Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.
- GUINET, C.; ROUX, J. P.; BONNET, M. & MISON, V. 1998. Effect of body size, body mass, and body condition on reproduction of female South African fur seals (*Arctocephalus pusillus*) in Namibia. *Can. J. Zool.*, 76: 1418–1424.
- HANKS, J. 1981. Characterization of population condition. *In*: Fowler, C.W.; Smith, T.D. (Eds.). *Dynamics of large mammal populations*. John Wiley and Sons Inc, New York, 47–73.
- HETZEL, B. & LODI, L. 1993. Baleias, Botos e Golfinhos - Guia de Identificação para o Brasil. Ed. Nova Fronteira. Rio de Janeiro. 279 pg.
- HOHN, A., CHIVERS, S.J., & BARLOW, J.. 1985. Reproductive maturity and seasonality of male spotted dolphins, *Stenella attenuata*, in the eastern tropical Pacific. *Mar. Mamm. Sci.*, 1(4): 273-293.
- IVERSON, S.J. 2002. Blubber. *In*: Perrin, W.F.; Wursig, B.; Thewissen, J.G.M. (Eds.). *Encyclopedia of Marine Mammals*. Academic Press, San Diego, 107–112.
- KOOPMAN, H. T. 1998. Topographical distribution of the blubber of Harbour Porpoises (*Phocoena phocoena*). *J. Mamm.*, 79(1): 260-270.

- LE CREN, E. D. 1951. The length-weight relationship and seasonal cycles in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Animal Ecology* 20:201-219.
- LOCKYER, C. 1981. Growth and energy budgets of large baleen whales from the Southern Hemisphere. *Mammals in the Sea*, FAO Fisheries Series, 5 (3): 379–487.
- LOCKYER, C. 1986. Body fat condition in northeast Atlantic fin whales, *Balaenoptera physalus*, and its relationship with reproduction and food resource. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43: 142–147.
- LOCKYER, C. 1987. Evaluation of the role of fat reserves in relation to the ecology of North Atlantic fin and sei whales. *In*: Huntley, A.C., Costa, D.P., Worthy, A.J., Castellini, M.A. (Eds.). *Approaches to Marine Mammal Energetics*, 183-223. (Society for Marine Mammalogy/Special Publication No. 1).
- LOCKYER, C. 1995. Aspects of the Morphology, Body Fat Condition and Biology of the Harbour Porpoise, *Phocoena phocoena*, in British Waters. *In*: The Biology of the Phocoenids (Eds. Björge, A. and Donovan, G. P.). *Rep. Int. Whal. Comm.* (Special Issue 16): 199- 209.
- LOCKYER, C.; MCCONNELL, L.C. & WATERS, T.D. 1985. Body condition in terms of anatomical and biochemical assessment of body fat in north Atlantic fin and sei whales. *Can. J. Zool.*, 63: 2328–2338.
- MEHSEN, M. 2004. Análise de conteúdos estomacais de toninha, *Pontoporia blainvilliei* (Gervais & D'Orbigny, 1844), capturadas acidentalmente em redes de emalhe costeiro no litoral sul do Rio Grande do Sul durante ano de El Niño (ENSO). Dissertação de Bacharelado, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande. 27 pp.

- PERRIN, W. F. & DONOVAN, G. P. 1984. Report of the workshop on reproduction in whales, dolphins and porpoises. *Rep. Int. Whal. Commn.* (Special Issue) 6: 1-24.
- PINEDO, M. C. 1991. Development and variation of the franciscana, *Pontoporia blainvillei*. PhD Thesis. University of California, Santa Cruz, Estados Unidos. 406 pp.
- READ, A.J., 1990. Estimation of body condition in harbour porpoises, *Phocoena phocoena*. *Can. J. Zool.*, 68: 1962–1966.
- ROSEN, D. A. S. & RENOUF, D. 1997. Seasonal changes in blubber distribution in Atlantic harbor seals: indications of thermodynamic considerations. *Mar. Mamm. Sci.*, 13(2): 229-240.
- RYG, M.; SMITH, T. G. & ORITSLAND, N. A. 1988. Thermal significance of the topographical distribution of blubber in ringed seals (*Phoca hispida*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 45: 985-992.
- RYG, M.; LYDERSEN, C.; MARKUSSEN, N. H.; SMITH, T. G. & ORITSLAND, N. A. 1990. Estimating the blubber content of phocid seals. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 47: 1223-1227.
- SECCHI, E. R; DANILEWICZ, D. & OTT, P. H. 2003. Applying the phylogeographic concept to identify franciscana dolphin stocks: implications to meet management objectives. *J. Cetacean Res. Manage.*, 5(1): 61-68.
- STATSOFT, INC. STATISTICA for Windows, v. 5.0. 1997 [Computer program manual]. Tulsa, USA.

CAPÍTULO II

Composição e estratificação de ácidos graxos da camada de gordura da toninha

Resumo

Com o objetivo de estudar a composição e a estratificação de ácidos graxos (AG) de toninhas, *Pontoporia blainvillei*, foram obtidas amostras da região médio-ventral da camada de gordura de 30 indivíduos. As toninhas foram capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande (32° 05' S e 52° 08' W), entre outubro de 1999 a agosto de 2003. A idade dos animais foi estimada através dos grupos de camadas de crescimento dos dentes. As amostras da camada de gordura foram subdivididas em três estratos de profundidade (pele-músculo). Os lipídios de cada estrato foram extraídos utilizando-se solução (2:1) de clorofórmio-metanol e os ésteres metílicos de ácidos graxos foram extraídos com solução BF₃ – metanol e posteriormente analisados por cromatografia gás-líquida. A identificação de cada ácido graxo foi feita pela comparação dos tempos de retenção das amostras com o de misturas-padrão comercializadas. Um total de 27 ácidos graxos foram identificados, sendo que o 16:1n-7 e o 18:1n-9 estiveram presentes em maiores concentrações (em média 37,14% e 19,70%, respectivamente). A maioria dos AG apresentou gradiente contínuo através dos estratos, aumentando ou diminuindo de concentração do sentido externo (adjacente à pele) para o interno (adjacente ao músculo). Os AG saturados e monoinsaturados de cadeias mais curtas (12:0, 18:0, 14:1n-5 e 15:1) apresentaram os maiores graus de estratificação, aumentando de concentração no sentido do estrato externo. Já os AG poliinsaturados (PUFAs) 20:3, 20:5n-3, 22:6n-3, 20:4n-6 e 22:2 e o monoenólico 24:1n-9 apresentaram maior estratificação no sentido do estrato interno. A composição e a estratificação dos AG também foram diferentes entre as classes etárias e entre os sexos. O total de PUFAs no estrato interno aumentou com a idade e esta relação foi mais forte

em machos. O total de AG saturados presentes no estrato externo diminuiu com a idade, sendo esta relação mais forte em fêmeas. Não foram encontradas correlações entre a idade e a razão de omega-3/ omega-6 para os estratos externo ou interno. Entre os adultos, os machos apresentaram maior grau de estratificação do que fêmeas. O presente estudo evidencia variabilidade na composição de AG dos indivíduos, dando aporte para futuras investigações sobre análises de dieta ou diferenciação de estoques populacionais nesta espécie através da composição de AG.

Palavras-chave: *Pontoporia blainvillei*, toninha, camada de gordura, ácidos graxos, estratificação

Abstract

The fatty acid composition and stratification of the blubber layer (skin-muscle) at the middle-ventral site was studied on 30 franciscana dolphins, *Pontoporia blainvillei*. The animals were accidentally caught by the coastal artisanal fishery from Rio Grande (32° 05' S e 52° 08' W), from October 1999 until August 2003. Age determination was done by GLGs (Growth Layer Groups) from teeth. The lipids were extracted using chloroform-methanol and fatty acids methyl esters were obtained using BF₃-methanol. Analyses were performed by gas-liquid chromatography. Fatty acids were identified by retention time's compared with mix-standard. A total of 27 fatty acids were quantified, with highest concentration for 16:1n-7 (37,14%) and 18:1n-9 (19,70%). The majority of fatty acids presented a continuous gradient of concentration increasing or decreasing through the deep of blubber. The shorter-chain saturated and monounsaturated fatty acids (12:0, 18:0, 15:1 and 14:1n-5) had the highest relative amounts in the outer layer. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) 20:3, 20:5n-3, 22:6n-3, 20:4n-6 and 22:2 and the monounsaturated fatty acid 24:1n-9 had the highest relative amounts in the inner layer. The array of fatty acids differed between age categories and between females and males. PUFA total in the inner layer increased with the age and this relation was stronger on males. The total of saturated fatty acids in the outer layer decreased with the age an this relation was stronger on females. It was not found correlations of the ratio omega-3/ omega-6 with the age of the animals in the outer or inner layer of blubber. Among the adults, males presented stronger stratification than females. This study shows the variety in the fatty acids composition in franciscana,

supporting future investigations about diet analysis or to distinguishing franciscana stocks by fatty acids composition.

Key-words: *Pontoporia blainvillei*, franciscana, blubber, fatty acids, stratification

1. Introdução

As reservas lipídicas nos mamíferos são estocadas principalmente na forma de triacilgliceróis (três moléculas de ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol por ligação éster), mas também podem ser armazenadas na forma de fosfoglicerídeos e colesterol, constituintes das membranas celulares (Lehninger *et al.*, 2002). A camada de gordura, principal local de estoque energético dos mamíferos marinhos (Pond, 1978; Iverson, 2002), é ideal para a investigação das reservas lipídicas. A análise da composição de ácidos graxos de mamíferos marinhos permite examinar padrões de deposição e mobilização das reservas lipídicas (Ackman *et al.*, 1965 e 1975; Lockyer *et al.*, 1984; Iverson *et al.*, 1995) e também tem sido utilizada como um método alternativo para avaliar a dieta em mamíferos marinhos, baseado na comparação da composição de ácidos graxos do predador com a de suas presas (*e.g.* Iverson, 1993; Smith *et al.*, 1997; Littnan *et al.*, 1999; Kirsch *et al.*, 2000; Hooker *et al.* 2001). A camada de gordura, diferentemente da análise de conteúdo estomacal, pode registrar o histórico alimentar do indivíduo ao longo de dias, semanas ou meses (Iverson, 1993). Segundo Smith *et al.* (1997) mais de 60 tipos de ácidos graxos podem ser identificados entre os mamíferos marinhos.

Os peixes, os quais representam uns dos principais constituintes da dieta dos odontocetos, apresentam ácidos graxos de 10 a 24 átomos de carbono, podendo conter apenas ligações covalentes simples entre os átomos de carbono (ácidos graxos saturados) ou conter duplas ligações (ácidos graxos insaturados) em número variável de 1 a 6, do tipo metileno ($-CH_2-$) interrompida ($-CH=CH-CH_2-CH=CH-$) (Maia, 1992). Há presença de altos níveis de ácidos graxos poliinsaturados de cadeias longas

nos lipídios marinhos, como os da família omega-3 e omega-6. Estes ácidos graxos poliinsaturados, os quais são originados de organismos fotossintetizantes, são incorporados pelos mamíferos marinhos através da cadeia alimentar, o que torna estes ácidos graxos bons indicadores de dieta (Iverson, 1993). Alguns isômeros dos ácidos graxos 20:1 e 22:1 estão presentes em grandes quantidades em copépodos que se alimentam de algas (Ackman & Eaton, 1966; Iverson, 1993).

A camada de gordura de várias espécies de mamíferos marinhos apresenta estratificação de conteúdo lipídico e de composição de ácidos graxos, sendo que o estrato mais interno da camada, adjacente ao músculo, é mais ativo metabolicamente do que o estrato próximo à pele, ocorrendo naquele, maior deposição e mobilização de lipídios (Ackman *et al.*, 1975). Trabalhos mais recentes também evidenciam este padrão de estratificação nos ácidos graxos (*e. g.* baleia-fim, *Balaenoptera physalus*, Lockyer *et al.*, 1984; cachalote, *Physeter catodon*, Lockyer, 1991; golfinho-do-porto, *Phocoena phocoena*, Koopman *et al.*, 1996; foca-anelada, *Phoca hispida botnica* e *P. h. hispida*, Käckelä & Hyvärinen, 1996; baleia-nariz-de-garrafa, *Hyperoodon ampullatus*, Hooker *et al.*, 2001; elefante-marinho-do-sul, *Mirounga leonina*, Best *et al.*, 2003; baleia-minke, *Balaenoptera acutorostrata*, Olsen & Grahl-Nielsen, 2003). Koopman *et al.* (1996) também observaram que o grau da estratificação da camada de gordura da golfinho-do-porto estava relacionado à idade, resultado de um histórico alimentar de longo prazo.

A composição de ácidos graxos da camada de gordura também tem sido utilizada em estudos sobre diferenças populacionais, considerando ou não a existência de subespécies (*e. g.* Käckelä *et al.*, 1993; Käckelä & Hyvärinen, 1996; Smith *et al.*, 1996; Olsen & Grahl-Nielsen, 2003). Assim, a composição de ácidos graxos também pode ser

uma importante ferramenta para diferenciar estoques para o manejo e a conservação da toninha.

A análise de ácidos graxos em mamíferos marinhos ainda é pouco explorada na América do Sul. A composição de ácidos graxos da toninha, *Pontoporia blainvillei*, foi estudada por Caon (2002), embora com pequeno número amostral (n=6) e sem a preocupação de investigar a presença de estratificação na camada de gordura. Este trabalho mostrou que os ácidos graxos encontrados em maior concentração foram o ácido palmitoléico (16:1n-7), o ácido oléico (18:1n-9) e o ácido palmítico (16:0) e também foram detectados, em proporções menores, poliinsaturados de 18, 20 e 22 carbonos.

Tendo em vista que o conhecimento dos padrões de deposição e mobilização de lipídios na camada de gordura da toninha ainda é escasso, o presente estudo tem por objetivos:

1. Identificar a composição de ácidos graxos da camada de gordura subcutânea de *P. blainvillei*;
2. Analisar quantitativamente a composição de ácidos graxos da camada de gordura, verificando se há existência de estratificação na camada;
3. Avaliar as possíveis variações na composição e estratificação de ácidos graxos da camada de gordura de acordo com a idade e o sexo dos indivíduos.

A partir do conhecimento da composição de ácidos graxos da toninha e dos fatores que influenciam na variação desta composição na população, será possível avaliar as implicações do uso de padrões de ácidos graxos para examinar o forrageio ecológico, a dieta e a diferenciação de estoques populacionais nesta espécie. Os referidos estudos

foram recomendados pelo Grupo de Trabalho sobre Biologia e Ecologia da Franciscana (Danilewicz *et al.* 2002).

2. Material e Métodos

2.1. Obtenção das amostras

Os indivíduos analisados foram provenientes de capturas acidentais em redes de emalhe, obtidos através do programa de monitoramento da frota pesqueira do município do Rio Grande (32° 05' S e 52° 08' W) que opera no litoral sul do Rio Grande do Sul, entre Mostardas (31° 13' S) e Chuí (33° 45' S). As atividades desta arte de pesca geralmente ocorrem em profundidades de 10 a 30 metros. O monitoramento acompanhou os desembarques de 10%-15% da frota costeira de emalhe, correspondendo a 15 embarcações no período de outubro de 1999 a agosto de 2003. As necropsias foram realizadas no Museu Oceanográfico “Prof. Eliézer de Carvalho Rios”, de 1 a 5 dias *post mortem*. Previamente à coleta de material biológico, foram tomadas medidas do comprimento e peso totais dos indivíduos e determinou-se o sexo.

De cada indivíduo foi obtida uma amostra da camada de gordura de aproximadamente 2 cm³ da região médio-ventral (C4 - v, Figura 3 do Capítulo I), incluindo toda a profundidade da camada, desde a pele até o músculo. As amostras foram envoltas em papel alumínio e armazenadas em freezer a -20° C. Já que este tipo de armazenamento poderia ter resultado em oxidação das amostras, tomou-se o cuidado de selecionar as amostras que estivessem em bom estado, com a coloração próxima daquela natural obtida em animais frescos e então as amostras foram re-embaladas em plástico filme (retirando-se o alumínio) ou colocadas em potes de plástico com tampa, e mantendo-as em freezer até a análise.

Para a análise de ácidos graxos foi selecionada uma amostra de 30 indivíduos (15 machos e 15 fêmeas) de diversos comprimentos totais. Esta seleção visou tornar a amostra representativa das diferentes classes de tamanho da população de toninha na região de estudo. Foram incluídos indivíduos capturados acidentalmente nas diferentes estações dos anos de 1999 (n=3), 2000 (n=3), 2001 (n=1), 2002 (n=15) e 2003 (n=8) para englobar a variação temporal de alimentação e assim, incluir uma maior variabilidade de ácidos graxos originários da dieta no período estudado.

Para avaliar a presença ou não de estratificação, cada amostra de camada de gordura foi subdividida em três estratos: externo (adjacente à pele), intermediário e interno (adjacente ao músculo). Assim, um total de 90 sub-amostras foi obtido, conforme representação na Figura 1. Os pontos de corte dos estratos foram baseados na estrutura histológica da camada de gordura, que apresenta estratificação em relação ao tamanho e à forma dos adipócitos ao longo da sua profundidade (Iverson, 2002). No corte do estrato interno, a bainha adjacente ao músculo (cerca de 2 a 3 mm) foi retirada, pois apresentava coloração e aspecto de gordura oxidada, o que poderia interferir na análise.

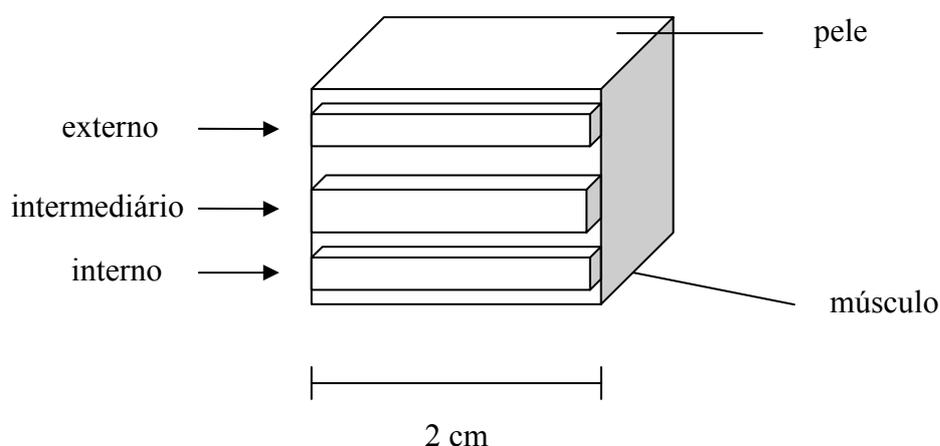


Figura 1: Esquema da amostra de camada de gordura da toninha com os pontos de corte dos estratos indicados pelas setas (para localização da amostra na camada de gordura, ver Figura 3, Capítulo I= C4 v).

2.2. Obtenção e identificação de ácidos graxos

Os lipídios das amostras de gordura ventrais foram extraídos em clorofórmio-metanol pelo método de Folch *et al.* (1957) e os ácidos graxos metilados com uma solução 8% de trifluoreto de boro em metanol ($\text{BF}_3 - \text{MeOH}$), através do procedimento desenvolvido pela Dra. Sara Iverson do Departamento de Biologia da Universidade de Dalhousie, Halifax/ Canadá, com adaptações. Este procedimento foi realizado no Laboratório de Química Instrumental do Departamento de Química da FURG, com as seguintes etapas:

1ª) Extração de lipídio

a) Reagentes:

solução 2:1 de clorofórmio/ metanol ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) com 0,01% BHT (v/v/w)

solução NaCl 0,7 %

clorofórmio p. a.

sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4)

hexano p. a.

b) Método:

Para cada amostra de gordura de 500 mg (0,5 g) pesada:

1. Adicionar 10,5 ml de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{BHT}$ em tubo falcon, tampar e agitar, triturar com bastão de vidro.
2. Adicionar 3,5ml de NaCl 0,7% e agitar.

3. Centrifugar por 15-20 minutos. Após centrifugação, formar-se-á 2 camadas distintas. A fase superior contém essencialmente toda água, metanol e constituintes não lipídicos, enquanto a fase inferior contém todo clorofórmio e lipídio.
4. Com micropipeta, remover fase superior e desprezar. Remover até a interface (não perturbá-la).
5. Coletar o lipídio da fase inferior com micropipeta, utilizando uma ponteira por amostra.
6. Colocar o lipídio em novo tubo falcon, passando por um filtro contendo uma colher de Na_2SO_4 , deixando descansar. Lavar 2x com 1ml de clorofórmio o tubo com filtro de Na_2SO_4 para extrair o restante do lipídio, deixando descansar. Transferir para um tubo de ensaio de vidro com tampa de rosca, pré-pesado e identificado.

Obs.: Aqui, pode-se parar e armazenar as amostras no freezer ou continuar.

7. Evaporar todo o solvente sob nitrogênio em banho-maria a 25-30°C, sem deixar esparramar a amostra (a amostra fica pronta quando se assemelhar a óleo). Deixar no dessecador sem tampa por 24h a 48h.
8. Pesar os tubos tampados. Subtrair o peso do tubo vazio para conhecer o peso de lipídio.

2ª) Transesterificação – produção de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME)

a) Reagentes:

solução de BF_3 8% em metanol

hexano p. a.

sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4)

b) Método:

1. Transferir com micropipeta aproximadamente 100 mg de lipídio da amostra para um balão e armazenar o restante em freezer. Adicionar 1,5 ml hexano e 1,5 ml BF3 8%, tampar e agitar.
2. Colocar os balões acoplados a um condensador de água, sobre uma chapa a 100°C por 50 min. Esfriar a temperatura ambiente.
3. Transferir para tubos de centrífuga de 10 ml. Adicionar 1ml de hexano e 2ml de água destilada. Tampar e agitar.
4. Centrifugar por 3 min a 3000 rpm. NOTA: agora o FAME e hexano estão na camada superior e a água está na camada inferior. Remova a camada superior para um tubo novo 2.
5. Repita os passos 3 e 4 duas vezes para tubo 1, sem a adição de água.
6. Para tubo 2, adicione 2 ml de água destilada, tampe e agite, centrifugue por 2 min.
7. Remova camada superior para tubo novo 3 contendo 1 colher de Na_2SO_4 , tampe, misture gentilmente e centrifugue por 2 min.
8. Transfira o solvente para um tubo de estoque (5 ml).
9. Evaporar sob nitrogênio em banho-maria.
10. Diluir em 1 ml de hexano e injetar 1 ul da amostra no cromatógrafo.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados em um cromatógrafo a gás modelo Varian-3400 CX equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar modelo DB-FFAP Megabore com 30 m de comprimento e 0,545 mm de diâmetro com um filme de 1 mm de espessura, contendo como fase estacionária ácido nitrotereftálico modificado por polietileno glicol. O gás de arraste foi o Nitrogênio a $1\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A coluna foi programada, com temperatura inicial de 100°C por 3 min, aumentando $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 180°C , permanecendo nesta temperatura 1 minuto e após, aumentando $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 200°C , na qual permanecia por 10 min. Novamente, aumentava $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 210°C , permanecendo 5 min. Por fim, a temperatura era aumentada de $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 220°C , na qual permanecia por 15 min, totalizando 67 minutos de corrida cromatográfica. A temperatura do detector foi de 270°C e do injetor, 250°C . As análises cromatográficas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Química da FURG.

A identificação de cada ácido graxo foi feita pela comparação do tempo de retenção das amostras com o tempo de retenção de mistura-padrão de ácidos graxos. Um kit contendo uma mistura de 37 padrões de ácidos graxos da Sigma-Supelco® foi adquirido (ANEXO). A mistura-padrão foi diluída em hexano 10 vezes para injeção no cromatógrafo. A quantificação dos ácidos graxos foi feita por normalização de áreas, através do *software* Varian Star 4.51. Foram submetidos à identificação os picos de ácidos graxos com área $\geq 0,5\%$ da área total. A nomenclatura de ácidos graxos utilizada está de acordo com as normas da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*):

onde: NC é o número de carbonos, NL é o número de ligações duplas e n-x denota a posição da última ligação dupla em relação ao grupo metila terminal do ácido graxo, com exceção daqueles em que não foram identificados os isômeros, em cuja nomenclatura não foi determinado n-x, tais como 15:1, 17:1, 18:3, 20:3 e 22:2.

Todos os ácidos graxos com duas ou mais ligações duplas foram tratados como poliinsaturados (conforme Koopman *et al.*, 1996). Ácidos graxos com cadeia menor ou igual a 18 carbonos foram considerados de cadeia curta e os maiores de 18 carbonos, de cadeia longa (conforme Best *et al.*, 2003).

2.3. Determinação de idade

A determinação de idade dos indivíduos foi feita a partir de contagem de linhas de crescimento nos dentes, os quais foram extraídos da mandíbula inferior esquerda de cada indivíduo, sendo limpos e acondicionados a seco. Os quais foram limpos e acondicionados a seco. A técnica de determinação da idade através de cortes dos dentes foi descrita por Kasuya & Brownell (1979) e modificada por Pinedo & Hohn (2000). Esta técnica está baseada na contagem dos grupos de camadas de crescimento (*Growth Layer Groups*, GLGs, Perrin & Myrick, 1980), em que cada grupo está constituído por uma banda clara e outra escura, sendo visualizados no cemento e/ou na dentina. Em *P. blainvillei*, cada GLG corresponde a um ano de idade. A técnica envolve descalcificação com RDO[®], corte em micrótomo de congelamento, coloração com hematoxilina de Mayer e montagem das lâminas histológicas utilizando glicerina como meio de inclusão. A leitura da idade foi feita em microscópio óptico. Todo o procedimento foi

realizado no Laboratório de Mamíferos Marinhos e Tartarugas Marinhas do Departamento de Oceanografia da FURG.

2.4. Tratamento estatístico

Foram calculados a média e o desvio padrão do percentual de cada ácido graxo encontrado em relação ao total de ácidos graxos da amostra (incluindo os não identificados) e sua frequência relativa (%) ao número amostral em cada estrato: externo (adjacente à pele), intermediário e interno (adjacente ao músculo). Já que alguns ácidos graxos ocorreram em baixas frequências, os valores médios foram calculados incluindo-se apenas os casos em que ocorreram os respectivos ácidos graxos, excluindo-se todos os valores iguais a 0%.

O grau de estratificação foi calculado como um índice de estratificação relativa (IER) (Olsen & Grahl-Nielsen, 2003) para cada ácido graxo encontrado, a partir da média da sua concentração relativa (%) no estrato externo (C_e) e no estrato interno (C_i) dos 30 indivíduos:

$$IER = (C_e - C_i) / ((C_e + C_i) / 2)$$

Neste índice, os valores negativos representam gradiente com aumento no sentido externo para interno da camada, sendo que o valor máximo do índice (= 2,0 em módulo) expressa ausência do AG em um dos estratos. Para o cálculo deste índice, consideraram-se todos os valores, inclusive os iguais a 0%, para obtenção da média em cada estrato. O IER também foi calculado separadamente para as três classes etárias: 0 anos (filhotes),

1-3 anos (juvenis) e > 3 anos (adultos) e para machos e fêmeas juvenis e adultos. A divisão por classes etárias foi feita a partir da idade média de maturidade sexual dos animais, sendo em torno de 3,5 anos para as toninhas no Rio Grande do Sul (Danilewicz, 2003; Danilewicz *et al.*, 2004). Dentro da categoria adultos, 87,50% (n=7/8) dos animais eram maduros sexualmente, enquanto na categoria dos juvenis, 66,67% (n=10/15) dos animais ainda eram imaturos.

Os AG com valores do IER maiores que 0,2 e menores que 2,0 (em módulo) foram considerados principais para testar diferenças entre os estratos. Assim, as concentrações nos estratos externo e interno dos principais AG obtidos foram comparadas através do teste “U - Mann-Whitney” não paramétrico, a um nível de significância $\alpha = 0,05$ para a amostra total (n=30). As diferenças de concentrações de cada AG e dos níveis totais de AG saturados, monoinsaturados, poliinsaturados, omega-3, omega-6 e razão omega-3/omega-6 para machos (n=15) e fêmeas (n=15) também foram testadas através do teste “U - Mann-Whitney”, separadamente para cada estrato da camada de gordura. As diferenças de concentrações de cada AG entre as classes etárias não foram testadas estatisticamente em função do pequeno número amostral, portanto os resultados são apenas descritivos e estão mostrados graficamente.

As correlações entre o total de ácidos graxos saturados, monoinsaturados ou o total de poliinsaturados e a idade foram estudadas a partir do Coeficiente de Correlação de Pearson, após normalização dos valores percentuais pelo ARCOSENO ($\sqrt{x/100}$), avaliados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov (K-S test, $p > 0,05$). As correlações entre o total de omega-3, omega-6 e a razão omega-3/omega-6 e a idade foram testadas através do Coeficiente de Correlação de Spearman.

Foi utilizado o programa *Statistica* v. 5.0. (StatSoft, Inc., 1997) para a realização dos testes.

3. Resultados

Em virtude do tipo de coluna utilizada e dos parâmetros de operação na cromatografia, não puderam ser diferenciados os pares de ácidos graxos (AG) 18:3n-3/18:3n-6 e 20:3n-3/20:3n-6, cujos tempos de retenção são muito próximos. Portanto, os níveis apresentados nos resultados para estes ácidos graxos podem referir-se a um ou outro, ou até mesmo a ambos AG somados. Os pares *cis* e *trans* dos padrões dos ácidos graxos 18:1n-9 e 18:2n-6 também não foram separados em virtude da coluna utilizada. Porém, sabe-se que na maioria dos ácidos graxos naturais as suas ligações duplas apresentam-se em configuração *cis*, sendo os AG *trans* muito raros (Lehninger *et al.*, 2002). Conseqüentemente, o 18:1n-9 encontrado representa o ácido oléico e o 18:2n-6, o ácido linoléico; em virtude destes AG terem sido detectados em altas concentrações neste estudo. Nos AG monoinsaturados 15:1 e 17:1 (mais raros nos mamíferos marinhos) não foi identificada a posição n-x, uma vez que foram registrados diferentes isômeros destes AG em outras espécies (*e. g.* Käkälä *et al.*, 1993; Käkälä & Hyvärinen, 1996; Koopman *et al.*, 1996; Olsen & Grahl-Nielsen, 2003) o que torna difícil a identificação precisa do ácido. O AG 22:2 encontrado também poderia se tratar de algum isômero do padrão utilizado (22:2n-6), visto a ausência deste AG em trabalhos anteriores com mamíferos marinhos (*e. g.* Käkälä *et al.*, 1993; Käkälä & Hyvärinen, 1996; Koopman *et al.*, 1996; Olsen & Grahl-Nielsen, 2003). Portanto, a identificação da posição n-x do AG 22:2 não foi determinada.

3.1. Composição e estratificação de ácidos graxos

Um total de 27 ácidos graxos foi identificado na camada de gordura da toninha (Tabela 1). Aproximadamente 7% dos ácidos graxos não foram identificados (=6,87%) por se tratarem de AG para os quais não havia os padrões disponíveis ou por encontrarem-se em concentrações menores que traços (0,5%). Estes são referidos como “outros” (Tabela 1).

Os ácidos graxos presentes em maiores concentrações foram: 16:1n-7 (37,14%) e 18:1n-9 (19,70%), seguidos do 14:1n-5 (8,67%), 14:0 (7,47%), 16:0 (6,16%) e 24:1n-9 (6,02%). Os ácidos graxos mais freqüentes foram: 14:1n-5, 16:1n-7 e 18:1n-9, presentes em todas as amostras dos três estratos, seguidos do 13:0 e 14:0, presentes em 92,22% das amostras e do 12:0, presente em 90% das amostras (Tabela 1).

Tabela 1: Composição de ácidos graxos por estratos* da camada de gordura das toninhas (n=30) capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (Fr= frequência relativa de amostras, IER= Índice de Estratificação Relativa, cujos valores > 0,35 em módulo são expressos em negrito).

AG	Externo		Intermediário		Interno		Geral		IER
	Média ± DP	Fr (%)	Média ± DP	Fr (%)	Média ± DP	Fr (%)	Média ± DP	Fr (%)	
12:0	2.39 ± 1.33	93.33	1.95 ± 1.18	90.00	1.61 ± 0.95	86.67	1.98 ± 1.15	90.00	0.46
13:0	2.00 ± 1.41	93.33	1.82 ± 0.56	93.33	1.96 ± 0.61	90.00	1.93 ± 0.86	92.22	0.06
14:0	7.80 ± 2.03	96.67	7.45 ± 1.79	90.00	7.17 ± 2.18	90.00	7.47 ± 2.00	92.22	0.16
14:1n-5	10.18 ± 2.75	100.00	8.92 ± 3.26	100.00	6.92 ± 3.79	100.00	8.67 ± 3.26	100.00	0.38
15:0	0.88 ± 0.48	30.00	0.66 ± 0.18	33.33	0.79 ± 0.29	46.67	0.78 ± 0.31	36.67	-0.33
15:1	0.75 ± 0.30	16.67	0.67 ± 0.08	10.00	1.36 ± 0.00	3.33	0.93 ± 0.12	10.00	0.94
16:0	4.83 ± 2.20	60.00	6.19 ± 2.25	56.67	7.45 ± 3.37	50.00	6.16 ± 2.61	55.56	-0.25
16:1n-7	38.48 ± 7.93	100.00	36.56 ± 8.91	100.00	36.38 ± 9.73	100.00	37.14 ± 8.86	100.00	0.06
17:0	1.01 ± 0.41	53.33	1.10 ± 0.33	50.00	0.97 ± 0.24	53.33	1.03 ± 0.33	52.22	0.04
17:1	1.04 ± 0.54	60.00	0.98 ± 0.29	60.00	0.94 ± 0.20	56.67	0.99 ± 0.34	58.89	0.16
18:0	1.02 ± 1.33	56.67	0.93 ± 0.53	43.33	0.93 ± 0.31	43.33	0.96 ± 0.72	47.78	0.36
18:1n-9	16.92 ± 5.46	100.00	20.23 ± 5.11	100.00	21.96 ± 4.94	100.00	19.7 ± 5.17	100.00	-0.26
18:2n-6	0.93 ± 0.39	36.67	0.84 ± 0.26	40.00	0.81 ± 0.16	40.00	0.86 ± 0.27	38.89	0.05
18:3	1.26 ± 1.43	20.00	0.89 ± 0.59	30.00	0.90 ± 0.53	20.00	1.02 ± 0.85	23.33	0.33
20:0	0.52 ± 0.00	3.33	0.97 ± 0.00	3.33	ND	-	0.5 ± 0.00	2.22	2.00
20:1n-9	0.65 ± 0.00	3.33	0.69 ± 0.26	6.67	0.57 ± 0.00	3.33	0.64 ± 0.09	4.44	0.14
20:2n-6	1.21 ± 1.16	36.67	1.75 ± 2.54	46.67	1.01 ± 0.45	46.67	1.32 ± 1.38	43.33	-0.06
20:3	ND	-	1.24 ± 0.76	6.67	0.74 ± 0.39	13.33	0.66 ± 0.38	6.67	-2.00
20:4n-6	2.42 ± 1.91	73.33	2.67 ± 1.73	80.00	3.40 ± 2.01	83.33	2.83 ± 1.88	78.89	-0.46
20:5n-3	0.55 ± 0.00	3.33	0.76 ± 0.24	6.67	1.60 ± 1.08	26.67	0.97 ± 0.44	12.22	-1.83
21:0	2.06 ± 1.46	46.67	2.58 ± 1.89	26.67	2.88 ± 2.30	36.67	2.51 ± 1.88	36.67	-0.09
22:0	2.29 ± 2.30	43.33	3.07 ± 4.10	40.00	2.55 ± 1.81	30.00	2.63 ± 2.73	37.78	0.26
22:1n-9	1.54 ± 0.89	26.67	4.00 ± 4.45	23.33	1.71 ± 1.24	30.00	2.42 ± 2.19	26.67	-0.22
22:2	3.35 ± 6.11	53.33	3.11 ± 2.14	50.00	3.79 ± 3.36	70.00	3.42 ± 3.87	57.78	-0.39
22:6n-3	1.83 ± 2.21	23.33	4.85 ± 3.60	36.67	5.37 ± 3.78	30.00	4.01 ± 3.20	30.00	-1.16
24:0	1.94 ± 1.03	36.67	2.85 ± 0.81	36.67	2.60 ± 0.97	23.33	2.47 ± 0.94	32.22	0.16
24:1n-9	5.18 ± 3.85	23.33	5.91 ± 5.11	26.67	6.96 ± 5.52	26.67	6.02 ± 4.83	25.56	-0.42
Outros	8.34 ± 5.39		6.14 ± 3.98		6.14 ± 3.83		6.87 ± 4.40		
Σ saturados	18.61 ± 4.32		17.83 ± 6.75		17.05 ± 8.27		17.83 ± 6.45		
Σ mono insaturados	67.97 ± 9.73		68.92 ± 12.63		68.23 ± 12.79		68.38 ± 11.72		
Σ poli insaturados	5.04 ± 5.49		7.02 ± 4.36		8.60 ± 4.94		6.88 ± 4.93		
Σ n-3	0.44 ± 1.28		1.83 ± 3.19		2.04 ± 3.13		1.44 ± 2.53		
Σ n-6	2.56 ± 2.15		3.28 ± 2.63		3.63 ± 2.45		3.16 ± 2.41		
n-3/ n-6	0.30 ± 0.77		1.27 ± 3.13		0.63 ± 0.91		0.73 ± 1.60		

* Ver Figura 1 para localização dos estratos

A maioria dos ácidos graxos apresentou um aumento contínuo dos valores médios através dos estratos, para um ou outro sentido, mostrando tendência à estratificação. Os AG saturados de cadeias mais curtas (12:0, 14:0 e 18:0) diminuíram de concentração no sentido do estrato externo para o interno, embora o AG 18:0 estivesse presente em proporções baixas em todos os estratos (< 1,1%). O valor total de ácidos graxos saturados encontrados acompanhou este sentido de estratificação, diminuindo de concentração para o sentido do estrato interno. Quanto aos AG monoinsaturados, o 14:1n-5, o 16:1n-7 e o 17:1 também apresentaram gradiente de concentração diminuindo no sentido externo-interno, porém o AG 17:1 foi encontrado em baixas concentrações (< 1,1%). Um único AG poliinsaturado, o 18:2n-6, apresentou diminuição de concentração no sentido externo-interno, embora também tenha sido encontrado em baixas concentrações (< 1%). Um padrão de estratificação em sentido oposto, aumentando os valores médios do estrato externo para o interno, foi observado nos ácidos graxos saturados 16:0 e 21:0, assim como nos AG monoinsaturados 18:1n-9 e 24:1n-9 e nos poliinsaturados (PUFAs) 20:4n-6, 20:5n-3 e 22:6n-3. O valor total de PUFAs acompanhou este aumento do estrato externo para o interno, assim como ocorreu com o total de AG das famílias omega-3 (20:5n-3 e 22:6n-3) e omega-6 (18:2n-6, 20:2n-6 e 20:4n-6) (Tabela 1).

Os ácidos graxos 22:0, 24:0, 22:1n-9 e 20:2n-6 mostraram um padrão de distribuição peculiar, com concentrações mais altas no estrato intermediário. O mesmo ocorreu com o AG 17:0, embora estivesse presente em menores quantidades na camada de gordura (< 1,2%). A razão entre omega-3 e omega-6 foi mais alta no estrato intermediário (Tabela 1).

O AG 20:0 esteve ausente no estrato interno e o AG 20:3 não ocorreu no estrato externo.

Os ácidos graxos que demonstraram maior grau de estratificação, a partir de seus IERs foram: 20:0, 15:1, 12:0, 14:1n-5 e 18:0 (aumentando para o estrato externo) e os poliinsaturados 20:3, 20:5n-3, 22:6n-3, 20:4n-6 e 22:2, além do monoenoico 24:1n-9 (aumentando para o estrato interno) (Tabela 1).

Os ácidos graxos que diferiram significativamente entre os estratos externo e interno foram: 12:0 (maior concentração no estrato externo) e os insaturados 20:4n-6, 22:2 e 18:1n-9 (maiores concentrações no estrato interno). Os níveis totais de PUFAs foram significativamente maiores no estrato interno ($p < 0,0008$), bem como os níveis totais de omega-3 ($p = 0,0496$).

3.2. Variação da composição e estratificação de ácidos graxos de acordo com a idade

A distribuição etária da amostra foi de zero a 8 anos, sendo que as idades de zero e 1 ano foram as mais frequentes ($n = 7$ e $n = 9$, respectivamente; Figura 2), demonstrando que a maior parte dos indivíduos era de jovens.

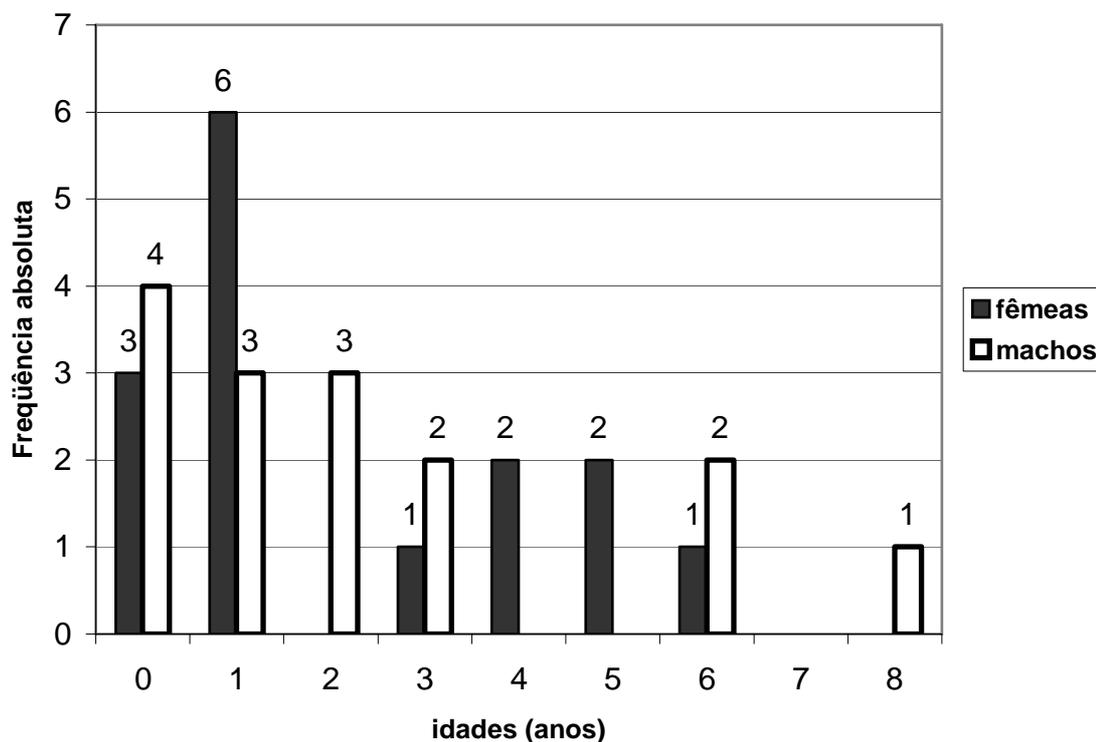


Figura 2: Distribuição etária dos indivíduos de *Pontoporia blainvillei* (n=30) capturados acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003.

A separação dos resultados da composição da camada de gordura por classes etárias (0 anos = filhotes; 1-3 anos = juvenis e >3 anos = adultos), demonstra que a composição e a estratificação dos ácidos graxos apresentaram diferenças (Figura 3-a, b e c). Na camada de gordura dos filhotes, o ácido graxo 20:3 não foi detectado, enquanto o 20:0 não foi encontrado nos filhotes e nos juvenis, mas ambos estavam presentes em adultos. Apenas na camada de gordura dos juvenis o 20:1n-9 não ocorreu.

De um modo geral, os filhotes tiveram um menor número de ácidos graxos ocorrendo em todos os estratos, comparando-os com as outras classes etárias. No estrato externo dos filhotes, estiveram ausentes os PUFAs 18:2n-6, 18:3n-6 e 20:2n-6, os quais

estiveram presentes no respectivo estrato de juvenis e adultos, além do monoenóico 20:1n-9, presente no estrato externo dos adultos. No estrato intermediário de filhotes não ocorreram os saturados: 15:0, 17:0 e 22:0, os quais ocorreram nas demais classes etárias. O 15:0, 18:3 e 22:0 foram ausentes no estrato interno de filhotes, mas presente nas outras classes etárias. O 15:1, presente em baixas concentrações, foi detectado apenas no estrato intermediário de filhotes e, nos adultos, foi exclusivo do estrato externo, porém ocorreu nos três estratos dos juvenis. Nos juvenis e adultos o 20:3 só ocorreu nos estratos intermediário e interno e o 20:5n-3, somente no interno de juvenis e nos estratos intermediário e interno de adultos. Nos adultos, não foram detectados no estrato interno o 20:0 e o 20:1n-9 (Figura 3-a, b e c).

Quanto às concentrações, os ácidos graxos mais abundantes foram os monoinsaturados 16:1n-7 e 18:1n-9 para as três classes etárias e nos três estratos, sendo que para o 18:1n-9 o gradiente de concentração teve o mesmo sentido em filhotes, juvenis e adultos, aumentando no sentido externo-interno. O somatório destes dois AG principais fez em média 64,67% do total de AG na camada interna de filhotes, 53,07% em juvenis e 62,69% em adultos. Outros AG, presentes em grandes quantidades, que mostraram o mesmo sentido de gradiente nas três classes foram: 14:1n-5 (diminuindo para o estrato interno) e 16:0 (aumentando para o estrato interno). O 14:0 apresentou gradiente diminuindo no sentido externo-interno em filhotes e juvenis, mas o oposto em adultos (Figura 3-a, b e c).

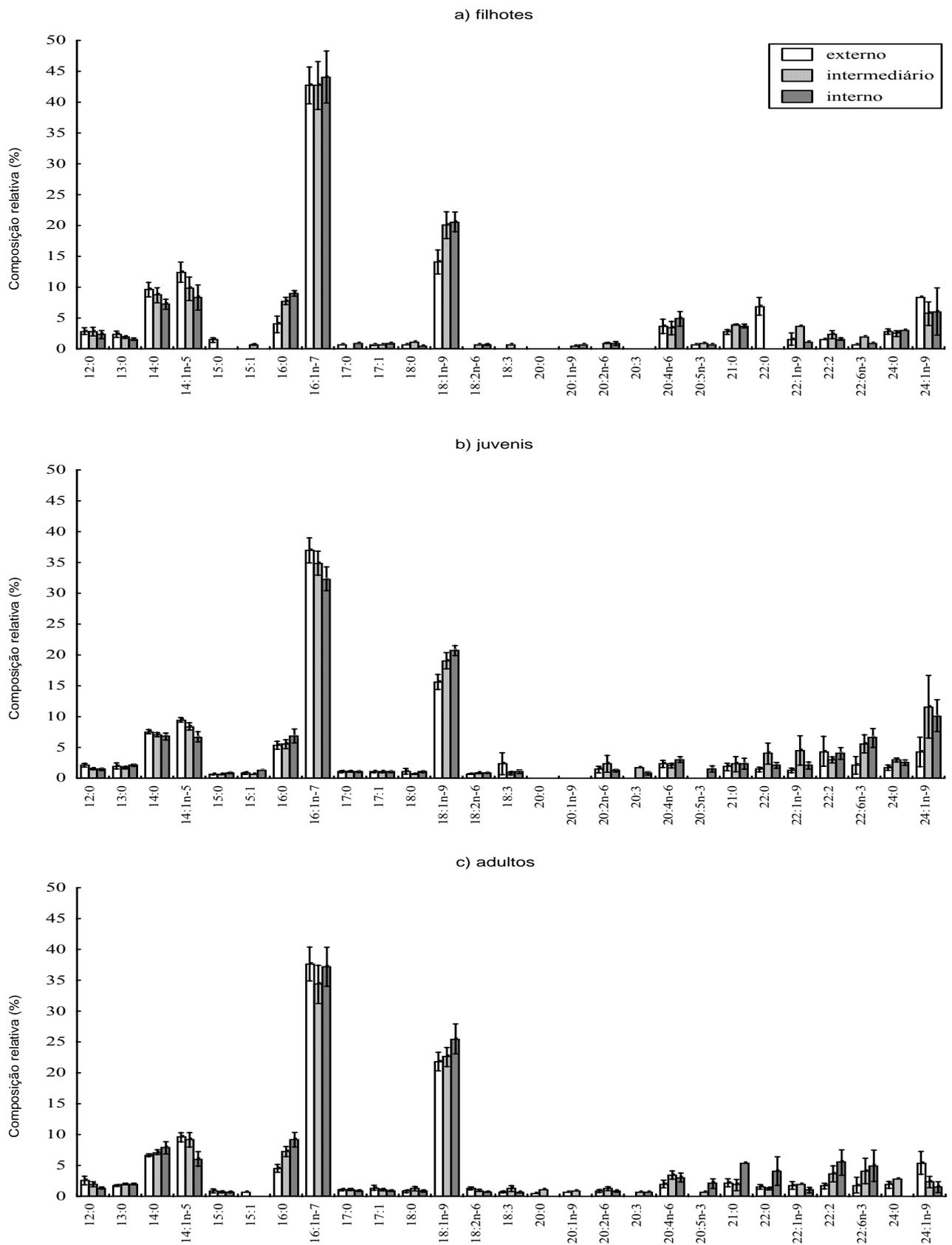


Figura 3: Composição relativa (%) de ácidos graxos por estratos da camada de gordura das toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003. Cada coluna representa a média da concentração de ácidos graxos e a “barra de erro”, o erro padrão. a) filhotes (n=7); b) juvenis (n=15); c) adultos (n=8).

Os AG com valores mais altos do IER em filhotes foram: 15:0, 22:0 e 22:1n-9 (contribuindo para o estrato externo) e 18:2n-6, 20:1n-9, 20:2n-6 e 22:2 (contribuindo para o estrato interno). Em juvenis, somente o 15:1 teve um alto valor de IER (= 0,79) contribuindo para o estrato externo e 20:3, 20:5n-3, 22:6n-3, 15:0 e 22:1n-9 contribuíram mais para o estrato interno. Nos adultos, os AG 15:1, 20:0, 20:1n-9, 24:0, 24:1n-9 e 18:2n-6 apresentaram os maiores valores de IER para o estrato externo e os AG 20:3, 20:5n-3, 22:6n-3 e 22:2, para o interno (Figura 4).

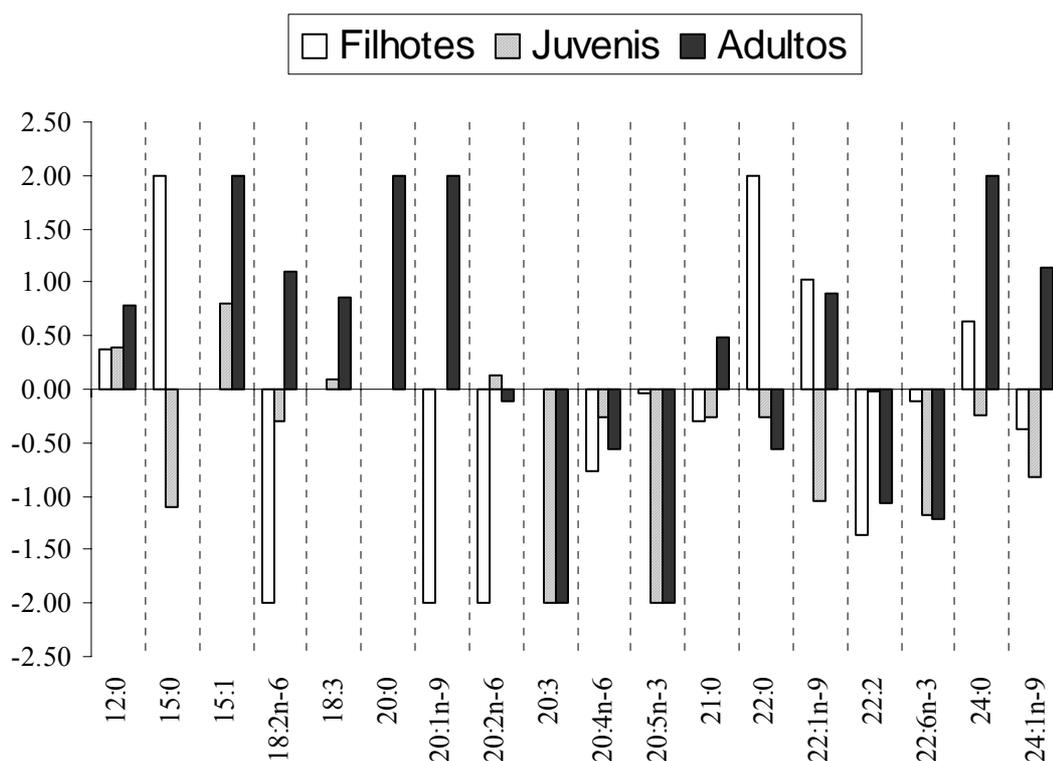


Figura 4: Índice de Estratificação Relativa (IER) dos principais ácidos graxos da camada de gordura de filhotes (n=7), juvenis (n=15) e adultos (n=8) de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (valores negativos expressam estratificação com gradiente de aumento para o estrato interno).

Em todos os estratos das três classes etárias, o somatório dos AG monoinsaturados prevaleceu sobre a soma de AG saturados e PUFAs. O somatório dos AG monoinsaturados variou de 64,08% no estrato interno de juvenis a 75,82% no estrato intermediário dos filhotes (Figura 5). Ao comparar-se os valores médios do total de PUFAs, notou-se um acréscimo no sentido filhotes-adultos, mantendo-se nas três classes um gradiente de aumento no sentido externo-interno, enquanto os níveis totais de AG saturados apresentaram gradiente oposto (diminuindo para o estrato interno) nos filhotes (Figura 5). Entre os filhotes, a frequência de ocorrência também foi baixa na maioria dos PUFAs: 20:5n-3, 22:2 e 22:6n-3 para o estrato externo (n=1), 18:2n-6, 18:3n-6, 20:5n-3 e 22:6n-3 para o estrato intermediário (n=1) e 20:5n-3 e 22:6n-3 para o interno (n=1).

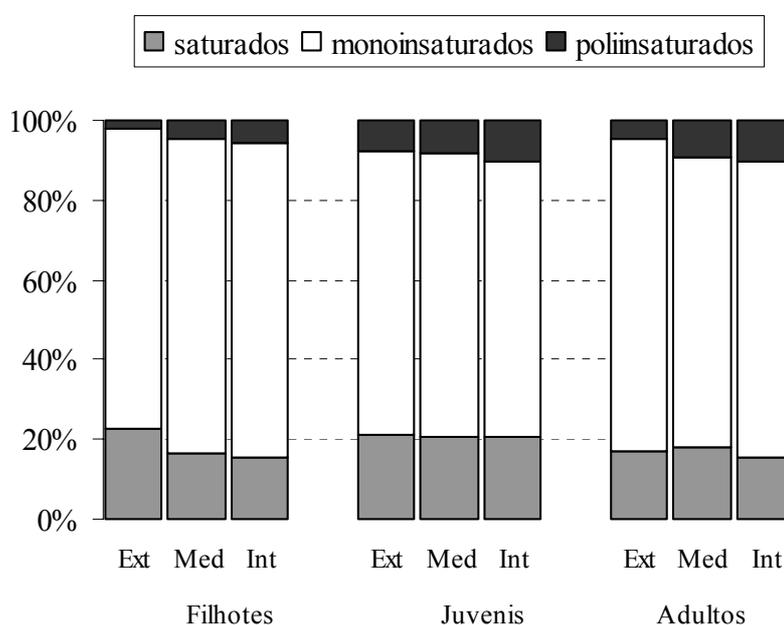


Figura 5: Composição relativa (%) de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados por cada estrato da camada de gordura de filhotes (n=7), juvenis (n=15) e adultos (n=8) de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (Ext= externo, Med= intermediário, Int= interno).

A concentração total de ácidos graxos saturados no estrato externo foi negativamente associada à idade ($p= 0,041$), porém esta relação foi fraca ($R^2= -0,1409$) (Figura 6). A concentração de PUFA's totais foi positivamente associada com a idade no estrato interno ($p= 0,036$) embora esta relação também tenha sido fraca ($R^2= 0,1484$) (Figura 7). O total de AG monoinsaturados não foi correlacionado com a idade no estrato externo ($p= 0,6400$) nem no estrato interno ($p= 0,7550$).

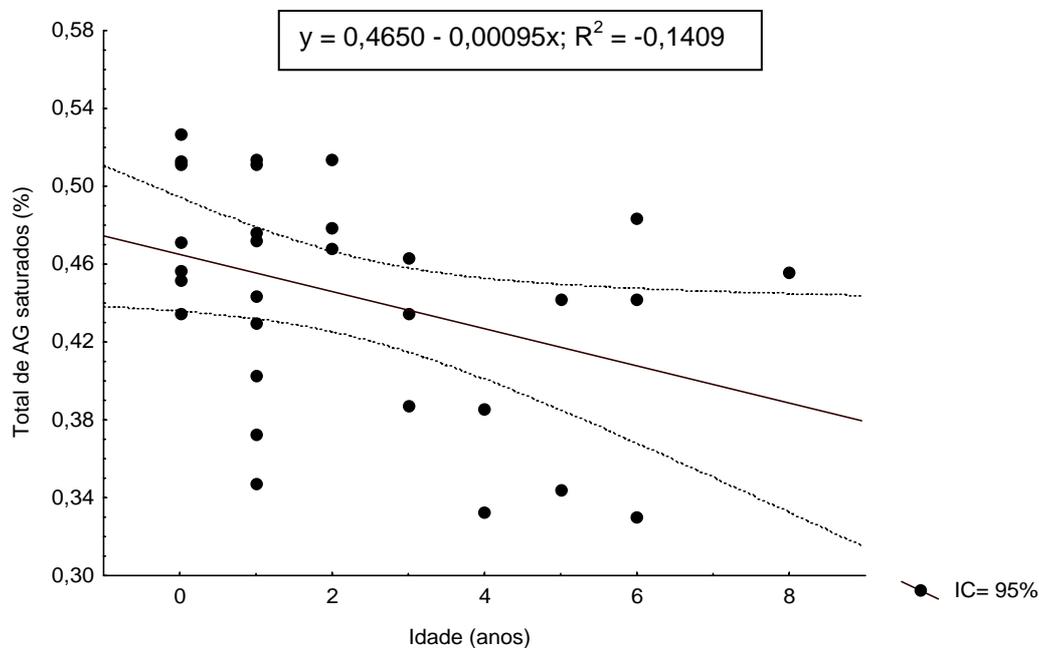


Figura 6: Correlação entre o total de ácidos graxos saturados (%) no estrato externo da camada de gordura e a idade das toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (IC= Intervalo de Confiança; n=30).

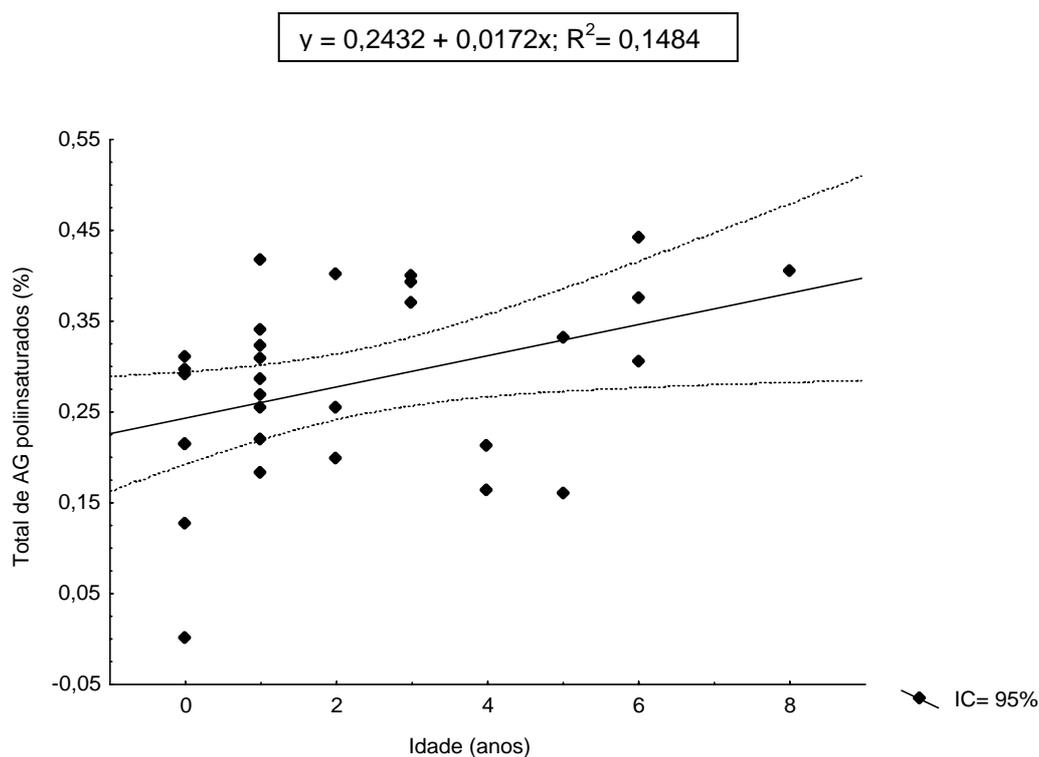


Figura 7: Correlação entre o total de ácidos graxos poliinsaturados (%) no estrato interno da camada de gordura e a idade das toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (IC= Intervalo de Confiança; n=30).

Não houve correlação entre o total de AG das famílias omega-3, omega-6 ou a razão omega-3/ omega-6 e a idade para o estrato externo ($p= 0,4563$ e $n= 30$, $p= 0,1201$ e $n= 30$, $p= 0,8776$ e $n= 24$, respectivamente) nem para o estrato interno ($p= 0,0579$ e $n= 30$, $p= 0,9500$ e $n= 30$, $p= 0,3725$ e $n= 26$, respectivamente).

3.3. Variação da composição e estratificação de ácidos graxos de acordo com o sexo

A composição de AG na camada de gordura de machos e fêmeas foi semelhante nos três estratos estudados. Em ambos os sexos, o AG 20:3 não foi detectado no estrato externo e o AG 20:0 não foi detectado no estrato interno (Tabela 2). Quanto às concentrações dos AG presentes nos estratos externo e interno de machos e fêmeas, nenhum diferiu significativamente entre os sexos. Não houve diferenças significativas entre machos e fêmeas quanto aos níveis totais de AG saturados, monoinsaturados e PUFAs nos estratos intermediário ou interno. Os níveis de monoinsaturados e PUFAs no estrato externo não diferiram entre os sexos. Não houve diferenças significativas entre machos e fêmeas para os níveis totais de omega-3, omega-6 e a razão omega-3/ omega-6 em nenhum dos estratos.

Entre as diferenças observadas entre machos e fêmeas, o AG 20:5n-3 não foi encontrado no estrato externo dos machos, enquanto o 20:0 e o 20:1n-9 não foram encontrados no respectivo estrato das fêmeas. No estrato intermediário, os AG 15:1 e 20:0 ocorreram apenas nas fêmeas, enquanto o 20:1n-9 ocorreu somente nos machos. No estrato interno, AG 15:1 foi encontrado somente em machos e o 20:1n-9 foi

detectado apenas em fêmeas (Tabela 2). Quanto às concentrações, apenas a do AG 20:4n-6 no estrato intermediário diferiu entre os sexos, estando em maior concentração em fêmeas ($p= 0,0099$). O total de AG saturados foi significativamente maior no estrato externo de machos ($p= 0,0209$) em relação ao mesmo estrato em fêmeas.

A maioria dos AG com altos valores de IER ($> 0,35$) coincidiu para os sexos em relação ao sentido do gradiente de concentração. O padrão geral de estratificação encontrado na amostra total dos indivíduos foi mantido em machos e fêmeas. Os AG cuja estratificação aumentou para o sentido externo da camada de gordura, eram na sua maioria saturados ou monoinsaturados de cadeias curtas, enquanto que os AG com alta estratificação para o sentido interno da camada eram na sua maioria PUFAs. Entre os AG que apresentaram gradiente em sentido oposto entre machos e fêmeas, as diferenças foram mais marcantes para os AG 18:2n-6, 20:1n-9, 22:1n-9 e 24:0 (Tabela 2).

Tabela 2: Composição de ácidos graxos (Média \pm DP) por estratos da camada de gordura de machos (n=15) e fêmeas (n=15) de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (IER= Índice de Estratificação Relativa, cujos valores > 0,35 em módulo são expressos em negrito; SAT= saturados, MONO= monoinsaturados, PUFAS= poliinsaturados).

AG	Externo		Intermediário		Interno		IER	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
12:0	2.64 \pm 1.53	2.10 \pm 1.05	2.08 \pm 1.02	1.81 \pm 1.35	1.73 \pm 1.03	1.50 \pm 0.89	0.55	0.34
13:0	1.81 \pm 0.90	2.22 \pm 1.85	1.81 \pm 0.72	1.83 \pm 0.33	2.06 \pm 0.75	1.84 \pm 0.42	-0.06	0.19
14:0	8.57 \pm 2.45	6.98 \pm 1.03	7.54 \pm 2.35	7.36 \pm 0.98	6.30 \pm 2.31	8.10 \pm 1.64	0.37	-0.07
14:1n-5	10.56 \pm 3.45	9.80 \pm 1.86	9.31 \pm 3.79	8.53 \pm 2.70	7.73 \pm 4.52	6.12 \pm 2.81	0.31	0.46
15:0	1.02 \pm 0.59	0.70 \pm 0.23	0.71 \pm 0.23	0.62 \pm 0.11	0.78 \pm 0.40	0.80 \pm 0.14	-0.07	-0.66
15:1	0.90 \pm 0.40	0.65 \pm 0.25	ND	0.67 \pm 0.08	1.36 \pm 0.00	ND	0.29	2.00
16:0	4.44 \pm 2.27	5.46 \pm 2.11	6.13 \pm 2.00	6.28 \pm 2.74	6.20 \pm 3.68	9.32 \pm 1.78	-0.13	-0.38
16:1n-7	36.55 \pm 8.63	40.42 \pm 6.92	35.97 \pm 10.02	37.15 \pm 7.97	37.10 \pm 10.90	35.66 \pm 8.72	-0.01	0.12
17:0	1.10 \pm 0.50	0.90 \pm 0.25	1.01 \pm 0.31	1.22 \pm 0.35	1.06 \pm 0.21	0.90 \pm 0.25	0.29	-0.26
17:1	1.23 \pm 0.70	0.85 \pm 0.24	1.00 \pm 0.22	0.97 \pm 0.36	1.03 \pm 0.12	0.88 \pm 0.23	0.42	-0.14
18:0	0.64 \pm 0.24	1.56 \pm 2.02	0.83 \pm 0.16	1.02 \pm 0.72	0.86 \pm 0.24	1.01 \pm 0.39	0.06	0.57
18:1n-9	15.41 \pm 5.40	18.43 \pm 5.27	19.64 \pm 5.93	20.83 \pm 4.27	21.02 \pm 4.91	22.90 \pm 4.96	-0.31	-0.22
18:2n-6	1.06 \pm 0.44	0.71 \pm 0.12	0.82 \pm 0.11	0.86 \pm 0.37	0.76 \pm 0.14	0.86 \pm 0.17	0.47	-0.57
18:3	0.74 \pm 0.32	1.78 \pm 2.04	0.97 \pm 0.75	0.83 \pm 0.51	0.73 \pm 0.35	1.08 \pm 0.70	0.01	0.49
20:0	0.52 \pm 0.00	ND	ND	0.97 \pm 0.00	ND	ND	2.00	-
20:1n-9	0.65 \pm 0.00	ND	0.69 \pm 0.26	ND	ND	0.57 \pm 0.00	2.00	-2.00
20:2n-6	1.39 \pm 1.42	0.88 \pm 0.46	2.14 \pm 3.36	1.23 \pm 0.62	1.08 \pm 0.52	0.88 \pm 0.27	0.00	-0.22

Continuação da Tabela 2:

AG	Externo		Intermediário		Interno		IER	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
20:3	ND	ND	1.78 ± 0.00	0.70 ± 0.00	1.32 ± 0.00	0.55 ± 0.02	-2.00	-2.00
20:4n-6	2.55 ± 1.80	2.31 ± 2.07	2.32 ± 2.17	2.91 ± 1.36	4.03 ± 2.18	2.71 ± 1.63	-0.69	-0.16
20:5n-3	ND	0.55 ± 0.00	0.59 ± 0.00	0.93 ± 0.00	0.82 ± 0.42	1.86 ± 1.13	-2.00	-1.81
21:0	1.94 ± 1.59	2.19 ± 1.44	2.03 ± 1.54	3.14 ± 2.27	2.34 ± 1.86	3.52 ± 2.81	-0.03	-0.14
22:0	2.00 ± 1.60	2.75 ± 3.31	2.05 ± 1.19	4.50 ± 6.30	2.14 ± 1.33	3.37 ± 2.67	0.22	0.30
22:1n-9	1.94 ± 0.48	1.14 ± 1.08	4.55 ± 5.29	2.63 ± 1.34	2.01 ± 1.40	1.11 ± 0.62	-0.43	0.30
22:2	6.14 ± 9.79	1.67 ± 0.84	3.56 ± 2.60	2.89 ± 1.98	3.90 ± 3.75	3.69 ± 3.14	-0.06	-0.83
22:6n-3	1.43 ± 1.44	2.12 ± 2.84	4.94 ± 3.42	4.69 ± 4.45	6.53 ± 3.64	3.05 ± 3.43	-1.60	-0.07
24:0	2.23 ± 1.03	1.60 ± 1.03	2.88 ± 1.02	2.83 ± 0.59	2.30 ± 0.19	2.82 ± 1.31	0.64	-0.34
24:1n-9	2.23 ± 1.43	7.40 ± 3.60	1.86 ± 0.76	7.25 ± 5.26	6.44 ± 5.07	7.27 ± 6.34	-0.97	-0.21
Outros	9.24 ± 6.11	7.43 ± 4.58	6.85 ± 4.74	5.44 ± 3.04	5.00 ± 3.24	7.28 ± 4.13		
Σ SAT	20.60 ± 2.86	16.62 ± 4.69	18.69 ± 6.00	16.98 ± 7.53	16.53 ± 8.46	17.57 ± 8.33		
Σ MONO	64.38 ± 9.92	71.57 ± 8.37	67.37 ± 13.45	70.47 ± 12.03	68.51 ± 14.12	67.96 ± 11.81		
Σ PUFAS	5.73 ± 7.21	4.34 ± 3.07	6.93 ± 4.94	7.11 ± 3.87	10.00 ± 5.53	7.20 ± 3.97		
Σ n-3	0.29 ± 0.81	0.60 ± 1.65	2.35 ± 3.38	1.31 ± 3.00	2.72 ± 3.92	1.35 ± 1.97		
Σ n-6	2.84 ± 2.09	2.27 ± 2.24	3.02 ± 3.26	3.55 ± 1.87	4.45 ± 2.77	2.81 ± 1.82		
n-3/ n-6	0.15 ± 0.36	0.46 ± 1.02	2.26 ± 4.40	0.50 ± 1.31	0.88 ± 1.10	0.37 ± 0.60		

3.4. Variação da composição e estratificação de ácidos graxos de acordo com o sexo e a idade

No estrato externo as correlações entre o total de AG saturados e de AG monoinsaturados e a idade foram significativas incluindo-se todas as fêmeas, sendo a relação negativa para os primeiros e positiva para os últimos ($R^2 = -0,4021$, $p = 0,0111$ e $R^2 = 0,2813$, $p = 0,0420$, respectivamente; $n = 15$), enquanto para o total de machos não houve relação entre AG saturados ($p = 0,3914$; $n = 15$) ou AG monoinsaturados ($p = 0,4568$; $n = 15$) e a idade (Figuras 8 e 9). No estrato externo não houve correlação entre o total de PUFAs e a idade para fêmeas ($p = 0,5385$; $n = 15$) nem para machos ($p = 0,5995$; $n = 15$).

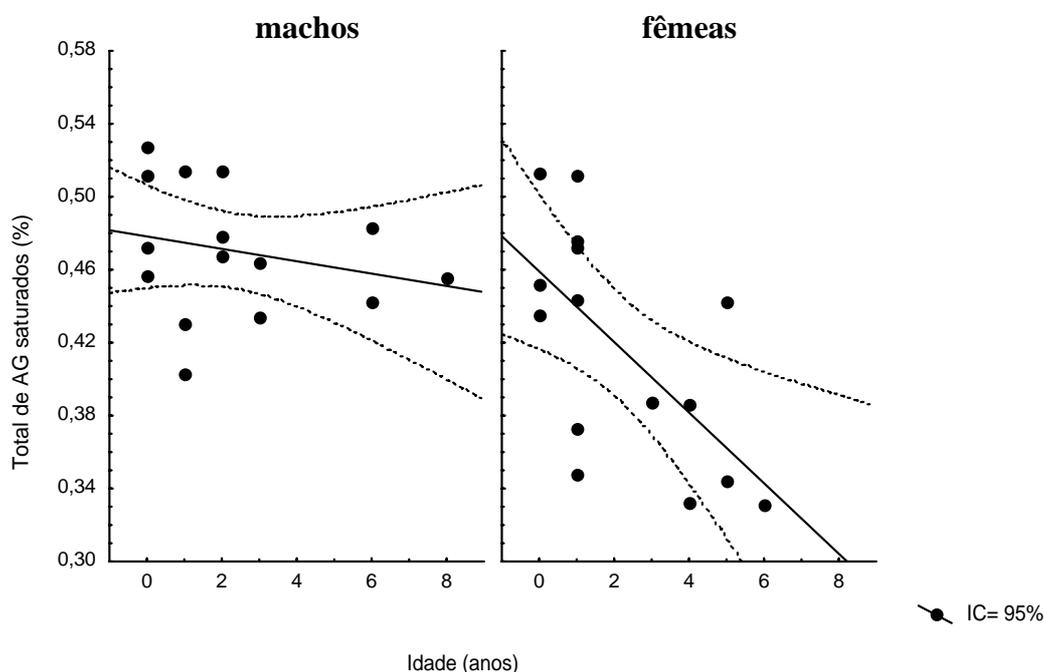


Figura 8: Correlação entre o total de ácidos graxos saturados (%) no estrato externo da camada de gordura e a idade de machos ($n=15$) e fêmeas ($n=15$) de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (machos: $p = 0,3914$; fêmeas: $R^2 = -0,4021$, $p = 0,0111$, $y = 0,4590 - 0,0193x$; IC= Intervalo de Confiança).

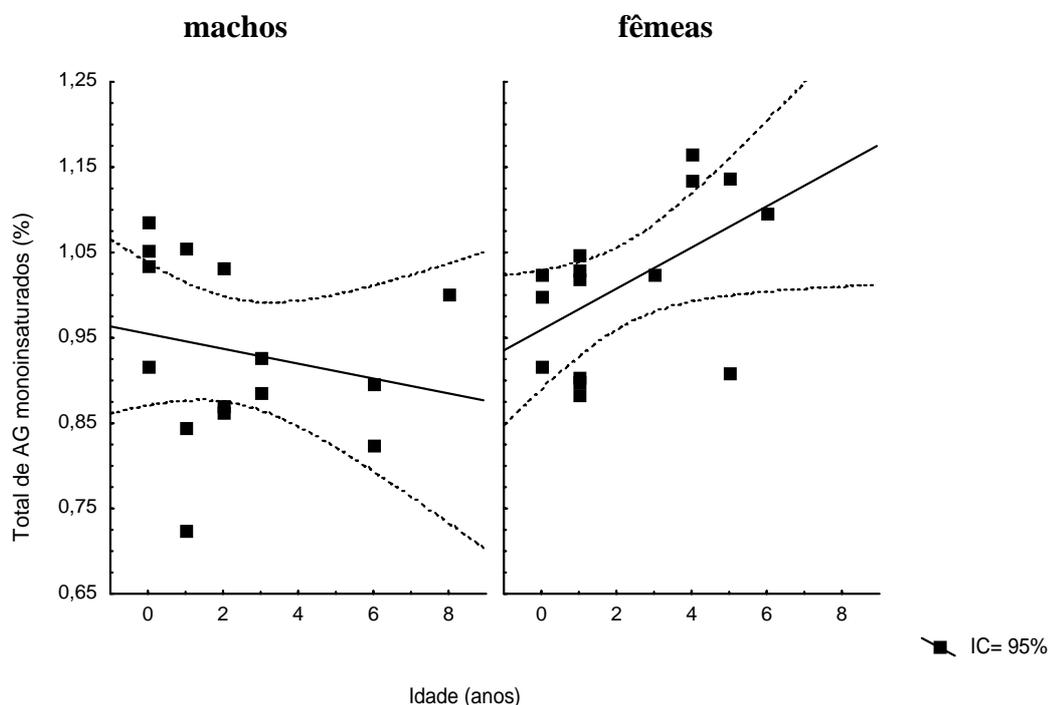


Figura 9: Correlação entre o total de ácidos graxos monoinsaturados (%) no estrato externo da camada de gordura e a idade de machos (n=15) e fêmeas (n=15) de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (machos: $p=0,4568$; fêmeas: $R^2=0,2813$, $p=0,0420$, $y=0,9594+0,0241x$; IC= Intervalo de Confiança).

No estrato interno não houve correlações entre o total de AG saturados ou de AG monoinsaturados e a idade para as fêmeas ($p=0,3096$ e $p=0,4877$, respectivamente; $n=15$) nem para os machos ($p=0,8356$ e $p=0,3954$, respectivamente; $n=15$). Porém, o total de PUFAs e a idade foram significativa e positivamente correlacionados para os machos ($R^2=0,2690$, $p=0,0476$, $n=15$) mas não foram para as fêmeas ($p=0,6010$, $n=15$) (Figura 10).

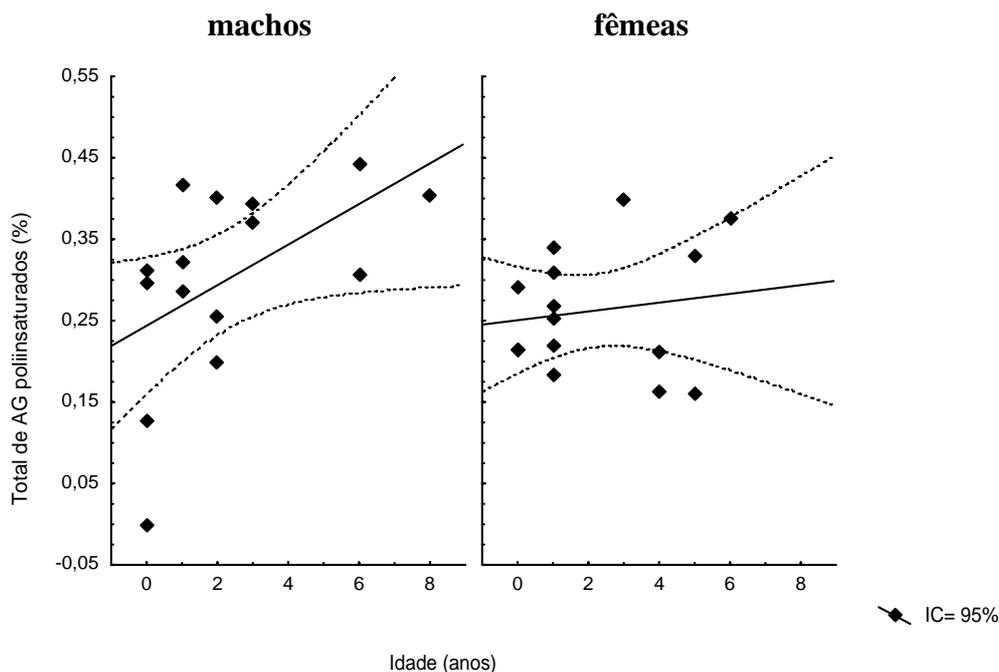


Figura 10: Correlação entre o total de ácidos graxos poliinsaturados (%) no estrato interno da camada de gordura e a idade de machos (n=15) e fêmeas (n=15) de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (machos: $R^2 = 0,2690$, $p = 0,0476$, $y = 0,2438 + 0,0249x$; fêmeas: $p = 0,6010$; IC= Intervalo de Confiança; n=30).

Devido às diferenças existentes na composição de ácidos graxos por classes etárias, sendo que a maior variedade de ácidos graxos presentes em altas concentrações foi encontrada nos juvenis e adultos, foram comparados os resultados para machos e fêmeas separadamente para essas duas classes etárias. Os filhotes, portanto, foram excluídos da análise de diferenças na composição e estratificação de AG entre sexos.

As diferenças na estratificação de AG entre os sexos para juvenis e adultos são apresentadas através do IER e diferenças na composição são mostradas a partir do total de AG saturados, monoinsaturados e PUFAs. Porém, a significância estatística das diferenças de concentrações de cada ácido graxo em machos e fêmeas não foi testada

devido ao pequeno número amostral em cada grupo, além de não ter sido possível a eliminação da influência da idade na análise. Subdividindo a amostra em juvenis e adultos obteve-se 8 machos juvenis (média de idade= 1,88 anos) e 7 fêmeas juvenis (média de idade= 1,29 anos), 3 machos adultos (média de idade= 6,67 anos) e 5 fêmeas adultas (média= 4,8 anos) (Figura 2).

3.4.1. Fêmeas juvenis x machos juvenis

Em ambos os sexos os ácidos graxos apresentaram baixos índices de estratificação para o sentido externo (+) da camada, sendo que os maiores valores foram dos AG 15:1, 18:0 e 18:3 em fêmeas, enquanto o 15:1 e o 18:3 ocorreram em gradiente oposto (-) nos machos, sendo a estratificação mais forte para o 18:3. Os maiores valores de IER ocorreram no estrato interno, principalmente para os ácidos graxos insaturados de cadeia longa 20:3, 20:5n-3, 22:1n-9 e 24:1n-9, além do 15:0 (em ambos os sexos), para o 22:6n-3 nos machos e para o 22:2 nas fêmeas (Figura 11).

O somatório dos AG poliinsaturados foi mais representativo em machos juvenis do que em fêmeas juvenis, especialmente para os estratos externo (machos= 8,17% e fêmeas= 5,25%) e interno (machos= 10,97% e fêmeas= 8,14%), enquanto as fêmeas apresentaram maiores quantidades de monoinsaturados no estrato externo (fêmeas= 68,07% e machos= 61,15%) (Figura 12).

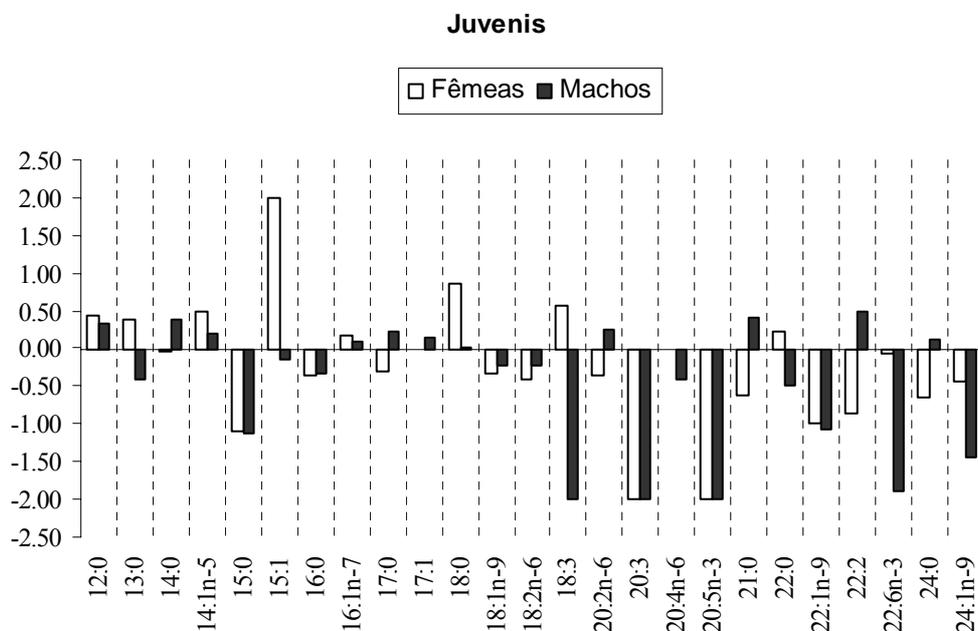


Figura 11: Índice de Estratificação Relativa dos ácidos graxos da camada de gordura de fêmeas (n=7) e machos (n=8) juvenis de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (valores negativos expressam estratificação com gradiente de aumento para o estrato interno).

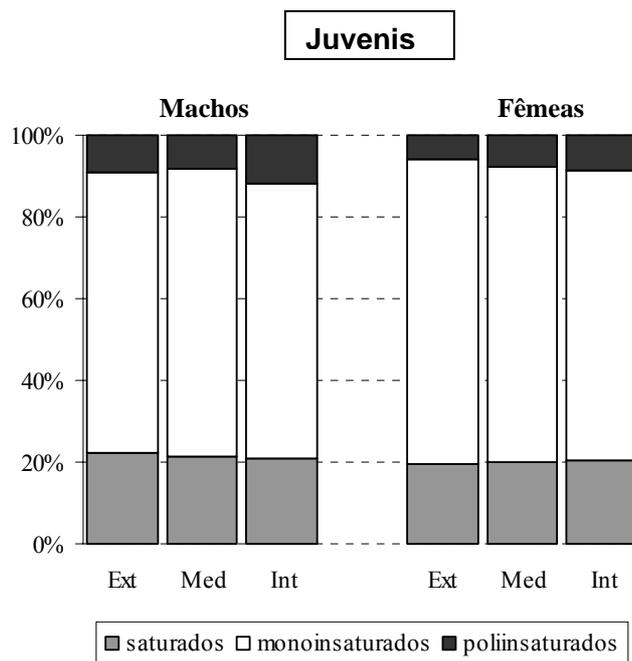


Figura 12: Composição relativa (%) de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados por cada estrato da camada de gordura de machos (n= 8) e fêmeas (n= 7) juvenis de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (Ext= externo, Med= intermediário, Int= interno).

3.4.2. Fêmeas adultas x machos adultos

Entre os adultos, os machos apresentaram maiores índices de estratificação do que as fêmeas para o estrato externo, incluindo 12:0, 14:1n-5, 15:1, 18:2n-6, 18:3, 20:0, 20:1n-9 e 24:1n-9, enquanto em fêmeas somente o 22:1n-9 apresentou maior grau de estratificação para este estrato do que em machos. O 24:0 teve o valor máximo em ambos os sexos para o estrato externo. No estrato interno foi menor o número de AG com altos valores de IER, incluindo: 20:5n-3 e 22:2 para ambos os sexos, 20:2n-6, 20:4n-6 e 22:6n-3 em machos e 15:0, 16:0, 20:3 e 22:0 em fêmeas. Entre os ácidos graxos que apresentaram gradientes opostos entre machos e fêmeas, os de maiores valores de IER foram: 15:0, 17:1 e 22:0 (- em fêmeas, + em machos) e 20:2 e 21:0 (+ em fêmeas, - em machos) (Figura 13).

O somatório dos AG poliinsaturados foi mais representativo em machos adultos do que em fêmeas adultas para todos os estratos, especialmente nos estratos intermediário (machos= 10,07% e fêmeas= 7,66%) e interno (machos= 14,27% e fêmeas= 6,73%). Os machos também apresentaram maiores quantidades de saturados no estrato externo (machos= 19,77% e fêmeas= 13,01%) e no estrato intermediário (machos= 20,76% e fêmeas= 14,48%), enquanto as fêmeas apresentaram maiores concentrações de monoinsaturados nos três estratos: externo (fêmeas= 78,08% e machos= 62,00%), intermediário (fêmeas= 73,46% e machos= 58,91%) e interno (fêmeas= 72,61% e machos= 65,47%) (Figura 14).

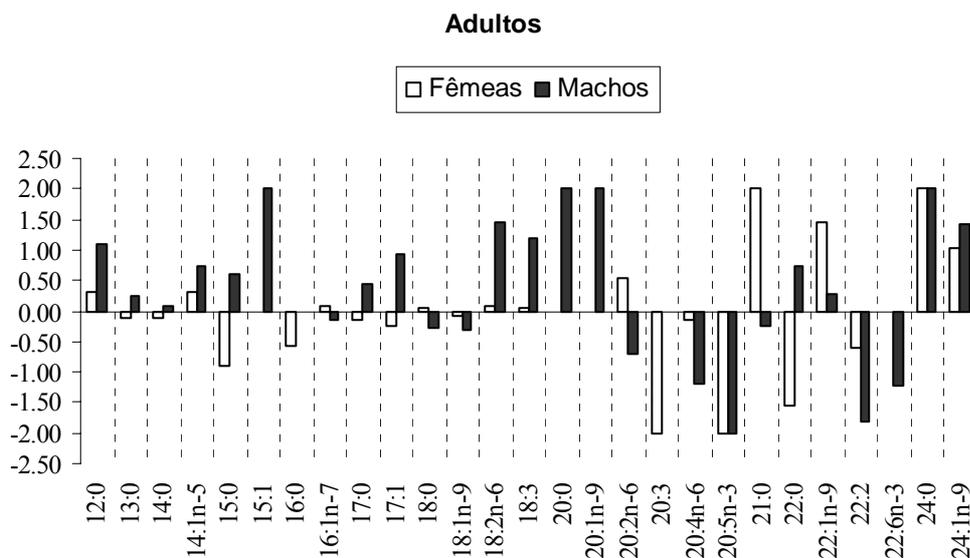


Figura 13: Índice de Estratificação Relativa dos ácidos graxos da camada de gordura de fêmeas (n=5) e machos (n=3) adultos de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (valores negativos expressam estratificação com gradiente de aumento para o estrato interno).

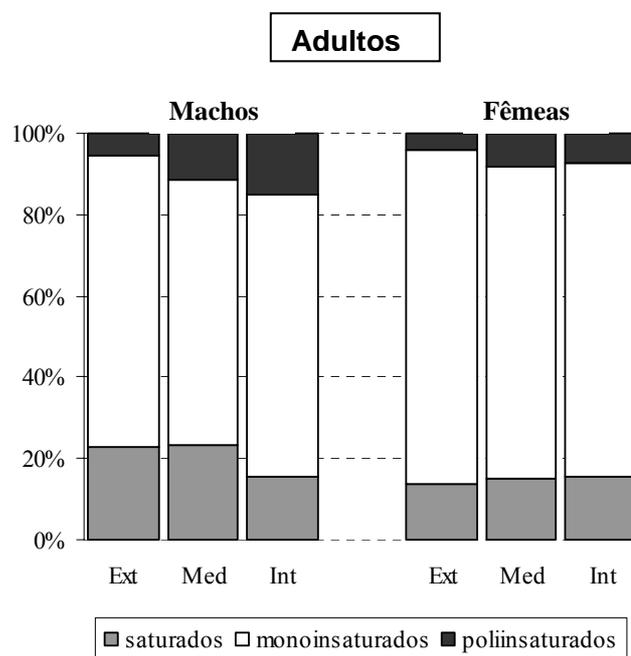


Figura 14: Composição relativa (%) de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados por cada estrato da camada de gordura de machos (n= 3) e fêmeas (n= 5) adultos de toninhas capturadas acidentalmente pela frota pesqueira de emalhe do Rio Grande, entre outubro de 1999 e agosto de 2003 (Ext= externo, Med= intermediário, Int= interno).

4. Discussão

4.1. Composição e estratificação de ácidos graxos

A identificação da maioria dos AG foi consistente com a composição encontrada em estudos anteriores para outras espécies de mamíferos (*e. g.* Käkälä & Hyvärinen, 1996; Koopman *et al.*, 1996; Olsen & Grahl-Nielsen, 2003).

Os AG presentes nos mamíferos podem ser classificados em três categorias quanto à origem. A primeira inclui aqueles AG que podem ser biossintetizados pelos mamíferos a partir de outros precursores, tais como os AG saturados 16:0 e 18:0 e isômeros dos monoinsaturados 16:1 e 18:1. A segunda categoria inclui os AG que os mamíferos são incapazes de sintetizar, tais como os PUFAs das famílias omega-3 e omega-6 (18:2n-6, 18:3n-3, 18:3n-6, 20:3n-3, 20:3n-6, 20:5n-3 e 22:6n-3), e os monoenóicos 20:1n-9 e 22:1n-11 (Iverson, 1993). A terceira categoria é a de ácidos graxos que podem ser biossintetizados nos tecidos dos animais, mas que quando presentes em grandes quantidades também denotam sua origem na dieta: 14:0 e alguns isômeros do 20:1 e 22:1 (Ackman & Eaton, 1966; Iverson, 1993). Desta forma, a presença dos AG da segunda e da terceira categoria pode ser indicativa da origem dietária.

No presente estudo, foram detectadas grandes quantidades de 16:1n-7 (ácido palmitoléico) e 18:1n-9 (ácido oléico) nos três estratos de todos os indivíduos amostrados (Tabela 1). Os ácidos palmitoléico e oléico são alguns dos AG mais comuns na natureza, o que pode estar relacionado ao aumento na biossíntese destes AG no tecido adiposo. Estes dois AG podem ser obtidos pela atividade do sistema enzimático Δ^9 dessaturase, que adiciona uma ligação dupla na posição Δ^9 (entre Carbono-9 e Carbono-10 a partir do grupo carboxílico) dos ácidos graxos saturados de mesmo

comprimento de cadeia, 16:0 e 18:0 (Lehninger *et al.*, 2002). Adicionalmente, o aumento significativo do AG 18:1n-9 para o estrato interno (local de deposição e mobilização recente de AG, segundo Ackman *et al.*, 1975) denota que este AG também pode ser adquirido através da dieta e/ou que a biossíntese mais intensa deste AG ocorre no estrato interno. Os AG 16:1n-7 e 18:1n-9 também apresentaram as duas maiores concentrações médias (51,21% e 26,70%, respectivamente) no estudo de Caon (2002), que analisou a totalidade da camada, sem estratificação. Os mesmos foram os AG mais importantes detectados em focas-aneladas do Mar Báltico, *Phoca hispida botnica* e de Spitsbergen, *Phoca hispida hispida* (Käkelä & Hyvärinen, 1996) e em baleias nariz-de-garrafa, *Hyperoodon ampullatus* (Hooker *et al.*, 2001). O 18:1n-9 apresentou a maior concentração entre os AG detectados em elefantes-marinhos, *Mirounga leonina* (Best *et al.*, 2003).

Entre os ácidos graxos necessários na dieta dos mamíferos, chamados ácidos graxos essenciais, destacam-se 18:2n-6 e 18:3n-6, ambos detectados na toninha em quantidades maiores que traços (> 0,5%). Outro AG essencial encontrado, o ácido araquidônico (20:4n-6), é precursor necessário na biossíntese de prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, envolvidos em uma série de atividades fisiológicas (Lehninger *et al.*, 2002).

A maioria dos ácidos graxos encontrados neste estudo apresentou um aumento contínuo dos valores médios através dos estratos, para um ou outro sentido (Tabela 1). Olsen & Grahl-Nielsen (2003) sugerem que há um gradiente contínuo de AG na camada de gordura de mamíferos marinhos em geral, porém poucos estudos têm examinado a estratificação incluindo o(s) estrato(s) intermediário(s) no estudo (*e. g.* Lockyer *et al.*, 1984; Hooker *et al.*, 2001 e Olsen & Grahl-Nielsen, 2003). Nestes estudos, foi

observado um gradiente contínuo de concentração para a maioria dos AG no sentido externo ou interno da camada.

No presente estudo, os AG que apresentaram maior grau de estratificação para o sentido externo eram todos saturados ou monoinsaturados, na sua maioria de cadeias curtas: 20:0, 15:1, 12:0, 14:1n-5 e 18:0. A maioria dos AG com alto grau de estratificação para o sentido interno eram PUFAs de cadeia longa: 20:3, 20:5n-3, 22:6n-3, 20:4n-6 e 22:2 (Tabela 1). O padrão de estratificação de AG encontrado para *P. blainvillei* é similar àquele descrito para *Phocoena phocoena* (Koopman *et al.*, 1996) e *Balaenoptera acutorostrata* (Olsen & Grahl-Nielsen, 2003), no que se refere ao estrato interno, local onde PUFAs estiveram presentes em maiores quantidades. Quanto ao estrato externo, este estudo corrobora o padrão encontrado por Koopman *et al.* (1996) para *P. phocoena*, no qual AG de cadeias curtas prevaleceram. No entanto, coincide somente em parte com o estudo de Olsen & Grahl-Nielsen (2003) para *B. acutorostrata*. O estudo de Olsen & Grahl-Nielsen (2003) revelou que, em geral, AG monoinsaturados de cadeias curtas prevaleceram no estrato externo, porém os AG saturados de cadeias curtas prevaleceram no estrato interno da camada de gordura da *B. acutorostrata* (Tabela 3). Maiores quantidades de PUFAs no estrato interno sugerem que este estrato é mais ativo quanto ao metabolismo de AG típicos de dieta, enquanto os AG que podem ser biossintetizados prevalecem no estrato externo. Esta constatação para as diferentes espécies estudadas está de acordo com a teoria postulada por Ackman *et al.* (1975), quanto às diferentes funções exercidas pelos estratos externo e interno da camada de gordura.

Embora tenham sido encontradas similaridades no padrão geral de estratificação para os três estudos comparados, observam-se diferenças quanto ao sentido da

estratificação para cada AG analisado individualmente (Tabela 3). Adicionalmente, apenas quatro AG diferiram estatisticamente entre os estratos no presente estudo, o que sugere que em toninha a estratificação seja mais tênue quando comparada a *P. phocoena* e *B. acutorostrata*. Uma estratificação mais tênue também foi registrada em *H. ampullatus* (Hooker *et al.*, 2001). O padrão de concentração de AG foi similar nos três estratos do odontoceto *H. ampullatus*, mas em virtude do pequeno número amostral (n=3) não foi possível comparar estatisticamente cada AG encontrado.

Uma hipótese para a função da estratificação ou da existência de diferenças topográficas na composição de ácidos graxos da camada de gordura é a de que estas sirvam como uma reação adaptativa ao frio, no que diz respeito à diminuição dos AG saturados nas extremidades do corpo e estrato externo da camada de gordura. A idéia é de que AG saturados sejam substituídos pelos monoinsaturados através da atividade do sistema enzimático $\Delta 9$ dessaturase (Mayes, 1990; Käkälä & Hyvärinen, 1996). A vantagem desta substituição estaria relacionada aos baixos pontos de fusão dos AG insaturados em relação aos AG saturados de mesmo comprimento de cadeia e dos AG de cadeias curtas em relação aos de cadeia longa (Linden & Lorient, 1994; Shahidi & Wanasundara, 1998; Lehninger *et al.*, 2002). Lipídios com pontos de fusão mais baixos garantem a fluidez da membrana e reduzem o potencial de perda de calor pela superfície corporal em animais que vivem em ambientes marinhos freqüentemente frios. Isto porque em baixas temperaturas AG saturados cristalizam enquanto os insaturados de mesmo comprimento de cadeia permanecem no estado líquido (Mayes, 1990). Se esta hipótese for correta, espera-se que a estratificação na composição da camada de gordura seja mais marcada em espécies que vivam em águas temperadas frias, como o golfinho-do-porto (*P. phocoena*) e a baleia-minke, (*B. acutorostrata*) do que em espécies que

vivam em águas temperadas quentes, como no caso da toninha. A diminuição dos AG saturados no estrato externo da camada de gordura como adaptação fisiológica poderia ser mais intensificada em espécies que habitam águas mais frias. Best *et al.* (2003) sugerem que a condição corporal dos animais também possa influenciar na magnitude de estratificação, sendo que animais que jejuam, como no caso de *Mirounga leonina*, necessitam acumular mais reservas, consumindo presas mais ricas em lipídios para o suprimento energético durante o período de jejum, quando iniciam o período reprodutivo. Maior riqueza em lipídios poderia levar a um maior acúmulo de PUFA's no estrato interno da camada, sendo as diferenças entre estrato externo e interno mais acentuadas. A hipótese de Best *et al.* também poderia ser aplicada à baleia-minke, *B. acutorostrata*, que apresenta estratificação da camada de gordura mais acentuada do que *P. blainvillei*. O motivo é que mysticetos, assim como pinípedes (*e. g. M. leonina*) apresentam separação espaço-temporal entre alimentação e reprodução, enquanto em *P. blainvillei* a alimentação e mobilização de AG são contínuas ao longo do ano, o que resultaria numa estratificação mais tênue nesta espécie.

Tabela 3: Estratificação de ácidos graxos na camada de gordura de diferentes espécies de cetáceos (E = concentração maior no estrato externo; I = concentração maior no estrato interno; s = significância estatística através do teste-t univariado; ns = não significativo; ND = não detectado; ¹ = presente em somente um dos estratos; * = não analisado estatisticamente; ** local medido= II ventral; traços= <0,2%).

	<i>Pontoporia blainvillei</i> (n=30)	<i>Phocoena phocoena</i> (n=19)	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (Mar do Norte) (n=10)	<i>Balaenoptera acutorostrata</i> (Mar da Noruega) (n=10)
Ácidos Graxos	Este estudo	Koopman <i>et al.</i> (1996)**	Olsen & Grahl-Nielsen (2003)	Olsen & Grahl-Nielsen (2003)
12:0	E(s)	E(*)	ND	ND
13:0	E(ns)	E(*)	ND	ND
14:0	E(ns)	Ns	I(s)	I(s)
14:1n-5	E(ns)	E(s)	E(s)	E(s)
15:0	E(ns)	E(*)	I(s)	I(s)
15:1	I(ns)	Traços	ND	ND
16:0	I(ns)	E(s)	I(s)	I(s)
16:1n-7	E(ns)	E(s)	E(s)	E(s)
17:0	E(ns)	I(*)	ND	ND
17:1	E(ns)	E(*)	Traços	Traços
18:0	E(ns)	I(s)	I(s)	I(s)
18:1n-9	I(s)	Ns	E(s)	E(s)
18:2n-6	E(ns)	I(s)	E(s)	E(s)
20:0	E ¹	I(*)	I(s)	I(s)
20:1n-9	E(ns)	I(s)	I(s)	I(s)
20:2n-6	E(ns)	I(*)	E(s)	I(ns)
20:3	I ¹	traços (n-3 e n-6)	traços (n-3)	traços (n-3)
20:4n-6	I(s)	I(s)	E(ns)	E(s)
20:5n-3	I(ns)	I(s)	I(s)	I(s)
22:0	I(ns)	ND	Traços	Traços
22:1n-9	I(ns)	I(*)	I(s)	I(s)
22:2n-6	I(s)	ND	ND	ND
22:6n-3	I(ns)	I(s)	I(s)	I(s)
24:0	I(ns)	ND	traços	Traços
24:1n-9	I(ns)	I(*)	I(s)	I(s)

Diferenças espécie-específicas encontradas na composição e estratificação de ácidos graxos, como demonstrado na Tabela 3, também podem ter alguma influência quanto às diferenças metodológicas ou diferentes objetivos de investigação. Diferenças quanto ao número e tipo de amostras disponíveis podem interferir na variabilidade dos AG obtidos, já que os fatores sexo e idade interferem na composição e magnitude da estratificação, como observado no presente estudo. O trabalho de Koopman *et al.* (1996) incluiu somente machos de diversas idades (n=19), enquanto Olsen & Grahl-Nielsen (2003) obtiveram amostras quase exclusivamente de fêmeas (19 dos 22 indivíduos analisados no total) para as quais não foram determinadas as idades. Já o presente estudo analisou amostras de machos e fêmeas pertencentes a diferentes classes de tamanho e idade. Vale ainda salientar que apesar de alguns ácidos graxos não terem sido identificados com precisão, o grau de sensibilidade do procedimento foi alto (aproximadamente 7% de AG não identificados). Neste estudo foram identificados 27 ácidos graxos, correspondendo a 73% do total de padrões utilizados (37). No estudo de Koopman *et al.* (1996), a sensibilidade foi de cerca de 1% de AG não identificados. Os autores do referido estudo identificaram 65 AG, devido a inclusão de uma maior quantidade de padrões, porém 38 AG (cerca de 58%) estavam presentes em concentrações menores que traços (< 0,5 %). No estudo de Olsen & Grahl-Nielsen (2003) não foi informado o percentual de AG não identificados.

4.2. Variação da composição e estratificação de ácidos graxos de acordo com a idade

Os filhotes apresentaram menor número de AG ocorrendo nos três estratos e menor variedade de ácidos graxos presentes em altas concentrações comparados aos juvenis e adultos (Figura 3-a, b e c). Isto possivelmente está relacionado a menor variedade de ácidos graxos presentes na dieta dos filhotes em comparação às demais classes. Os filhotes de toninhas apresentam três categorias de dieta: lactação, dieta mista (leite e presas) e dieta sólida (Rivero *et al.*, 2000; Rodríguez *et al.*, 2002). O período de lactação da toninha foi estimado em 8 ou 9 meses (Kasuya & Brownell, 1979). A idade (meses) em que os filhotes iniciam a ingestão de alimentos sólidos é variável, coincidindo com o surgimento dos dentes (Di Benedetto & Ramos, 2000). Os camarões são as presas iniciais mais freqüentes, embora Pinedo (1982) tenha encontrado otólitos no estômago de um filhote de 83 cm, o que evidencia que filhotes também predam sobre peixes. Portanto, a menor variedade de AG encontrada na camada de gordura dos filhotes em comparação às demais classes etárias no presente estudo está refletindo, em grande parte, a composição do leite ingerido. Há evidências para espécies de focídeos de que a composição da camada de gordura de filhotes é muito semelhante à do leite que ingerem, incluindo, tanto no leite quanto na camada de gordura, pequenas quantidades de poliinsaturados (Iverson, 1993).

Em estudo da composição do leite da toninha, feito por Caon (2002), foram encontrados somente ácidos graxos saturados: 16:0 (47,69%), 18:0 (11,20%) e 17:0 (1,70%). Grande quantidade de AG menores de 15 carbonos e alguns de cadeia longa (39,41% da composição total) também estava presente no leite, mas para os quais não

foi possível a identificação. Cabe ressaltar que tal análise incluiu somente uma amostra, já que são bastante difíceis a obtenção, a coleta e o armazenamento apropriado do leite em mamíferos marinhos de vida livre. Embora sejam necessárias mais amostras de leite para traçar comparações entre a composição do leite e da camada de gordura dos filhotes, é possível fazer algumas inferências. O AG 16:0, o mais abundante no leite, esteve presente em concentrações consideráveis na camada de gordura dos filhotes examinados no presente estudo. O AG 16:0 prevaleceu no estrato interno (em média, 3,96% para o estrato externo e 9% para o interno), o que indica provável origem alimentar, já que o estrato interno é local de deposição recente de AG vindos da dieta, segundo Ackman *et al.* (1975). Porém, as quantidades encontradas tanto para o AG 18:0 quanto para o AG 17:0 foram muito pequenas na camada de gordura dos filhotes do presente estudo, representando em média 0,65% do 18:0 e 0,59% do 17:0 para o estrato externo e 0,51% do 18:0 e 0,85% do 17:0 para o estrato interno.

As diferenças encontradas entre juvenis e adultos quanto à composição de AG originados de dieta, principalmente os PUFAs (Iverson, 1993), podem estar influenciadas por mudanças na preferência de presas. Os juvenis de *P. blainvillei* tendem a predar sobre camarões, enquanto em indivíduos mais velhos os peixes e os cefalópodes ganham maior importância na composição da dieta (Pinedo, 1982; Ott, 1994; Bassoi, 1997).

Os ácidos graxos com os maiores valores de IER foram diferentes entre as três classes etárias (Figura 4), o que evidencia, especialmente para o estrato interno, mudanças na alimentação ao longo da vida. Nota-se a maior incorporação de ácidos graxos poliinsaturados de cadeias longas no estrato interno de jovens e adultos, em relação aos filhotes (Figura 5). Além disso, o aumento na concentração de PUFAs e a

idade dos indivíduos foi linear no estrato interno (Figura 7), o que evidencia o acúmulo de AG típicos da dieta ao longo da vida do animal, corroborando os resultados de Koopman *et al.* (1996). Ou seja, à medida que a alimentação baseada no leite vai sendo substituída pelo consumo de presas, a variedade de AG e a concentração de PUFAs tende a aumentar. Esta mudança reflete o histórico alimentar dos indivíduos mais velhos através de AG acumulados desde a fase juvenil.

O total de ácidos graxos saturados no estrato externo diminuiu significativamente com a idade dos indivíduos (Figura 6). Neste caso, é possível que esta diminuição esteja relacionada à atividade mais intensa da $\Delta 9$ dessaturase (a qual adiciona ligações duplas entre Carbono-9 e Carbono-10 dos AG saturados) em indivíduos mais velhos. Ou este padrão pode ser resultante da atividade acumulada da $\Delta 9$ dessaturase ao longo da vida do animal, o que faz com que o total dos AG saturados diminua no estrato externo. Este resultado corrobora o estudo de Käkälä & Hyvärinen (1996), no qual o grau de dessaturação de AG no estrato externo foi significativa e positivamente correlacionado com a idade das focas-aneladas. A velocidade da biossíntese de triacilgliceróis é muito alterada pela ação de vários hormônios, como o hormônio de crescimento da hipófise e os hormônios adrenocorticais (Lehninger, 2002). Portanto, é possível que a velocidade da biossíntese de AG saturados também possa diminuir com o envelhecimento dos indivíduos, resultando em aumento na concentração de AG monoinsaturados no estrato externo da camada de gordura.

O aumento da dessaturação com a idade é acompanhado do aumento significativo em espessura da camada de gordura quando são contrastados filhotes e indivíduos mais velhos (ver Tabela 3 e Figura 6 do CAPÍTULO I). Segundo Käkälä & Hyvärinen

(1996), o aumento em espessura da camada de gordura ao longo da vida do animal denota o aumento da capacidade de isolamento térmico em indivíduos mais velhos.

Diferentemente do estudo de Koopman *et al.* (1996), não foram encontradas correlações entre a idade e a razão de omega-3/ omega-6 para os estratos externo ou interno. Porém, no presente estudo, não puderam ser incluídos nesta análise os ácidos graxos 18:3n-3/ 18:3n-6 e 20:3n-3/ 20:3n-6, já que o tipo de coluna cromatográfica utilizada não permitira a separação dos seus respectivos pares. Em estudos futuros, recomenda-se a utilização de equipamento cromatográfico que permita separar estes pares de AG se o objetivo for avaliar a razão omega-3/ omega-6.

As diferenças na composição e estratificação de ácidos graxos em relação à idade podem ser reforçadas em estudos futuros com a inclusão de indivíduos mais velhos na amostra. O indivíduo mais velho analisado no presente estudo tinha 8 anos de idade (Figura 2), no entanto já foi encontrada uma toninha de 21 anos na região de estudo (Pinedo & Hohn, 2000).

4.3. Variação da composição e estratificação de ácidos graxos de acordo com o sexo

Os resultados indicam que não há diferenças entre machos e fêmeas na composição de AG nos três estratos da camada de gordura (n=30; Tabela 2). Quanto às concentrações de cada AG, quase a totalidade não diferiu significativamente entre os sexos, sendo que somente um AG (20:4n-6) diferiu entre os sexos quanto à concentração, e esta diferença ocorreu apenas no estrato intermediário. Unicamente os

níveis totais dos AG saturados foram significativamente maiores no estrato externo dos machos em relação ao respectivo estrato das fêmeas.

A estratificação da maioria dos AG foi coincidente para os sexos em relação ao sentido do gradiente, mantendo-se em machos e fêmeas o padrão geral de estratificação encontrado para a totalidade dos indivíduos (Tabela 1). Entre os AG que apresentaram gradiente em sentido oposto entre machos e fêmeas, as diferenças foram mais marcantes para AG característicos de dieta, como 18:2n-6, 20:1n-9, 22:1n-9 e 24:0 (Tabela 2).

Existem poucos trabalhos que têm comparado a composição de AG de machos e fêmeas. De acordo com o estudo de Hooker *et al.* (2001), baleias nariz-de-garrafa, *Hyperoodon ampullatus*, não apresentaram diferenças relativas ao sexo nas proporções dos principais AG individuais. No entanto, a análise multivariada diferenciou os dois sexos quanto ao padrão geral de composição. Hooker *et al.* concluíram que parece haver diferenças entre os sexos para as baleias nariz-de-garrafa, possivelmente em relação aos AG vindos da dieta, porém a amostra era insuficiente (n= 17) para que as diferenças fossem detectáveis estatisticamente. Os resultados obtidos no presente estudo, em que machos não diferenciaram-se de fêmeas na composição individual de AG, também poderiam ter explicação na influência do pequeno número amostral por sexo, e de outros fatores que poderiam influenciar na variabilidade individual da composição de AG da camada de gordura da toninha, como a idade, sazonalidade e variação interanual dos animais capturados.

4.4. Variação da composição e estratificação de ácidos graxos de acordo com o sexo e a idade

Quando as amostras foram subdivididas por sexo, observou-se que a relação entre o total de AG saturados e a idade no estrato externo foi forte apenas em fêmeas (Figura 8), influenciando o resultado obtido para o total da amostra, em que a relação foi fraca (Figura 6). As fêmeas parecem diminuir a concentração de AG saturados e aumentar a concentração de AG monoinsaturados no estrato externo ao longo da vida, enquanto os machos não apresentam esta tendência (Figura 9). Isto pode ser resultado de influências hormonais na utilização diferencial de reservas energéticas, em termos de biossíntese e/ou seletividade na deposição de AG entre os sexos. O estrato externo, teoricamente o mais estável, é menos influenciado por deposições recentes de AG originados de dieta (Ackman *et al.*, 1975), além das diferenças se referirem a saturados e monoinsaturados que, em geral, podem ser biossintetizados pelos animais. O aumento de AG monoinsaturados acompanhado da diminuição dos AG saturados no estrato externo pode ser resultado da maior atividade do sistema enzimático Δ^9 dessaturase em fêmeas velhas, não ocorrendo o mesmo em machos velhos.

O estrato externo evidencia maior estabilidade quanto ao total de PUFAs, o qual não foi associado à idade nem nos machos, nem nas fêmeas. O oposto ocorreu no estrato interno dos machos, no qual os PUFAs apresentaram relação positiva e significativa com a idade (Figura 10), influenciando no total da amostra (Figura 7), embora em fêmeas esta relação não tenha ocorrido.

No grupo de juvenis analisados neste estudo, separados por machos e fêmeas, a tendência à estratificação se manteve em ambos os sexos, ocorrendo os maiores índices de estratificação em PUFA's e monoinsaturados de cadeia longa para o estrato interno (Figura 11). Portanto, parece não haver diferenças entre os sexos quanto à estratificação no grupo dos juvenis. Embora o valor total de PUFA's foi maior em machos juvenis, tanto no estrato externo quanto no interno (Figura 12), deve-se levar em conta que a média de idade, mais alta nos machos juvenis, pode ter influenciado um aumento dos níveis totais de PUFA's.

Entre os adultos, os valores de IER foram, em geral, maiores para os machos do que para as fêmeas quando os AG foram coincidentes no sentido do gradiente para os dois sexos, o que demonstra que a estratificação pode ser mais forte nos machos (Figura 13). O total de PUFA's também foi maior em machos adultos do que em fêmeas adultas, principalmente para os estratos intermediário e interno (Figura 14). Porém, aqui também se deve ter em conta que os machos adultos tinham média de idade maior do que fêmeas adultas, e tanto a estratificação como o total de PUFA's mostraram tendência de aumento com relação à idade (Figuras 3 e 6).

As diferenças ocorridas no estrato interno podem estar refletindo variações no forrageio e/ou diferenças espaço-temporais na dieta de machos e fêmeas. Segundo Pinedo (1982) as fêmeas se alimentam mais de lulas do que os machos, mas de acordo com Bassoi (1997) este padrão possivelmente não existe, visto que a autora encontrou resultado oposto em seu estudo, com predominância de cefalópodes nos estômagos de machos. Bassoi (1997) encontrou algumas diferenças quanto à composição relativa das espécies de peixes ingeridas por machos e fêmeas de toninhas e sugere ainda que machos possam preda sobre presas maiores ou mais afastadas da costa. Em

contraposição, Secchi *et al.* (2002) reportaram que, com exceção de fêmeas lactantes (encontradas em águas mais profundas do que as fêmeas maduras não-lactantes) não foram encontradas diferenças quanto à distribuição espacial dos indivíduos de *P. blainvillei* no Rio Grande do Sul em função de sexo, idade, tamanho ou *status* reprodutivo. Há necessidade de maiores investigações a respeito da composição de AG das presas para estabelecer conclusões sobre a causa das diferenças encontradas na composição da camada de gordura entre machos e fêmeas de toninha.

A formação da composição de ácidos graxos no tecido adiposo é um processo complexo que envolve genética, atividade metabólica e seletiva de β -oxidação, síntese *de novo* de AG (lipogênese), incorporação de ácidos graxos da dieta e o subsequente metabolismo de ácidos graxos endógenos (produzidos pelo animal) e exógenos (provenientes da dieta) (Käkelä & Hyvärinen, 1996). Logo, as diferenças apontadas na composição da camada de gordura entre os estratos e entre indivíduos podem estar influenciadas por muitos fatores além daqueles que foram abordados neste trabalho: idade, sexo e dieta, demonstrando um certo grau de flexibilidade quanto à utilização das reservas energéticas em *P. blainvillei*.

5. Conclusões

Dos 27 ácidos graxos detectados na camada de gordura da toninha, dois ácidos graxos foram os mais abundantes: 16:1n-7 e 18:1n-9. A concentração total de monoinsaturados foi predominante em relação à de saturados e poliinsaturados.

A camada de gordura da toninha mostrou uma estratificação tênue da composição de AG, visto que a maior parte dos AG não diferiu significativamente entre os estratos externo e interno. Porém, a estratificação foi evidenciada pelo aumento contínuo dos valores médios da maioria dos AG através dos três estratos, para um ou outro sentido. Adicionalmente, os níveis totais de PUFAs e de omega-3, característicos de dieta, estiveram em concentrações significativamente maiores no estrato interno em relação ao estrato externo no total de indivíduos amostrados. Enquanto os PUFAs apresentaram concentrações aumentando para o estrato interno da camada de gordura, os principais AG com estratificação no sentido oposto (aumentando a concentração para o estrato externo) eram saturados ou monoinsaturados, principalmente de cadeias curtas.

O padrão geral de estratificação encontrado está de acordo com a teoria postulada por Ackman *et al.* (1975) no que se refere a uma maior estabilidade do estrato externo, o qual possui maior função estrutural, comparado ao estrato interno, mais ativo metabolicamente, no qual evidencia-se maior variabilidade de AG, principalmente quanto àqueles provenientes da dieta.

Os filhotes demonstraram menor diversidade de ácidos graxos presentes em altas concentrações comparados aos juvenis e adultos, o que possivelmente esteja relacionado a menor variedade de ácidos graxos na dieta dos filhotes, fortemente influenciada pela composição do leite ingerido.

Os juvenis e adultos diferiram quanto à composição de AG, especialmente quanto aos PUFAs, o que pode ter sido influenciado por diferenças no forrageio ou quanto ao tipo de presas que são consumidas nas diferentes fases de desenvolvimento.

Os ácidos graxos com os maiores graus de estratificação foram diferentes entre as três classes etárias. A diferença foi mais marcante para o estrato interno, onde houve maior incorporação de ácidos graxos poliinsaturados de cadeias longas em quantidade e diversidade nos jovens e adultos comparados aos filhotes. Os níveis totais de PUFAs foram positivamente e significativamente associados à idade no estrato interno, demonstrando a tendência de acúmulo contínuo de AG da dieta ao longo da vida do animal.

As diferenças entre machos e fêmeas quanto à composição de AG foram mínimas, mantendo-se em ambos os sexos o padrão geral de estratificação encontrado para a amostra geral.

Os níveis totais de ácidos graxos saturados foram negativamente associados com a idade no estrato externo, e esta relação foi mais forte em fêmeas, o que sugere que há diferenças fisiológicas em termos de biossíntese e/ou seletividade na deposição de AG entre animais jovens e velhos e entre os sexos.

Os resultados encontrados para as diferentes classes etárias e os sexos apontam para diferenças fisiológicas e/ou flexibilidade intra-específica quanto à biossíntese e deposição de AG no estrato externo, bem como possíveis diferenças na dieta ou forrageio influenciando a composição de AG no estrato interno.

6. Considerações Finais

Para testar o potencial do uso de assinaturas de ácidos graxos da camada de gordura da toninha no estudo das relações tróficas, trabalhos futuros sobre identificação da composição de ácidos graxos das principais presas de *P. blainvillei* são recomendados. Para que seja possível a comparação dos dados das presas com os dados obtidos no presente estudo, deverão ser utilizados os mesmos métodos aqui empregados para obtenção e análise de ácidos graxos (ésteres metílicos), com “performance” similar de cromatografia. Deve-se ter em conta que o estrato interno da camada de gordura é onde melhor estão representados os ácidos graxos procedentes da dieta.

O uso da composição de ácidos graxos como indicadora de estoques populacionais da toninha pode ser de grande valia, mas para isso as investigações com relação aos demais estoques populacionais (Áreas de Manejo da Toninha I, II e IV^{*}) devem ser feitas levando-se em conta a estratificação da camada de gordura e a idade dos animais, além da padronização do local de coleta da amostra (equivalente a C4 ventral no presente estudo, Figura 3, Capítulo I) e do procedimento metodológico empregado. Investigações futuras sobre a composição de AG ao longo da distribuição da toninha podem auxiliar projetos propostos para *P. blainvillei* no Plano de Ação de Mamíferos Aquáticos (IBAMA, 2001), que recomenda a identificação de estoques populacionais através da utilização de vários métodos integrados nesta identificação (métodos morfométricos, moleculares, reprodutivos, fauna parasitária e contaminação). A avaliação do uso de assinaturas de AG como ferramenta para diferenciar estoques

* Área de Manejo da Toninha é o termo utilizado para os diferentes estoques populacionais das toninhas para fins de conservação (Secchi *et al.*, 2003).

populacionais também vai ao encontro das recomendações feitas pelo Grupo de Trabalho sobre Biologia e Ecologia da Franciscana (Danilewicz *et al.* 2002).

7. Referências Bibliográficas

- ACKMAN, R. G. & EATON, C. A. 1966. Lipids of the fin whale (*Balaenoptera physalus*) from North Atlantic waters. III. Occurrence of eicosenoic and docosenoic fatty acids in the zooplankton *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars) and their effect on whale oil composition. *Can. J. Biochem.*, 44: 1561-1566.
- ACKMAN, R. G.; EATON, C. A. & JANGAARD, P. M. 1965. Lipids of the fin whale (*Balaenoptera physalus*) from North Atlantic waters. I. Fatty acid composition of whole blubber and blubber sections. *Can. J. Biochem.*, 43: 1513-1520.
- ACKMAN, R.G.; HINGLEY, J.H.; EATON, C.A.; SIPOS, J.C. & MITCHELL, E.D. 1975. Blubber fat deposition in mysticeti whales. *Can. J. Zool.*, 53: 1332-1339.
- BASSOI, M. 1997. Avaliação da dieta alimentar de toninha, *Pontoporia blainvillei* (Gervais e D'Orbigny, 1844), capturadas acidentalmente na pesca costeira de emalhe no sul do Rio Grande do Sul. Dissertação de Bacharelado, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande. 68 pp.
- BEST, N.J.; BRADSHAW, C.J.A.; HINDELL, M.A.; & NICHOLS, P.D. 2003. Vertical stratification of fatty acids in the blubber of southern elephant seals (*Mirounga leonina*): implications for diet analysis. *Comp. Biochem. Physiol. B* 134: 253–263.
- CAON, G. S. 2002. Composição da camada de gordura e do leite da toninha (*Pontoporia blainvillei*) (Mammalia, Cetacea) no litoral norte do Rio Grande do Sul. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

- DANILEWICZ, D. 2003. Reproduction of female franciscana (*Pontoporia blainvillei*) in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *LAJAM*, 2 (2): 67-78.
- DANILEWICZ, D.; ROSAS, F.; BASTIDA, R.; MARIGO, J.; MUELBERT, M.; RODRÍGUEZ, D.; LAILSON-BRITO Jr., J.; RUOPPOLO, V.; RAMOS, R.; BASSOI, M.; OTT, P. H.; CAON, G.; ROCHA, A. M.; CATÃO-DIAS, J. L. & SECCHI, E. R. 2002. Report of the working group on biology and ecology. *LAJAM* (special issue), 1(1): 25-42.
- DANILEWICZ, D.; CLAVER, J. A.; PEREZ CARRERA, A. L.; SECCHI, E. R. & FONTOURA, N. F. 2004. Reproductive biology of male franciscanas (*Pontoporia blainvillei*) (Mammalia: Cetacea) from Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Fish. Bull.*, 102: 581-592.
- DI BENEDITTO, A. P. & RAMOS, R. A. 2000. *Pontoporia blainvillei* (Gervais & D'Orbigny, 1844) in the northern Rio de Janeiro State (21° 18'S – 22° 25'S), Brazil. Trabalho Técnico DT11 apresentado no IV Workshop para a Coordenação da Pesquisa e Conservação da Franciscana, *Pontoporia blainvillei*, no Atlântico Sul Ocidental, 05-09 de Novembro, Porto Alegre.
- FOLCH, J.; LEES, M. & SLOANE-STANLEY, G.H.; 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
- HOOKER, S.K.; IVERSON, S.J.; OSTROM, P. & SMITH, S.C. 2001. Diet of northern bottlenose whales inferred from fatty-acid and stable-isotope analyses of biopsy samples. *Can. J. Zool.* 79: 1442–1454.
- IBAMA. 2001. Mamíferos aquáticos do Brasil: plano de ação, versão II. Brasília, Edições IBAMA. 102 pp.

- IVERSON, S.J. 1993. Milk secretion in marine mammals in relation to foraging: can milk fatty acids predict diet? *Symp. zool. Soc. Lond.* 66: 263-291.
- IVERSON, S.J. 2002. Blubber. *In*: Perrin, W.F.; Wursig, B.; Thewissen, J.G.M. (Eds.). *Encyclopedia of Marine Mammals*. Academic Press, San Diego, 107–112.
- IVERSON, S. J.; OFTEDAL, O. T.; BOWEN, W. D.; BONESS, D. J. & SAMPUGNA, J. 1995. Prenatal and postnatal transfer of fatty acids from mother to pup in the hooded seal. *J. Comp. Physiol.*, 165: 1-12.
- KÄKELÄ, R.; HYVÄRINEN, H. & VAINIOTALO, P. 1993. Fatty acid composition in liver and blubber of the Saimaa ringed seal (*Phoca hispida saimensis*) compared with that of the ringed seal (*Phoca hispida botnica*) and grey seal (*Halichoerus grypus*) from the Baltic. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 105 (3/4): 553-565.
- KÄKELÄ, R. & HYVÄRINEN, H. 1996. Site-specific fatty acid composition in adipose tissues of several northern aquatic and terrestrial mammals. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 115 (4): 501-514.
- KASUYA, T. & BROWNELL, R.L. 1979. Age determination, reproduction, and growth of the franciscana dolphin, *Pontoporia blainvillei*. *Sci. Rep. Whales Res. Inst.*, 31: 45-67.
- KIRSCH, P. E.; IVERSON, S. J. & BOWEN, W. D. 2000. Effect of a low-fat diet on body composition and blubber fatty acids of captive juvenile harp seals (*Phoca groenlandica*). *Physiological and Biochemical Zoology*, 73 (1): 45:59.
- KOOPMAN, H. N.; IVERSON, S. J. & GASKIN, D. E. 1996. Stratification and age-related differences in blubber fatty acids of the male harbour porpoise (*Phocoena phocoena*). *J. Comp. Physiol. B*, 165 (8): 628-639.

- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L. & COX, M. M. 2002. Princípios de Bioquímica. Sarvier, São Paulo, 3ª ed. 975 pp.
- LINDEN, G. & LORIENT, D. 1994. Bioquímica Agroindustrial – Revalorización alimentaria de la producción agrícola. Acribia, Zaragoza.
- LITTNAN, C. L.; ARNOULD, J.P.Y.; HARCOURT, R.G. & MCINTYRE, C.P. 1999. Comparison of fatty acid signature analysis for diet determination in Australian fur seals. *In: XIII Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals*. 28 Novembro-03 Dezembro, 1999. Maui, Hawaii. (Resumos). p.109.
- LOCKYER, C. H. 1991. Body composition of the sperm whale, *Physeter catodon*, with special reference to the possible functions of fat depots. *Journal of the Marine Research Institute Reykjavik*. XII (2): 1-24.
- LOCKYER, C. H.; McCONNEL, L. C.; WATERS, T. D. 1984. The biochemical composition of fin whale blubber. *Can. J. Zool.* 62: 2553-2562.
- MAIA, E. L. 1992. Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídicos e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- MAYES, P. A. 1990. Lipídeos de significado fisiológico. *In: Murray, R.K.; Granner, D.K.; Mayes, P.A.; Rodwell, V.W. (eds.). Harper: Bioquímica, 6ª ed. Atheneu, São Paulo, 133-145.*
- OLSEN, E. & GRAHL-NIELSEN, O. 2003. Blubber fatty acids of minke whales: stratification, population identification and relation to diet. *Marine Biology.*, 142: 13-24.
- OTT, P. H. 1994. Estudo da ecologia alimentar de *Pontoporia blainvillei* (Gervais & D'Orbigny, 1844) (Cetacea, Pontoporiidae) no litoral norte do Rio Grande do Sul,

- sul do Brasil. Dissertação de Bacharelado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 69 pp.
- PERRIN, W.F. & MYRICK JR., A.C. (Eds.) 1980. Age determination of toothed whales and sirenians. *Rep. Int. Whal. Commn* (special issue), 3: 229 pp.
- PINEDO, M. C. 1982. Análise dos conteúdos estomacais de *Pontoporia blainvillei* (Gervais e D'Orbigny, 1844) e *Tursiops geophysreus* (Lahille, 1908) (Cetacea, Platanistidae e Delphinidae) na zona estuarial e costeira de Rio Grande, RS, Brasil. Dissertação de Mestrado, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande. 95 pp.
- PINEDO, M.C. & HOHN, A.A. 2000. Growth layer patterns in teeth from the franciscana, *Pontoporia blainvillei*: Developing a model for precision in age estimation. *Mar. Mamm. Sci.*, 16(1): 1-27.
- POND, C. M. 1978. Morphological aspects and the ecological and mechanical consequences of fat deposition in wild vertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 9: 519-570.
- RIVERO, L.; BASTIDA, R. & RODRÍGUEZ, D. 2000. Ecología trófica de la franciscana (*Pontoporia blainvillei*) en áreas estuariales y marinas del norte de Argentina. Trabalho Técnico WP21 apresentado no IV Workshop para a Coordenação da Pesquisa e Conservação da Franciscana, *Pontoporia blainvillei*, no Atlântico Sul Ocidental, 05-09 de Novembro, Porto Alegre.
- RODRIGUEZ, D.; RIVERO, L. & BASTIDA, R. 2002. Feeding ecology of the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) in marine and estuarine waters of Argentina. *LAJAM* (special issue), 1 (1):77-94.

- SECCHI, E. R.; OTT, P. H. & DANILEWICZ, D. 2002. Report of the Fourth Workshop for the Coordinated Research and Conservation of the Franciscana Dolphin (*Pontoporia blainvillei*) in the Western South Atlantic. *LAJAM* (special issue), 1 (1): 11-17.
- SECCHI, E. R.; DANILEWICZ, D. & OTT, P. H. 2003. Applying the phylogeographic concept to identify franciscana dolphin stocks: implications to meet management objectives. *J. Cetacean Res. Manage.*, 5(1): 61-68.
- SHAHIDI, F. & WANASUNDARA, U. N. 1998. Omega-3 fatty acid concentrates: nutritional aspects and production technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 9: 230-240.
- SMITH, R. J.; HOBSON, K. A.; KOOPMAN, H. N. & LAVIGNE, D. M. 1996. Distinguishing between populations of fresh- and salt-water harbour seals (*Phoca vitulina*) using stable-isotope ratios and fatty acid profiles. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 53: 272-279.
- SMITH, S. J.; IVERSON, S. J. & BOWEN, W. D. 1997. Fatty acid signatures and classification trees: new tools for investigating the foraging ecology of seals. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 54: 1377-1386.
- STATSOFT, INC. STATISTICA for Windows, v. 5.0. 1997 [Computer program manual]. Tulsa, USA.

ANEXO

Padrões de ácidos graxos utilizados

(Supelco catalog n° 18919- 1 amp 100 mg)

Símbolo	Nome ¹	Concentração (%)	Símbolo	Nome ¹	Concentração (%)
C4:0	Ácido butírico	4%	C18:2n-6 (cis)	Ácido linoléico	2%
C6:0	Ácido capríco	4%	C18:3n-6	Ácido γ -linolênico	2%
C8:0	Ácido caprílico	4%	C18:3n-3	Ácido α -linolênico	2%
C10:0	Ácido cáprico	4%	C20:0	Ácido araquídico	4%
C11:0	Ácido n-undecílico	2%	C20:1n-9	Ácido gondóico	2%
C12:0	Ácido láurico	4%	C20:2n-6	Ácido 11,14-eicosadienóico*	2%
C13:0	Ácido n-tridecílico	2%	C20:3n-6	Ácido dihomo- γ -linolênico	2%
C14:0	Ácido mirístico	4%	C20:3n-3	Ácido 11,14,17-eicosatrienóico*	2%
C14:1n-5	Ácido miristoléico	2%	C20:4n-6	Ácido araquidônico	2%
C15:0	Ácido n-pentadecílico	2%	C20:5n-3	Ácido timinodônico, EPA	2%
C15:1	Ácido 10-pentadecenóico*	2%	C21:0	Ácido n-heneicosóico	2%
C16:0	Ácido palmítico	6%	C22:0	Ácido behênico	4%
C16:1n-7	Ácido palmitoléico	2%	C22:1n-9	Ácido erúico	2%
C17:0	Ácido margárico	2%	C22:2n-6	Ácido 13,16-docosadienóico*	2%
C17:1	Ácido 10-heptadecenóico*	2%	C22:6n-3	Ácido cervônico, DHA	2%
C18:0	Ácido esteárico	4%	C23:0	Ácido tricosanóico*	2%
C18:1n-9 (trans)	Ácido elaidico	2%	C24:0	Ácido lignocérico	4%
C18:1n-9 (cis)	Ácido oléico	4%	C24:1n-9	Ácido nervônico	2%
C18:2n-6 (trans)	Ácido linolelaídico	2%			

¹ nomes vulgares ou sistemáticos (estes últimos marcados por *)