



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL**



**INTOXICAÇÃO ALIMENTAR POR METILMERCÚRIO EM TILÁPIA DO  
NILO E SUA BIOMAGNIFICAÇÃO EM RATOS WISTAR**

**NILTON MASSUO ISHIKAWA  
Médico veterinário**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aqüicultura da UNESP (CAUNESP), como parte das exigências para a obtenção do Título de DOUTOR em Aqüicultura, área de concentração em Aqüicultura de Águas Continentais.

**Jaboticabal  
2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**INTOXICAÇÃO ALIMENTAR POR METILMERCÚRIO EM TILÁPIA DO  
NILO E SUA BIOMAGNIFICAÇÃO EM RATOS WISTAR**

**NILTON MASSUO ISHIKAWA**

**ORIENTADORA: Dra. MARIA JOSÉ TAVARES RANZANI DE PAIVA  
CO-ORIENTADOR: Dr. JULIO VICENTE LOMBARDI**

**Jaboticabal  
2007**

## AGRADECIMENTOS

- A Deus por mais esta oportunidade de realizar um grande desafio de vida.
- A Profa. Dra. Maria José Tavares Ranzani de Paiva, pela orientação, ensinamentos, confiança, amizade e apoio em todos os momentos. Uma mulher brilhante tanto na área científica quanto pessoal, um grande exemplo a ser seguido.
- Ao grande amigo e co-orientador deste trabalho, Prof. Dr. Júlio Vicente Lombardi.
- Aos membros da banca examinadora, Dr. Claudinei da Cruz, Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral, Dra. Mônica Accai Marcondes de Moura e Prof. Dr. Flávio Ruas de Moraes pelas valiosas sugestões para o enriquecimento deste trabalho.
- Ao CAUNESP (Centro de Aqüicultura da Unesp) pela oportunidade e confiança oferecida.
- Ao Instituto de Pesca de São Paulo, APTA/SAA pela infra-estrutura e apoio cedidos para a realização dos experimentos.
- Ao IPEN-USP (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares) pelas análises de bioacumulação de mercúrio. Em especial a Profa. Dra. Marina Vasconcellos, e os amigos pós-graduandos Edson Moreira e Marília Gabriela.
- Ao Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Unesp (*Campus* de Jaboticabal) pela infra-estrutura, apoio e pelos ratos cedidos para a realização dos experimentos. Em especial ao Prof. Dr. Antonio de Queiroz Neto, Profa. Dra. Maria Isabel Mataqueiro e os técnicos Euclides (Cridão) e Damaris Rovieiro.

- Ao Laboratório do Departamento de Fitossanidade da Unesp (Campus de Jaboticabal) pelo auxílio no processamento das dietas. Em especial a doutoranda e amiga Elis Winkaler.
- Ao Laboratório de pesquisas do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Unesp (*Campus de Jaboticabal*) pelas análises clínicas. Em especial as técnicas Renata Lemos e Cláudia Nogueira.
- A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo incentivo a pesquisa e pela bolsa concedida.
- A FAPESP (Fundação a Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo incentivo a pesquisa e pelo auxílio projeto concedido.
- A Veralice, uma grande amiga e sempre disposta em todos os momentos.
- Aos amigos de pós-graduação Rizal Robles, Jakeline Galvão, Solange de Carvalho, Danielle Dias, Fernanda Menezes, Dra. Fabiana Pilarski, Roberson Sakabe, Daniela Nomura, Gabriela Gomes, Jaqueline Souza e Natália (Hiki) pela amizade e imensa ajuda nas coletas.
- Aos estagiários do Instituto de Pesca de São Paulo, Flávia Andreghetto, Iryna Zin, Vivian Phillip, Renata Fernandes, Mariana Corá, Silvia Napoleão e Natália Caruso.
- Aos estagiários da Unesp, Lara Genovez, Maria Laura, Analuê Moura, Luciana Agostinho, Talita Uchiyama e Flávia Saiki (Xun-li).
- Aos amigos Daniel Emygdio, Rizal Robles e Marcio Hoshiba pela ajuda nas análises estatísticas.

Enfim, agradeço a todos que participaram de alguma forma neste trabalho e principalmente às pessoas que fizeram parte dessa importante fase da minha vida. Aos que deixei de agradecer, não foi ingratidão, peço perdão e sintam-se reconhecidos. Muito obrigado de coração.

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....                                      | i         |
| <b>LISTA DE TABELAS</b> .....   | ii        |
| <b>LISTA DE FIGURAS</b> .....   | iv        |
| <b>RESUMO</b> .....   | <b>1</b>  |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | <b>2</b>  |
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>3</b>  |
| <b>2. OBJETIVOS</b> .....   | <b>7</b>  |
| 2.1 Objetivo Geral .....  | 7         |
| 2.2 Objetivos específicos.....  | 7         |
| 2.2.1 <i>Oreochromis niloticus</i> .....                                | 7         |
| 2.2.2 <i>Rattus norvegicus</i> .....                                    | 7         |
| <b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....                                   | <b>8</b>  |
| 3.1 O Mercúrio.....   | 8         |
| 3.2 Contaminação do Ambiente.....                                       | 9         |
| 3.3 Transformação e Transporte do Mercúrio no Ambiente .....            | 11        |
| 3.4 Contaminação por mercúrio em peixes .....                           | 15        |
| 3.5 Risco da exposição humana ao mercúrio .....                         | 16        |
| 3.6 Bioindicadores .....  | 21        |
| 3.6.1 Peixes.....   | 21        |
| 3.6.2 Ratos .....   | 22        |
| 3.7 Biomarcadores .....   | 23        |
| 3.7.1 Hematologia .....   | 23        |
| 3.7.2 Relação Somática.....   | 24        |
| 3.7.3 Bioacumulação .....   | 25        |
| <b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....                                      | <b>27</b> |
| 4.1 Avaliação da contaminação do metilmercúrio em tilápia do Nilo ..... | 27        |
| 4.1.1 Delineamento Experimental.....                                    | 27        |
| 4.1.2 Preparo da dieta .....  | 28        |
| 4.1.3 Avaliações biométricas .....                                      | 28        |
| 4.1.4 Colheita de amostras .....  | 29        |
| 4.1.4.1 Sangue .....  | 29        |
| 4.1.4.2 Tecidos .....   | 29        |
| 4.1.5 Análise de bioacumulação de mercúrio .....                        | 30        |
| 4.1.5.1 Limite de detecção (LD) de mercúrio .....                       | 31        |

|  |           |
|--|-----------|
| 4.2 Avaliação da contaminação do metilmercúrio em ratos Wistar ..... | 31        |
| 4.2.1 Delineamento Experimental.....                                 | 31        |
| 4.2.2 Preparo da dieta .....   | 32        |
| 4.2.3 Colheita de amostras .....                                     | 34        |
| 4.2.3.1 Sangue .....   | 34        |
| 4.2.3.2 Tecidos.....   | 34        |
| 4.2.4 Análise de biomagnificação de mercúrio.....                    | 35        |
| 4.2.5 Análise Estatística .....                                      | 35        |
| <b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                               | <b>37</b> |
| 5.1 Metilmercúrio em tilápia do Nilo .....                           | 37        |
| 5.1.1 Análise hematológica.....                                      | 37        |
| 5.1.1.1 Série Vermelha .....   | 37        |
| 5.1.1.2 Série branca .....   | 42        |
| 5.1.2 Variáveis bioquímicas do sangue de tilápia do Nilo .....       | 46        |
| 5.1.3 Relação hepato e esplenossomática .....                        | 49        |
| 5.1.4 Bioacumulação de mercúrio em tilápia do Nilo .....             | 51        |
| 5.2 Metilmercúrio em ratos Wistar .....                              | 57        |
| 5.2.1 Análise hematológica.....                                      | 57        |
| 5.2.1.1 Série vermelha.....  | 57        |
| 5.2.1.2 Série branca .....   | 61        |
| 5.2.2 Variáveis bioquímicas do sangue de ratos Wistar.....           | 64        |
| 5.2.3 Relações Hepato, Espleno, Nefro e Encefalossomática .....      | 68        |
| 5.2.4 Bioacumulação de mercúrio em ratos Wistar .....                | 72        |
| <b>6. CONCLUSÕES .....</b>   | <b>79</b> |
| <b>7. REFERENCIAS.....</b>   | <b>80</b> |

**LISTA DE ABREVIATURAS**

|        |  |
|--------|--|
| ALD    | abaixo do limite de detecção                                 |
| ALT    | alanina amino transferase                                    |
| ANOVA  | análise de variância   |
| C1     | concentração 1   |
| C2     | concentração 2   |
| CHCM   | concentração de hemoglobina corpuscular média                |
| CV AAS | espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio |
| Er     | eritrócitos  |
| Es     | eosinófilos  |
| Hb     | hemoglobina  |
| Hg     | mercúrio   |
| HCM    | hemoglobina corpuscular média                                |
| LD     | limite de detecção   |
| Lf     | linfócitos   |
| MeHg   | metilmercúrio  |
| Mn     | monócitos  |
| NS     | não significativo  |
| Nt     | neutrófilos  |
| ND     | não significativo  |
| PB     | proteína bruta   |
| PS     | peso seco  |
| PTFE   | teflon   |
| PU     | peso úmido   |
| PV     | peso vivo  |
| RES    | relação encéfalossomática                                    |
| RHS    | relação hepatossomática                                      |
| RNS    | relação nefrossomática                                       |
| RSS    | relação esplenossomática                                     |
| Tr     | trombócitos  |
| VCM    | volume corpuscular médio                                     |



| LISTA   | DE | TABELAS   |
|---|----|-----------|
| .....   |    |           |
| .....   |    |           |
| <b>Tabela 1.</b> Valores de Hg detectados na musculatura de peixes capturados em ambiente natural. ....   |    | <b>33</b> |
| <b>Tabela 2.</b> Variáveis físicas e químicas da água durante o experimento com tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg .....  |    | <b>37</b> |
| <b>Tabela 3.</b> Médias $\pm$ erro padrão observadas e resultados da análise de variância para hematócrito (%), hemoglobina ( $\text{g.dL}^{-1}$ ), números de eritrócitos ( $10^4.\mu\text{L}^{-1}$ ), VCM (fL), HCM(Pg) e CHCM (%) em tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg. ....                                  |    | <b>39</b> |
| <b>Tabela 4.</b> Médias $\pm$ erro padrão observadas e resultados da análise de variância de leucócitos totais ( $10^4.\mu\text{L}^{-1}$ ), linfócitos ( $10^4.\mu\text{L}^{-1}$ ), neutrófilos ( $10^4.\mu\text{L}^{-1}$ ), e monócitos ( $10^4.\mu\text{L}^{-1}$ ), em tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg. .... |    | <b>43</b> |
| <b>Tabela 5.</b> Médias $\pm$ erro padrão observadas e resultados da análise de variância para cálcio ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), magnésio ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) e glicose ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) plasmático de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg. ....   |    | <b>48</b> |
| <b>Tabela 6.</b> Médias $\pm$ erro padrão observadas e resultados da análise de variância da relação hepato e esplenossomática em tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg. ....  |    | <b>50</b> |
| <b>Tabela 7.</b> Médias e resultados da análise de variância para bioacumulação de Hg ( $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ ) em músculo, fígado, rim, encéfalo e baço de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg. ....   |    | <b>52</b> |
| <b>Tabela 8.</b> Comparação de bioacumulação de Hg ( $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ ) entre os tecidos de tilápia do Nilo analisadas ao final dos 42 dias de experimentação.....  |    | <b>56</b> |
| <b>Tabela 9.</b> Médias $\pm$ erro padrão observadas e resultados de análise estatística para hematócrito (%), taxa de hemoglobina ( $\text{g.dL}^{-1}$ ), número de eritrócitos ( $10^4.\mu\text{L}^{-1}$ ), VCM (fL), HCM (Pg) e CHCM ( $\text{g.dL}^{-1}$ ) em ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg.....              |    | <b>59</b> |

**Tabela 10.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultados da análise de variância do número absolutos de Lc ( $n^{\circ}.\mu L^{-1}$ ), Lf ( $n^{\circ}.\mu L^{-1}$ ), Nt ( $n^{\circ}.\mu L^{-1}$ ), Mn ( $n^{\circ}.\mu L^{-1}$ ), Es ( $n^{\circ}.\mu L^{-1}$ ) em ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg. .... **63**

**Tabela 11.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultado da análise de variância para glicose( $mg.L^{-1}$ ), cálcio ( $mg.L^{-1}$ ), magnésio ( $mg.L^{-1}$ ), creatinina( $mg.L^{-1}$ ) e ALT ( $mg.L^{-1}$ ) plasmáticos em ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg. .... **66**

**Tabela 12.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultado da análise de variância das relações (%), hepato, espleno, nefro e encefalossomática em ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg. .... **70**

**Tabela 13.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultado da análise de variância para bioacumulação de Hg ( $ngHg.g^{-1}$ ) na musculatura, fígado, rim, encéfalo e baço de ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg. .... **74**

**Tabela 14.** Comparação de bioacumulação de Hg ( $ngHg.g^{-1}$ ) entre os tecidos de ratos Wistar analisadas ao final dos 28 dias de experimentação. .... **77**

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Médias  $\pm$  erro padrão de Ht, Er, VCM e HCM de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contendo MeHg (tratamento x tempo). Letras diferentes nos tempos diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).....40
- Figura 2.** Médias  $\pm$  erro padrão de leucócitos e linfócitos de tilápia do Nilo alimentados com dieta contendo MeHg (tratamento x tempo). Letras diferentes nos tempos diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).....44ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
- Figura 3.** Médias  $\pm$  erro padrão de cálcio e glicose de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contendo MeHg (tratamento x tempo). Letras diferentes nos tempos diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).....47.
- Figura 4.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas para de bioacumulação de Hg em rim, fígado, baço, musculatura e encéfalo de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contendo MeHg (tratamento x tempo). (\*) dentro de cada tempo diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).....53.
- Figura 5.** Biacumulação de Hg em musculatura, rim, fígado, encéfalo e baço de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg.....54.
- Figura 6.** Perfil do hemograma de ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg durante 28 dias.....60.
- Figura 7.** Perfil leucocitário de ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg, durante 28 dias.....64.
- Figura 8.** Perfil dos variáveis bioquímicas do sangue de ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg, durante 28 dias.....65.
- Figura 9.** Valores das relações hepato, espleno, nefro e encéfalossomática de ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg, durante 28 dias.....71.

**Figura 10.** Médias observadas para de bioacumulação Hg em rim, fígado, baço, musculatura e encéfalo de ratos Wistar alimentados com dieta contendo Hg (tratamento x tempo). (\*) dentro de cada tempo diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).....75.

**Figura 11.** Biacumulação de Hg ( $\text{ngHg.g}^{-1}$ ) em rim e fígado de ratos Wistar alimentadas com dieta de concentração 2 de Hg.....77.

**Figura 12.** Comparação da bioacumulação de Hg (nível de Hg x tempo) entre os tecidos de ratos Wistar analisados durante o período experimental.....78.

## RESUMO

O mercúrio (Hg) e seus compostos organometálicos são considerados altamente tóxicos para o ecossistema aquático. O metilmercúrio (MeHg), especificamente, é considerado o mais tóxicos dentre as formas de Hg e pode se acumular em organismos topo de cadeia. Neste trabalho, as espécies *Oreochromis niloticus* (peixe) e *Rattus norvegicus* (mamífero) foram utilizadas para avaliar experimentalmente o efeito do MeHg por via trófica. Os peixes foram distribuídos em 3 grupos, sendo dois alimentados com ração contaminada (concentração 1 =  $1,03 \pm 0,15$  e concentração 2 =  $8,27 \pm 1,25 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ) e um grupo alimentado com dieta sem o metal, como grupo controle. O experimento foi conduzido por 42 dias e foram avaliadas as variáveis sanguíneas, bioquímicas, relações hepato e esplenossomáticas e a bioacumulação do metal em musculatura, fígado, rim, baço e encéfalo. Posteriormente, a musculatura de peixes contaminados e peixes controles (concentração 1 =  $0,31 \pm 0,03$ ; concentração 2 =  $3,04 \pm 0,94 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ; controle = concentração abaixo do limite de detecção) foram triturados e fornecidos a ratos Wistar por gavagem, durante 28 dias de experimentação. Nesta etapa, foi utilizado o mesmo delineamento anterior e realizada as mesmas análises. Nos peixes, o MeHg mostrou-se altamente bioacumulativo nas duas concentrações testadas, principalmente no rim e no fígado, e provocou discretas alterações nos quadros hematológico e hepatossomático. Nos ratos, as variáveis sanguíneas, bioquímicas e relações somáticas não apresentaram diferença significativa entre os diferentes grupos avaliados. Por outro lado, ratos alimentados com musculatura de peixes com nível mais elevado de Hg apresentaram maior acúmulo de Hg no rim, fígado, baço, musculatura e encéfalo em comparação ao grupo alimentado com a menor concentração de Hg. Com estes resultados estimou-se a relação do órgão mais sensível para o menos sensível à bioacumulação do Hg: rim  $\geq$  fígado  $>$  baço  $\geq$  musculatura = encéfalo.

## ABSTRACT

Mercury (Hg) and its organometallic compounds belong to the most toxic substances for aquatic ecosystems. Methylmercury (MeHg) is the most hazardous Hg species known, and is a toxicant that is accumulated by aquatic organisms and biomagnified along food chains. In this work aimed to assess the toxic influence of the MeHg by food in *Oreochromis niloticus* (fish) and *Rattus norvegicus* (mammal). Two groups of fish were fed with diet contaminated (concentration 1 =  $1.03 \pm 0.15$  and concentration 2 =  $8.27 \pm 1.25 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ), and one group were fed without MeHg (control group). This experiment was conducted for 42 days and was analysed hematological parameters, blood chemistry, relations hepato and splenossomatic, and bioaccumulation of Hg in muscle, liver, kidney, spleen and brain. Afterwards, Wistar rats were fed fish-muscle diets contaminated (concentration 1 =  $0.31 \pm 0.03$  and concentration 2 =  $3.04 \pm 0.94 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ) by gavage for 28 days, and one group were fed with fish control. In this stage were utilize the same experiment design and analyses applied in fish test. The results obtained in fish shows that Hg is mainly accumulated in the tissues of kidney and liver. The effect toxicity of Hg shows a slight alteration in hematological parameters and hepatossomatic in fish. In rats the hematological parameters, blood chemistry, relations somatic did not differ among the experimental control. On the other hand, rats fed the highest level of Hg had a significantly higher kidney, liver, spleen, muscle and brain Hg contamination compared to rats fed the lower Hg diet and control group. With this results can be ranked from most to least sensitive to bioaccumulate Hg: kidney  $\geq$  liver  $>$  spleen  $\geq$  muscle = brain.

## 1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é um dos sistemas de produção que mais cresce no mundo. Baseado em estatísticas da FAO (1998), a produção mundial tem aumentado na proporção de 10% ao ano, na última década. Os dados revelam que a atividade cresce ainda mais rapidamente nos países em desenvolvimento (NEW, 1998).

A contribuição brasileira representa apenas 10% da produção aquícola da América Latina, que por sua vez é responsável por aproximadamente 1,8 % da produção global (OSTRENSKY et al., 2000). No entanto, a aquicultura começa a desempenhar importante papel econômico e social no cenário nacional, consolidando-se como atividade em expansão, gerando alimentos, empregos, impostos e divisas (BORGHETTI e OSTRENSKY, 1998).

A tilapicultura vem se desenvolvendo de maneira rápida e consistente, sendo uma das mais importantes atividades aquícolas em muitas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Cálculos recentes da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO) indicam que o cultivo mundial de tilápias produz mais de um milhão de toneladas por ano (CONROY e CONROY, 2007).

Segundo VALENTI et al. (2000), a produção aquícola é inteiramente dependente do ecossistema no qual está inserida, pois os peixes vivem em contato estreito com o seu meio e, por isso, são afetados pelas mudanças causadas por diferentes agentes físicos, químicos e biológicos. Sendo assim, a exploração econômica dos peixes considerada um investimento, que requer conhecimentos básicos dos principais fatores que direta ou indiretamente estejam ligados ao ambiente aquático.

A presença de mercúrio (Hg) nos ecossistemas naturais vem assumindo dimensões preocupantes, principalmente em decorrência de suas múltiplas fontes, dentre elas, as naturais: gaseificação da crosta terrestre, depósitos minerais,

emissões vulcânicas e oceânicas; e antropogênicas: indústrias, mineração de ouro, laboratórios e queima de combustíveis fósseis (RENZONI et al., 1998; BYCZKOWSKI e LIPSCOMB, 2001).

Todas as formas químicas do Hg são consideradas tóxicas. Porém, entre as diferentes formas, o Hg orgânico ou metil-mercúrio (MeHg) é particularmente a mais importante, devido à sua alta toxicidade e a capacidade de acumulação no organismo (QUEVAUVILLER et al., 1996; SANGA et al., 2001; DOMMERGUE et al., 2003). Esta forma orgânica tem origem do Hg inorgânico (pouco bioacumulativo) através da metilação por atividade bacteriana presente no ambiente aquático (SANGA et al., 2001; CARRINGTON e BOLGER, 2002).

Segundo RENZONI et al. (1998), o MeHg possui afinidade pelo grupamento sulfidril, ligando-se às proteínas e enzimas, podendo se acumular nos organismos e aumentar a sua concentração ao longo da cadeia alimentar (biomagnificação). Além disso, esta forma química é altamente neurotóxica para os mamíferos e pode atravessar facilmente a barreira hemato-encefálica (SANGA et al., 2001). BLOOM (1992) menciona que aproximadamente 95% do Hg absorvido pelo trato intestinal é na forma de MeHg, sendo a exposição oral uma adequada via de estudo da contaminação do organismo.

O impacto da toxicidade do MeHg foi observado pela primeira vez em Minamata (Japão), em 1955, como consequência da ingestão de peixes contaminados com o metal. No Iraque, em 1970, ocorreu intoxicação devido ao consumo de farinha de trigo que havia sido tratada com fungicida a base de MeHg. No Brasil, estima-se que as populações ribeirinhas da bacia Amazônica e do pantanal, que se alimentam de peixes, apresentem níveis de Hg acima dos recomendados (LACERDA et al., 1991; PORVARI, 1995; SOUZA e BARBOSA, 2000; BOURGOIN-MAURICE et al., 2000; HYLANDER et al., 2000).



Na aquicultura, além do risco da existência do Hg no ambiente de criação, a contaminação pode ocorrer através da utilização da farinha de peixe contaminada com o metal, sendo que, em alguns casos, na elaboração das dietas este ingrediente pode ter inclusão de até 20%.

Atualmente, vários autores preocupam-se com o elevado risco a que se expõe a população pelo consumo de organismos aquáticos contaminados pelo Hg (RENZONI et al, 1998; GINSBERG e TOAL, 2000; MYERS et al., 2000; STEUERWALD et al., 2000; MERGLER, 2002; CARRINGTON e BOLGER, 2002; FLAHERTY et al., 2003).

A intoxicação pelo MeHg em humanos, mesmo em baixos níveis, leva a alguns sinais neurológicos clínicos como: distúrbio sensorial das extremidades, ataxia, desequilíbrio, constrição visual, dificuldade na fala e locomoção, fraqueza muscular, tremor, perda da audição e distúrbios mentais (ETO, 2000). Segundo MERGLER (2002), foram registrados vários casos de crianças expostas ao MeHg ainda no útero das mães contaminadas pela ingestão de peixes, sendo que estas não apresentavam sintomas de intoxicação.

Em vista do alto risco deste produto tóxico ao ambiente e à saúde pública, foi determinado em 1975 pelo Ministério da Saúde do Brasil o limite máximo de  $0,5 \mu\text{g Hg.g}^{-1}$  em peixes destinados ao consumo humano. A resolução 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA, 2005) recomenda a concentração máxima de  $0,0002 \text{ mgHg.L}^{-1}$  nas águas destinadas à criação de organismos aquáticos. RICE et al. (2003) mencionam que a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), estimou a dose de ingestão oral diária de referência em  $0,1 \mu\text{gHg.kg}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ . Sendo assim, regiões de risco aconselha-se limitar a ingestão de peixes, principalmente por mulheres grávidas e crianças (LIPFERT et al., 1996; SCHOBERT et al., 2003).

Nos peixes, a contaminação causa alterações indesejadas, tais como a inibição dos processos metabólicos, baixa fecundidade, diminuição na taxa de

sobrevivência e alterações da capacidade de defesa celular e humoral (MIKRYAKOV e LAPIROVA, 1997).

De acordo com OLIVEIRA-RIBEIRO et al. (1996), estudos de toxicidade utilizando peixes em condições controladas permitem, através de avaliações da mortalidade, alterações de comportamento e danos nos tecidos, obter informações importantes correspondentes aos efeitos dos poluentes na biota de um ecossistema aquático natural.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Analisar a toxicidade do MeHg em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), visando conhecer o potencial tóxico deste composto sobre alguns parâmetros biológicos, através de exposição trófica em condições de laboratório. E posteriormente avaliar o risco da biomagnificação deste poluente em ratos Wistar (*Rattus norvergicus*).

### **2.2 Objetivos específicos**

#### **2.2.1 *Oreochromis niloticus***

- Descrever as alterações hematológicas e de componentes do sangue devido à presença deste contaminante;
- Avaliar a relação hepato e esplenossomática;
- Determinar o acúmulo de Hg em musculatura, fígado, baço, rim e encéfalo, por espectrometria de absorção atômica de vapor frio.

#### **2.2.2 *Rattus norvergicus***

- Descrever as alterações hematológicas e de componentes do sangue em resposta à presença deste contaminante.
- Avaliar a relação hepato, espleno, nefro e encéfalossomática.
- Determinar o acúmulo de Hg em musculatura, fígado, baço, rim e encéfalo, por espectrometria de absorção atômica de vapor frio.
- Avaliar o processo de biomagnificação deste poluente.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 O Mercúrio

O Hg é um metal que segundo a classificação dos elementos, encontra-se juntamente com o cádmio e o zinco no grupo II B da Tabela Periódica. O elemento Hg é representado pelo símbolo universal (Hg) derivado do Hidrargyrum do latim. Este metal, na forma elementar, possui algumas características interessantes. Além de inodoro é o único metal conhecido que se apresenta no estado líquido em temperatura ambiente, graças ao seu alto ponto de ebulição  $+356,72\text{ }^{\circ}\text{C}$  e o baixo ponto de fusão  $-38,87\text{ }^{\circ}\text{C}$ , que o tornam altamente estável (WHO, 2003).

No meio ambiente o Hg encontra-se associado a outros elementos. O mais comum é o enxofre, com quem forma o minério cinábrio (HgS) característico pela coloração vermelha ou preta. Além de seu estado elementar (Hg metálico), pode existir nas formas: inorgânica ou orgânica. Na forma inorgânica pode ser encontrado sob três diferentes estados de oxidação: o Hg elementar ( $\text{Hg}^0$ ), o qual se encontra principalmente na forma de gás; o íon mercurioso ( $\text{Hg}_2^{2+}$ ), forma pouco estável em sistemas naturais e o íon mercúrico ( $\text{Hg}^{2+}$ ). Na forma orgânica, o íon mercúrico apresenta-se ligado covalentemente a um radical orgânico, sendo o metilmercúrio ( $\text{CH}_3\text{Hg}^+$ ) e o dimetilmercúrio ( $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ ) os mais comuns; ou ainda, com ligantes orgânicos naturais (MICARONI et al., 2000).

Os sais mais importantes industrialmente são: cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ), um sublimado corrosivo altamente tóxico; cloreto mercurioso ( $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ), calomelano ocasionalmente usado na medicina; fulminato de mercúrio ( $\text{Hg}(\text{CNO})_2$ ), um tipo de detonador usado em explosivos e o sulfeto de mercúrio (HgS), de cor vermelha, usado como pigmento em tintas (HSDB, 2000).

### 3.2 Contaminação do Ambiente

O Hg encontrado no ambiente pode ser oriundo de fontes naturais e antropogênicas. As fontes naturais são imensas, sendo superior às causadas pelo ser humano. No entanto, estas últimas podem ter considerável importância em termos de contaminação local do ambiente (CASTRO, 1991; SUNDERLAND e CHMURA, 2000; AZEVEDO, 2003).

AZEVEDO (2003) relata que o Hg ocorre naturalmente nos vários compartimentos da natureza: hidrosfera, litosfera, atmosfera e biosfera. O Hg é emitido principalmente na forma de vapor elementar ( $Hg^0$ ) (WHO, 2000). Estima-se que a emissão natural seja na ordem de 2700 – 6000 toneladas por ano. As fontes mais significativas são provenientes dos processos de desgaseificação da crosta terrestre, das emissões vulcânicas e pelo processo de evaporação de corpos aquáticos (WHO, 1991).

Com o desenvolvimento da humanidade, particularmente após a revolução industrial do século XIX, as fontes antropogênicas têm contribuído significativamente para a emissão de mercúrio ao ambiente (WHO, 2003). Segundo estimativas a atividade humana libera para a atmosfera aproximadamente 3000 toneladas por ano de Hg (WHO, 1991). Grande parte é liberada por indústrias de cloro-álcalis, de equipamentos elétricos, de tintas, de lâmpadas, de baterias, de cimento, de ferro e aço, de pesticidas e de equipamentos médicos (WHO, 1991; MICARONI et al., 2000; AZEVEDO, 2003; McGRARY et al., 2006; FOSTIER e MICHELAZZO, 2006; RALDÚA et al., 2007). Além dessas, é importante considerar a ocorrência da queima de combustíveis fósseis, incineração de lixo, esgoto urbano, mineração de ouro, amalgamação odontológica e produtos farmacêuticos (MICARONI et al., 2000; DURRIEU et al., 2005; CASTILHOS et al., 2006; DONKOR et al., 2006).

De acordo com estimativas de JAFFE et al. (2005), existe indicação que o continente asiático é responsável por mais de 50% das fontes antropogênicas de Hg

no mundo. Na China, em particular, emite para a atmosfera cerca de 12% do total de todas as fontes antrópicas mundiais (HORVAT et al., 2003).

De acordo com os estudos realizados por SUNDERLAND e CHMURA (2000), na costa marítima do Canadá, estes estimaram que a emissão antropogênica de Hg, no período entre 1880 e 1995, foi de aproximadamente 327 a 448 toneladas, com picos de liberação nos anos 1945, 1965 e 1970, com teores superiores a 1750 e 2600kg por ano.

Na Sibéria, a emissão de Hg por fontes antropogênicas e naturais foi estimado por VASILIEV et al. (1998), na ordem de 340 e 70 toneladas por ano, respectivamente.

Segundo a estimativa de PIRRONE et al. (2001), a Europa, a África e a América do Norte, respectivamente, são responsáveis pelas liberações de aproximadamente 250, 210 e 214 toneladas por ano, de Hg de origem antropogênica para o meio ambiente.

No Brasil, o garimpo do ouro é considerado ainda a maior fonte de emissão, embora esta atividade tenha se reduzido muito nas últimas décadas (SANTOS et al., 2002). De acordo com cálculos, a exploração de ouro no Brasil resultou na liberação de aproximadamente 3000 toneladas de Hg na região amazônica nas últimas décadas (VEIGA et al., 1995; LACERDA, 2003; FARIAS et al., 2005).

Segundo LACERDA e MARIN (1997), a estimativa total de emissão de Hg para a atmosfera no Brasil é de aproximadamente 116 toneladas por ano, onde a indústria de cloro-álcalis e a indústria de aço e ferro contribuem com 12 toneladas/ano, cada uma. A queima da vegetação natural, para formar pastos ou fazendas agrícolas representa em torno de 9 toneladas por ano. As indústrias de tintas, as eletrônicas e a produção de energia a partir do petróleo contribuem com 5,1 toneladas por ano.

### 3.3 Transformação e Transporte do Mercúrio no Ambiente

O Hg do ambiente de origem natural ou artificial, se apresenta em vários estados físicos e químicos. No ambiente aquático é descarregado principalmente na forma inorgânica. Uma variedade de compostos organomercuriais é também descarregada no ambiente como resultado das atividades humanas. Tanto a forma inorgânica como orgânica do Hg estão sujeitas à conversão no ambiente (CASTRO, 1991).

No ambiente aquático, mais especificamente na camada superior do sedimento, onde é biologicamente mais ativo, o Hg na forma inorgânica une-se a radicais metil ( $\text{CH}_3$ ), formando o metilmercúrio ( $\text{CH}_3\text{Hg} = \text{MeHg}$ ) e posteriormente em  $((\text{CH}_3)_2\text{Hg} = \text{Me}_2\text{Hg})$  dimetilmercúrio, sendo estes considerados as formas mais tóxicas desse metal (FOSTIER e MICHELAZZO, 2006). Nas camadas inferiores do sedimento, o Hg é menos ativo, e se encontra principalmente na forma de sulfeto. O MeHg formado irá se integrar nas cadeias tróficas ou, se as condições de pH forem apropriadas, dará origem ao  $\text{Me}_2\text{Hg}$ , que por ser insolúvel e volátil passará à atmosfera e será recolhido nas águas das chuvas (AZEVEDO, 2003).

A metilação do Hg inorgânico no sedimento pode ocorrer principalmente por duas vias, uma biológica mediada por microorganismos e fungos e outra abiótica ou química. A metilação biológica pode ocorrer tanto em situações de aerobiose como de anaerobiose (AZEVEDO, 2003).

Para a formação do MeHg em condições bióticas, existe a necessidade da presença da metilcobalamina, que é uma coenzima produzidas por bactérias aeróbias e/ou anaeróbias, sendo mais predominante nas primeiras (FILIPELLI e BALDI, 1993). Este composto é capaz de transferir o grupo metila para o íon  $\text{Hg}^{2+}$ . Neste caso, ocorre a transferência do grupo metila como um íon carbânion e um radical metil, para produzir o MeHg e o  $\text{Me}_2\text{Hg}$ .

A metilação química ou abiótica pode ocorrer por três vias principais. A primeira pela via da reação de transmetilação, onde o MeHg pode ser formado

quimicamente pela reação de transalquilação, na presença de radiação ultravioleta envolvendo derivados orgânicos doadores do grupo metila. A segunda maneira é pela reação com ácidos fúlvico e húmico do solo, que podem doar grupos metila para o Hg. E a última, seria pela mistura de acetaldeído com Hg e NaCl (AZEVEDO, 2003; NASCIMENTO e CHASIN, 2001).

A metilação pode ocorrer também no intestino e no muco dos peixes, nos lodos de esgoto, no intestino de mamíferos. Certos microorganismos do solo também metilam o Hg (QUEIROZ, 1995).

O processo de metilação é influenciado por fatores tais como: temperatura, concentração de bactérias presente no meio, pH, tipo de solo e sedimento, concentração de sulfeto, condições de oxirredução do meio e a variações sazonais (FURUTANI e RUDD, 1980). Segundo GILMOUR e HENRY (1991) e XUN et al. (1987) os baixos valores de pH podem proporcionar maior liberação de Hg, que pode atravessar a membrana das células das bactérias mais efetivamente, tornando possível maior formação de MeHg. Além disso, WASSERMAN et al. (2002) relatam que em pH básico o Hg tem afinidade pela fração mineral, desfavorecendo a formação do MeHg.

Segundo BISINOTI e JARDIM (2004), ambientes com alta concentração de matéria orgânica, com elevadas taxas de decomposição e ricas em carbono orgânico dissolvido (COD) favorecem o processo de metilação do Hg por bactérias. Estas informações são corroboradas por HYLANDER et al. (2006), que avaliaram o impacto ambiental da construção de usina hidrelétrica na região norte do Brasil. Estes autores concluíram que os níveis de Hg nos peixes aumentaram durante os primeiros três anos após o alagamento e que a provável causa seria o aumento do processo de metilação no sedimento, em consequência da maior concentração de COD, em decorrência da decomposição de matérias submersas.

Concomitante ao processo de metilação, ocorre reações de decomposição do MeHg de forma biótica ou abiótica. Esta interconversão metilação/desmetilação,



pode estabelecer um processo que regula a concentração de MeHg nas matrizes ambientais (BISINOTI e JARDIM, 2004).

A degradação do MeHg na água e sedimento pode ser mediada microbiologicamente por bactérias aeróbias e anaeróbias (GUIMARÃES et al, 1998). Os principais produtos desta degradação são o  $Hg^0$  e o metano. Além disso, de acordo com estudos, o MeHg pode ser decomposto fotoliticamente na superfície das águas, sendo este processo uma etapa importante no ciclo aquático do Hg (VANDAL et al., 1991; NRIAGU, 1994). SELLERS et al. (1996) relatam que o processo de fotodegradação do MeHg é abiótico e de primeira ordem com relação à concentração de MeHg e à intensidade da radiação solar. A luz solar, no comprimento de onda de 290-400 nm, pode transformar o MeHg em  $Hg^{2+}$  e  $Hg^0$  ou  $Hg^{2+}$  em  $Hg^0$  (NRIAGU, 1994). Desta maneira, ocorre a diminuição do  $Hg^{2+}$  para a metilação e aumenta o fluxo de  $Hg^0$  para a atmosfera.

Segundo MAURO et al. (1999), tanto o Hg na forma orgânica como na inorgânica sofrem transformações no ambiente, o que torna sua distribuição bastante complexa. Em contexto geral, o ciclo biogeoquímico do Hg exibe um equilíbrio dinâmico, porém as fontes antropogênicas podem introduzir elementos mais rápidos e em nível maior que os processos naturais, alterando os padrões dos ciclos e as condições às quais a flora e a fauna estão adaptadas.

No processo de transporte e distribuição do Hg para o ambiente, acredita-se que estejam envolvidos dois tipos de ciclos. O primeiro seria de extensão global, onde envolveria a circulação atmosférica de Hg elementar de fontes continentais e oceânicas. O segundo seria um ciclo local dependente do processo de metilação do Hg inorgânico proveniente principalmente de fontes antropogênicas (BOENING, 2000).

A contaminação ambiental pelo Hg pode ocorrer por várias formas químicas e pode ser transportada pelo ar, água, sedimentos de rios e por organismos da cadeia trófica (WHO, 2003).

Na atmosfera, a maior parte do Hg é provavelmente transportada como vapor na forma elementar ( $\text{Hg}^0$ ), podendo ser levado a grandes distâncias (CASTRO, 1991; BOENING, 2000). Além disso, na atmosfera o Hg apresenta baixa taxa de oxidação e longo tempo de residência, normalmente na ordem de um (SPROVIERI e PIRRONE, 2000) a seis anos (USEPA, 1984). Portanto, o Hg na atmosfera pode ser transportado a longas distâncias antes de ser depositado em lagos, rios, oceanos e solos (BARBOSA et al., 2004).

De acordo com os estudos de GLASS et al. (1991), o Hg pode ser transportado por mais de 2500 km, em apenas 72 horas. SPROVIERI e PIRRONE (2000) relatam a presença de Hg na troposfera em áreas remotas e livres de fontes poluidoras, como o Ártico e o Antártico. BOENING (2000) relata que cálculos baseados na presença de Hg nas calotas de gelos na Groenlândia apresentaram aumento a partir de 1900, o que sugere ser em consequência das chuvas contaminadas por fontes antropogênicas.

O Hg uma vez na água pode formar grande quantidade de complexos e de quelantes com o material orgânico, aderindo-se às partículas em suspensão ou ao sedimento (MUCCI et al., 1995). Segundo AZEVEDO (2003), no sedimento de rios, lagos e mares poluídos, o Hg é altamente estável e perigoso, uma vez que pode permanecer ativo para o processo de metilação por cerca de 100 anos, mesmo quando a fonte de poluição é eliminada.

Assim, os efeitos negativos associados a essa acumulação na biota também se arrastarão por longos períodos. BJÖRNBERG et al. (2005) afirmam que na Suíça a poluição pelo Hg foi reduzida significativamente nas últimas décadas, no entanto a presença do poluente nos lagos e costa marítima mantém-se em níveis altos em consequência da liberação do Hg acumulado a vários anos no sedimento.

A contaminação dos sedimentos e água no processo de exploração do ouro apresentam níveis decrescentes à jusante da área de contaminação (MACKLIN, 1996). Este declínio é atribuído aos seguintes fatores: (1) decorrente da mistura e

diluição do poluente em áreas não contaminadas; (2) absorção por plantas aquáticas e ao longo cadeia alimentar; (3) transporte seletivo, uma vez que partículas maiores e pesadas permanecem próximas ao local de contaminação por longo período (MILLER, 1997).

Por outro lado LECHLER et al. (2000) relatam que os níveis de Hg permanecem constantes por 400 Km à jusante da fonte poluidora. MASON et al. (1994) estimam que o transporte global de Hg dos rios para os oceanos é de aproximadamente 200 toneladas.ano<sup>-1</sup>. Assim, áreas distantes de fontes poluidoras podem apresentar altas concentrações de Hg em consequência do deslocamento do Hg inorgânico na atmosfera, na água e pelo processo de metilação local (FITZGERALD et al., 1998).

### **3.4 Contaminação por mercúrio em peixes**

O importante fator de impacto do Hg no ambiente aquático é a sua capacidade de se acumular nos organismos ao longo da cadeia alimentar, biomagnificando-se (UNEP, 2002). Este processo pode levar a aumento da concentração de Hg, em quantidades cada vez maiores nos animais que ocupam níveis tróficos superiores na cadeia alimentar. Isto tem sido observado através de seus hábitos alimentares, sendo que peixes piscívoros, freqüentemente acumulam maiores níveis de Hg, quando comparados a peixes onívoros e planctófagos (DUSEK et al., 2005; DURRIEU et al., 2005; FARIAS et al., 2005; DOREA et al., 2006; BASTOS et al., 2006). Além disso, a concentração de Hg nos tecidos pode também aumentar com a idade, peso e comprimento dos animais (EVANS et al., 2005; DURRIEU et al., 2005; DUSEK et al., 2005; BELGER e FORSBERG, 2006; JULSHAMN et al., 2006; CASTILHOS et al., 2006).

Por outro lado, CAMPBELL (1994), observou maiores níveis de Hg em peixes bentófagos (*Lepomis microlophus*) do que em peixes carnívoros (*Lepomis macrochirus*). Os maiores níveis de Hg e MeHg foram detectados por STORELLI et

al. (2005) na espécie bentófaga *Mullus barbatus* do que na espécie pelágica *Merluccius merluccius*. Assim, para interpretar o nível de contaminação do Hg, existe a necessidade de se conhecer além do nível trófico, o hábito alimentar dos organismos aquáticos (BURGER et al., 2002).

A absorção do Hg presente na água pelos organismos é influenciada pela concentração deste elemento, pela taxa metabólica e pela eficiência de absorção, determinada pelas características do ambiente aquático (AZEVEDO, 2003). Os peixes podem absorver Hg diretamente pelo contato com a água contaminada; pela respiração branquial e pela absorção no trato digestivo.

Na maioria dos organismos aquáticos o MeHg acumula-se mais eficientemente do que o Hg inorgânico. A parede intestinal dos peixes funciona como uma barreira eficaz impedindo a absorção da forma inorgânica, no entanto, é facilmente permeável ao MeHg, acumulando-se principalmente no tecido muscular, onde este pode chegar à cerca de 50% do total da dose ingerida (WHO, 1989).

### **3.5 Risco da exposição humana ao mercúrio**

O conhecimento da toxicidade do Hg ficou evidente, em especial para a opinião pública somente após o incidente ocorrido na baía de Minamata (Japão) nos anos 50, quando foi identificado o primeiro caso de lesão no sistema nervoso em moradores de vilas próximas à cidade de Minamata. A causa foi a descarga de resíduo contendo Hg nas águas da baía, pela empresa Chisso Química, uma das maiores indústrias de plástico do Japão, que operou entre 1920 e 1960. Os doentes eram, em sua maioria, pescadores e consumidores de peixes capturados na baía que abastecia a cidade de Minamata.

Em pesquisa realizada por TAKIZAWA e OSAME (2001) com mulheres residentes em Minamata durante o período da doença, as concentrações de Hg no cabelo variaram de 4,30 a 63,14  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ , e no cabelo de suas crianças de 0,01 a

43,31  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ . Inúmeras mortes e casos de enfermidades neurológicas e congênitas foram atribuídos a esta contaminação. Segundo os estudos de ETO (2000), nos registros até o ano de 1999 havia 2.263 casos confirmados da doença de Minamata, registrados nas prefeituras de Kumamoto e Kagoshima.

Sendo assim, na ausência da contaminação ocupacional, a exposição da população humana ao Hg ocorre principalmente pela ingestão de moluscos e peixes contaminados (BARREGARD et al., 1994; CARTA et al., 2003; BISINOTI e JARDIM, 2004; CRÉPET et al., 2005; MARQUES et al., 2007). As espécies de topo de cadeia como os peixes predadores, normalmente apresentam maiores níveis de MeHg (RENZONI e ZINO, 1998; BÁRÁNY et al., 2003; LINDBERG et al., 2004; VIRTANEN et al., 2007). A forma metilada do Hg é facilmente absorvida pelo trato gastrointestinal e é rapidamente distribuído pelo sangue aos órgãos. O Hg pode também atravessar com facilidade a barreira placentária e atingir o feto com concentrações, no mínimo, iguais às maternas (RENZONI e ZINO, 1998; CASTOLDI et al., 2003; AZEVEDO, 2003; BOUZAN et al., 2005; MARQUES et al., 2007).

O estudo da toxicidade do Hg em população humana é muito farto mundialmente. Na Suíça, BJÖRNBERG et al. (2005) relatam que a concentração de Hg total no cabelo e o MeHg no sangue em mulheres grávidas aumentou proporcionalmente em relação ao consumo de peixes. VAHTER et al. (2000) observaram em mulheres grávidas, a correlação positiva entre a concentração de Hg no cordão umbilical e a intensidade do consumo de peixes pela mãe.

Já GRANDJEAN e WEIHE (1993) observaram uma correlação positiva entre a concentração de Hg no cordão umbilical e aumento do período de gestação influenciando no peso dos bebês ao nascimento. Assim, fetos expostos à alta concentração de Hg tendem a aumentar o período de gestação como uma forma de evitar o nascimento com baixo peso, que comumente está relacionado com riscos neurocomportamentais.

Segundo RENZONI e ZINO (1998) os organismos aquáticos do mar Mediterrâneo apresentam altas concentrações de Hg. Em pescadores da região foram observados níveis acima de  $50 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  no cabelo. Em alguns destes casos tem-se associado os níveis de Hg com o aumento de danos no DNA de células sangüíneas. A correlação positiva foi observada entre concentração de Hg no sangue e freqüência de micronúcleos nos eritrócitos.

Neste mesmo contexto, PORTO et al. (2005) avaliaram os efeitos da genotoxicidade da poluição pelo Hg em peixes. A presença de micronúcleos foi observada em três espécies de peixes coletadas em dois rios da bacia Amazônica: o rio Madeira (área poluída) e o rio Solimões (área não poluída). Os micronúcleos presentes em *Prochilodus nigricans* (dentritivo), *Mulossoma duriventris* (omnívoro) e *Hoplias malabaricus* (piscívora) do rio Madeira foram significativamente maiores do que as espécies do rio Solimões. E, além disso, a espécie piscívora com maior nível de contaminação apresentou a freqüência média, aproximadamente cinco vezes maior que as espécies dentritivas e omnívoras.

Na região Amazônica, GONÇALVES e GONÇALVES (2004) avaliaram a contaminação pelo Hg por meio da exposição ocupacional dos garimpeiros, e revelaram que não só estes, mas também seus familiares, apresentavam taxas de Hg na urina estatisticamente distintas das observadas em população controles. Os índios da região também foram analisados e 24% deles apresentavam níveis de MeHg superior a  $10 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ , contra 6% dos garimpeiros. Apesar de os índios não terem contato direto com o processo do garimpo, estima-se que a contaminação pelo Hg ocorreu pela ingestão de peixes contaminados pela água.

MERGLER (2002) avaliou os efeitos neurocomportamentais associado à alimentação com peixes provenientes do rio St. Lawrence (Quebec, Canadá) e do rio Tapajós (bacia Amazônica, Brasil). Os níveis de Hg em peixes piscívoros são similares nas duas regiões, porém no Amazonas o peixe constitui a principal dieta da

população, enquanto que em Quebec o consumo é ocasional. Conseqüentemente, a exposição na população amazônica foi superior apresentando maiores níveis de Hg no sangue ( $28\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e no cabelo ( $11\mu\text{gHg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) do que a população canadense. Para a população amazônica, o aumento nos níveis de Hg foi associado com as seguintes sintomatologias de intoxicação: redução de campo visual, movimento ocular desordenado, diminuição da agilidade e de movimentos delicados.

Outra forma de exposição da população ao Hg de forma não ocupacional é através de amalgamação dentária. Neste processo pode ocorrer liberação de vapor de Hg ( $\text{Hg}^0$ ), que pode ser absorvido pelo organismo e posteriormente ser oxidado e formar Hg inorgânico divalente (WHO, 1997; BÁRÁNY et al., 2003).

BJÖRNBERG et al. (2005) observaram que em mulheres grávidas na Suíça, além da contaminação pela ingestão de peixes, a concentração de Hg inorgânico no sangue aumentou relativamente com o número de amálgamas nos dentes. VAHTER et al. (2000) observaram também, esta relação entre os níveis de Hg no cordão umbilical de fetos e o número de amálgamas dentários das mães.

Segundo os estudos da Agência de Substâncias Tóxicas dos Estados Unidos, níveis de Hg no sangue acima de  $50\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  são associados com sinais clínicos como problemas visuais, hipertensão e tremores (KNOBELOCH et al., 2006). Segundo este mesmo autor, em 1994 a Divisão Pública de Saúde de Wisconsin (EUA), relatou que um homem de 40 anos com altos níveis de Hg no cabelo ( $12\mu\text{gHg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) e no sangue ( $58\mu\text{gHg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) apresentava distúrbios de sono e dificuldade para se concentrar. Depois de ampla investigação, concluiu-se que a fonte era a ingestão de peixes contendo alto nível de MeHg. Após a exclusão do alimento contaminado da dieta, os níveis retornaram ao normal. A vida média do Hg neste caso foi de 63 dias.

O acúmulo de Hg no organismo humano também pode ser associado com aumento do risco ao infarto agudo do miocárdio (GUALLAR et al., 2002). Segundo

VIRTANEN et al. (2007), os efeitos adversos do MeHg ao coração são observados em concentrações abaixo das associadas com as alterações neurológicas. PEDERSEN et al. (2005) observaram significativo aumento da pressão sangüínea em indivíduos com maior concentração de Hg no sangue. De acordo com STERN (2005) esta relação do Hg com doenças cardíacas pode ser em consequência da aparente interação antagônica entre o MeHg e ácido graxos n-3 presente nos peixes. Nesta relação, além do efeito do estresse oxidativo dos lipídeos causado pelo MeHg, afeta também a propriedade antioxidante do ácido graxo n-3.

Em geral agências nacionais de saúde têm limitado a concentração de Hg nos peixes para consumo humano como forma a proteger a população.

A Agência de Administração de Droga e Alimentos (FDA, 2001) recomenda a concentração máxima de  $1\mu\text{gHg.g}^{-1}$  de Hg no peixe para consumo e estabelece a dose diária de referência de  $0,5\mu\text{g.dia}^{-1}\text{kg}^{-1}$ .

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a concentração limite de Hg nos peixes de  $0,5\mu\text{g.g}^{-1}$  para amostra de peso úmido (PU) e  $2,5\mu\text{g.g}^{-1}$  para amostra de peso seco (PS). E, em 2003, estabeleceu a dose diária tolerável para o MeHg de  $0,23\mu\text{g.dia}^{-1}\text{.kg}^{-1}$ , valores próximos dos recomendados pela a Agência de Saúde do Canadá de  $0,2\mu\text{g.dia}^{-1}\text{.kg}^{-1}$  e pela Agência de Proteção Ambiental Americana de  $0,1\mu\text{g.dia}^{-1}\text{.kg}^{-1}$ .

No Japão, a concentração máxima permitida é de  $0,4\mu\text{g.g}^{-1}$  de Hg para peixes destinado à alimentação humana (STORELLI et al., 2005). Para a União Européia, o limite máximo para os filés de peixes da maioria das espécies é de  $0,5\mu\text{gHg.g}^{-1}$ , e para algumas espécies de predadores é de  $1,0\mu\text{gHg.g}^{-1}$ , porém é recomendado o baixo consumo destes.



A Agência Nacional de Vigilância Sanitária Brasileira (ANVISA) determinou em 1998, a concentração máxima destinada ao consumo humano de  $0,5 \mu\text{g.g}^{-1}$  Hg para peixes e produtos da pesca e  $1 \mu\text{g.g}^{-1}$  Hg para peixes predadores.

Em geral, existe um grande incentivo por órgãos de saúde para o consumo de peixes, principalmente devido aos seus benefícios nutricionais, porém os órgãos governamentais de saúde têm recomendado que mulheres grávidas e crianças mudem o hábito alimentar retirando os peixes da dieta, de preferência os das espécies carnívoras com o objetivo de reduzir a exposição ao MeHg (BOUZAN et al., 2005; BJÖRNBERG et al., 2005; CRÉPET et al., 2005; KÖNIG et al., 2005).

### **3.6 Bioindicadores**

#### **3.6.1 Peixes**

Espécies bioindicadoras são conhecidas como biomonitores e são utilizados como os primeiros indicadores de efeito do estresse causado por contaminantes (ADAMS, 2002).

Vários autores têm utilizado os peixes como espécies bioindicadoras de poluição do ambiente aquático. O monitoramento da poluição por Hg foi relatado em regiões próximas à áreas de exploração de ouro (MAURICE-BOURGOIN et al., 2000; HYLANDER et al., 2000; DONKOR et al., 2006; DURRIEU et al., 2005; FARIAS et al., 2005; CASTILHOS et al., 2006; GAMMONS et al., 2006; BASTOS et al., 2006); em ambiente aquático próximo a grandes indústrias (BURGER et al., 2002; SCHMITT et al., 2005; DUSEK et al., 2005; RALDÚA et al., 2007); em regiões alagadas (PORVARI, 1995; EVANS et al., 2005; HYLANDER et al., 2006; McCRARY et al. 2006 ; IKINGURA et al., 2006); em peixes marinhos (AFONSO et al., 2007; JULSHAMN et al., 2006; STORELLI et al., 2005); em peixes comercializados em mercados (BURGER e GOCHFELD, 2006; BURGER e GOCHFELD, 2005).

Os peixes são também utilizados como espécie bioindicadora em testes em condições de laboratório. De acordo com OLIVEIRA-RIBEIRO et al. (1996), estudos de toxicidade utilizando peixes em condições controladas, permitem, através da avaliação da mortalidade, alterações de comportamento, alterações fisiológicas e danos nos tecidos, obter informações importantes correspondentes aos efeitos de poluentes sobre biota de um ecossistemas aquáticos naturais

Assim, os efeitos da toxicidade do  $HgCl_2$  foram observados em *Trichomycterus zonatus* (OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 1996; OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 2000), em *Trichomycterus brasiliensis* (OLIVEIRA-RIBEIRO e TORRES, 1995; OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 1995), em *Salvelinus alpinus* (OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 2000; OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 2002) em *Trichogaster trichopterus* (LOW e SIN, 1998). Avaliação dos efeitos do MeHg foram observados em *Orthodon microlepidotus* (HOUCK e CECH Jr, 2004), em *Oncorhynchus mykiss* (BJERREGAARD et al., 1999) e em *Hoplias malabaricus* (OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 2006).

### 3.6.2 Ratos

A maior fonte de exposição humana ao MeHg é pelo consumo de peixes e moluscos contaminados (MORRISSETTE et al., 2004; SCHOBER et al., 2003; SANTOS et al., 2000a,b). Assim, estudos para se caracterizar o perigo potencial do Hg são conduzidos com animais de laboratório e os achados que resultam desse método são, de alguma forma, extrapolados para a suposição do contato humano (AZEVEDO, 2003). Desta forma, inúmeras pesquisas vêm sendo realizadas com as mais diversas formas químicas do Hg (elementar, inorgânico e orgânicos) em animais de laboratórios. O rato Wistar é um animal freqüentemente utilizado em pesquisas biomédicas de caráter morfológico e fisiológico, possuindo aspecto e constituição comuns aos mamíferos em geral (SILVA e LACERDA, 1994).

Vários estudos têm sido realizados com o objetivo de avaliar a toxicidade do MeHg em ratos Wistar (GASSÓ et al., 2000; SZÁSZ et al., 2002; BERNTSSEN et al., 2004; VICENTE et al., 2004; SAKAMOTO et al., 2004; FARINA et al., 2005; ENDO et al., 2005; FALCOCHIO et al., 2005; MORETTO et al., 2005; TÜNDE et al., 2005; FREIRE et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2006).

### **3.7 Biomarcadores**

Segundo definição de McCARTHY e SHUGART (1990), os biomarcadores são respostas bioquímicas, fisiológicas, morfológicas ou moleculares, tanto em populações provenientes de ambientes contaminados, como em organismos expostos experimentalmente a contaminantes. Os biomarcadores são sensíveis aos agentes estressores e podem rapidamente ajudar a identificar os mecanismos básicos da relação causal entre o estressor e seus efeitos (BAINY, 1993).

#### **3.7.1 Hematologia**

De acordo com RANZANI-PAIVA e SILVA-SOUZA (2004) a contaminação da água por agentes tóxicos ou por metais pesados é um dos fatores responsáveis por variações hematológicas individuais, as quais, em casos de estresse agudo podem afetar um ou mais variáveis.

A avaliação da bioquímica do sangue na aqüicultura também tem-se demonstrado promissora, uma vez que expressam correlação com a qualidade da água, doenças infecciosas e exposição a poluentes (CHEN et al., 2003).

O MeHg é altamente lipossolúvel e possui grande capacidade de transporte através das membrana celulares, o que explica o seu alto grau de acumulação no organismo (WHO, 1989). No sangue ele se fixa, sobre tudo, à hemoglobina presente no interior dos eritrócitos. Da corrente circulatória é distribuído aos demais tecidos

sendo carregado principalmente para o cérebro, musculatura, rins e fígado (CLARKSON, 1994).

Alterações no quadro hematológico e bioquímico de peixes expostos a metais pesados foram observadas em *Hoplias malabaricus* (MELA, 2004; OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 2006) em *Scarus ghobban* (ELAHEE e BHAGWANT, 2007), em *Oreochromis niloticus* (DAWSON, 1990; ALKAHEM, 1994; NUSSEY et al., 1995a,b; ISHIKAWA, 2003; CHEN et al., 2003, 2004), em *Acipenser baeri* (MIKRYAKOV e LAPIROVA, 1996), em *Oreochromis aureus* (ALLEN, 1994), em *Pleuronectes platessa* (FLETCHER e WHITE, 1986), em *Aphanius dispar* (HILMY et al., 1980), em *Salmo gairdneri* (DICK e DIXON, 1985; O'CONNOR e FROMM, 1975), em *Sebastes schlegeli* (KANG et al., 2005), em *Oncorhynchus mykiss* (CHOWDHURY et al., 2004), em *Oncorhynchus kisutch* (STOROZHUK e GULEVA, 1983), em *Piaractus mesopotamicus* (TAVARES-DIAS et al., 2002) e em *Clarias gariepinus* (VAN-VUREN et al., 1994).

Os mesmos aspectos acima referidos foram também avaliados em ratos *Wistar* por YASUTAKE et al. (1997), GUILHERMINO et al. (1998), KTAPCINSKA et al. (2000), INSTITÓRIS et al. (2001), TOPLAN et al., (2004), JIN et al. (2007), SENER et al. (2007) e PEIXOTO e FERREIRA (2007). Em ratos Sprague-Dawley por SHAW et al. (1991), LECAVALIER et al. (1994), SHIGUEMATSU et al. (2000), RUMBEIHA et al. (2000), MAHBOOB et al. (2001) e YANAGISAWA et al. (2002).

### **3.7.2 Relação Somática**

Na ecotoxicologia, a utilização de diferentes biomarcadores para investigar o efeito de um tipo de contaminante, é recomendada para se entender seus mecanismos e também avaliar a adaptação dos organismos a condições de estresse.

A determinação dos valores dos índices somáticos (relação: peso do órgão/peso total x 100) são importantes para a compreensão dos distúrbios causados por diferentes processos mórbidos (QUENTEL e OBACH, 1992).

Alterações das relações somáticas em peixes foram descritos na sua relação com o parasitismo (KUROVSKAYA e OSADCHAYA, 1993; TAVARES-DIAS et al., 2000), deficiências nutricionais (BARKER et al., 1994), bacterioses (LOWE-JINDE, 1980) e exposições a metais (NORRIS et al., 2000; MAES et al, 2005; WOLF e WOLFE, 2005).

### 3.7.3 Bioacumulação

No processo de bioacumulação, sempre que um organismo contaminado por Hg ocupa um nível inferior em uma cadeia trófica, seu predador absorverá aquele Hg orgânico, mas revelará concentrações comparativamente aumentadas, em consequência do processo de biomagnificação (AZEVEDO, 2003).

DONKOR et al. (2006) avaliaram os níveis de Hg em diversas espécies de peixes em região próxima a áreas de exploração de ouro. As espécies piscívoras apresentaram maiores níveis ( $4,473 \pm 0,42 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ), seguidas das espécies bentófagas ( $1,04 \pm 0,05 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ) e por último as planctófagas ( $0,08 \pm 0,01 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ).

Em peixes coletados do rio Savana, nos Estado Unidos, para avaliação de metais na musculatura, as concentrações de Hg variaram entre 0,64 a  $0,16 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  em peixes de topo de cadeia (BURGER et al., 2002).

Na República Checa, DUSEK et al. (2005) monitoraram o Rio Elbe e constataram níveis significativos de Hg na musculatura de peixes, variando entre 0,840 a  $1,398 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  em espécies predadoras (*Perca fluviatilis*) e 0,368 a  $0,543 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  em espécies bentófagas (*Abramis brama*).

MAURICE-BOURGOIN et al. (2000) observaram altos níveis de Hg na musculatura de peixes do rio Madeira, sendo que 86% das amostras de carnívoros apresentaram níveis ( $0,33 - 2,30 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ) acima do recomendado pela Organização Mundial de Saúde ( $0,5 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ), enquanto espécies omnívoras mantiveram níveis entre  $0,02 - 0,19 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ .

PORVARI (1995) avaliou peixes do reservatório da hidrelétrica de Tucuruí e do rio Mojú na bacia Amazônica. Altas concentrações de Hg foram mensuradas em peixes predadores ( $1,3 \pm 0,89 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ), concentrações intermediárias em peixes planctófagos e omnívoros ( $0,32 \pm 0,20 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ) e concentrações baixas em peixes herbívoros ( $0,11 \pm 0,11 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Avaliação da contaminação do metilmercúrio em tilápia do Nilo

#### 4.1.1 Delineamento Experimental

Para a realização do experimento foram utilizados 300 juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes de piscicultura comercial. Os peixes foram aclimatados em tanque de concreto preenchidos com água durante 45 dias. A alimentação foi realizada com ração comercial extrusada (32% PB) até atingirem o tamanho adequado para a coleta de sangue necessário para as análises ( $98,90 \pm 8,45$  g e  $17,67 \pm 1,54$  cm). Posteriormente, os peixes foram transferidos e distribuídos ao acaso em três caixas de plástico, preenchidas com 350 L de água decolorada, providas de aeração e biofiltros biológicos previamente maturados, e a uma densidade de 40 animais por caixa. Estes permaneceram por um período de sete dias de aclimação. Neste período foram alimentados com a mesma quantidade de ração a ser administrada durante o experimento (1,5% PV).

Após este último período de aclimação, os peixes foram alimentados com ração contendo MeHg por 42 dias. O cloreto de metilmercúrio ( $\text{CH}_3\text{HgCl}$ ) foi incorporado na dieta do grupo 1 (concentração 1); grupo 2 (concentração 2); e o grupo 3 foi alimentado com a mesma dieta sem a adição do MeHg (controle).

A qualidade da água foi avaliada através das determinações diárias de oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), condutividade elétrica ( $\mu\text{S.cm}^{-1}$ ) (YSI-85) e pH (pHYSI-100). A amônia total ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) foi avaliada semanalmente por colorimetria. Os excrementos foram sifonados após cada alimentação e houve posterior reposição do volume da água. Durante o período experimental foram coletadas amostras de água e armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior análise da presença de Hg.

#### 4.1.2 Preparo da dieta

A solução estoque de MeHg foi obtida a partir da dissolução de 500 mg de  $\text{CH}_3\text{HgCl}$  (Sigma Aldrich®) em 50 mL de etanol 96% e volume completado para 500 mL com água ultra-pura (Milli-Q). A solução estoque foi diluída para o preparo de duas soluções, tomando-se respectivamente 3 e 34 mL da solução estoque e completada a 100 mL com água Milli-Q, resultando respectivamente nas concentrações 30 e 340  $\mu\text{gHg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Estas duas soluções foram pulverizadas independentemente sobre 1,7 kg de ração, resultando nas dietas de concentração 1 (C1) e concentração 2 (C2). A ração controle foi pulverizada com 100 mL de água Milli-Q.

A análise por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS), revelou os seguintes teores de Hg nas dietas:  $1,03 \pm 0,15 \mu\text{gHg}\cdot\text{g}^{-1}$  para C1 e  $8,27 \pm 1,25 \mu\text{gHg}\cdot\text{g}^{-1}$  para C2. Não foi detectado Hg em amostras de ração controle.

As quantidades de alimento administradas aos peixes foram calculadas levando-se em consideração a manutenção da espécie (1,5% PV). As rações foram acondicionadas individualmente em sacos plásticos, em quantidades diárias necessárias até o final do experimento e armazenadas a  $-20^\circ\text{C}$ .

#### 4.1.3 Avaliações biométricas

Foram amostrados quatro peixes por tratamento ao acaso e expostos ao anestésico benzocaína ( $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) diluída na água. Em cada peixe foi medido o comprimento total (cm) e o peso (g).



#### **4.1.4 Colheita de amostras**

##### **4.1.4.1 Sangue**

Para a análise sangüínea foram colhidos aproximadamente 2 mL de sangue através de punção caudal com auxílio de seringas e agulhas descartáveis, previamente heparizadas. A colheita de sangue foi realizada nos tempos: 0, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após o início da alimentação com ração contaminada. A partir das amostras de sangue foram analisados: número de eritrócitos (Er), contados em câmara de Neubauer, utilizando-se a solução de Hayem como diluente; hematócrito (Ht), pela técnica do microhematócrito segundo metodologia proposta por GOLDENFARB et al. (1971); taxa de hemoglobina (Hb), calculadas pelo método da cianometahemoglobina proposto por COLLIER (1944); calculados os índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM), segundo metodologia proposta por WINTROBE (1934); contagem de leucócitos totais (Lc) segundo a metodologia recomendada por HRUBE e SMITH (1998) e contagem diferencial de leucócitos, em extensões sangüíneas coradas pelo método de May Grünwald e Giemsa, segundo ROSENFELD (1947).

O sangue remanescente foi centrifugado (3000 rpm/5 min) e o plasma extraído foi congelado (-20 °C) para posterior análise. No plasma foram analisados: glicose (Glicose Pap Liquiform Kit Cat. 84 Labtest), cálcio (Cálcio Liquiform Kit Cat. 90 Labtest) e magnésio (Magnésio Kit Cat. 50 Labtest).

##### **4.1.4.2 Tecidos**

Após a punção sangüínea, nos tempos 0, 14, 28, e 42 dias, os peixes foram mortos por longa exposição ao anestésico. O fígado e o baço foram retirados e pesados em balança digital de precisão. Com posse destes dados e relacionando-se com os valores biométricos determinou-se:

1) Relação hepatossomática (RHS%)= Peso fígado/peso corporal x 100

2) Relação esplenossomática (RSS%)= Peso baço/peso corporal x 100

Para a análise de bioacumulação foram retirados o fígado, baço, rins, encéfalo e tecido muscular. Estas amostras foram armazenadas individualmente à temperatura de -20 °C até o momento da análise.

Ao final de 42 dias de alimentação contaminada, 20 peixes de cada grupo foram mortos e armazenados para que parte de sua musculatura fosse posteriormente adicionada à dieta de ratos Wistar.

#### **4.1.5 Análise de bioacumulação de mercúrio**

As análises de bioacumulação foram realizadas no laboratório de absorção atômica do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN/USP.

A metodologia para avaliar a concentração de Hg em amostras de ração e de tecido muscular, fígado, baço, encéfalo e rim foram determinadas por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS), após digestão ácida das amostras (IAEA, 1995).

Aproximadamente 200 mg de amostra foi pesado e acondicionado em tubos de teflon (PTFE), sendo digeridas com auxílio de 4 mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) e 1 mL de solução de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a 30 % (v/v). A amostra foi deixada em repouso durante a noite e, no dia seguinte, colocada em bloco digestor a 90°C, por três horas. Após resfriamento, o volume do tubo foi ajustado para 50 mL com água Milli-Q e a amostra analisada em espectrometria FIMS (Perkin Elmer®).

Para a construção da curva analítica, foram preparadas diariamente soluções de 1,5; 5; 10; 15; 20 e 30 ngHg.mL<sup>-1</sup>, a partir de solução padrão estoque de concentração de 1255 ng.mL<sup>-1</sup> e preparou-se também a solução branco da amostra, sem a presença de Hg. Quatro réplicas independentes de cada tratamento foram analisadas, juntamente com três materiais de referência certificados, "dogfish

muscle", NRC-CNRC DORM-1, "dogfish liver", NRC-CNRC DOLT-1 e "tuna fish" IAEA CRM 463, utilizados como controle de qualidade analítico. A concentração de Hg nas amostras foi registrada em microgramas por grama de peso úmido ( $\mu\text{gHg.g}^{-1}$  PU).

#### 4.1.5.1 Limite de detecção (LD) de mercúrio

A capacidade de quantificar um elemento traço ou molécula em matrizes biológicas ou químicas usando métodos analíticos específicos é freqüentemente visto em termos de limite de detecção (LD). Este limite de detecção é um número apresentado em unidades de concentração e expressa a menor concentração do elemento que pode ser detectada como sendo aquela que difere estatisticamente do branco analítico (LONG e WINEFORDNER, 1983).

LD para Hg no presente trabalho:

$$A_{LD} = A_0 3\sigma_0$$

sendo:

$A_{LD}$  = absorvância do limite de detecção

$A_0$  = coeficiente linear

$\sigma_0$  = desvio padrão de dez medições do branco analítico

De acordo com a fórmula e os dados obtidos pelo equipamento, o LD do método foi de  $0,07 \text{ ng.mL}^{-1}$ .

## 4.2 Avaliação da contaminação do metilmercúrio em ratos Wistar

### 4.2.1 Delineamento Experimental

Para a realização do experimento foram utilizados 60 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) provenientes do biotério da Unesp *campus* de Botucatu. Os ratos ( $285,0 \pm 12,8 \text{ g}$ ) foram distribuídos em três tratamentos, com quatro réplicas, compostas por cinco indivíduos em cada réplica.

Três grupos de ratos foram alimentados com filés de peixes triturados, sendo um tratamento alimentado com filés sem a presença do metal como grupo controle e outros dois alimentados com as diferentes concentrações (concentração 1 e concentração 2) de Hg.

#### 4.2.2 Preparo da dieta

Nesta fase foram utilizados os peixes alimentados com as dietas (controle, C1 e C2) por 42 dias. Os filés sem a pele foram retirados manualmente e adicionado em um recipiente com água destilada na proporção 2:1 (água:filé). A trituração foi realizada em homogeneizador Turrax, modelo DiAx 900 (Heidolph®) até atingir uma consistência pastosa e uniforme. As amostras foram acondicionadas em tubos ependorf e armazenadas a -20 °C até a sua administração aos animais.

A análise por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV AAS), revelou os seguintes teores de Hg na dieta administrada aos ratos:  $0,31 \pm 0,03 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PU para C1 e  $3,04 \pm 0,94 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PU para C2. Não foi detectado Hg em amostras da dieta controle.

Estes valores encontram-se próximos aos observados em peixes capturados no ambiente aquático e que por ventura são destinados ao consumo humano em diversas partes do mundo (Tabela 1).

Os ratos foram previamente aclimatados e adaptados ao sistema de alimentação com a administração de filé de peixes triturado sem a presença de Hg por via intra-gástrica (gavagem) durante sete dias.

Após este período, a dieta foi fornecida uma vez ao dia, por gavagem durante 28 dias. Os animais receberam um grama da amostra de peixe triturado e posteriormente foi fornecido ração peletizada *ad libitum*.

**Tabela 1.** Valores de Hg detectados na musculatura de peixes capturados em ambiente natural.

| Espécie                             | Hg ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) | Local                          | Referência               |
|-------------------------------------|--|--------------------------------|--------------------------|
| <i>Hepsetus odoe</i>                | 4,47 $\pm$ 0,42 (PS)                   | Rio Pra (Ghana)                | DONKOR et al. (2006)     |
| <i>Clarias sp.</i>                  | 1,04 $\pm$ 0,05 (PS)                   | Rio Pra (Ghana)                | DONKOR et al. (2006)     |
| <i>Orestias</i>                     | 0,38 $\pm$ 0,27 (PU)                   | Lago Titicaca (Peru)           | GAMMONS et al. (2006)    |
| <i>Basilichsthyes bonariensis</i>   | 0,40 $\pm$ 0,22 (PU)                   | Lago Titicaca (Peru)           | GAMMONS et al. (2006)    |
| <i>Aphanopus carbo</i>              | 0,90 $\pm$ 0,27 (PU)                   | Arquipélago Madeira (Portugal) | AFONSO et al. (2007)     |
| <i>Reinhardtius hippoglossoides</i> | 0,30 $\pm$ 0,27 (PU)                   | Mar Barents (Noruega)          | JULSHAMN et al. (2006)   |
| <i>Amia calva</i>                   | 0,64 $\pm$ 0,04 (PU)                   | Rio Savana (EUA)               | BURGER et al. (2002)     |
| <i>Micropterus salmoides</i>        | 0,33 $\pm$ 0,03 (PU)                   | Rio Savana (EUA)               | BURGER et al. (2002)     |
| <i>Xiphias gladius</i>              | 1,40 $\pm$ 0,06 (PU)                   | Mercado de peixe (EUA)         | BURGER e GOCHFELD (2006) |
| <i>Thunnus spp</i>                  | 0,31 $\pm$ 0,03 (PU)                   | Mercado de peixe (EUA)         | BURGER e GOCHFELD (2006) |
| <i>Stizostedion vitreum</i>         | 1,43 $\pm$ 0,18 (PU)                   | Rio Mackenzie (Canadá)         | EVANS et al. (2005)      |
| <i>Salvelinus namaycush</i>         | 0,35 $\pm$ 0,31 (PU)                   | Rio Mackenzie (Canadá)         | EVANS et al. (2005)      |
| <i>Esox lucius</i>                  | 0,30 $\pm$ 0,11 (PU)                   | Rio Mackenzie (Canadá)         | EVANS et al. (2005)      |
| <i>Cyella sp.</i>                   | 0,41 $\pm$ 0,22 (PU)                   | Rio Madeira (Brasil)           | BASTOS et al. (2006)     |
| <i>Pimelodus sp.</i>                | 0,25 $\pm$ 0,15 (PU)                   | Rio Madeira (Brasil)           | BASTOS et al. (2006)     |
| <i>Brachyplatystoma sp.</i>         | 2,75 $\pm$ 0,62 (PU)                   | Rio Teles Pires (Brasil)       | HACON et al. (1997)      |
| <i>Barbus graellsii</i>             | 1,48 - 2,43 (PU)                       | Rio Cinca (Espanha)            | RALDÚA et al. (2007)     |
| <i>Abramis brama</i>                | 0,54 - 0,37 (PU)                       | Rio Elbe (Rep. Checa)          | DUSEK et al. (2005)      |
| <i>Perca fluviatilis</i>            | 0,84 - 1,40 (PU)                       | Rio Elbe (Rep. Checa)          | DUSEK et al. (2005)      |
| <i>Serrasalmus spp.</i>             | 0,28 - 2,05 (PU)                       | Alto Pantanal (Brasil)         | HYLANDER et al., (2000)  |
| <i>Pseudoplatystoma fasciatus</i>   | 0,36 - 1,11 (PU)                       | Alto Pantanal (Brasil)         | HYLANDER et al., (2000)  |
| <i>Plagisocion squamosissimus</i>   | 0,33 - 2,25 (PU)                       | Rio Tapajós (Brasil)           | SANTOS et al., (2000b)   |
| <i>Brachyplatystoma flavicans</i>   | 0,21 - 1,36 (PU)                       | Rio Tapajós (Brasil)           | SANTOS et al. (2000b)    |
| Pescado                             | 11 (PU)                                | Baia de Minamata (Japão)       | HAMMOND e BELILES (1980) |
| Pescado                             | 10 (PU)                                | Rio Agano (Japão)              | HAMMOND e BELILES (1980) |
| Pilot whale                         | 3,3 (PU)                               | Ilhas Faroe (Dinamarca)        | CLARKSON (2002)          |

PS: Peso seco; PU: Peso úmido.

### **4.2.3 Colheita de amostras**

#### **4.2.3.1 Sangue**

Os ratos foram anestesiados por exposição ao éter etílico. O sangue foi colhido de quatro animais de cada tratamento por via cardíaca nos tempos: 0, 7, 14, 21 e 28 dias após o início da administração da musculatura de peixe triturada. As amostras de sangue foram utilizadas para determinações de Er, Hb e Lc, que foram quantificados em contador de células automático (Celm CC530 - uso veterinário) previamente diluído em diluidor automático (Celm DA500); Ht pela técnica do microhematócrito, segundo GOLDENFARB et al. (1971); VCM, HCM e CHCM, calculados segundo WINTROBE (1934); contagem diferencial de leucócitos segundo método de FELDMAN et al. (1998), em extensões sangüíneas, coradas por May Grünwald e Giemsa, segundo método de ROSENFELD (1947).

Para a determinação da glicemia foi realizada a colheita do sangue com anticoagulante específico, e o plasma foi armazenado - 20 °C para posterior análise (Glicose Pap Liquiform Kit Cat. 84 Labtest). Uma parte do sangue foi colhida sem a utilização de anticoagulante e o soro procedente foi armazenado a -20 °C para posterior análise bioquímica de cálcio (Cálcio Liquiform Kit Cat. 90 Labtest), magnésio (Magnésio Kit Cat. 50 Labtest), creatinina (Creatinina Kit Cat. 35 Labtest) e alanina amino transferase (ALT/GPT Liquiform Kit Cat. 74 Labtest).

#### **4.2.3.2 Tecidos**

As amostras de tecidos foram colhidas nos tempos: 0, 7, 14, 21 e 28 dias após o início da administração da musculatura triturada de peixe. Após a punção sangüínea, os ratos foram mortos com longa exposição ao éter etílico. Em seguida os animais foram abertos ventralmente para retirada do fígado, baço e rim. O crânio foi aberto na porção superior para coleta do encéfalo. Os órgãos foram pesados em

balança digital de precisão. Com posse destes dados e relacionando-se com os valores biométricos determinou-se:

- 1) Relação hepatossomática (RHS%)=  $\text{Peso fígado/peso corporal} \times 100$
- 2) Relação esplenossomática (RSS%)=  $\text{Peso baço/peso corporal} \times 100$
- 3) Relação nefrossomática (RNS%)=  $\text{Peso rim/peso corporal} \times 100$
- 4) Relação encéfalossomática (RES%)=  $\text{Peso encéfalo/peso corporal} \times 100$

Para a análise de bioacumulação foram retirados o fígado, baço, rins, encéfalo e tecido muscular. Estas amostras foram armazenadas individualmente à temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise.

#### **4.2.4 Análise de biomagnificação de mercúrio**

A metodologia foi a mesma descrita anteriormente para a análise de bioacumulação de Hg em peixes. No entanto, para a construção da curva analítica, foram preparadas diariamente soluções de 0,46; 2,40; 4,59 e 9,18  $\text{ngHg.mL}^{-1}$ , a partir de solução padrão estoque de concentração de 1255  $\text{ngHg.mL}^{-1}$ . Quatro réplicas independentes de cada tratamento foram analisadas, juntamente com dois materiais de referência certificados, "dogfish muscle", NRC-CNRC DORM-1 e "dogfish liver", NRC-CNRC DOLT-3 utilizados como controle de qualidade analítico. A concentração de Hg nas amostras foi registrada em nanogramas por grama de peso úmido ( $\text{ngHg.g}^{-1}$  PU).

#### **4.2.5 Análise Estatística**

Os dados foram submetidos à análise de normalidade dos erros estudentizados (teste de Cramer-Von Mises), de homogeneidade de variâncias (teste de Brown-Forsythe) e verificada a presença de dados discrepantes. Em seguida os dados foram submetidos à ANOVA por meio do procedimento "General

Linear Model” do programa SAS<sup>®</sup> (LITTELL et al., 2002). Em caso de diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), as médias observadas foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Metilmercúrio em tilápia do Nilo

As variáveis de qualidade de água durante o experimento com tilápia (*Oreochromis niloticus*), estão apresentados na Tabela 2. Os valores de oxigênio dissolvido, temperatura, pH e amônia seguem os recomendados por BOYD e TUCKER (1998) para a manutenção de peixes. As variações dentro dos grupos apresentaram distribuição normal, da mesma forma que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos.

**Tabela 2.** Variáveis físicas e químicas da água durante o experimento com tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg

| Tratamento | Temperatura<br>(°C)       | Oxigênio<br>dissolvido<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | pH                       | Condutividade<br>elétrica<br>(μS.cm <sup>-1</sup> ) | Amônia<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) |
|------------|---------------------------|---|--------------------------|---|---------------------------------|
| Controle   | 23,93 ± 1,55 <sup>a</sup> | 3,31 ± 0,61 <sup>a</sup>                        | 7,45 ± 0,08 <sup>a</sup> | 273 ± 15,52 <sup>a</sup>                            | 0,33 ± 0,05 <sup>a</sup>        |
| C 1        | 24,18 ± 1,68 <sup>a</sup> | 3,35 ± 0,63 <sup>a</sup>                        | 7,45 ± 0,07 <sup>a</sup> | 271 ± 16,25 <sup>a</sup>                            | 0,40 ± 0,08 <sup>a</sup>        |
| C 2        | 23,63 ± 1,41 <sup>a</sup> | 3,54 ± 0,75 <sup>a</sup>                        | 7,48 ± 0,09 <sup>a</sup> | 265 ± 17,01 <sup>a</sup>                            | 0,33 ± 0,05 <sup>a</sup>        |

Médias ± erro padrão seguidas de letras diferentes na coluna, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 5.1.1 Análise hematológica

##### 5.1.1.1 Série Vermelha

Os resultados da análise estatística para as variáveis hematológicas da série vermelha de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dieta contendo MeHg, estão apresentadas no Tabela 3. As variáveis Hb e CHCM não apresentaram diferença ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos e nem interação significativa entre os níveis de MeHg na dieta e tempo de alimentação (tratamento x tempo).

Os desdobramentos das interações (tratamento x tempo) estão apresentados na Figura 1. O valor médio de Ht apresentou redução em todos os tratamentos aos

sete dias de alimentação; aos 28 dias, observou-se que a média para os peixes alimentados com dieta C2 foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) quando comparados com os peixes alimentados com a ração controle e dieta C1, no entanto, essas diferenças desapareceram ao final dos 42 dias.

Com relação ao Er, observou-se diminuição das médias no sétimo dia de alimentação em todos tratamentos, sendo significativamente ( $p < 0,05$ ) menores para os peixes alimentados com ração contendo MeHg. O mesmo foi observado aos 35 dias de alimentação, porém ao final dos 42 dias o inverso foi constatado.

A mesma tendência de redução do número de Er foi observada por ELAHEE e BHAGWANT (2007) em *Scarus ghobban* capturadas em lago contaminado com Hg. Por outro lado, neste mesmo trabalho, os autores relatam aumento significativo de Er, Ht, e Hb em *Epnephelus merra*. Estes concluíram que cada espécie apresenta um padrão diferente de resposta hematológica e por isso a importância do monitoramento de várias espécies em estudos de poluentes no ambiente aquático.

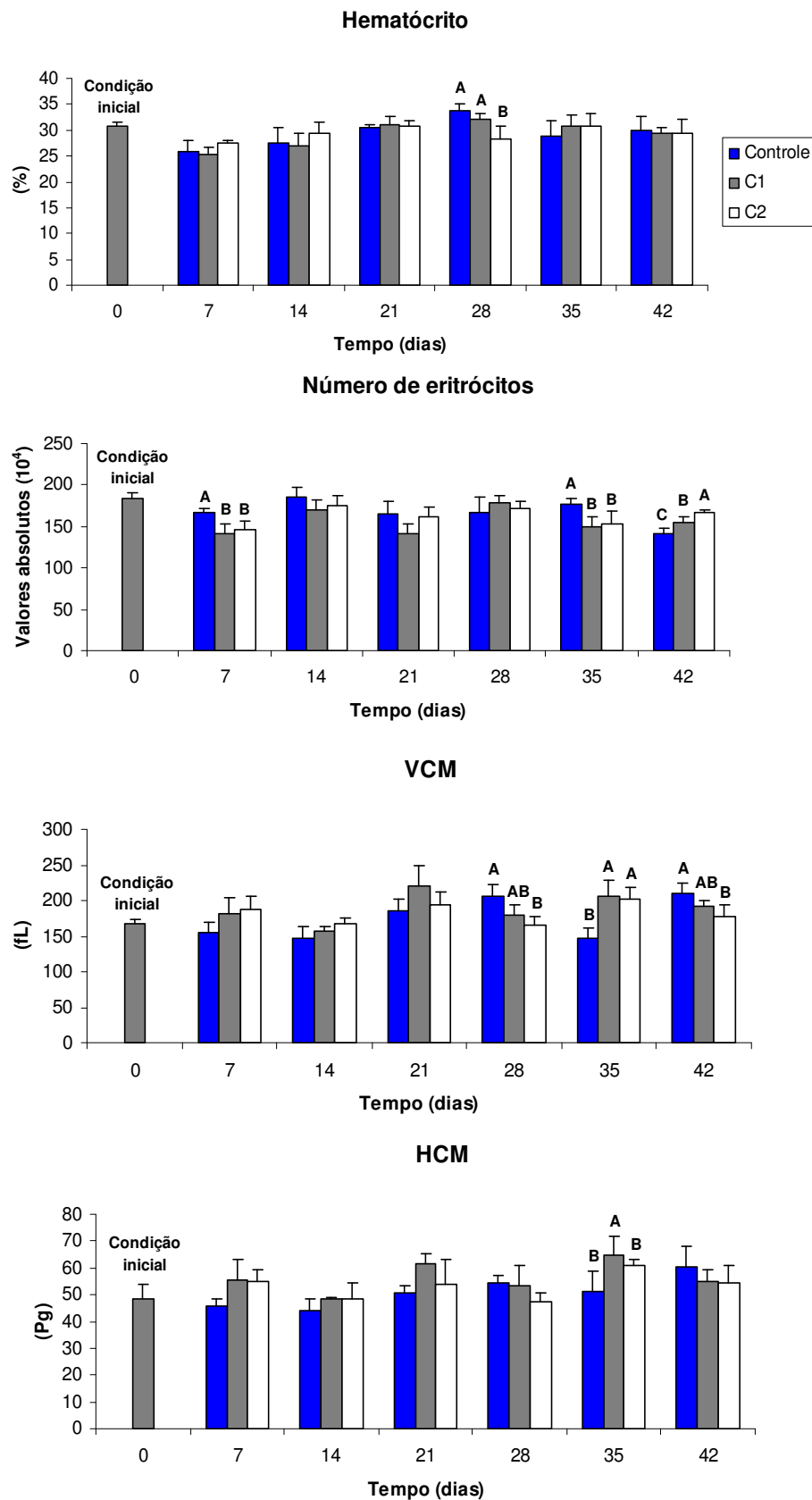
As diminuições significativas de Er, Ht e Hb foram observadas também por HILMY et al. (1980) em *Aphanius dispar*, FLETCHER e WHITE, 1986 em *Pleuronectes platessa* e por ISHIKAWA (2003) em *Oreochromis niloticus* expostos ao cloreto de Hg ( $HgCl_2$ ) na água.

De acordo com O'CONNOR e FROMM (1975) e FLETCHER e WHITE (1986), a diminuição do número de Er e de Ht podem estar relacionados com o processo de hemólise dos eritrócitos em consequência da toxicidade do Hg. E, além disso, FLETCHER e WHITE (1986) relacionam a queda do Ht com o processo de esplenomegalia observada no período da contaminação, uma vez que o baço atua como um importante órgão fagocitário e que tem afinidade pelos eritrócitos.

**Tabela 3.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultados da análise de variância para hematócrito (%), hemoglobina (g.dL<sup>-1</sup>), números de eritrócitos (10<sup>4</sup>. $\mu$ L<sup>-1</sup>), VCM (fL), HCM(Pg) e CHCM (%) em tiápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg.

|                          | Hematócrito                    | Hemoglobina                   | n <sup>o</sup> eritrócitos      | VCM                              | HCM                              | CHCM                           |
|--------------------------|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| <b>Tratamentos</b>       |                                |                               |                                 |                                  |                                  |                                |
| Controle                 | 29,18 $\pm$ 0,66               | 8,50 $\pm$ 0,17               | 171,00 $\pm$ 3,56 <sup>a</sup>  | 172,78 $\pm$ 5,44 <sup>b</sup>   | 50,18 $\pm$ 1,33 <sup>b</sup>    | 29,35 $\pm$ 0,65               |
| C1                       | 29,41 $\pm$ 0,50               | 8,72 $\pm$ 0,17               | 160,00 $\pm$ 3,48 <sup>b</sup>  | 186,50 $\pm$ 4,85 <sup>a</sup>   | 55,26 $\pm$ 1,48 <sup>a</sup>    | 29,99 $\pm$ 0,39               |
| C2                       | 29,55 $\pm$ 0,39               | 8,68 $\pm$ 0,18               | 164,00 $\pm$ 2,70 <sup>ab</sup> | 181,02 $\pm$ 3,46 <sup>ab</sup>  | 53,13 $\pm$ 1,26 <sup>ab</sup>   | 29,35 $\pm$ 0,45               |
| <b>Tempo (dias)</b>      |                                |                               |                                 |                                  |                                  |                                |
| 0                        | 30,79 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>  | 8,93 $\pm$ 0,29 <sup>a</sup>  | 184 $\pm$ 3,07 <sup>a</sup>     | 167,30 $\pm$ 2,55 <sup>cd</sup>  | 48,53 $\pm$ 1,76 <sup>cd</sup>   | 29,68 $\pm$ 0,86 <sup>ab</sup> |
| 7                        | 26,20 $\pm$ 0,48 <sup>c</sup>  | 7,81 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>  | 151 $\pm$ 4,23 <sup>c</sup>     | 174,74 $\pm$ 6,56 <sup>bcd</sup> | 52,04 $\pm$ 1,92 <sup>abcd</sup> | 29,88 $\pm$ 0,66 <sup>ab</sup> |
| 14                       | 27,87 $\pm$ 0,76 <sup>bc</sup> | 8,32 $\pm$ 0,23 <sup>ab</sup> | 177 $\pm$ 3,63 <sup>a</sup>     | 157,26 $\pm$ 3,78 <sup>d</sup>   | 46,96 $\pm$ 1,23 <sup>d</sup>    | 29,88 $\pm$ 0,45 <sup>ab</sup> |
| 21                       | 30,83 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>  | 8,55 $\pm$ 0,20 <sup>ab</sup> | 156 $\pm$ 4,51 <sup>c</sup>     | 199,88 $\pm$ 7,33 <sup>a</sup>   | 55,38 $\pm$ 2,11 <sup>abc</sup>  | 27,77 $\pm$ 0,69 <sup>a</sup>  |
| 28                       | 31,33 $\pm$ 0,81 <sup>a</sup>  | 8,84 $\pm$ 0,26 <sup>ab</sup> | 172 $\pm$ 3,93 <sup>ab</sup>    | 183,56 $\pm$ 6,32 <sup>abc</sup> | 51,68 $\pm$ 1,59 <sup>bcd</sup>  | 28,26 $\pm$ 0,59 <sup>a</sup>  |
| 35                       | 29,04 $\pm$ 1,00 <sup>ab</sup> | 9,27 $\pm$ 0,32 <sup>a</sup>  | 158 $\pm$ 4,56 <sup>bc</sup>    | 185,43 $\pm$ 9,38 <sup>abc</sup> | 58,90 $\pm$ 2,38 <sup>a</sup>    | 32,05 $\pm$ 0,89 <sup>b</sup>  |
| 42                       | 29,58 $\pm$ 0,61 <sup>ab</sup> | 8,68 $\pm$ 0,24 <sup>ab</sup> | 154 $\pm$ 3,21 <sup>c</sup>     | 192,55 $\pm$ 5,44 <sup>ab</sup>  | 56,48 $\pm$ 1,88 <sup>ab</sup>   | 29,39 $\pm$ 0,74 <sup>ab</sup> |
| <b>Probabilidades</b>    |                                |                               |                                 |                                  |                                  |                                |
| <b>Tempo (Te)</b>        | <0,0001                        | <0,0076                       | <0,0001                         | <0,0001                          | <0,0001                          | <0,0020                        |
| <b>Tratamento (Tr)</b>   | NS                             | NS                            | <0,0007                         | <0,0067                          | <0,0051                          | NS                             |
| <b>Interação Tr x Te</b> | <0,0006                        | NS                            | <0,0003                         | <0,0001                          | <0,0144                          | NS                             |
| <b>CV (%)</b>            | 6,66                           | 10,44                         | 6,50                            | 8,71                             | 10,64                            | 8,10                           |

Médias  $\pm$  erros padrão seguidos de letras diferentes na coluna, dentro de cada fator, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). (NS) Não significativo



**Figura 1.** Médias  $\pm$  erro padrão de Ht, Er, VCM e HCM de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contendo MeHg (tratamento x tempo). Letras diferentes nos tempos diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Por outro lado, OLIVEIRA-RIBEIRO et al. (2006) observaram aumento significativo de Er e Ht em *Hoplias malabaricus* contaminadas com MeHg por meio da dieta durante 70 dias. Estes autores sugerem que o aumento destas variáveis tem como objetivo elevar a capacidade de carreamento de oxigênio, que comumente é prejudicada em situações de contaminação por poluentes. Esta hipótese é corroborada por CHOWDHURY et al. (2004) que observaram aumento de Ht e Hb em *Prochilodus scrofa* contaminados por metais pesados, incluindo o Hg.

No presente estudo, os valores médios de VCM para tilápia alimentadas com MeHg na dieta apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos nos tempos 28, 35 e 42 dias de alimentação, sendo que ao final dos 42 dias observou-se média inferior para os peixes alimentados com MeHg na dieta. Para as médias de HCM, os tratamentos diferenciaram significativamente ( $p < 0,05$ ) somente aos 35 dias de alimentação, e aos 42 dias a diferença entre os tratamentos desapareceu.

Em *Oreochromis aureus* exposta ao  $HgCl_2$ , ALLEN (1994) observou redução significativa de VCM e aumento de CHCM em uma semana de exposição. Estes autores relatam não haver diferença no número de Er e na taxa de Hb, e que a mesma quantidade de Hb ocupou um menor volume da célula, aumentando assim o CHCM.

Já os estudos de ELAHEE e BHAGWANT (2007) relatam queda significativa do número de Er e paralelamente aumento de VCM e HCM em *Scarus ghobban* capturados em lago contaminado com Hg. Estes descrevem que o aumento no tamanho dos Er pode ser associado à resposta ao estresse causado pela toxicidade do metal. PERRY et al. (1996) também atribuem o aumento de VCM como resposta aos efeitos das catecolaminas, cortisol e glicose liberada em resposta a toxicidade do Hg.

### 5.1.1.2 Série branca

Os resultados da análise estatística, para as variáveis hematológicas da série branca de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dieta contendo MeHg, estão apresentados no Tabela 4.

Os valores médios de neutrófilos (Nt) e monócitos (Mn) não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos e também não demonstraram interação (tratamento x tempo). Os números de eosinófilos foram pequenos, não sendo possível realizar análise estatística com este leucócito (Lc). No presente estudo não ocorreu presença de basófilos.

RANZANI-PAIVA e EIRAS (1992) relatam que dependendo da espécie e das características do ambiente, os linfócitos (Lf) podem ser o de maior frequência no sangue periférico de peixes. Neste estudo, os Lf foram os mais abundantes em *Oreochromis niloticus*, assim como observado por outros autores (AZEVEDO et al., 2006; BARROS et al., 2002; SARDER et al., 2001), sendo os valores médios de Lc neste experimento influenciado pela variação do número de Lf.

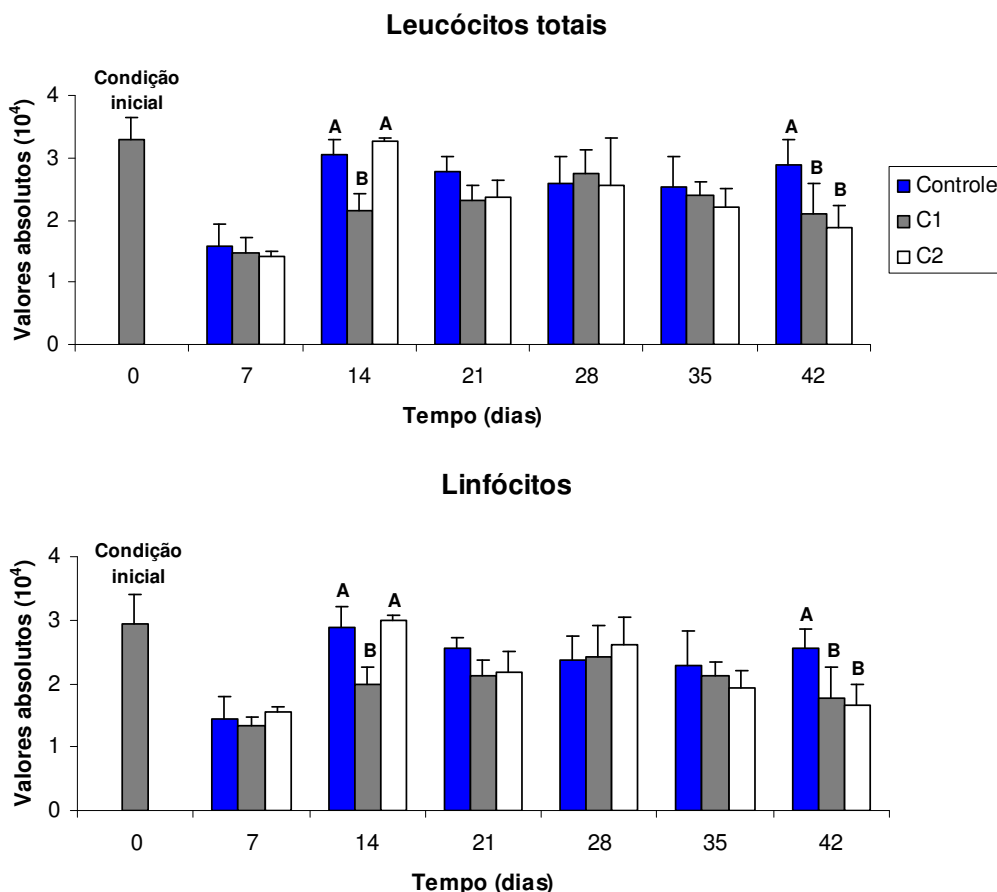
O desdobramento das interações (tratamento x tempo) do número de Lc e de Lf de *Oreochromis niloticus* alimentados com dieta contaminada com MeHg estão apresentados na Figura 2.

Com relação ao número de Lc observou-se diminuição significativa das médias aos sete dias de alimentação para todos os tratamentos, inclusive para os peixes do grupo controle. O mesmo foi observado para as médias do número de Lf. GILL e PANT (1985) atribuem esta alteração ao fator estresse de experimento que também é demonstrado em vários vertebrados.

**Tabela 4.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultados da análise de variância de leucócitos totais ( $10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ), linfócitos ( $10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ), neutrófilos ( $10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ), e monócitos ( $10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ), em tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg.

|                       | Leucócitos totais             | Linfócitos                     | Neutrófilos                   | Monócitos                      |
|-----------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| <b>Tratamentos</b>    |                               |                                |                               |                                |
| Controle              | 2,65 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>  | 2,39 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>   | 0,14 $\pm$ 0,02               | 0,10 $\pm$ 0,01                |
| C1                    | 2,28 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>  | 2,05 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>   | 0,16 $\pm$ 0,02               | 0,08 $\pm$ 0,01                |
| C2                    | 2,51 $\pm$ 0,16 <sup>ab</sup> | 2,36 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>   | 0,16 $\pm$ 0,02               | 0,09 $\pm$ 0,01                |
| <b>Coletas (dias)</b> |                               |                                |                               |                                |
| 0                     | 3,29 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>  | 2,95 $\pm$ 0,16 <sup>a</sup>   | 0,22 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>  | 0,13 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>   |
| 7                     | 1,48 $\pm$ 0,06 <sup>d</sup>  | 1,44 $\pm$ 0,06 <sup>e</sup>   | 0,07 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>  | 0,04 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>   |
| 14                    | 2,83 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>  | 2,61 $\pm$ 0,15 <sup>ab</sup>  | 0,13 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup> | 0,08 $\pm$ 0,01 <sup>abc</sup> |
| 21                    | 2,48 $\pm$ 0,09 <sup>bc</sup> | 2,26 $\pm$ 0,09 <sup>bcd</sup> | 0,15 $\pm$ 0,09 <sup>ab</sup> | 0,07 $\pm$ 0,01 <sup>bc</sup>  |
| 28                    | 2,63 $\pm$ 0,12 <sup>bc</sup> | 2,47 $\pm$ 0,01 <sup>bc</sup>  | 0,16 $\pm$ 0,03 <sup>ab</sup> | 0,11 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>  |
| 35                    | 2,38 $\pm$ 0,11 <sup>bc</sup> | 2,11 $\pm$ 0,11 <sup>cd</sup>  | 0,19 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>  | 0,07 $\pm$ 0,01 <sup>bc</sup>  |
| 42                    | 2,28 $\pm$ 0,17 <sup>c</sup>  | 1,99 $\pm$ 0,15 <sup>d</sup>   | 0,17 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup> | 0,11 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>  |
| <b>Probabilidades</b> |                               |                                |                               |                                |
| Coletas (Co)          | <0,0001                       | <0,0001                        | <0,0193                       | <0,0003                        |
| Tratamento (Tr)       | <0,0006                       | <0,0033                        | NS                            | NS                             |
| Interação (Co x Tr)   | <0,0001                       | <0,0001                        | NS                            | NS                             |
| CV (%)                | 13,7                          | 14,46                          | 60,16                         | 50,31                          |

Médias  $\pm$  erros padrão seguidos de letras diferentes na coluna, dentro de cada fator, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). (NS) Não significativo



**Figura 2.** Médias  $\pm$  erro padrão de leucócitos e linfócitos de tilápia do Nilo alimentados com dieta contendo MeHg (tratamento x tempo). Letras diferentes nos tempos diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Segundo BENFEY e BIRON (2000), *Oncorhynchus mykiss* e *Salvelinus fontinalis* estressados pelo estímulo de confinamento e manipulação apresentaram diminuição do número de Lc. De acordo com os autores o estresse leva à redistribuição dos Lf, principalmente, para os órgãos linfóides, diminuindo seu número na circulação sanguínea e/ou haveria destruição dessas células devido ao alto nível de cortisol liberado. Esta última hipótese é confirmada por WOJTASZEK et al. (2002), que observaram profunda linfopenia e eosinopenia em *Cyprinus carpio* após 24 horas da injeção de cortisol. Além disso, ROTLLAND et al. (1997), relatam que o cortisol e as catecolaminas em concentrações aumentadas na circulação



atuam sobre órgãos hematopoiéticos como o rincefálico, o baço e o timo, suprimindo a produção de Lf.

Aos 14 dias de alimentação, os peixes de todos os tratamentos apresentaram ligeiro aumento do número de Lc em relação ao sétimo dia de experimento, com exceção dos peixes alimentados com a dieta C1. A mesma tendência foi observada também nos valores médio de Lf.

Após 35 dias, estas diferenças desapareceram. Ao final dos 42 dias de alimentação, os peixes alimentados com ração contendo MeHg apresentaram redução significativa ( $p < 0,05$ ) dos valores de Lc e Lf, quando comparado aos peixes do grupo controle.

WEPENER et al. (1992) relatam que a leucopenia em peixes pode ser provocada pela necrose de tecidos leucopoiéticos em consequência à exposição a poluentes na água.

Segundo OLIVEIRA-RIBEIRO et al. (2006) e WEDEMEYER et al. (1990), a diminuição da imunidade inespecífica dos peixes está associada à exposição à poluentes, podendo aumentar a susceptibilidade à doenças. STOROZHUK e GULEVA (1983) concluíram que o Hg causa alterações no sangue periférico de *Oncorhynchus kisutch*, sendo caracterizado por eritrócitos contendo núcleos septados, neutrófilos vacuolizados e inibição da leucopoiese.

Por outro lado, em *Hoplias malabaricus*, o MeHg na dieta induziu o aumento do número de Lc (OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 2006). O mesmo foi observado por ALLEN (1994) em *Oreochromis aureus* expostas ao  $HgCl_2$  na água, que acarretou em aumento significativo ( $p < 0,05$ ) de Lc nas primeiras 24 horas, no entanto, em uma semana esta diferença não foi mais observada.

Além disso, o aumento no número de Lc pode ser em decorrência de infecções bacterianas (MATTSSON et al., 2001) ou por danos teciduais causado pelo MeHg (OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 2006). MELA (2004) corrobora esta última hipótese sugerindo, em seu trabalho, que lesões hepáticas causadas pelo MeHg

podem ser as principais causa do aumento do número de Nt, com conseqüente aumento de Lc nos indivíduos expostos ao organometal.

### 5.1.2 Variáveis bioquímicas do sangue de tilápia do Nilo

Os resultados da análise estatística da série bioquímica do plasma (Tabela 5) de *Oreochromis niloticus* demonstraram aumento significativo nos níveis de magnésio ( $p < 0,05$ ) nos peixes alimentados com a dieta contendo maior nível (C2) de MeHg. Foi observada relação direta entre a concentração de MeHg na dieta e os níveis de magnésio presente na circulação periférica.

Sobre a alteração no parâmetro de magnésio em peixes em conseqüência da ingestão de Hg não foram encontradas informações na literatura. No entanto, este parâmetro é afetado por outros metais como cobre e cádmio que induzem aumento da concentração de magnésio em *Sebastes schlegeli* (KANG et al., 2005). A intoxicação por cádmio também induz aumento do nível de magnésio em *Oncorhynchus mykiss* expostos após 72 horas de exposição (CHOWDHURY et al., 2004).

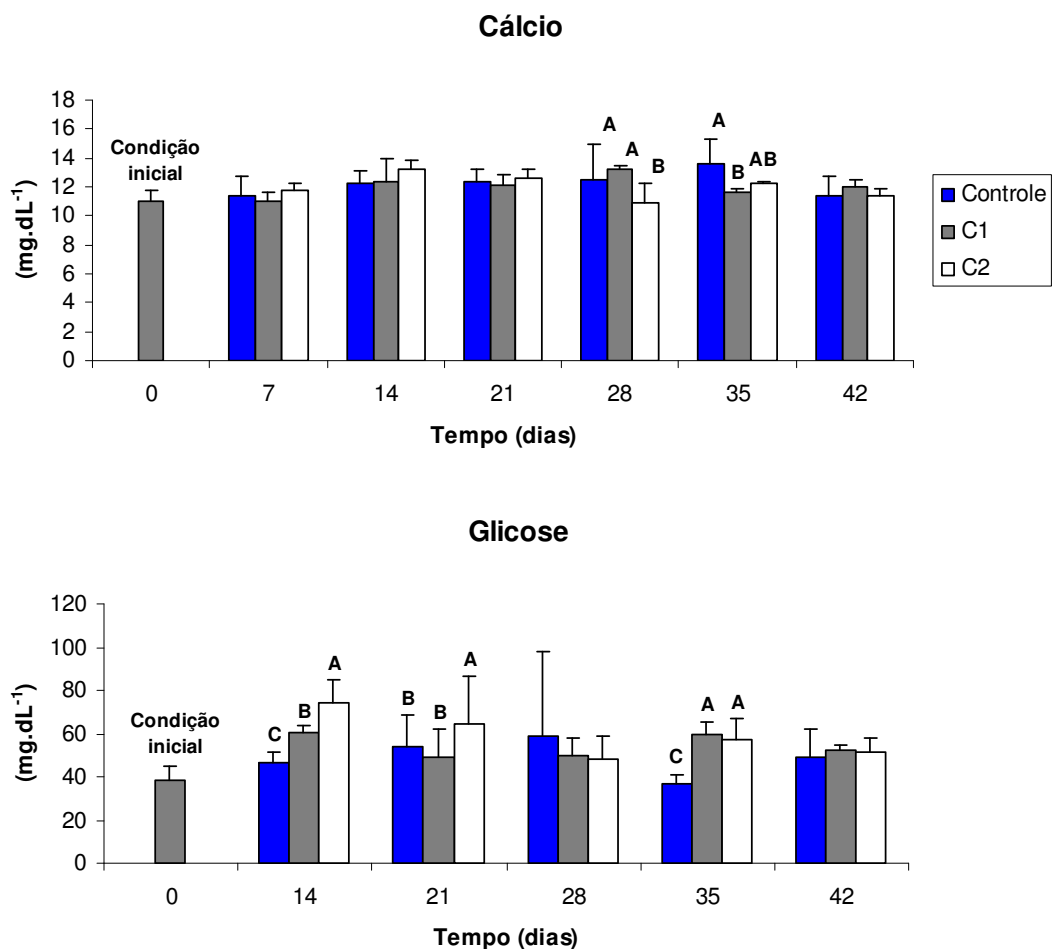
Segundo HEATH (1995), os peixes normalmente excretam o excesso de magnésio através da via renal e que conseqüentemente controla os níveis no plasma. Portanto, o aumento dos níveis de magnésio no plasma observado no presente trabalho pode ser sugestivo de disfunção renal induzida pelo MeHg.

Os desdobramentos das interações (tratamentos x tempo) ocorridas com os parâmetros do cálcio e glicose são apresentadas na Figura 3.

Os níveis médio de cálcio não apresentaram grande oscilação no sangue periférico, durante os primeiros 21 dias de exposição ao MeHg. No entanto, verificou-se redução significativa das médias aos 28 e 35 dias para os peixes alimentados com MeHg na dieta. Entretanto, após 42 dias essas diferenças desapareceram.

Diminuição dos níveis de cálcio no plasma foram descritos em *Scophthalmus aquosus* expostos ao Hg (DAWSON, 1990), em *Oncorhynchus mykiss* expostos ao

cádmio (CHOWDHURY et al., 2004), em *Oreochromis niloticus* afetado por enfermidade renal (CHEN et al., 2003), e em *Oreochromis niloticus* infectadas por *Streptococcus iniae* (CHEN, et al., 2004).



**Figura 3.** Médias  $\pm$  erro padrão de cálcio e glicose de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contendo MeHg (tratamento x tempo). Letras diferentes nos tempos diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 5.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultados da análise de variância para cálcio ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), magnésio ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) e glicose ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) plasmático de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg.

| <b>Fatores</b>           | <b>Cálcio</b>                             | <b>Magnésio</b>               | <b>Glicose</b>                |
|--------------------------|---|-------------------------------|-------------------------------|
| <b>Tratamentos</b>       |   |                               |                               |
| Controle                 | 12,17 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>             | 2,33 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>  | 44,63 $\pm$ 2,65 <sup>a</sup> |
| C1                       | 11,80 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>             | 2,39 $\pm$ 0,07 <sup>ab</sup> | 45,46 $\pm$ 3,27 <sup>a</sup> |
| C2                       | 11,97 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>             | 2,53 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>  | 46,79 $\pm$ 4,51 <sup>a</sup> |
| <b>Tempo (dias)</b>      |   |                               |                               |
| 0                        | 10,98 $\pm$ 0,28 <sup>c</sup>             | 2,15 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>  | 38,47 $\pm$ 2,20 <sup>b</sup> |
| 7                        | 11,39 $\pm$ 0,25 <sup>b<sup>c</sup></sup> | 2,51 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>  | 12,19 $\pm$ 3,16 <sup>c</sup> |
| 14                       | 12,62 $\pm$ 0,32 <sup>a</sup>             | 2,44 $\pm$ 0,09 <sup>bc</sup> | 60,48 $\pm$ 3,84 <sup>a</sup> |
| 21                       | 12,39 $\pm$ 0,19 <sup>ab</sup>            | 2,30 $\pm$ 0,07 <sup>bc</sup> | 53,80 $\pm$ 3,96 <sup>a</sup> |
| 28                       | 12,42 $\pm$ 0,51 <sup>ab</sup>            | 2,45 $\pm$ 0,06 <sup>bc</sup> | 51,62 $\pm$ 2,98 <sup>a</sup> |
| 35                       | 12,50 $\pm$ 0,35 <sup>ab</sup>            | 2,92 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>  | 51,40 $\pm$ 3,55 <sup>a</sup> |
| 42                       | 11,59 $\pm$ 0,25 <sup>abc</sup>           | 2,15 $\pm$ 0,08 <sup>c</sup>  | 51,03 $\pm$ 2,31 <sup>a</sup> |
| <b>Probabilidades</b>    |   |                               |                               |
| <b>Tempo (Te)</b>        | <0,0001                                   | <0,0001                       | <0,0001                       |
| <b>Tratamento (Tr)</b>   | NS  | <0,0259                       | NS                            |
| <b>Interação Tr x Te</b> | <0,0038                                   | NS                            | <0,0001                       |
| <b>CV (%)</b>            | 8,04                                      | 11,08                         | 6,50                          |

Médias  $\pm$  erros padrão seguidos de letras diferentes na coluna, dentro de cada fator, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). (NS) Não significativo.

A hiperglicemia é uma resposta comum para o estresse em peixes e tem sido considerado como um bom indicador de poluição ambiental (HATTINGH, 1976).

Os valores glicêmicos dos peixes do presente trabalho apresentaram aumento significativo após 14, 21 e 35 dias de alimentação com ração contamianda com MeHg.

Vários fatores de estresse estão relacionados com aumento da glicemia em peixes. *Colossoma macropomum* (TAVARES-DIAS et al., 2001) e *Oreochromis niloticus* (MARTINS et al., 2004) apresentaram aumento da glicemia em resposta ao estresse de captura. Baixa temperatura da água, também apresentou aumento da glicemia em *Oreochromis niloticus* (SUN et al., 1995).

De acordo com BARCELLOS et al. (2000) a hiperglicemia ocorre em resposta às catecolaminas e cortisol liberados após estímulos estressores. Este último estimula a gliconeogênese, que está representada pela produção de glicose e regulação da demanda para circulação periférica (VIJAYAN et al., 1994).

VAN VUREN et al. (1994), TAVARES-DIAS et al. (2002) e CHEN et al. (2004), observaram aumento dos níveis de glicose no plasma, respectivamente em *Clarias gariepinus*, *Piaractus mesopotamicus* e *Oreochromis niloticus*, expostos a diferentes concentrações de cobre na água. O mesmo foi descrito por KANG et al. (2005) em *Sebastes schlegeli* alimentados com dieta contendo cobre e cádmio.

### 5.1.3 Relação hepato e esplenossomática

A determinação dos valores padrões para a relação hepatossomática (RHS) e esplenossomática (RSS) são importantes para a compreensão dos distúrbios hepáticos e esplênicos, que podem ocorrer durante os processos patológicos (QUENTEL e OBACH, 1992).

Os resultados da análise estatística da RHS e RSS estão apresentados na Tabela 6. Os dados demonstram ausência de interação (tratamento x tempo) para ambas as relações.

Os animais alimentados com dieta C2 apresentaram menor RHS quando comparados aos peixes controles, no entanto, não ocorre diferença significativa entre eles. Os peixes alimentados com dieta C1 apresentaram RHS significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que os peixes alimentados com a dieta controle. O mesmo foi observado por PYLE et al. (2005) e UREÑA et al. (2006) que determinaram respectivamente em *Perca flavescens* e *Anguilla anguilla*, correlação negativa entre os níveis de Hg bioacumulado no fígado e a RHS.

**Tabela 6.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultados da análise de variância da relação hepato e esplenosomática em tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg.

|                     | Hepatosomática (RHS)            | Esplenosomática (RSS)           |
|---------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Tratamentos         |                                 |                                 |
| Controle            | 1,862 $\pm$ 0,740 <sup>a</sup>  | 0,181 $\pm$ 0,117               |
| C1                  | 1,234 $\pm$ 0,414 <sup>b</sup>  | 0,130 $\pm$ 0,083               |
| C2                  | 1,643 $\pm$ 0,806 <sup>ab</sup> | 0,163 $\pm$ 0,102               |
| Coletas (dias)      |                                 |                                 |
| 0                   | 0,992 $\pm$ 0,485 <sup>b</sup>  | 0,091 $\pm$ 0,031 <sup>b</sup>  |
| 14                  | 1,956 $\pm$ 0,688 <sup>a</sup>  | 0,125 $\pm$ 0,084 <sup>ab</sup> |
| 28                  | 1,796 $\pm$ 0,690 <sup>a</sup>  | 0,210 $\pm$ 0,113 <sup>a</sup>  |
| 42                  | 1,574 $\pm$ 0,630 <sup>ab</sup> | 0,205 $\pm$ 0,109 <sup>a</sup>  |
| Probabilidades      |                                 |                                 |
| Coletas (Co)        | <0,001                          | <0,006                          |
| Tratamento (Tr)     | <0,013                          | NS                              |
| Interação (Co x Tr) | NS                              | NS                              |
| CV (%)              | 36,74                           | 58,54                           |

Médias seguidas de letras iguais na coluna, dentro de cada fator, não difere estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). (NS) Não significativo.

Esta menor RHS pode ser em conseqüência da gliconeogênese graças a ação do cortisol supostamente liberado como resultado da ingestão de Hg, de modo semelhante aos estímulos estressores. Como resultado ocorre a diminuição do peso do fígado. Esta hipótese é corroborada por WOLF e WOLFE (2005), que relatam a diminuição do tamanho do fígado de *Oncorhynchus mykiss* em conseqüência da perda de glicogênio e lipídeos em resposta a agentes tóxicos.

Esta correlação negativa (metais x RHS) foi também observada por MAES et al. (2005) em *Anguilla anguilla*, e segundo estes autores, a toxicidade dos metais atuam como um fator negativo na saúde dos peixes.

A RSS não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os grupos alimentados com diferentes concentrações de MeHg na dieta.

Os valores médios da RSS para tilápia determinados no presente estudo são maiores que os descritos por TAVARES-DIAS et al. (2000) para esta mesma espécie em ambiente de cultivo intensivo. Estes mesmos autores concluíram que esta espécie não expressa correlação entre peso do baço e os fatores comprimento e peso corporal.

#### 5.1.4 Bioacumulação de mercúrio em tilápia do Nilo

No presente estudo, os níveis de Hg na água e nos peixes controles permaneceram abaixo do limite de detecção (LD) ao longo do experimento. Nos peixes do tempo zero também não foi detectado Hg. No entanto, após 14 dias do início do experimento, os peixes alimentados com dietas contaminadas com MeHg apresentaram Hg em todos os órgãos avaliados.

De acordo com a análise estatística (Tabela 7), os níveis de MeHg (C1 e C2) na dieta e os tempos de alimentação interagiram significativamente com o processo de bioacumulação nos diferentes tecidos com exceção do baço.

Na figura 4, o desdobramento das interações (tratamento x tempo) demonstrou que os peixes alimentados com dieta C2 apresentaram maior taxa ( $p < 0,05$ ) de bioacumulação ao longo do tempo. Além disso, as concentrações de Hg bioacumuladas nos órgãos de *Oreochromis niloticus* apresentaram correlação positiva até os 42 dias de alimentação (Figura 5).

Em experimento realizado por HOUCK e CHECH (2004), que contaminaram experimentalmente a dieta de *Orthodon microlepidotus* com quatro níveis de MeHg: 0,21; 0,52; 22,1 e 55,5  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ . Similarmente aos resultados do presente trabalho, estes autores relatam uma correlação linear positiva ( $r^2 = 0,99$ ) de bioacumulação de Hg na musculatura para todos os tratamentos.

**Tabela 7.** Médias e resultados da análise de variância para bioacumulação de Hg ( $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ ) em músculo, fígado, rim, encéfalo e baço de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg.

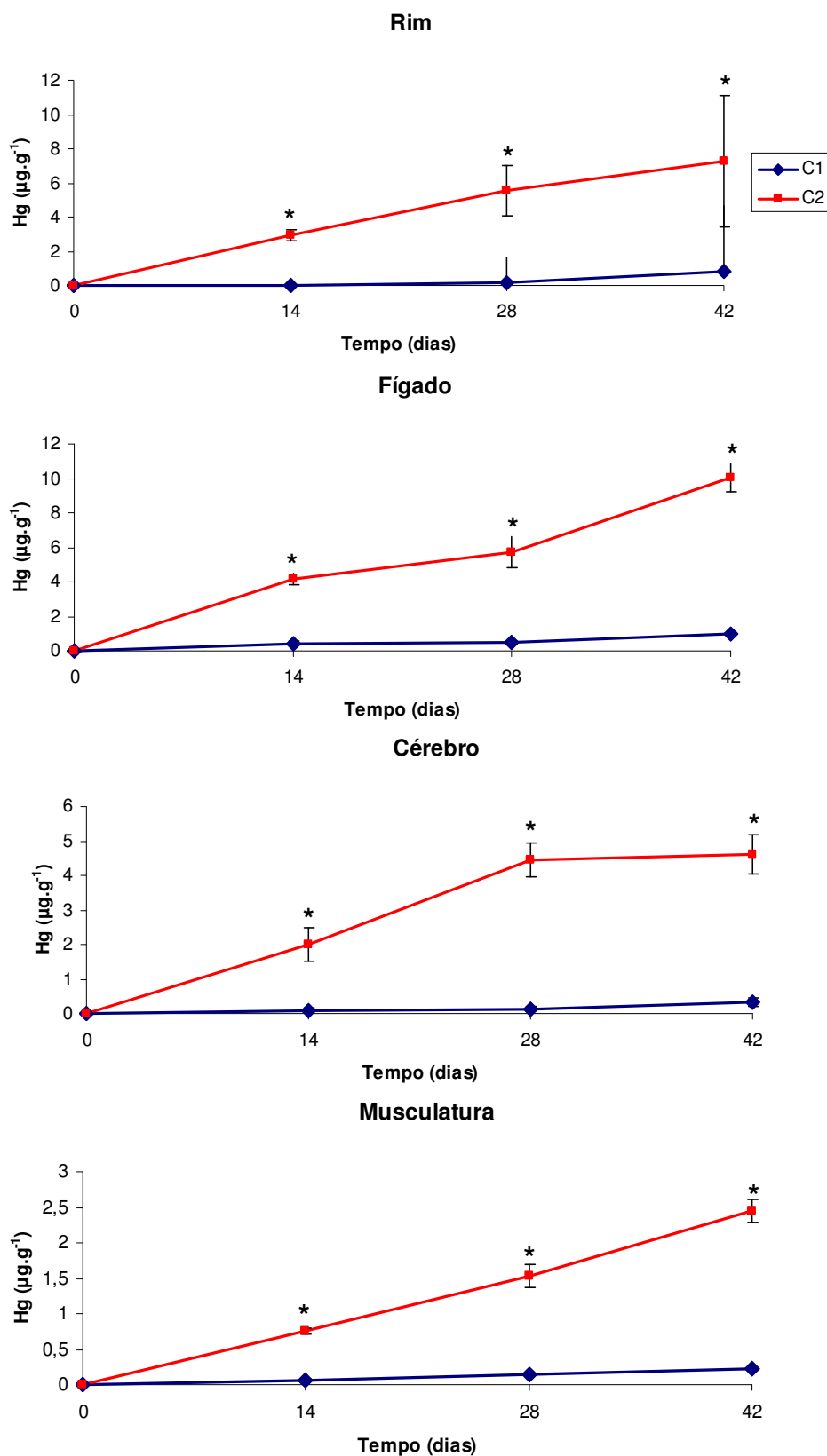
|                     | Músculo           | Fígado            | Rim               | Cérebro           | Baço              |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Tratamentos         |                   |                   |                   |                   |                   |
| C1                  | 0,14 <sup>b</sup> | 0,65 <sup>b</sup> | 0,39 <sup>b</sup> | 0,19 <sup>b</sup> | 0,15 <sup>b</sup> |
| C2                  | 1,58 <sup>a</sup> | 6,63 <sup>a</sup> | 4,84 <sup>a</sup> | 3,52 <sup>a</sup> | 4,26 <sup>a</sup> |
| Tempo (dias)        |                   |                   |                   |                   |                   |
| 14                  | 0,41 <sup>c</sup> | 2,29 <sup>c</sup> | 1,57 <sup>b</sup> | 1,05 <sup>b</sup> | -                 |
| 28                  | 0,83 <sup>b</sup> | 3,12 <sup>b</sup> | 2,84 <sup>a</sup> | 1,98 <sup>a</sup> | 2,15 <sup>a</sup> |
| 42                  | 1,33 <sup>a</sup> | 5,51 <sup>a</sup> | 2,97 <sup>a</sup> | 2,16 <sup>a</sup> | 2,23 <sup>a</sup> |
| Probabilidades      |                   |                   |                   |                   |                   |
| Tempo (Te)          | <0,0001           | <0,0001           | <0,0002           | <0,0001           | NS                |
| Tratamento (Tr)     | <0,0001           | <0,0001           | <0,0001           | <0,0001           | <0001             |
| Interação (Te x Tr) | <0,0001           | <0,0001           | <0,0021           | <0,0001           | NS                |
| CV(%)               | 11,63             | 14,05             | 34,26             | 20,56             | 21,23             |

Médias seguidas de letras diferentes na coluna, dentro de cada fator, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). (NS) Não significativo, (-) Dado perdido.

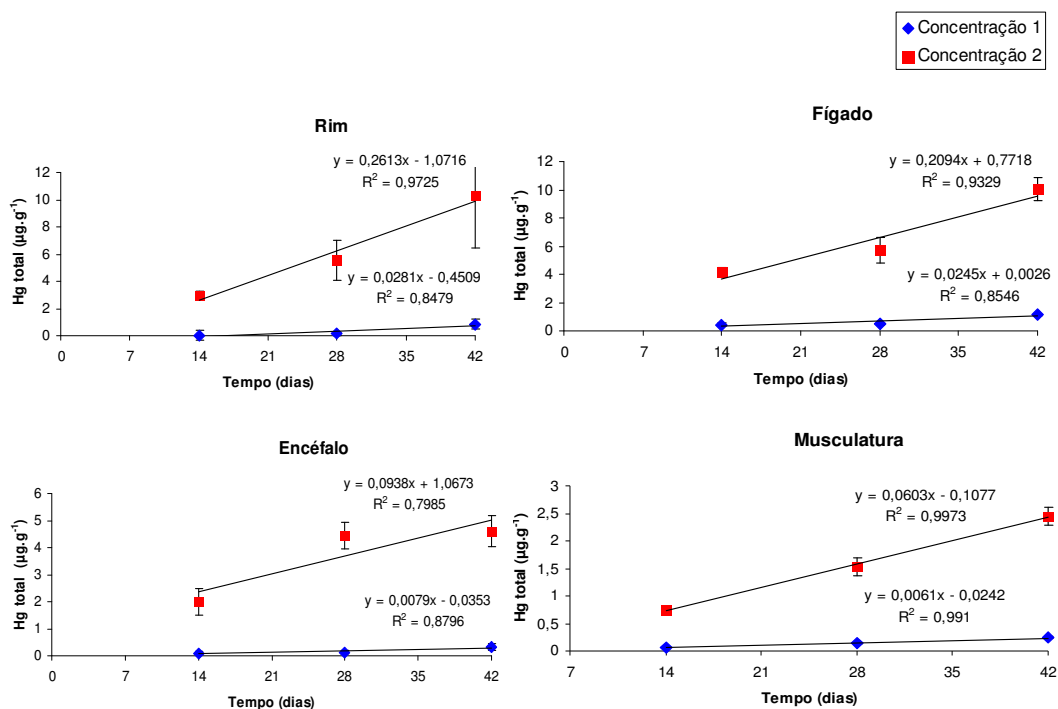
A mesma correlação entre dose e bioacumulação ( $r^2=0,87$ ) foi observada por BJERREGAARD et al. (1999) após injeção de solução ( $1\text{mgHg} + 1\text{mgMeHg.Kg}^{-1}$  PV) por via intraperitoneal em *Oncorhynchus mykiss*. RALDÚA et al. (2007) também observaram o mesmo ( $r^2=0,83$ ) em *Barbus graellsii* capturados próximos à indústria de cloro-álcalis.

No presente trabalho o nível de bioacumulação do Hg foi comparado entre os órgãos avaliados (Tabela 8). Segundo os dados, houve maior acúmulo ( $p < 0,05$ ) do Hg no fígado e rim dos peixes, em ambas as concentrações (C1 e C2). Com relação ao nível de Hg na musculatura, somente os animais alimentados com dieta C2 apresentaram níveis acima do recomendado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária Brasileira ( $0,5\ \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ).





**Figura 4.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas para de bioacumulação de Hg em rim, fígado, baço, musculatura e encéfalo de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contendo MeHg (tratamento x tempo). (\*) dentro de cada tempo diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



**Figura 5.** Biacumulação de Hg em musculatura, rim, fígado, encéfalo e baço de tilápia do Nilo alimentadas com dieta contaminada com MeHg.

De acordo com AZEVEDO (2003), após a absorção do Hg ocorre a distribuição no organismo por via circulatória. Especificamente, o MeHg fixa-se à hemoglobina no interior dos eritrócitos e é carregado para os órgãos. A maior parte dos organomercuriais vai principalmente para o cérebro, fígado e rins, embora também seja detectado em outros locais (CANO, 2001).

Em mamíferos, a via urinária juntamente com a fecal são as mais importantes na eliminação do Hg pelo organismo (WHO, 2003). Segundo ALLEN et al. (1988) afirmam que em peixes, o rim também atua com um importante órgão bioacumulador de Hg inorgânico.

A alta bioacumulação hepática de Hg ocorre em função das características do fígado, que é o órgão responsável pela biotransformação de poluentes (THOMSON, 1990). Segundo FRODELLO et al. (2000) e GONZALEZ et al. (2005) é nos hepatócitos que ocorre o processo de desmetilação do Hg orgânico para a

forma inorgânica. E, além disso, a bile liberada pelo fígado no processo da digestão pode ocasionar na redistribuição do Hg para os diferentes tecidos (ALLEN et al., 1988).

Assim, semelhantemente aos nossos resultados, em ambiente natural, a elevada concentração de Hg no fígado e nos rins de animais aquáticos foi observada por FRODELLO et al. (2000) em espécies de cetáceos, por RÉGINE et al. (2006) em *Acnodon oligacanthus*, *Pseudodancistrus barbatus*, *Semaprochilodus varii*, *Doras micropoeus*, *Hoplias aimara* e *Cynodon gibbus*, por AFONSO et al. (2007) em *Aphanopus carbo* e por RALDÚA et al. (2007) em *Barbus graellsii* e *Alburnus alburnus*.

Em experimentos realizados em laboratórios, o mesmo foi relatado por SIMON e BOUDOU (2001) em *Ctenopharyngodon idella* contaminados com  $\text{HgCl}_2$  e MeHg e por KENNEDY (2003) em *Carassius auratus* expostos ao Hg inorgânico proveniente de amálgama dentário na cavidade oral. OLIVEIRA-RIBEIRO et al. (1996) e SCHULTZ et al. (1996) também observaram a mesma tendência, respectivamente em *Trichomycterus zonatus* expostos ao  $\text{HgCl}_2$  na água e em *Ictalurus punctatus* inoculado com  $\text{HgCl}_2$ .

Algumas espécies, porém demonstraram o inverso, como é o caso de *Hoplias malabaricus* (MELA, 2004), *Cyprinus carpio* (GOLDSTEIN et al., 1996) e de *Leporinus friderici* e *Leporinus fasciatus* (RÉGINE et al., 2006), que apresentaram maior bioacumulação do Hg na musculatura ao invés dos órgãos citados acima.

GONZALEZ et al. (2005) avaliaram a bioacumulação de Hg em *Danio rerio* alimentados com dieta contaminada com MeHg (5,0 e 13,5  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ ). Verificando maior acúmulo no cérebro, o que correspondeu a duas e um e meio mais que o mensurado na musculatura e no fígado, respectivamente.

Segundo RÉGINE et al. (2006), que compararam a distribuição do Hg em diferentes espécies de peixes, há grande diferença baseada no hábito alimentar das espécies e, além disso, a característica estrutural e funcional de cada espécie pode modificar o organotropismo do Hg. CANO (2001) enfatiza ainda, que a forma

química do Hg (inorgânico ou orgânico), a concentração, a via de contaminação (exposição ou ingestão) e o mecanismo depuração/excreção podem interferir na cinética do Hg no organismo.

**Tabela 8.** Comparação de bioacumulação de Hg ( $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ ) entre os tecidos de tilápia do Nilo analisadas ao final dos 42 dias de experimentação.

| Fatores     | Fígado             | Rim                | Baço              | Encéfalo             | Músculo           |
|-------------|--------------------|--------------------|-------------------|----------------------|-------------------|
| Tratamentos |                    |                    |                   |                      |                   |
| C1          | $1,00 \pm 0,22^a$  | $0,82 \pm 0,37^a$  | $0,19 \pm 0,17^b$ | $0,32 \pm 0,11^b$    | $0,21 \pm 0,04^b$ |
| C2          | $10,02 \pm 0,80^a$ | $10,08 \pm 2,20^a$ | $4,96 \pm 0,72^b$ | $4,62 \pm 0,57^{bc}$ | $2,45 \pm 0,16^c$ |

Médias seguidas de letras diferentes na linha, dentro de cada fator, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 5.2 Metilmercúrio em ratos Wistar

### 5.2.1 Análise hematológica

De acordo com AZEVEDO (2003) a toxicidade do MeHg se deve principalmente à completa absorção pelo trato gastrointestinal e pela lenta eliminação. O MeHg se liga ao sangue e pela via circulatória se distribui ao resto do organismo, podendo cruzar até mesmo a barreira hematoencefálica causando danos ao sistema nervoso central. JIN et al. (2007) relatam que apesar da importância do sangue na distribuição do Hg no organismo, poucos trabalhos relacionam o MeHg na dieta com os parâmetros hematológicos.

Os efeitos do MeHg sobre as características hematológicas foram relatados em gatos (CHARBONNEAU et al, 1976), em humanos (GRAEME e POLLACK, 1998), em ratos (MUNRO et al., 1980; SHIGEMATSU et al., 2000; INSTITÓRIS et al., 2001; JIN et al., 2007) e em camundongos (SHAW et al., 1991; LECAVALIER et al, 1994).

#### 5.2.1.1 Série vermelha

No presente trabalho, os resultados da análise estatística para as variáveis hematológicas da série vermelha de ratos Wistar estão apresentados na Tabela 9. A Figura 6 representa o perfil do hemograma dos ratos (controle, C1 e C2) durante o período de 28 dias de experimento.

Os resultados apresentados na Tabela 9 não demonstraram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. Da mesma forma não ocorreu interação (tratamento x tempo). O mesmo foi relatado por JIN et al. (2007) que realizou a contaminação por via oral em ratos com MeHg (dose: 1 e 3  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV) e por INSTITÓRIS et al. (2001) que forneceram solução de  $\text{HgCl}_2$  (dose: 0,4; 0,8 e 3,2  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ ) por gavagem em ratos Wistar.

Em ratos (Sprague-Dawley), SHIGEMATSU et al. (2000) inocularam solução contendo MeHg (dose: 2  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV) por 25 dias consecutivos e também não

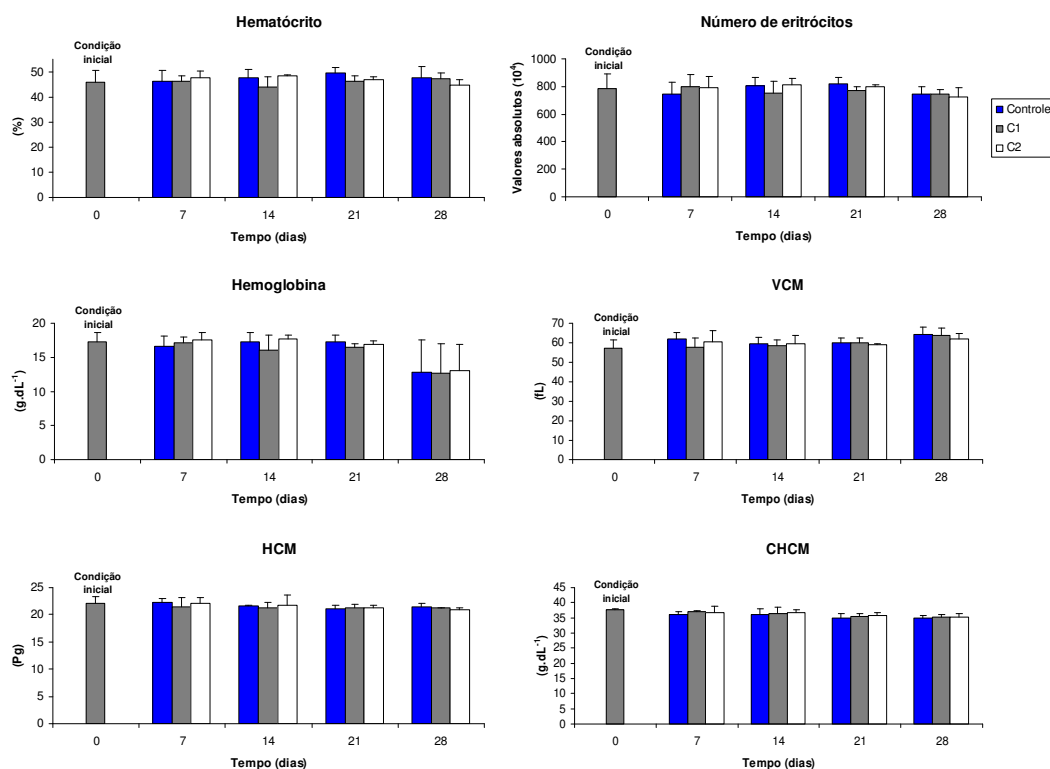
observaram diferença significativa para os parâmetros hematológicos (Er, Ht e Eb) com relação ao grupo controle inoculados com solução salina.

Por outro lado, SHAW et al. (1991) observaram em camundongos redução significativa ( $p < 0,05$ ) de Hb, Er, e Ht após quatro e 14 dias da injeção de MeHg por via intraperitoneal ( $24 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV). O mesmo ocorreu em ratos Wistar alimentados com dieta contaminada diariamente com MeHg (dose: 0,002; 0,010; 0,050; 0,250  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV) por 26 meses (MUNRO et al., 1980). Em ratas (Sprague-Dawley) contaminadas oralmente com solução contendo  $\text{HgCl}_2$  (dose: 7,4 e 9,2  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV), LECAVALIER et al. (1994) observaram também diminuição destes parâmetros. Além disso, em humanos, no estudo de GRAEME e POLLACK (1998), a contaminação por MeHg causou anemia na população avaliada.

**Tabela 9.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultados de análise estatística para hematócrito (%), taxa de hemoglobina (g.dL<sup>-1</sup>), número de eritrócitos (10<sup>4</sup>. $\mu$ L<sup>-1</sup>), VCM (fL), HCM (Pg) e CHCM (g.dL<sup>-1</sup>) em ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg.

|                   | Hematócrito      | Hemoglobina      | n <sup>o</sup> de eritrócitos | VCM                            | HCM                           | CHCM                          |
|-------------------|------------------|------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Tratamentos       |                  |                  |                               |                                |                               |                               |
| Controle          | 47,47 $\pm$ 0,63 | 16,31 $\pm$ 0,64 | 780 $\pm$ 14,78               | 60,98 $\pm$ 0,76               | 20,82 $\pm$ 0,69              | 34,36 $\pm$ 1,30              |
| C1                | 46,33 $\pm$ 0,70 | 15,87 $\pm$ 0,67 | 777 $\pm$ 15,52               | 59,78 $\pm$ 0,88               | 20,36 $\pm$ 0,73              | 34,33 $\pm$ 1,40              |
| C2                | 47,17 $\pm$ 0,48 | 16,62 $\pm$ 0,63 | 794 $\pm$ 16,18               | 59,63 $\pm$ 0,87               | 20,83 $\pm$ 0,61              | 35,09 $\pm$ 1,13              |
| Tempo (dias)      |                  |                  |                               |                                |                               |                               |
| 0                 | 48,11 $\pm$ 0,75 | 18,09 $\pm$ 0,17 | 832 $\pm$ 19,75 <sup>a</sup>  | 57,92 $\pm$ 0,78 <sup>b</sup>  | 21,80 $\pm$ 0,35 <sup>a</sup> | 37,63 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup> |
| 7                 | 46,66 $\pm$ 0,82 | 17,10 $\pm$ 0,32 | 781 $\pm$ 23,09 <sup>b</sup>  | 60,07 $\pm$ 1,29 <sup>ab</sup> | 21,98 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup> | 36,65 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup> |
| 14                | 46,66 $\pm$ 0,96 | 17,03 $\pm$ 0,44 | 790 $\pm$ 18,91 <sup>b</sup>  | 59,19 $\pm$ 0,93 <sup>ab</sup> | 21,56 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup> | 36,47 $\pm$ 0,44 <sup>a</sup> |
| 21                | 47,40 $\pm$ 0,70 | 16,82 $\pm$ 0,23 | 793 $\pm$ 11,48 <sup>b</sup>  | 59,75 $\pm$ 0,43 <sup>ab</sup> | 21,20 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup> | 35,50 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>  |
| 28                | 46,50 $\pm$ 0,64 | 12,83 $\pm$ 1,13 | 738 $\pm$ 13,98 <sup>b</sup>  | 63,18 $\pm$ 0,97 <sup>a</sup>  | 17,21 $\pm$ 1,28 <sup>b</sup> | 27,61 $\pm$ 2,39 <sup>b</sup> |
| Probabilidades    |                  |                  |                               |                                |                               |                               |
| Tempo (Te)        | NS               | <0,0001          | <0,0173                       | <0,0118                        | < 0,0001                      | <0,0001                       |
| Tratamento (Tr)   | NS               | NS               | NS                            | NS                             | NS                            | NS                            |
| Interação Tr x Te | NS               | NS               | NS                            | NS                             | NS                            | NS                            |
| CV (%)            | 5,36             | 13,98            | 7,95                          | 5,60                           | 12,09                         | 12,92                         |

Médias  $\pm$  erro padrão seguidas de letras diferentes na coluna, dentro de cada fator, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). (NS) Não significativo.



**Figura 6.** Perfil do hemograma de ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg durante 28 dias.

Esta tendência à anemia foi observada também em ratos contaminados com chumbo (TOPLAN et al., 2004) e cádmio (KTAPCINSKA et al., 2000). RIBAROVE e BENOVA (1981) relatam que o processo de lise dos eritrócitos induzido por agentes hemolíticos como os metais pesados podem estar associados ao alto grau de peroxidação no organismo dos mamíferos.

O processo de peroxidação pode destruir as defesas antioxidantes intrínsecas das células e resultar na condição conhecida por estresse oxidativo. Desta forma, células sob estresse oxidativo desenvolvem várias disfunções, em razão das lesões causadas aos lipídeos, proteínas e DNA (ERCAL et al., 2001). Assim, os trabalhos de RANA e BOORA (1992) e SENER et al. (2007) relataram o aumento de peroxidação lipídica e diminuição da glutathione peroxidase em ratos oralmente expostos ao  $\text{HgCl}_2$ , o que implicou na presença de danos oxidativo tecidual em diversos órgãos do animal.



### 5.2.1.2 Série branca

Os resultados da análise estatística para as variáveis hematológicas da série branca de ratos Wistar contaminados com Hg estão apresentados na Tabelas 10. O perfil leucocitário de ratos Wistar (controle, C1 e C2) ao longo dos 28 dias de experimentação é apresentado na Figura 7.

Os Lc, Lf, Nt e Mn não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos e também não foi observada interação (tratamento x tempo) em nenhum dos parâmetros leucocitários, com exceção dos valores de eosinófilos (Es) que apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as médias do grupo controle e dos animais tratados com dieta (C2). Assim, houve correlação positiva entre as concentrações de Hg na dieta e o número de Es na corrente sanguínea periférica de ratos.

JIN et al. (2007) observaram também ligeiro aumento de Es em ratos alimentados com MeHg em relação ao grupo controle, sem que, no entanto, houvesse diferença significativa entre eles.

De acordo com GARCIA-NAVARRO e PACHALY (1994), o aumento do número de Es em mamíferos ocorre comumente em situações inflamatórias, alérgicas e parasitárias. PERLINGEIRO e QUEIROZ (1995) afirmam que em humanos o Hg aumenta a susceptibilidade de infecções e manifestações alérgicas. Já, GRAEME e POLLACK (1998) relatam que contaminação em humanos por MeHg raramente está relacionado com aumento de Es, sendo mais comuns casos de aumento de Lf.

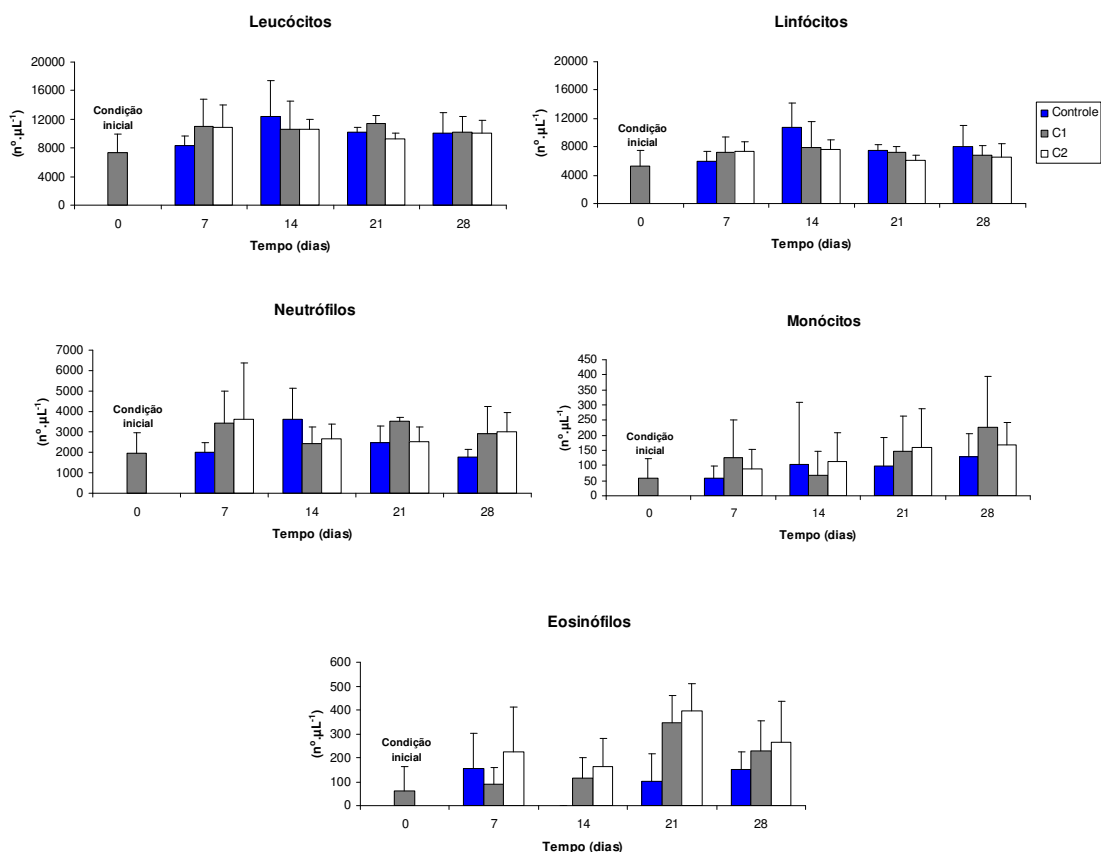
Semelhante aos nossos resultados, INSTITÓRIS et al. (2001) submeteram ratos Wistar à gavagem com solução contendo  $\text{HgCl}_2$  (3,2; 0,8 e 0,4  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ ) e não observaram diferença significativa nos parâmetros leucocitários, ao final dos 28 dias de experimentação.

Por outro lado, JIN et al. (2007) forneceram dieta com diferentes níveis de MeHg (1 e 3  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$  peso vivo) durante 28 dias para ratos e observaram correlação positiva entre as variáveis Lc, Nt e Mn e os níveis de MeHg nas dietas. O aumento de Lc foi também observado por GUILHERMINO et al. (1998) em ratos Wistar inoculados com solução contendo cádmio (4, 6, 9 e 13,5  $\mu\text{gCd.g}^{-1}$ ). Em humanos, em um relato de caso FAGALA e WIGG (1992) descreveram aumento de Lc em criança de 12 anos exposta ao vapor de Hg elementar por seis meses, como resultado de vazamento domiciliar de Hg elementar.

**Tabela 10.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultados da análise de variância do número absolutos de Lc ( $n^{\circ}.\mu\text{L}^{-1}$ ), Lf ( $n^{\circ}.\mu\text{L}^{-1}$ ), Nt ( $n^{\circ}.\mu\text{L}^{-1}$ ), Mn ( $n^{\circ}.\mu\text{L}^{-1}$ ), Es ( $n^{\circ}.\mu\text{L}^{-1}$ ) em ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg.

|                          | Leucócitos totais             | Linfócitos                   | Neutrófilos    | Monócitos                  | Eosinófilos                |
|--------------------------|-------------------------------|------------------------------|----------------|----------------------------|----------------------------|
| <b>Tratamentos</b>       |                               |                              |                |                            |                            |
| Controle                 | 10121 $\pm$ 873               | 7436 $\pm$ 679               | 2464 $\pm$ 273 | 78 $\pm$ 20                | 115 $\pm$ 27 <sup>b</sup>  |
| C1                       | 9752 $\pm$ 759                | 6664 $\pm$ 543               | 2760 $\pm$ 270 | 120 $\pm$ 28               | 164 $\pm$ 48 <sup>ab</sup> |
| C 2                      | 10033 $\pm$ 462               | 6781 $\pm$ 365               | 2542 $\pm$ 176 | 118 $\pm$ 20               | 237 $\pm$ 43 <sup>a</sup>  |
| <b>Tempo (dias)</b>      |                               |                              |                |                            |                            |
| 0                        | 7236 $\pm$ 880 <sup>a</sup>   | 5120 $\pm$ 678 <sup>a</sup>  | 1968 $\pm$ 334 | 59 $\pm$ 21 <sup>a</sup>   | 88 $\pm$ 32 <sup>b</sup>   |
| 7                        | 10053 $\pm$ 872 <sup>ab</sup> | 6659 $\pm$ 467 <sup>ab</sup> | 2664 $\pm$ 339 | 91 $\pm$ 23 <sup>ab</sup>  | 171 $\pm$ 41 <sup>ab</sup> |
| 14                       | 11858 $\pm$ 1143 <sup>b</sup> | 8754 $\pm$ 891 <sup>b</sup>  | 2915 $\pm$ 321 | 65 $\pm$ 24 <sup>ab</sup>  | 93 $\pm$ 30 <sup>b</sup>   |
| 21                       | 10410 $\pm$ 390 <sup>ab</sup> | 6996 $\pm$ 287 <sup>ab</sup> | 2930 $\pm$ 236 | 136 $\pm$ 32 <sup>ab</sup> | 314 $\pm$ 75 <sup>a</sup>  |
| 28                       | 10108 $\pm$ 600 <sup>ab</sup> | 7116 $\pm$ 607 <sup>ab</sup> | 2579 $\pm$ 303 | 177 $\pm$ 36 <sup>b</sup>  | 191 $\pm$ 56 <sup>ab</sup> |
| <b>Probabilidades</b>    |                               |                              |                |                            |                            |
| <b>Tempo (Te)</b>        | <0,0116                       | <0,0090                      | NS             | <0,0248                    | <0,0059                    |
| <b>Tratamento (Tr)</b>   | NS                            | NS                           | NS             | NS                         | NS                         |
| <b>Interação Tr x Te</b> | NS                            | NS                           | NS             | NS                         | NS                         |
| <b>CV (%)</b>            | 28,17                         | 30,86                        | 38,25          | 91,90                      | 88,51                      |

Médias  $\pm$  erro padrão seguidas de letras diferentes na coluna, dentro de cada fator, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). (NS) Não significativo.



**Figura 7.** Perfil leucocitário de ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg, durante 28 dias.

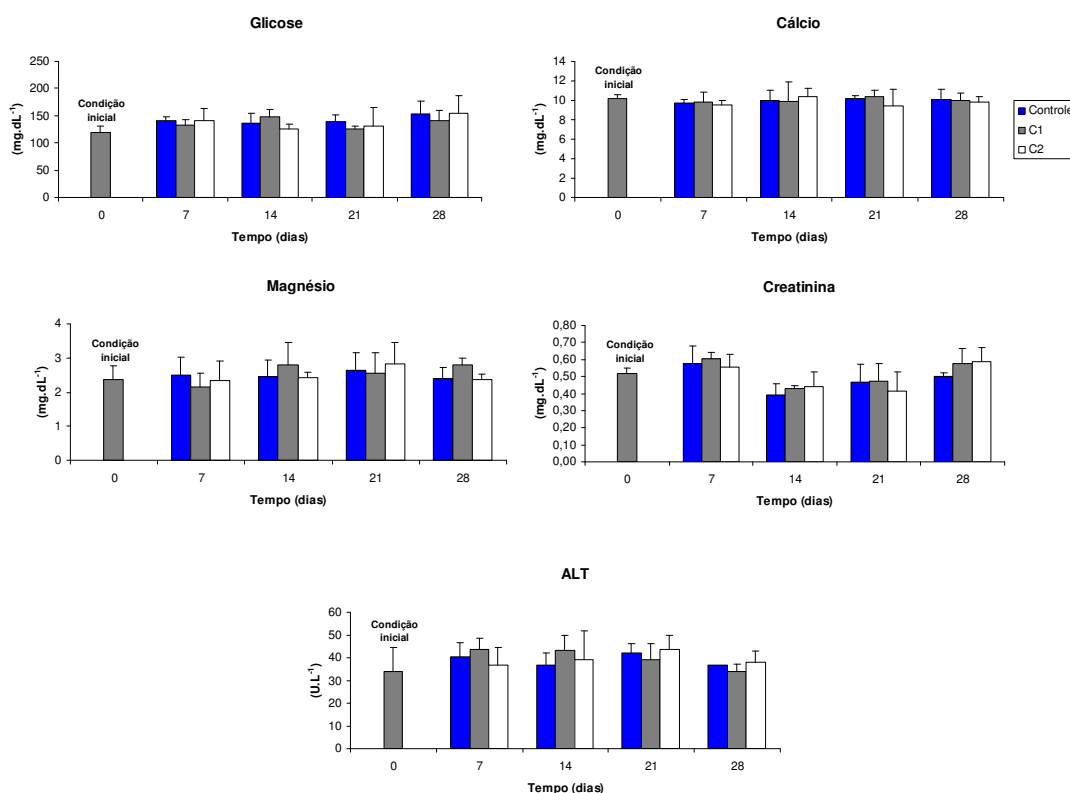
### 5.2.2 Variáveis bioquímicas do sangue de ratos Wistar

No presente trabalho, de acordo com a análise estatística das concentrações de glicose, cálcio, magnésio, creatinina, e ALT de ratos frente à resposta do organismo ao estímulo da contaminação pelo MeHg, não revelaram diferenças ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos (Tabela 11). A figura 8 apresenta o perfil bioquímico do sangue de ratos Wistar durante os 28 dias de experimentação.

Segundo SENER et al. (2007), danos teciduais no fígado e no rim em decorrência ao aumento de peroxidação lipídica, foram relacionados com o aumento dos níveis de ALT e creatinina, respectivamente, em ratos Wistar injetados com  $\text{HgCl}_2$  ( $5,0 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV). O mesmo foi observado por GUILHERMINO et al. (1998) em ratos Wistar injetados com cádmio ( $4, 6, 9$  e  $13,5 \mu\text{gCd.g}^{-1}$  PV). De acordo com

DEVLIN (1997), os valores de creatinina e ALT plasmático são biomarcadores indiretamente associados a alterações renais e hepáticas, respectivamente.

RUMBEIHA et al. (2000) avaliaram a nefrotoxicidade do Hg em ratos (Sprague-Dawley) injetados com solução  $\text{HgCl}_2$  ( $1,75 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV + lipopolissacarídeo-*Escherichia coli*; LPS:  $2 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV) e observaram aumento dos níveis de creatinina sérica e o aumento do peso do rim quando comparados com grupo controle. YANAGISAWA et al. (2002) associaram o aumento de creatinina com alterações histopatológicas nos rins de ratas (Sprague-Dawley) injetadas com  $\text{HgCl}_2$  ( $7,5 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV). O aumento significativo nos níveis de creatinina foi relatado também por YASUTAKE et al. (1997) em ratos Wistar alimentados com dieta contendo MeHg (dose: 0; 1 e  $5 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV) pelo período de dois anos.



**Figura 8.** Perfil das variáveis bioquímicas do sangue de ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg, durante 28 dias.

**Tabela 11.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultado da análise de variância para glicose(mg.L<sup>-1</sup>), cálcio (mg.L<sup>-1</sup>), magnésio (mg.L<sup>-1</sup>), creatinina(mg.L<sup>-1</sup>) e ALT (mg.L<sup>-1</sup>) plasmáticos em ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg.

|                          | Glicose                         | Cálcio           | Magnésio        | Creatinina                    | ALT                            |
|--------------------------|---------------------------------|------------------|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|
| <b>Tratamentos</b>       |                                 |                  |                 |                               |                                |
| Controle                 | 136,26 $\pm$ 4,12               | 10,07 $\pm$ 0,17 | 2,45 $\pm$ 0,09 | 0,49 $\pm$ 0,02               | 38,04 $\pm$ 1,64               |
| C1                       | 133,22 $\pm$ 4,02               | 9,58 $\pm$ 0,31  | 2,55 $\pm$ 0,13 | 0,52 $\pm$ 0,02               | 38,99 $\pm$ 1,90               |
| C2                       | 141,56 $\pm$ 6,48 <sup>a</sup>  | 9,87 $\pm$ 0,20  | 2,43 $\pm$ 0,09 | 0,50 $\pm$ 0,02               | 40,44 $\pm$ 2,60               |
| <b>Tempo (dias)</b>      |                                 |                  |                 |                               |                                |
| 0                        | 117,16 $\pm$ 4,24 <sup>b</sup>  | 10,19 $\pm$ 0,18 | 2,21 $\pm$ 0,09 | 0,50 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup> | 30,84 $\pm$ 3,43 <sup>b</sup>  |
| 7                        | 137,97 $\pm$ 3,97 <sup>ab</sup> | 9,65 $\pm$ 0,18  | 2,32 $\pm$ 0,14 | 0,57 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>  | 45,83 $\pm$ 2,33 <sup>a</sup>  |
| 14                       | 136,82 $\pm$ 4,50 <sup>ab</sup> | 9,50 $\pm$ 0,47  | 2,55 $\pm$ 0,13 | 0,42 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>  | 39,72 $\pm$ 2,45 <sup>ab</sup> |
| 21                       | 138,66 $\pm$ 7,97 <sup>ab</sup> | 10,03 $\pm$ 0,32 | 2,66 $\pm$ 0,16 | 0,45 $\pm$ 0,03 <sup>ab</sup> | 41,38 $\pm$ 1,82 <sup>ab</sup> |
| 28                       | 149,50 $\pm$ 6,95 <sup>a</sup>  | 9,97 $\pm$ 0,22  | 2,52 $\pm$ 0,08 | 0,55 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>  | 36,23 $\pm$ 1,19 <sup>ab</sup> |
| <b>Probabilidades</b>    |                                 |                  |                 |                               |                                |
| <b>Tempo (Te)</b>        | <0,0054                         | NS               | NS              | <0,0001                       | <0,0006                        |
| <b>Tratamento (Tr)</b>   | NS                              | NS               | NS              | NS                            | NS                             |
| <b>Interação Tr x Te</b> | NS                              | NS               | NS              | NS                            | NS                             |
| <b>CV (%)</b>            | 13,33                           | 9,89             | 18,09           | 15,19                         | 19,48                          |

Médias  $\pm$  erro padrão seguidos de letras diferentes na coluna, dentro de cada fator, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). (NS) Não significativo.

PEIXOTO e PEREIRA (2007) observaram aumento de aproximadamente 35% dos níveis de creatinina e queda de 40% dos níveis de ALT em ratos Wistar inoculados com  $\text{HgCl}_2$  ( $5,0 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV). Segundo estes autores, o aumento de creatinina confirma a presença de insuficiência renal causada pelo metal, no entanto, a queda de ALT não corresponde à toxicidade hepática que normalmente é caracterizada pelo aumento desta atividade em resposta a lesão celular (DEVLIN, 1997). O mesmo foi observado por JIN et al. (2007) em ratos (Sprague-Dawley) que apresentaram correlação negativa entre os níveis de ALT com as concentrações de MeHg (0, 1 e  $3\mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV) administrado por gavagem durante 14 dias.

Similarmente aos resultados do presente trabalho com relação ao nível de glicose sérico, SHIGEMATSU et al. (2000) não observaram alteração significativa da glicemia em ratos (Sprague-Dawley) injetados diariamente com solução contendo MeHg ( $2,0 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV) por 25 dias. Já, PEIXOTO e PEREIRA (2007) observaram diminuição de aproximadamente 25% dos níveis de glicose em ratos Wistar inoculados com  $\text{HgCl}_2$  ( $5,0 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV).

Em mamíferos o cálcio é o principal constituinte dos ossos e dentes e atua como importante estabilizador de membrana. O seu desequilíbrio no balanço nos fluídos sanguíneos causa alterações metabólicas e disfunção imune (SHENKER et al., 1993). No presente trabalho não ocorreu diferença ( $p < 0,05$ ) dos valores de cálcio plasmático entre os tratamentos. No entanto, SHARMA et al. (2005) observaram aumento de cálcio no soro em camundongos injetados com  $\text{HgCl}_2$  ( $5,0 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV). Este achado corrobora com os de SHENKER et al. (1993) que descreveram em humanos o aumento de cálcio sanguíneo ( $p < 0,05$ ) em resposta a exposição ao  $\text{HgCl}_2$ .

### 5.2.3 Relações Hepato, Espleno, Nefro e Encefalossomática

Os resultados da análise estatística das relações somáticas (RHS, RSS, RNS e RES) e o perfil somático dos órgãos ao longo dos 28 dias estão apresentados na Tabela 12 e Figura 9, respectivamente.

Na Tabela 12 verificou-se que os ratos alimentados com dieta C2 apresentaram menor RSS ( $p < 0,05$ ) com relação aos animais alimentados com dieta C1. Já os valores de RHS, RNS e RES não demonstraram diferença significativa entre os tratamentos.

A diminuição RSS foi observada também por HULTMAN e ENESTROM (1992) em ratos contaminados com  $\text{HgCl}_2$  ( $14,3 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV) e por FAZAKAS et al. (2005) em ratos Wistar contaminados diariamente por gavagem com solução contendo  $\text{HgCl}_2$  ( $1,6 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV) por 12 semanas.

KANERVA et al. (1982) descreveram que em mamíferos o processo de sangria reduz significativamente as relações somáticas e o peso absoluto do fígado e baço. No presente trabalho, a punção sangüínea e a quantidade de sangue foram padronizadas para todos os animais coletados, sendo assim descartado a possibilidade de alteração das relações obtidas.

Os dados de RHS no presente estudo não demonstraram sensibilidade com relação aos níveis de Hg na dieta. O mesmo foi observado por McNEIL et al. (1988) que avaliou a hepatotoxicidade do MeHg ( $2,5 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV, diariamente) em ratos Wistar com peso médio de 190g, tratados por sete semanas.

Por outro lado, a diminuição da RHS foi observada por PAN et al. (2005) em ratos Wistar recém nascidos contaminados com MeHg ( $10 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV, diariamente por 10 dias) e por FAZAKAS et al. (2005) em ratos Wistar jovens contaminados com  $\text{HgCl}_2$  ( $0,4$  e  $1,6 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV, diariamente por 12 semanas). Estes mesmos autores observaram menor ganho de peso nos animais contaminados com Hg. De acordo com WHO (1990), um dos sintomas da toxicidade do Hg é o processo de anorexia.



BARKER et al. (1994), mencionam que baixos valores do fator de condição e da RHS estão relacionados à deficiência nutricional e/ou ao efeito anoréxico e/ou má digestão, o que tende a diminuir o glicogênio hepático e conseqüentemente a RHS.

Segundo BELLES et al. (2002) em ratas prenhas contaminadas com nitrato de chumbo ( $25 \mu\text{g Pb.g}^{-1}$ ) e com MeHg ( $12,5 \mu\text{gHg.g}^{-1}$ ) por gavagem. O aumento significativo de RHS da prole foi observada no tratamento de MeHg + chumbo. No entanto, esses metais isoladamente não apresentaram alteração significativa com relação aos pesos dos órgãos.

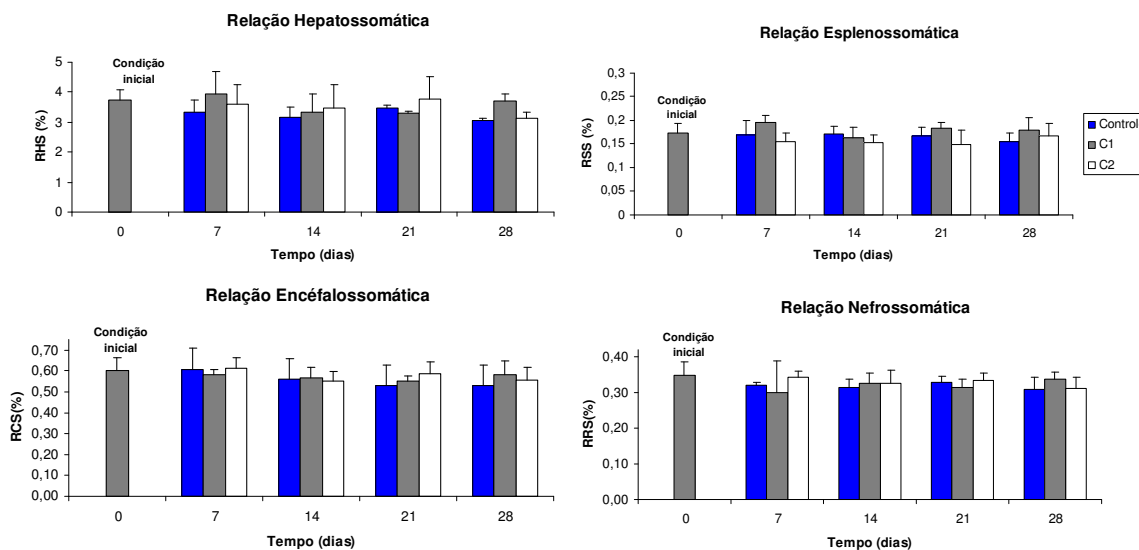
A RNS observada neste trabalho não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Esse resultado é semelhante aos encontrados por FAZAKAS et al. (2005), BELLES et al. (2002) e SMITH et al. (1983) que contaminaram por gavagem respectivamente, ratos Wistar com  $\text{HgCl}_2$  ( $0,4$  e  $1,6 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV), camundongos Charles River com MeHg ( $12,5 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV) e ratas Sprague-Dawley gestantes com MeHg ( $4$  a  $6 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV). Já, o aumento da RNS foi observado em ratos Wistar por McNEIL et al. (1988), JONKER et al. (1993) e PAN et al. (2005). Estes administraram MeHg, respectivamente  $10 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV por 10 dias,  $1,1 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV por 4 semanas e  $2,5 \mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV por 7 semanas.

As vias urinárias são consideradas uma das mais importantes na eliminação do Hg (SWIFT, 1997). Segundo AZEVEDO (2003), o rim é o órgão crítico na intoxicação aguda pelo íon mercúrio, podendo resultar em extensa necrose de células epiteliais e do túbulo contornado proximal, podendo ocasionar na diminuição do peso do órgão.

**Tabela 12.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultado da análise de variância das relações (%), hepato, espleno, nefro e encefalossomática em ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg.

|                          | Hepatossomática (RHS) | Esplenossomática (RSS)         | Nefrossomática (RNS) | Encefalossomática (RES) |
|--------------------------|-----------------------|--------------------------------|----------------------|-------------------------|
| <b>Tratamentos</b>       |                       |                                |                      |                         |
| Controle                 | 3,37 $\pm$ 0,09       | 0,16 $\pm$ 0,004 <sup>ab</sup> | 0,32 $\pm$ 0,008     | 0,58 $\pm$ 0,015        |
| C1                       | 3,51 $\pm$ 0,11       | 0,18 $\pm$ 0,005 <sup>a</sup>  | 0,30 $\pm$ 0,019     | 0,57 $\pm$ 0,013        |
| C2                       | 3,55 $\pm$ 0,15       | 0,15 $\pm$ 0,005 <sup>b</sup>  | 0,33 $\pm$ 0,007     | 0,57 $\pm$ 0,012        |
| <b>Tempo (dias)</b>      |                       |                                |                      |                         |
| 0                        | 3,72 $\pm$ 0,18       | 0,17 $\pm$ 0,007               | 0,31 $\pm$ 0,042     | 0,613 $\pm$ 0,024       |
| 7                        | 3,62 $\pm$ 0,18       | 0,17 $\pm$ 0,008               | 0,32 $\pm$ 0,016     | 0,560 $\pm$ 0,015       |
| 14                       | 3,32 $\pm$ 0,16       | 0,16 $\pm$ 0,005               | 0,32 $\pm$ 0,007     | 0,560 $\pm$ 0,013       |
| 21                       | 3,49 $\pm$ 0,13       | 0,17 $\pm$ 0,007               | 0,32 $\pm$ 0,006     | 0,554 $\pm$ 0,013       |
| 28                       | 3,30 $\pm$ 0,10       | 0,16 $\pm$ 0,007               | 0,32 $\pm$ 0,008     | 0,560 $\pm$ 0,018       |
| <b>Probabilidades</b>    |                       |                                |                      |                         |
| <b>Tempo (Te)</b>        | NS                    | NS                             | NS                   | NS                      |
| <b>Tratamento (Tr)</b>   | NS                    | <0,0048                        | NS                   | NS                      |
| <b>Interação Tr x Te</b> | NS                    | NS                             | NS                   | NS                      |
| <b>CV (%)</b>            | 13,86                 | 12,62                          | 18,84                | 9,72                    |

Médias  $\pm$  erro padrão seguidos de letras diferentes na coluna, dentro de cada fator, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). (NS) Não significativo.



**Figura 9.** Valores das relações hepato, espleno, nefro e encéfalossomática de ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg, durante 28 dias.

O estudo com camundongos contaminados por gavagem com soluções contendo diferentes concentrações de  $\text{HgCl}_2$  (5, 10 e 20  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV), NIELSEN et al. (1991) constataram menores danos e rápida regeneração do epitélio tubular em animais que receberam 10  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ , enquanto a necrose do túbulo proximal renal foi observada na dosagem de 20  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ , e nenhum dano foi verificado na dose 5  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$ . Este mesmo processo foi observado em ratos expostos por 14 dias ao  $\text{HgCl}_2$  (0,93; 1,9; 3,7; 7,4 e 14,8  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV) por gavagem. A incidência de necrose foi observado a partir da dose de 3,7  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$  PV, e sendo constatado o aumento da severidade de acordo com a intensidade da dosagem de Hg (NTP, 1993).

No presente estudo, a RES não apresentou diferença ( $p > 0,05$ ) nos ratos alimentados com dieta contendo Hg. Este resultado foi semelhante aos encontrados por GRUNDT et al. (1980) e BURBACHER et al. (2005) em macacos, PEREIRA et al. (1999), NEWLAND et al. (1999) e FAZAKAS et al. (2005) em ratos Wistar contaminados com MeHg. No entanto, apesar de não apresentar redução de massa encefálica a toxicidade do MeHg ao sistema nervoso é descrito por SAKAMOTO et al. (2004), que administraram diariamente concentrações de MeHg (1, 3 e 5  $\mu\text{gHg.g}^{-1}$

PV) em ratas Wistar. Estes animais apresentaram deficiência de coordenação motora e lesões histopatológicas no cérebro, sendo constatado o aumento da severidade proporcionalmente a dose de MeHg administrada.

Segundo WALKER et al. (1989) a RES funciona como bom indicador de neurotoxicidade. Em humanos, a redução do peso cerebral e alterações motoras foram relatados em fetos e crianças contaminados por MeHg em Minamata na década de 40. Em ratos Wistar, o estudo de PAN et al. (2005) demonstrou esta mesma característica de redução cerebral e disfunção motora em animais contaminados com MeHg. De fato, trabalhos experimentais com ratos expostos ao cloreto de MeHg demonstram que a natureza neuropatológica da lesão consiste em degeneração de nervos periféricos, raiz de nervos sensores, estruturas da espinha dorsal e células cerebrais (NAGASHIMA, 1997).

#### **5.2.4 Bioacumulação de mercúrio em ratos Wistar**

No presente estudo, tanto o grupo controle, quanto os animais do tempo zero, as concentrações de Hg estiveram abaixo do LD.

Pelos resultados da análise estatística apresentada na Tabela 13 e Figura 10, observa-se que os ratos alimentados com dieta C2 demonstraram maior acúmulo ( $p < 0,05$ ) do metal em todos os órgãos analisados.

Na Figura 10, constata-se que o aumento da bioacumulação ocorreu de forma ascendente com relação ao tempo de alimentação, com exceção somente do baço que apresentou o maior aumento de Hg aos 14 dias de alimentação, reduzindo-se após 21 dias. De acordo com JUNQUEIRA e CARNEIRO (1995), o baço possui grande quantidade de células fagocitárias e que tem contato íntimo com o sangue, além disso, representa um importante órgão de defesa contra microrganismos e é também o principal órgão destruidor de eritrócitos velhos. O MeHg fixa-se à hemoglobina numa taxa que pode atingir até 90% sendo distribuído

para todo o corpo do animal (GALVÃO e COREY, 1987). A redução verificada aos 21 dias pode estar relacionada com a redistribuição sangüínea e/ou com a reutilização da hemoglobina proveniente da lise celular para a síntese de novos eritrócitos pelo sistema hematopoiético.

A Figura 11 demonstra o aumento linear da bioacumulação de Hg no fígado ( $r^2 = 0,99$ ) e o rim ( $r^2 = 0,95$ ) de ratos alimentados com dieta C2 ao longo dos 28 dias de experimentação. SONG et al. (2002) constataram esta mesma tendência linear de bioacumulação de Hg em rim de fêmeas Sprague-Dawley contaminadas com amálgama contendo Hg, durante 12 semanas.

A dinâmica do Hg neste trabalho para a C1 demonstrou pouco efeito bioacumulativo no organismo do rato quando comparado com a C2, demonstrando a relação dose e efeito do metal. A presença de Hg no fígado e rim foi detectada a partir dos 14 dias de alimentação. O baço e a musculatura apresentaram acúmulo de Hg somente a partir dos 21 dias de contaminação. Já o encéfalo a concentração de Hg ficou abaixo de LD em todos os períodos analisados.

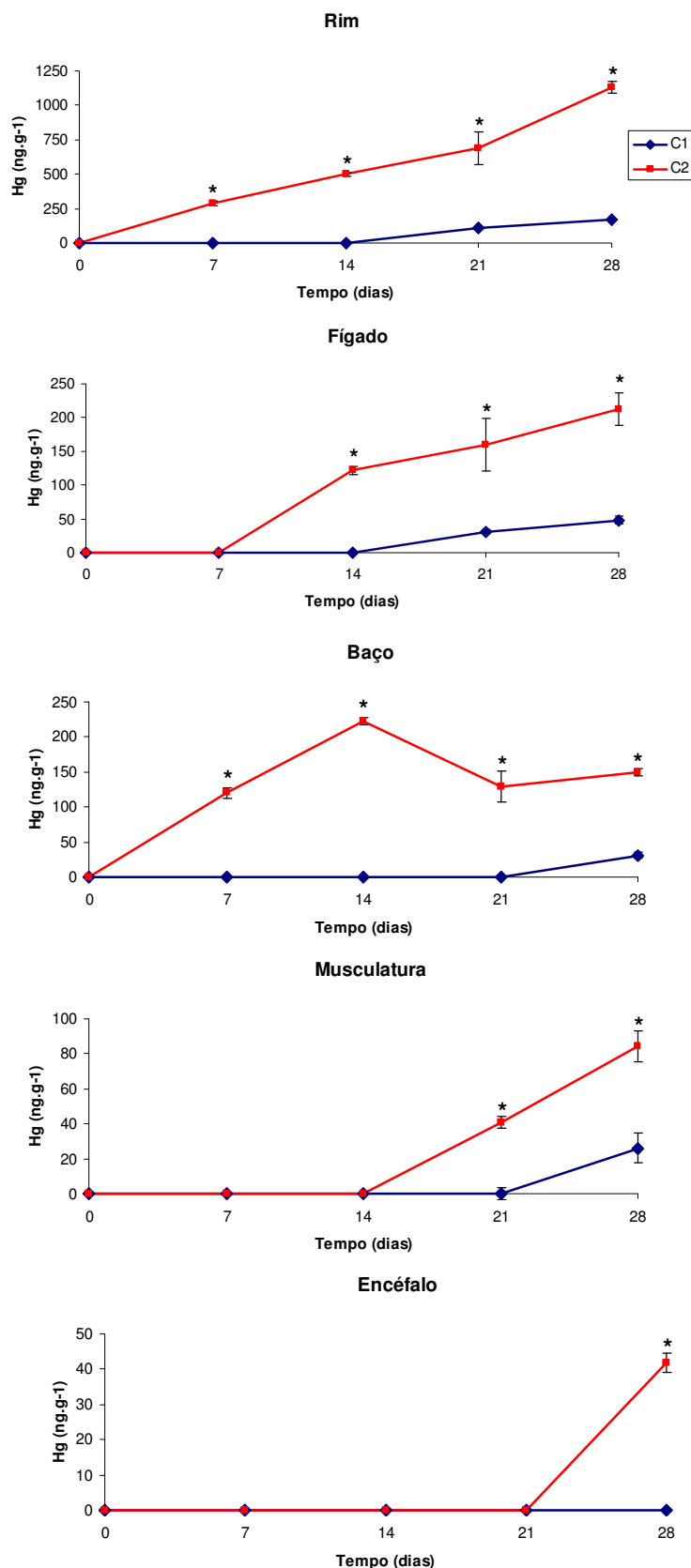
O Hg presente na dieta C2 bioacumulou no rim e baço já aos sete dias de alimentação. Aos 14 dias, o fígado apresentou nível de Hg detectável e com tendência a ascensão até os 28 dias. Na musculatura e no encéfalo o Hg foi constatado a partir dos 14 e 21 dias, respectivamente.

Neste estudo comparou-se a bioacumulação do Hg entre os órgãos analisados (Tabela 14 e Figura 12). Em ambas as dietas (C1 e C2), ocorreu maior acúmulo ( $p < 0,05$ ) do Hg no rim, seguido do fígado e baço que apresentaram níveis de bioacumulação semelhantes ( $p > 0,05$ ). E por final, a musculatura e o encéfalo, que foram os órgãos que apresentaram menor capacidade para bioacumular Hg. Esses resultados se assemelham aos encontrados por SAKAMOTO et al. (2004), BERNTSEN et al. (2004), PAN et al. (2005) e ENDO et al. (2005) em ratos Wistar contaminados com MeHg.

**Tabela 13.** Médias  $\pm$  erro padrão observadas e resultado da análise de variância para bioacumulação de Hg ( $\text{ngHg.g}^{-1}$ ) na musculatura, fígado, rim, encéfalo e baço de ratos Wistar alimentados com dieta contaminada com Hg.

|                       | Musculatura                    | Fígado                          | Rim                               | Encéfalo                      | Baço                             |
|-----------------------|--------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| <b>Tratamentos</b>    |                                |                                 |                                   |                               |                                  |
| C1                    | 5,23 $\pm$ 2,40 <sup>b</sup>   | 15,83 $\pm$ 4,75 <sup>b</sup>   | 56,04 $\pm$ 16,68 <sup>b</sup>    | ALD                           | 6,26 $\pm$ 2,96 <sup>b</sup>     |
| C2                    | 21,76 $\pm$ 7,52 <sup>a</sup>  | 95,58 $\pm$ 21,56 <sup>a</sup>  | 512,92 $\pm$ 93,47 <sup>a</sup>   | 8,80 $\pm$ 4,05 <sup>a</sup>  | 129,00 $\pm$ 18,73 <sup>a</sup>  |
| <b>Tempo (dias)</b>   |                                |                                 |                                   |                               |                                  |
| 0                     | ALD                            | ALD                             | ALD                               | ALD                           | ALD                              |
| 7                     | ALD                            | ALD                             | 144,907 $\pm$ 55,46 <sup>d</sup>  | ALD                           | 60,148 $\pm$ 22,98 <sup>b</sup>  |
| 14                    | ALD                            | 60,79 $\pm$ 23,17 <sup>b</sup>  | 248,878 $\pm$ 94,17 <sup>c</sup>  | ALD                           | 111,287 $\pm$ 42,14 <sup>a</sup> |
| 21                    | 17,55 $\pm$ 8,37 <sup>b</sup>  | 86,34 $\pm$ 29,81 <sup>b</sup>  | 357,818 $\pm$ 125,99 <sup>b</sup> | ALD                           | 55,684 $\pm$ 27,61 <sup>b</sup>  |
| 28                    | 49,43 $\pm$ 10,73 <sup>a</sup> | 130,24 $\pm$ 33,11 <sup>a</sup> | 651,408 $\pm$ 182,52 <sup>a</sup> | 20,91 $\pm$ 8,00 <sup>a</sup> | 101,899 $\pm$ 28,83 <sup>a</sup> |
| <b>Probabilidades</b> |                                |                                 |                                   |                               |                                  |
| Tempo (Te)            | <0,0001                        | <0,0001                         | <0,0001                           | <0,0001                       | <0,0001                          |
| Tratamento (Tr)       | <0,0001                        | <0,0001                         | <0,0001                           | <0,0001                       | <0,0001                          |
| Interação Tr x Te     | <0,0001                        | <0,0001                         | <0,0001                           | <0,0001                       | <0,0001                          |
| CV (%)                | 65,52                          | 43,84                           | 22,66                             | 41,33                         | 29,22                            |

Médias  $\pm$  erro padrão seguidos de letras diferentes na coluna, dentro de cada fator, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). (NS) Não significativo. (ALD) Abaixo do limite de detecção.



**Figura 10.** Médias observadas para de bioacumulação Hg em rim, fígado, baço, musculatura e encéfalo de ratos Wistar alimentados com dieta contendo Hg (tratamento x tempo). (\*) dentro de cada tempo diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os estudos de SAKAMOTO et al. (2004), BERNTSSEN et al. (2004) e ENDO et al. (2005), que além dos órgãos descritos acima avaliaram a concentração de Hg nos eritrócitos de ratos contaminados, e verificaram altos valores de Hg nos glóbulos vermelhos, corroborando as informações de GALVÃO e COREY (1987) a respeito da afinidade de Hg orgânico pela hemoglobina.

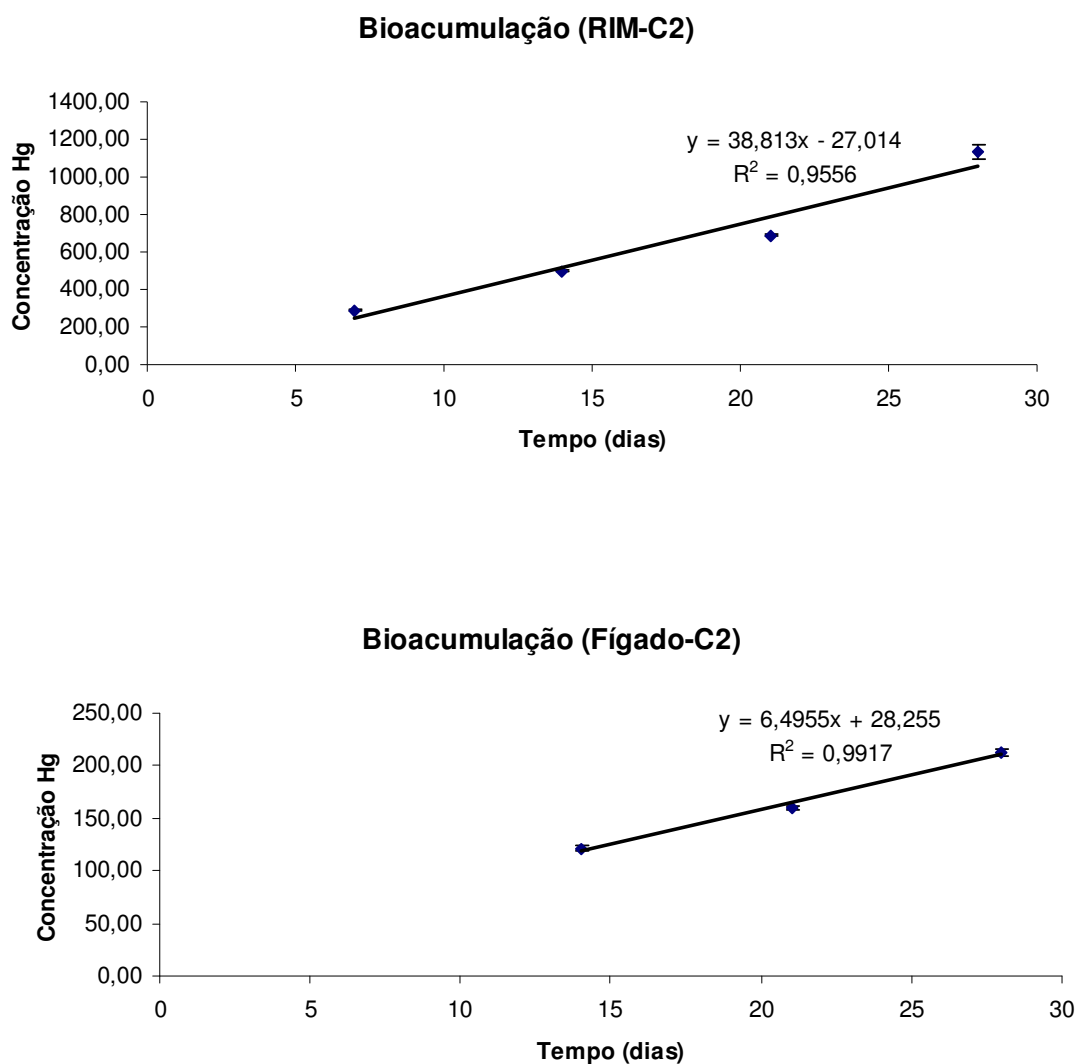
Além disso, SAKAMOTO et al. (2004) observaram que a contaminação realizada com MeHg suplementada na forma sintética ( $\text{CH}_3\text{HgCl}$ ) na dieta provocou maior bioacumulação ( $p < 0,05$ ) que a dieta naturalmente contaminada com MeHg. Desta forma, estes dados sugerem que o efeito tóxico do MeHg presente nos organismos aquáticos deva ser considerado menos severo do que a mesma dose equivalente para o MeHg sintético que muitas vezes é utilizada em experimentações.

Estudos com Hg na forma inorgânica foram avaliados em ratos Sprague-Dawley por TAKAHASHI et al. (2001), SONG et al. (2002) e HUANG et al. (2005). Apesar da toxicocinética ser dependente da espécie química do metal (WHO, 1991), estes autores observaram o mesmo padrão de bioacumulação para o MeHg, sendo o rim o principal órgão alvo, seguido do fígado e o encéfalo.

Em um estudo realizado com humanos ocupacionalmente expostos ao Hg inorgânico, HAC et al. (2000) determinaram a concentração Hg em órgãos de 46 pessoas que foram a óbito subitamente na região norte da Polônia. As respectivas concentrações no córtex renal, fígado e encéfalo foram de  $68,6 \pm 92,3 \text{ ng.g}^{-1}$ ,  $29,0 \pm 22 \text{ ng.g}^{-1}$  e  $5,3 \pm 6,9 \text{ ng.g}^{-1}$ . Esta distribuição de Hg no organismo se assemelha aos resultados do presente trabalho.

Embora, este estudo com peixes e ratos tenha sido realizado em curto período de tempo, os achados demonstram que experimentações com animais de laboratório podem ser utilizados para a suposição de contaminação ambiental e principalmente do risco do contato humano a este poluente.



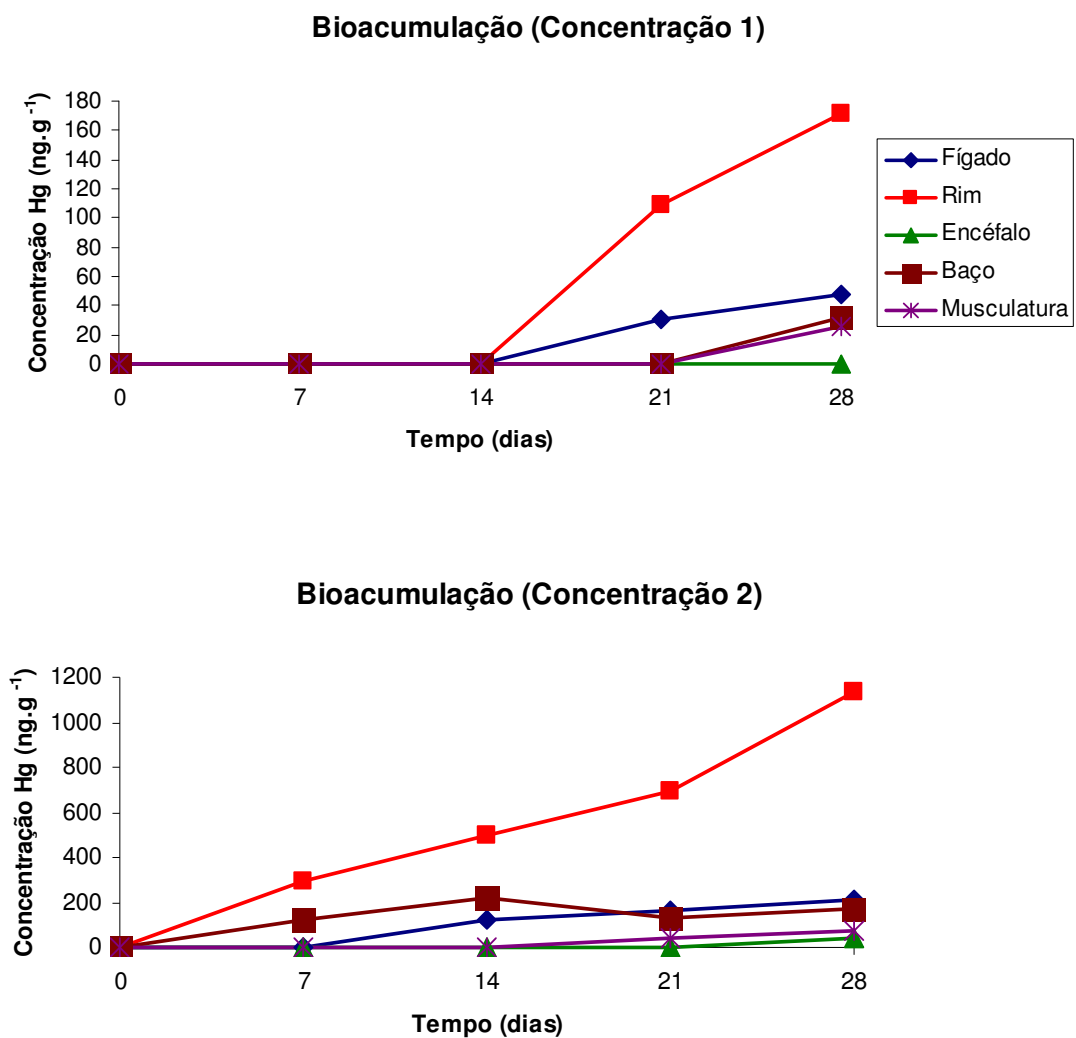


**Figura 11.** Bioacumulação de Hg ( $\text{ngHg.g}^{-1}$ ) em rim e fígado de ratos Wistar alimentadas com dieta de concentração 2 de Hg.

**Tabela 14.** Comparação de bioacumulação de Hg ( $\text{ngHg.g}^{-1}$ ) entre os tecidos de ratos Wistar analisadas ao final dos 28 dias de experimentação.

| Fatores     | Fígado                   | Rim                       | Baço                     | Encéfalo                | Músculo                 |
|-------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Tratamentos |                          |                           |                          |                         |                         |
| C1          | 47,96±0,93 <sup>b</sup>  | 171,41±1,99 <sup>a</sup>  | 31,34±0,53 <sup>b</sup>  | ALD                     | 26,18±0,34 <sup>b</sup> |
| C2          | 212,53±3,02 <sup>b</sup> | 1131,41±1,47 <sup>a</sup> | 172,46±1,07 <sup>b</sup> | 41,82±0,58 <sup>c</sup> | 72,68±0,91 <sup>c</sup> |

Médias seguidas de letras diferentes na linha, dentro de cada fator, diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). (ALD) Abaixo do limite de detecção.



**Figura 12.** Comparação da bioacumulação de Hg (nível de Hg x tempo) entre os tecidos de ratos Wistar analisados durante o período experimental.

## 6. CONCLUSÕES

- Os resultados obtidos para as variáveis hematológicas e bioquímicas de tilápia do Nilo, demonstraram sensibilidade às concentrações de MeHg administrado pela dieta;
- Para a análise de bioacumulação, a musculatura, fígado, rim, baço e cérebro de tilápia do Nilo acumularam Hg progressivamente;
- O aumento da bioacumulação com o aumento da concentração de MeHg na dieta sugere relação de dose e efeito, tanto em tilápias como em ratos;
- Os reflexos da relação de dose e efeito podem ser transmitidos às espécies situadas em nível mais alto da cadeia trófica, neste caso representadas pelos ratos;
- As concentrações de Hg administradas e o tempo de alimentação para ratos Wistar não afetaram as variáveis hematológicas, bioquímicas e relações somáticas;
- A bioacumulação de Hg na musculatura, fígado, rim, baço e cérebro de ratos Wistar, confirmam o processo de biomagnificação do metal proveniente do cloreto de MeHg administrado a tilápia do Nilo.

## 7. REFERENCIAS

ADAMS, S.M. Biological indicators of aquatic ecosystem stress. Americans fishers society, v. 3, p. 104-112, 2002.

AFONSO, C.; LOURENÇO, H.M.; DIAS, A.; NUNES, M.L.; CASTRO, M. Contaminant metals in black scabbard fish (*Aphanopus carbo*) caught off Madeira and the Azores. Food Chemistry, n. 101, p. 120-125, 2007.

ALKAHEM, H.F. The toxicity of nickel and the effects of sublethal levels on haematological parameters and behaviour of the fish, *Oreochromis niloticus*. Journal university of Kuwait, Khaldlya, v. 21, p. 243-252, 1994.

ALLEN, P.; YOKE, S.; KEONG, W.M. Acute effects of mercury chloride on intracellular CSH level and mercury distribution in the fish *Oreochromis aureus*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., v. 40, p. 178-184, 1988.

ALLEN, P. Changes in the haematological profile of the cichlid *Oreochromis aureus* (Steindachner) during acute inorganic mercury intoxication. Comp. Biochem. Physiol., v. 108C, n. 1, p. 117-121, 1994.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (1998). Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685\\_98.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685_98.htm). Acesso em: 15 fev. 2007.

AZEVEDO, F.A. Toxicologia do Mercúrio. São Paulo: RiMa, 2003. São Paulo: InterTox, 2003. 292p.

AZEVEDO, T.M.P.; MARTINS, M.L.; BOZZO, F.R.; MORAES, F.R. Haematological and gill responses in parasitized tilapia from valley of Tijucas rivers, SC, Brazil. Sci. Agric. v. 63, n. 2, p. 115-120, 2006.

BAINY, A.C.D. How to evaluate the safety chemical substances in aquatic environments. Ciência e Cultura, v. 45, p. 10-11, 1993.

BÁRÁNY, E.; BERGDAHL, I.A.; BRATTEBY, L.E.; LUNDH, T.; SAMUELSON, G.; SKERFVING, S.; OSKARSSON, A. Mercury and selenium in whole blood and serum in relation to fish consumption and amalgam fillings in adolescents. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 17, n. 3, p. 165-170, 2003.

BARBOSA, J.A.; CORDEIRO, R.C.; SILVA, E.V.; GOMES, P.R.S.; SANTOS, G.M.; SIFEDINNE, A.; ALBUQUERQUE, A.L.S.; LACERDA, L.D.; HAUSLADEN, P.A.; TIMS, S.G.; LEVCHENKO, V.A.; FIFIELD, L.K.  $^{14}\text{C}$ -AMS as a tool for the investigation of mercury deposition at a remote Amazon location. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, v. B, n. 223-224, 2004.

BARCELLOS, L.J.G.; SOUZA, S.M.G.; WOEHL, V.M. Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causas e conseqüências (revisão). *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, v. 26, n. 1, p. 99-111, 2000.

BARKER, D.E.; KHAN, R.A.; HOOPER, R. Bioincators of stress in winter flounde, *Pleuronectes americanus* captured adjacent to a pulp and paper mill in St. George's bay, Newfoundland. *Can. Journ. Fish Aquat. Sci.*, v. 51, p. 2203-2209, 1994.

BARREGARD, L.; HORVAT, M.; SHÜTZ, A. No indication of in vivo methylation of inorganic mercury in chloralkali workers. *Environmental Research*, v. 67, p. 160-167, 1994.

BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; KLEEMANN, G.K.; HISANO, H.; ROSA, G.J.M. Níveis de Vitamina C e Ferro para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.6, p. 2149-2156, 2002.

BASTOS, R.W.; GOMES, J.P.O.; OLIVEIRA, R.C.; ALMEIDA, R.; NASCIMENTO, E.L.; BERNARDI, J.V.E.; LACERDA, L.D.; SILVEIRA, E.G.; PFEIFFER, W.C. Mercury in the environment and riverside population in the Madeira river basin, Amazon, Brazil. *Science of the Total Environment*, n. 368, p. 344-351, 2006.

BELLÉS, M.; ALBINA, M.L.; SÁNCHEZ, D.J.; CORBELLA, J.; DOMINGO, J.L. Interactions in developmental toxicology: effects of concurrent exposure to lead, organic mercury, and arsenic in pregnant mice. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 42, p.42-98, 2002.

BELGER, L.; FORSBERG, B.R. Factors controlling Hg levels in two predatory fish species in the Negro river basin, Brazilian Amazon. *Science of the Total Environment*, v. 367, p. 451-459, 2006.

BENFEY, T.J.; BIRON, M. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, Amsterdam, v.184, p.167-176, 2000.

BERNTSSEN, M.H.G.; HYLLAND, K.; LUNDEBYE, A.K.; JULSHAMN. Higher faecal excretion and lower tissue accumulation of mercury in Wistar rats from contaminated fish than from methylmercury chloride added to fish. *Food and Chemical Toxicology*, v. 42, p. 1359-1366, 2004.

BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. O comportamento do metilmercúrio (metilHg) no ambiente. *Química Nova*, v. 27. n4. 593-600, 2004

BJÖRNBERG, K.A.; VAHTER, M.; GRAWÉ, K.P.; BERGLUND, M. Methyl mercury exposure in Swedish women with high fish consumption. *Science of the Total Environment*, v. 341, p. 45-52, 2005.

BJERREGAARD, P.; ANDESERN, B.W.; RANKIN, J.C. Retention of methyl mercury and inorganic mercury in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (W): effect of dietary selenium. *Aquatic Toxicology*, n. 45, p. 171-180, 1999.

BLOOM, N.S. On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissue. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v.49, p. 1010-1017, 1992.

BOENING, D.W. Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, n. 40, p. 1335-1351, 2000.

BORGHETTI, J. R.; OSTRENSKY, A. Estratégias e ações governamentais para incentivar o crescimento da atividade aquícola no Brasil. In: *Aquicultura Brasil*, 98. Anais..., Vol. 1. Recife, Pernambuco, Brasil, p. 437-447, 1998.

BOURGOIN-MAURICE, L.; QUIROGA, I.; CHINCHEROS, J.; COURAU, P. Mercury distribution in waters and fishes of the upper Madeira rivers and mercury exposure in riparian Amazonian populations. *The Science of the Total Environment*, v. 260, p. 73 – 86, 2000.

BOUZAN, C.; COHEN, J.T.; CONNOR, W.E.; KRIS-ETHERTON, P.M.; GRAY, G.M.; KÖNING, A.; LAWRENCE, R.S.; SAVITZ, D.A. TEUTSCH, S.M. A quantitative analysis of fish consumption and stroke risk. *Am. J. Prev. Med.*, v. 4, n. 29, p. 347-352, 2005.

BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Massachusetts: Kluwer Academic Publishers, 1998. 700 p.

BURBACHER, T.M.; SHEN, D.D.; LIBERATO, N.; GRANT, K.S.; CERNICHIARI, E.; CLARKSON, T. Comparison of blood and brain mercury levels in infant monkeys exposed to methylmercury or vaccines containing thimerosal. *Environmental Health Perspectives*, v. 113, n. 8, p. 1015-1021, 2005.

BURGER, J.; GOCHFELD, M. Heavy metals in commercial fish in New Jersey. *Environmental Research*, v. 99, p. 403-412, 2005.

BURGER, J.; GOCHFELD, M. Mercury in fish available in supermarkets in Illinois: Are there regional differences. *Science of the Total Environment*, n. 367, p. 1010-1016, 2006.

BURGER, J.; GAINES, K.F.; BORING, C.S.; STEPHENS, W.L.; SNODGRASS, J.; DIXON, C.; McMAHON, M.; SHUKLA, S.; SHUKLA, T.; GOCHFELD, M. Metal levels in fish from the Savannah river: Potential hazards to fish and other receptors. *Environmental Research Section A*, v. 89, p. 85-97, 2002.

BYCZKOWSKI, J. Z.; LIPSCOMB, J. C. Physiologically based pharmacokinetic modeling of the lactational transfer of methylmercury. *Risk Analysis*, v. 21, n. 5, p. 869-882, 2001.

CAMPBELL, K.R. Concentrations of heavy metals associated with urban runoff in fish living in stormwater treatment ponds. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 27, p. 352-356, 1994.

CANO, E.S. Toxicología del mercurio. Actuaciones preventivas em Sanidad laboral y ambiental. In: Jornada Internaticional sobre el impacto ambiental del mecurio utilizado por la mineria aurífera artesanal en Iberoamérica, 2001, Lima. Anais eletrônicos... Lima, 2001. Disponível em: <http://www.gama-peru.org/jornada-hg/espanol.pdf>. Acesso em: 14 nov. 2006.

CARRINGTON, C. D.; BOLGER, M.P. An Exposure Assessment for Methylmercury from Seafood for Consumers in the United States. *Risk Analysis*, v. 22, n. 4, p. 689-699, 2002.

CARTA, P.; FLORE, C.; ALINOVI, R.; IBBA, A.; TOCCO, M.G.; ARU, G.; CARTA, R.; GIREI, E.; MUTTI, A.; LUCCHINI, R.; RANDACCIO, F.S. Sub-clinical neurobehavioral abnormalities associated with low level of mercury exposure through fish consumption. *NeuroToxicology*, v. 24, p. 617-623, 2003.

CASTILHOS, Z.C.; RODRIGUES-FILHO, S.; RODRIGUES, A.P.C.; VILLAS-BÔAS, R.C.; SIEGEL, S.; VEIGA, M.M.; BEINHOFF, C. Mercury contamination in fish from gold mining areas in Indonesia and human health risk assessment. *Science of the Total Environment*, v. 368, p. 320 – 325, 2006.

CASTOLDI, A.F.; COCCINI, T.; MANZO, L. Neurotoxic and molecular effects of methylmercury in humans. *Rev. Environ Health*, v. 18, p. 19-31, 2003.

CASTRO, A.C.L. Quantificação de mercúrio total em tecido muscular do dourado (*Salminus maxillosus* Valenciennes, 1849) do rio Mogi-Guaçu – SP. 1991. 83f. Dissertação (mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1991.

CHARBONNEAU, S.M.; MUNRO, I.C.; NERA, E.A.; ARMSTRONG, F.A.J.; WILLES, R.F.; BRYCE, R.; NELSON, R.F. Chronic toxicity of methylmercury in the adult cat interim report. *Toxicology*, v. 5, n. 3, p. 337-349, 1976.

CHEN, C.Y.; WOOSTER, G.A.; GETCHELL, R.G.; BOWSER, P.R.; TIMMONS, M.B. Blood chemistry of healthy, nephrocalcinosis-affected and ozone-treated tilapia in a recirculation system, with application of discriminant analysis. *Aquaculture*, v. 218, p. 89-102, 2003.



CHEN, C.Y.; WOOSTER, G.A.; BOWSER, P.R. Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin, or copper sulfate. *Aquaculture*, v. 239, p. 421-443, 2004.

CHOWDHURY, M.J.; PANE, E.F.; WOOD, C.M. Physiological effects of dietary cadmium acclimation and waterborne cadmium challenge in rainbow trout: respiratory, ionoregulatory, and stress parameters. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 139C, p. 163-173, 2004.

CLARKSON, T.W. Mercury. In: SARKER, B. (Ed.), *Heavy Metals in the Environment*. Marcel Dekker, New York, pp. 457-501. 2002.

CLARKSON, T.W. The toxicology of mercury and its compounds. In: *Mercury pollution: Integration and synthesis*. In: WATRAS, C.J.; HUCKABEE, J.W., London, Lewis Publishers, 1994.

COLLIER, H.B. The standardization of blood haemoglobin determinations. *Can. Med. Ass. J.*, Toronto, v. 50, p. 550 – 552, 1944.

CONAMA. 2005. Resolução n. 357, de 17 de março de 2005. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Publicação D.O.U., 18/03/2005. Disponível em: [http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res\\_35705.pdf](http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res_35705.pdf) Acesso em: 18 de abr. 2006.

CONROY, D.A.; CONROY, G. Basic atlas of normal and abnormal blood cells in farmed tilapias. Carrickfegus: Patterson Peddle, 2007. 32p.

CRÉPET, A.; TRESSOU, J.; VERGER, P.; LEBLANC, J.C. Management options to reduce exposure to methyl mercury through the consumption of fish and fishery products by the French population. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 42, p. 179-189, 2005.

DEVLIN, T.M. *Textbook of biochemistry with clinical correlations*, 4 ed. Wiley, New York, 1997, 1186p.

DICK, P.T.; DIXON, D.G. Changes in circulating blood cell levels of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, following acute and chronic exposure to cooper. Journal Fish Biology. v. 26, p. 475-482, 1985.

DAWSON, M.A. Blood chemistry of the windowpane flounder *Scophthalmus aquosus* in Long island Sound: Geographical, seasonal, and experimental variations. Fishery Bulletin, v. 88, p. 429-437, 1990.

DOMMERGUE, A.; FERRARI, C. P.; POISSANT, L.; GAUCHARD, P. A.; BOUTRON, C. Diurnal cycles of gaseous mercury within the Snowpack at Kuujjuarapik/Whapmagoostui, Québec, Canada. Environ. Sci.Technol. v. 37, p. 3289-3297, 2003.

DONKOR, A.K.; BONZONGO, J.C.; NARTEY, V.K.; ADOTEY, D.K. Mercury in different environmental compartments of the Pra River Basin, Ghana. Science of the total Environment, v. 368, p. 164 – 176, 2006.

DOREA, J.G.; BARBOSA, A.C.; GILMAR, S.S. Fish mercury bioaccumulation as a function of feeding behavior and hydrological cycles of the Rio Negro, Amazon. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, v. 142, p. 275-283, 2006.

DURRIEU, G.; MAURY-BRACHET, R.; BOUDOU, A. Goldmining and mercury contamination of the piscivorous fish *Hoplias aimara* in French Guiana (Amazon basin). Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 60, p. 315 – 323, 2005.

DUSEK, L.; SVOVODOVÁ, Z.; JANOUSKOVÁ, D.; VYKUSOVÁ, B.; JARKOVSKÝ, J.; SMÍD, R.; PAVLIS, P. Bioaccumulation of mercury in muscle tissue of fish in the Elbe river (Czech Republic): multispecies monitoring study 1991-1996. Ecotoxicology and Environmental Safety, n. 61, p. 256-267, 2005.

ELAHEE, K.B; BHAGWANT, S. Hematological and gill histopathological parameters of three tropical fish species from a polluted lagoon on the west coast of Mauritius, Ecotoxicology and Environmental Safety. Aceito em 4 de junho de 2006. In press

ENDO, T.; HOTTA, Y.; HARAGUCHI, K.; SAKATA, M. Distribution and toxicity of mercury in rats after oral administration of mercury-contaminated whale red meat marketed for human consumption. Chemosphere, v. 61, p. 1069-1073, 2005.

ERCAL, N.; GURER-ORHAN, H.; AYKIN-BURNS, N. Toxic metals and oxidative estresse part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr. Top. Med. Chem.*, v. 1, n. 6, p. 529-539, 2001.

ETO, K. Minamata Disease. *Neuropathology*, v.20, p.14-19. 2000.

EVANS, M.S.; LOCKHART, W.L.; DOETZEL, L.; LOW, G.; MUIR, D.; KIDD, K.; STEPHENS, G.; DELARONDE, J. Elevated mercury concentrations in fish in lakes in the Mackenzie river basin: The role of physical, chemical, and biological factors. *Science of the Total Environment*, v. 351-352, p. 479-500, 2005.

FAGALA, G.E.; WIGG, C.L. Psychiatric manifestations of mercury poisoning. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, v. 31, n. 2, p. 306-311, 1992.

FALCOCHIO, D.; ASSIS, G.P.S.; STEFANON, I.; VASSALLO, D.V. Small concentrations of mercury enhances positive inotropic effects in the rat ventricular myocardium. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 20, p. 22-25, 2005.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 1998. Documentation Group Cataloguing in Publication Data. FAO, Rome. 98 p. 1998.

FARIAS, R.A.; HACON, S.; CAMPOS, R.C.; ARGENTO, R. Mercury contamination in farmed fish setup on former garimpo mining areas in the northern Mato Grosso state, Amazonian region, Brazil. *Science of the Total Environment*, v. 348, p. 128-134, 2005.

FARINA, M.; CERESER, V.; PORTELA, L.V.; MENDEZ, A.; PORCIÚNCULA, L.O.; FORNAGUERA, J.; CONÇALVES, C.A.; WOFCHUK, S.T.; ROCHA, J.B.T.; SOUZA, D.O. Methylmercury increases S100B content in rat cerebrospinal fluid. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 19, p. 249-253, 2005.

FAZAKAS, Z.; LENGYEL, Z.; NAGYMAJTÉNYI, L. Combined effects of subchronic exposure to lead, mercury and alcohol on the spontaneous and evoked cortical activity in rats. *Arh.Hig Rada Toksikol*, v. 56, p. 249-256, 2005.

FDA, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, FDA 2001. Consumer advisory. Disponível em: <<http://www.fda.gov/bbs/topics/ANSWERS/2000/advisory.html>>. Acesso em: 1 dez. 2001.

FELDMAN, B.R.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. Schalm's Veterinary Hematology: 5a. Ed., Lippincott Williams & Wilkins, 1998, p. 1120-1125.

FILIPPELLI, M.; BALDI, F. Alkylation of ionic mercury to methylmercury and dimethylmercury by methylcobalamin: simultaneous determination by purge-and-trap GC in line with FTIR. *Appl. Organ. Chem.*, v. 12, p. 487-493, 1993.

FITZGERALD, W.F.; ENGSTROM, D.R.; MASON, R.P.; NATER, E.A. The case for atmospheric mercury contamination in remote areas. *Environmental Sciences and Technology*, v. 32, p. 1-12, 1998.

FLAHERTY, C.M.; SASS, G. G.; STILES, K. E. Human Mercury Toxicity and Ice Angler Fish Consumption: Are People Eating Enough to Cause Health Problems?. *Risk Analysis*, v. 23, n. 3, p. 497-504, 2003.

FLETCHER, T.C.; WHITE, A. Nephrotoxic and haematological effects of mercuric chloride in the plaice (*Pleuronectes platessa* L.), *Aquatic Toxicology*, v.8, p. 77-84, 1986.

FOSTIER, A.H.; MICHELAZZO, P.A.M. Gaseous and particulate atmospheric mercury concentrations in the Campinas metropolitan region (São Paulo state, Brazil), *Journal Braz. Chem. Soc.*, v. 17, n.5, p. 886-894, 2006.

FREIRE, M.A.; OLIVEIRA, R.B.; PICANÇO-DINIZ, C.W.; PEREIRA, A.Jr.; Differential effects of methylmercury intoxication in the rat's barrel field as evidenced by NADPH diaphorase histochemistry. *NeuroToxicology*, v. 28, p. 175-181, 2006

FRODELLO, J.P.; ROMÉO, M.; VIALE, D. Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. *Environmental Pollution*, v. 108, p. 447-452, 2000.

FURUTANI, A.; RUDD, J.W.M. Measurement of mercury methylation in lake water and sediment samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.40, p. 770-781, 1980.

GALVÃO, L.A.C.; COREY, G. Mercúrio. Metepec, México: ECO-Centro Panamericano de Ecología Humana Y Salud/OPS/OMS, 82p. Série Vigilância, n. 7, 1987.

GAMMONS, C.H.; SLOTTON, D.G.; GERBRANDT, B.; WEIGHT, W.; YOUNG, C.A.; McNEARNY, R.L.; CÁMAC, E.; CALDERÓN, R.; TAPIA, H. Mercury concentrations of fish, river water, and sediment in the Rio Ramis-Lake Titicaca watershed, Peru. *Science of the Total Environment*, n. 368, p. 637-648, 2006.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K.; PACHALY, J.R. Manual de hematologia veterinária. São Paulo: Varela, 1994. 169p.

GASSÓ, S.; SUÑOL, C.; SANFELIU, C.; RODRÍGUEZ-FARRÉ, E.; CRISTOFOL, R.M. Pharmacological characterization of the effects of methylmercury and mercuric chloride on spontaneous noradrenaline release from rat hippocampal slices. *Life Sciences*, v. 67, p. 1219-1231, 2000.

GILL, T.S.; PANT, J.C. Mercury-induced blood anomalies in the freshwater teleost, *Barbus conchoni* Ham. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 24, p. 165-171, 1985.

GILMOUR, C.C.; HENRY, E.A. Mercury methylation in aquatic systems affected by acid deposition. *Environmental Pollution*, v. 2-4, n. 71, p. 131-169, 1991.

GINSBERG, G. L.; TOAL, B. F. Development of a Single-Meal fish consumption Advisory for Methyl Mercury. *Risk Analysis*, v. 20, n. 1, p. 41-47, 2000.

GLASS, G.E.; SORENSON, J.A.; SCHMIDT, K.W.; RAPP, G.R.; YAP, D.; FRAZER, D. Mercury deposition and sources for the upper Great-Lakes region. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 56, p. 235-249, 1991.

GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E.; BROUSIUS, E.. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *Amer. J. Clin. Path.*, Philadelphia, v.56, n.1, p. 59 - 9. 1971.

GOLDSTEIN, R.M. BRIGHAM, M.E.; STAUFFER, J.C. Comparison of mercury concentrations in liver, muscle, whole bodies, and composites of fish from the Red river of the North. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, v. 53, p. 244-252, 1996.

GONÇALVES, A.; GONÇALVES, N.N.S. Exposição humana ao mercúrio na Amazônia brasileira: uma perspectiva histórica. *Rev. Panam. Salud Publica/Pan Am J. Public Health*, v. 15, p. 415-419, 2004.

GONZALEZ, P.; DOMINIQUE, Y.; MASSABUAU, J.C.; BOUDOU, A.; BOURDINEAUD, J.P. Comparative effects of dietary methylmercury on gene expression in liver, skeletal muscle, and brain of the zebrafish (*Danio rerio*). *Environ.Sci. Technol*, v. 39, p. 3972-3980, 2005.

GRAEME, A.K.; POLLAC, C.B. Heavy metal toxicity, part I: Arsenic and mercury. *The Journal of Emergency Medicine*, v. 16, n. 1, p. 45-56, 1998.

GRANDJEAN, P.; WEIHE, P. Neurobehavioral effects of intrauterine mercury exposure: potential sources of bias. *Environmental Research*, v. 61, p. 176-183, 1993.

GRUNDT, I.K.; STENSLAND, E.; SYVERSEN, T.L.M. Changes in fatty acid composition of myelin cerebrosides after treatment of the developing rat with methylmercury chloride and diethylmercury. *Journal of Lipid Research*, v. 21, p. 162-168, 1980.

GUALLAR, E.; SANZ-GALLARDO, M.I.; VEER, P. BODE, P.; ARO, A.; GOMEZ-ARACENA, J.; KARK, J.D.; RIEMERSMA, R.A.; MARTIN-MORENO, J.M.; KOK, F.J. Heavy metals and myocardial infarction. *N. Engl. J. Med*, v. 347, p. 1747-1754, 2002.

GUILHERMINO, L.; SOARES, A.M.V.M.; CARVALHO, A.P.; LOPES, M.C. Effects of cadmium and parathion exposure on hematology and blood biochemistry of adult male rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 60, p. 52-59, 1998.

GUIMARÃES, J.R.D.; MEILI, M.; MALM, O.; BRITO, E.M.D. Hg methylation in sediments and floating meadows of a tropical lake in the Pantanal floodplain, Brazil. *Science of the Total Environment.*, v. 213, n. 1-3, p. 165-175, 1998.

HAC, E.; KRZYZANOWSKI, M.; KRECHNIAK, J. Total mercury in human renal cortex, liver, cerebellum and hair. *The Science of the Total Environment*, v. 248, n. 1, p. 37-43, 2000.

HACON, S.; ROCHEDO, E.R.R.; CAMPOS, R.R.R.; LACERDA, L.D. Mercury exposure through fish consumption in the urban area of Alta Floresta in the Amazon Basin. *Journal of Geochemical Exploration*, v. 58, p. 209-216, 1997.

HAMMOND, P.B.; BELILES, R.P. Metals. In: DOULL, J.; CLAASEN, C.D.; AMDUR, M.O. (Eds.). Casarett and Doull's Toxicology – The basic science of poisons. New York: Macmillan Publications, Co. Inc., 1980, p. 409-467.

HATTINGH, J. Blood sugar as an indicator of stress in the freshwater fish *Labeo capensis* (Smith). Journal of Fish Biology, v. 10, p. 191-195, 1976.

HEATH, A.G. Osmotic and ionic regulation. In: \_\_\_\_\_. Water pollution and fish physiology. Second edition. Florida: CRC Press, Boca Raton, 1995, 339p.

HILMY, A.M.; SHABANA, M.B.; SAID, M.M. Haematological responses to mercury toxicity in the marine teleost, *Aphanius dispar* (RÜPP). Comp. Biochem. Physiol., v.67C, p. 147-158, 1980.

HORVAT, M.; NOLDE, N. FAJON, V.; JEREB, V.; LOGAR, M. LOJEN, S.; JACIMOVIC, R.; FALNOGA, I.; LIYA, Q.; FAGANELI, J.; DROBNE, D. Total mercury, methylmercury and selenium in mercury polluted areas in the province Ghizhou, China. The Science of the Total Environment, v. 304, p. 231–256, 2003.

HOUCK, A.; CECH, J. J. Jr. Effects of dietary methylmercury on juvenile Sacramento blackfish bioenergetics. Aquatic Toxicology. v. 69, p. 107-123, 2004.

HRUBEC, T.C.; SMITH, S.A. Hematology of fish. In: FELDMAN, B.R.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. Schalm's Veterinary Hematology: 5a. Ed., Lippincott Williams & Wilkins, 1998, p. 1120-1125.

HSDB – HAZARDOUS SUBSTANCES DATA BANK. Mercury. In: TOMES CPS SYSTEM. Toxicology, occupational medicine and environmental series. Englewood: Micromedex, 2000. CD-ROM.

HUANG, R.J.; ZHUANG, Z.X.; WANG, Y.R.; HUANG, Z.Y.; WANG, X.R.; LEE, F.S.C. An analytical study of bioaccumulation and the binding forms of mercury in rat body using thermolysis coupled with atomic absorption spectrometry. Analytica Chimica Acta, v. 538, p. 313-321, 2005.

HULTMAN, P., ENESTRON, S. Dose-response studies in murine mercury-induced autoimmunity and immune-complex disease. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 113, n. 2, p. 199-208, 1992.

HYLANDER, L.D.; GRÖHN, J.; TROPP, M.; VIKSTRÖM, A.; WOLPHER, H.; SILVA, E.C.; MEILI, M.; OLIVEIRA, L.J. Fish mercury increase in Lango Manso, a new hydroelectric reservoir in tropical Brazil. *Journal of Environmental Management*, n. 81, p. 155-166, 2006.

HYLANDER, L.D.; PINTO, F.N.; GUIMARÃES, J.R.D.; MEILI, M.; OLIVEIRA, L.J.; SILVA, E.C. Fish mercury concentration in the Alto Pantanal, Brazil: influence of season and water parameters. *The Science of the Total Environment*. v.261, p. 9 – 20, 2000.

IAEA/UNEP, INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Marine Environmental Studies Inorganic Laboratory. Standard Operating Procedures*. Monaco, 43 p. 1995.

IKINGURA, J.R.; AKAGI, H.; MUJUMBA, J.; MESSO, C. Environmental assessment of mercury dispersion, transformation and bioavailability in the lake Victoria Goldfields, Tanzania. *Journal of Environmental Management*, v. 81, p. 167-173, 2006.

INSTITÓRIS, L.; SIROKI, O.; ÜNDEGER, Ü.; BASARAN, N.; BANERJEE, B.D.; DÉSI, I. Detection of the effects of repeated dose combined propoxur and heavy metal exposure by measurement of certain toxicological, haematological and immune function parameters in rats. *Toxicology*, v. 163, p. 185-193, 2001.

ISHIKAWA, N.M. Toxicidade aguda e crônica do mercúrio em tilápia “Tailandesa”, *Oreochromis niloticus*. Determinação da  $CL_{50-96h}$  e Alterações hematológicas. Jaboticabal, 2003. 52p. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura), Curso de Pós-graduação em Aqüicultura, Centro de Aqüicultura da UNESP.

JAFFE, D.; PRESTBO, E.; SWARTZENDRUBER, P.; WEISS-PENZIAS, P.; KATO, S.; TAKAMI, A. Export of atmospheric mercury from Asia. *Atmos. Environ.*, v. 39, p. 3029 – 3038, 2005.



JIN, X.; LOK, E.; BONDY, G.; CALDWELL, D.; MUELLER, R.; KAPAL, K.; ARMSTRONG, C.; TAYLOR, M.; KUBOW, S.; MEHTA, R.; CHAN, H.M. Modulating effects of dietary fats on methylmercury toxicity and distribution in rats. *Toxicology*, v. 230, p. 22-44, 2007.

JONKER, D.; WOUTERSEN, R.A.; BLADEREN, P.J.; TIL, H.P.; FERON, V.J. Subacute (4-wk) oral toxicity of a combination of four nephrotoxins in rats: Comparison with the toxicity of the individual compounds. *Food and Chemical Toxicology*, v. 31, n. 2, p. 125-136, 1993.

JULSHAMN, K.; GROSVIK, G.E.; NEDREAAS, K.; MAAGE, A. Mercury concentration in fillets of Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides*) caught in the Barents Sea in January 2006. *Science of the Total Environment*, v. 372, n. 1, p. 345-349, 2006.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 433p.

KANERVA, R.L.; ALDEN, C.L.; WYDER, W.E. The effect of uniform exsanguinations on absolute and relative organ weights, and organ weight variation. *Toxicol. Pathol.*, v. 10, p. 43-44, 1982.

KANG, J.C.; KIM.S.G.; JANG, S.W. Growth and hematological change of rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf) exposed to dietary Cu and Cd. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 36, n. 2, p. 188-195, 2005.

KENNEDY, C. J. Uptake and accumulation of mercury from dental amalgam in the common goldfish, *Carassius auratus*. *Environmental Pollution*, v. 121, p. 321-326, 2003.

KNOBELOCH, L.; STEENPORT, D.; SCHRANK, C.; ANDERSON, H. Methylmercury exposure in Wisconsin: A case study series. *Environmental Research*, v. 101, p. 113-122, 2006.

KÖNIG, A.; BOUZAN, C.; COHEN, J.T.; CONNOR, W.E.; KRIS-ETHERTON, P.M. GRAY, G.M.; LAWRENCE, R.S.; SAVITZ, D.A.; TEUTSCH, S.M. A quantitative

analysis of fish consumption and coronary heart disease mortality. *Am. J. Prev. Med.*, v. 4, n. 29, p. 335-346, 2005.

KTAPCINSKA, B.; POPRZEQCKI, S.; DOLEZYCH, B.; KIMSA, E. Cadmium-Induced changes in Hematology and 2,3-DPG levels in rats. *Bulletin fo Environmental Contamination and Toxicology*, v. 64, p. 93-99, 2000.

KUROSVSKAYA, L.N.; OSADCHAYA, S.A. The influence of *Ichthyophthirius multifiliis* on underyearling carp, *Cyprinus carpio*. *Jour. Ichthyol.*, v. 33, n. 4, p. 81-92, 1993.

LACERDA, L.D. Human health implications of mercury usage in small-scale gold mining activities in the Brazilian Amazon. In: HILSON G.M. The socioeconomic impacts of artizanal and small-scale mining in developing countries. Lisse: A.A. Balkema Publ., p. 679-700. 2003

LACERDA, L.D.; MARIN, R.V. Anthropogenic mercury emissions to the atmosphere in Brazil: The impactooof gold mining. *Journal Geochem. Exploration*, n. 58, p. 223-229, 1997.

LACERDA, L.D.; PFEIFFER, W.C.; BASTOS, W.R. 1990. Mercury dispersal in water and sediments draining a gold mining tailing deposit in Poconé, Brazil. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 55 n. 3-4, p. 283-294, 1991.

LECAVALIER, P.R.; CHU, I.; VILLENEUVE, D.; VALLI, V.E. Combined effects of mercury and hexachlorobenzene in the rat. *Journal of Environmental Science and Health – Part B: Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes*, v. 29, n. 5, p. 951-961, 1994.

LECHLER, P.J.; MILLER, J.R.; LACERDA, L.D.; VINSON, D.; BONZONGO, J.C.; LYONS, W.B.; WARWICK, J.J. Elevated mercury concentrations in soils, sediments, water, and fish of the Madeira river basin, Brazilian Amazon: a function of natural enrichments?. *The Science of the Total Environment*, v. 260, p. 87-96, 2000.

LINDBERG, A.; BJÖRNBERG, K.A.; VAHTER, M.; BERGLUND, M. Exposure to methylmercury in non-fish-eating people in Sweden. *Environmental Research*, v. 96, p. 28-33, 2004.

LIPFERT, R. W.; MOSKOWITZ, P. D.; FTHENAKIS, V.; SAROFF, L. Probabilistic Assessment of Health Risks of Methylmercury from Burning Coal. *NeuroToxicology*, v.17, n.1, p. 197-212, 1996.

LITTELL, R.C.; STROUP, W.W.; FREUND, R.J. SAS For Linear Models. SAS Institute, 2002. Fourth edition, SAS Institute Inc, Cary, NC. 466p.

LONG, G.L.; WINEFORDNER, J.D. Limit of detection – A closer look at the IUPAC definition. *Anal. Chem.*, v. 55, n. 7, p. 712-724A, 1983.

LOW, K.W.; SIN, Y.M. Effects of mercuric chloride and sodium selenite on some immune responses of blue gourami, *Trichogaster trichopterus* (Pallus). *The Science of the Total Environmental*, n. 214, p. 153-164, 1998.

LOWE-JINDE, L. Observations of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, infected with *Cryptobia salmostica*. *Jour. Fish. Biol.*, v. 17, n. 1, p. 23-30, 1980.

MACKLIN, M.G. Fluxes and storage of sediment-associated heavy metal in floodplain systems: assessment and river basin management issues at a time of rapid environmental change. In: ANDERSON, M.G., WALLING, D.E.; BATES, P. *Floodplain processes*, 1996, Chichester: Wiley.

MAES, G.E.; RAEYMAEKERS, J.A.; PAMPOULIE, C.; SEYNAEVE, A.; GOEMANS, G.; BELPAIRE, C.; VOLCKAERT, F.A.M. The catadromous European eel *Anguilla anguilla* (L.) as a model for freshwater evolutionary ecotoxicology: Relationship between heavy metal bioaccumulation, condition and genetic variability. *Aquatic Toxicology*, v. 73, p. 99-114, 2005.

MAHBOOB, M.; SHIREEN, K.F.; ATKINSON, A.; KHAN, A.T. Lipid peroxidation and oxidant enzyme activity in different organs of mice exposed to low level of mercury. *Journal Environmental Science Health, Part B*, v. 36, p 687-697, 2001.

MARQUES, R.C.; DÓREA, J.G.; BASTOS, W.R.; REBELO, M.F.; FONSECA, M.F.; MALM, O. Maternal mercury exposure and neuro-motor development in breastfed infants from Porto Velho (Amazon), Brazil. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 210, p. 51-60, 2007.

MARTINS, M.L.; PILARSKY, F.; ONAKA, E.M.; NOMURA, D.T.; FENERICH Jr, J.; RIBEIRO, K.; MYIAZAKI, D.M.Y.; CASTRO, M.P.; MALHEIROS, E.B. Hematologia e resposta inflamatória aguda em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: cichlidae) submetida aos estímulos único e consecutivo de estresse de captura. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 71-80, 2004.

MASON, R.P.; FITZGERALD, W.F.; MOREL, F.M.M. The biogeochemical cycling of elemental mercury: anthropogenic influences. *Geochim. Cosmochim. Acta*, v. 58, p. 3191-3198, 1994.

MATTSSON, K.; LEHTINEN, K.J.; TANA, J.; HÄRDIG, J.; KUKKONEN, J.; NAKARI, T.; ENGSTRÖN, C. Effects of pulp mill effluents and restricted diet on growth and physiology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 49, p. 144-154, 2001.

MAURICE-BORUGOIN, L.; QUIROGA, I.; CHINCHEROS, J.; COURAU, P. Mercury distribution in waters and fishes of the upper Madeira rivers and mercury exposure in riparian Amazonian populations. *The Science of the Total Environment*, n. 260, p. 73-86, 2000.

MAURO, J.B.N.; GUIMARÃES, J.R.; MELAMED, R. Aguapé agrava contaminação por mercúrio. *Ciência hoje*, n. 25, p. 68-72, 1999.

McCARTHY, J.F.; SHUGART, L.R. Biomarkers of environmental contamination. Lewis Publ., Boca Raton pegar dados na internet. 1990, 472p.

McCRARY, J.K.; CASTRO, M.; McCAYE, K.R. Mercury in fish from two Nicaraguan lakes: A recommendation for increased monitoring of fish for international commerce. *Environmental Pollution*, n. 141, p. 513 – 518, 2006.

McNEIL, S.I.; BHATNAGAR, M.K.; TURNER, C.J. Combined toxicity of ethanol and methylmercury in rat. *Toxicology*, v. 30, n. 2-3, p. 345-363, 1988.

MELA, M. Uso de biomarcadores na avaliação dos efeitos do metilmercúrio em *Hoplias malabaricus* (BLOCK, 1794) (Traíra). 2004. 124f. Dissertação (Mestrado em Biologia celular e molecular) – Departamento de Biologia Celular, Setor de Ciências Biológica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

MELO da SILVA, A.M.; MANDARIM LACERDA, C.A. Morfologia e reconstrução anatômica do nó e da artéria do nó sinoatrial no coração de *Rattus norvegicus*. Revista Brasileira de Ciências Morfofisiológicas, v. 11, p. 82-87, 1994.

MERGLER, D. Review of neurobehavioral deficits and river fish consumption from the Tapajós (Brasil) and St. Lawrence (Canada). Environmental Toxicology and Pharmacology, p. 1-7, 2002.

MICARONI, R.C.C.M.; BUENO, M.I.M.S.; JARDIM, W.F. Compostos de mercúrio. Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte. Química Nova, vol. 4, n. 23, pp. 487 – 495, 2000.

MIKRYAKOV, V.R.; LAPIROVA, T.B. Influence of Salts of some Heavy Metals on the differential blood count in juvenile *Acipenser baeri*. Journal of Ichthyology, v. 37, n. 6, p. 458 – 462, 1997.

MILLER, J.R. The role of fluvial geomorphic processes in the transport and storage of heavy metals from mine sites. Journal Geochem. Explor. Especial Issue, v.58, p. 101-118, 1997.

MORETTO, M.B.; FUNCHAL, C.; SANTOS, A.Q.; GOTTFRIED, C.; BOFF, B.; ZENI, G.; PESSOA-PUREUR, R.; SOUZA, D.O.; WOFCHUK, S.; ROCHA, J.B.T. Ebselen protects glutamate uptake inhibition caused by methyl mercury but does not by Hg<sup>2+</sup>. Toxicology, v. 214, p. 57-66, 2005.

MORRISSETTE, J.; TAKSER, L.; St-AMOUR, G.; SMARGIASSI, A.; LAFOND, J.; MERGLER, D. Temporal variation of blood and hair mercury levels in pregnancy in relation to fish consumption history in a population living along the St. Lawrence River. Environmental Research, v. 95, p. 363-374, 2004.

MUCCI, A.; LUCOTTE, M.; MONTGOMERY, S.; PLOURDE, Y.; PICHET, P.; VANTRA, H. Mercury remobilization from flooded soils in a hydroelectric reservoir of

Northern Quebec, La Grande-2- results of a soil resuspension experiment. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, v. 52, n. 11, p. 2507-2517, 1995.

MUNRO, I.C.; NERA, S.M.; CHARBONNEAU, S.M.; JUNKINS, B.; ZAWIDZKA, Z. Chronic toxicity of methylmercury in the rat. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, v. 3, 437-447, 1980.  
MYERS, G. J.; DAVIDSON, P. W.; COX, C.; SHAMLAYE, C.; CERNICHIARI, E.; CLARDSON, T. W. Twenty-Seven years studying the human neurotoxicity of methylmercury exposure. *Environmental Research Section A*, v. 83, p. 275-285, 2000.

NAKAGIMA, K. A review of experimental methylmercury in rats: neuropathology and evidence for apoptosis. *Toxicol. Pathol.*, v. 25, n. 6, p. 624-631, 1997.

NASCIMENTO, E.S.; CHASIN, A.A.M. *Ecotoxicologia do mercúrio e seus compostos*. Salvador: CRA. 2001, v. 1, 165p.

NEW, M. B. 1998. Global aquaculture: Current trends and challenges for the 21st century. In: *Aqüicultura Brasil, 98. Anais...*, Vol.1. Recife, Pernambuco, Brasil, pp. 9-57.

NEWLAND, M.C.; REILE, P.A. Blood and brain mercury levels after chronic gestational exposure to methylmercury in rats. *Toxicological Sciences*, v. 50, p. 106-116, 1999.

NIELSEN, J.B.; ANDERSEN, H.R., ANDERSEN, O., STARKLINT, H. Mercuric chloride-induced kidney damage in mice: Time course and effect of dose. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, v. 34, n. 4, p. 469-483, 1991.

NORRIS, D.O.; CAMP, J.M.; MALDONADO, T.A.; WOODLING, J.D. Some aspects of hepatic function in feral brown trout, *Salmo trutta*, living in metal contaminated water. *Comp. Biochem. Physiol. C*, v. 127, p. 71-78, 2000.

NTP. Toxicology and arcinogenesis studies of mercuric chloride (CAS n. 7487-94-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Research Triangle Park, NC, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, National Toxicology Program (Publication n. 91-3139), 1993.

NRIAGRU, J.O. Mechanistic steps in the photoreduction of mercury in natural waters. *Science of the Total Environment*, v. 154, p. 1-8, 1994.

NUSSEY, G.J.H.J.; VAN VUREN; DU-PREEZ, H.H. Effect of copper on the haematology and osmoregulation of the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 111C, n. 3, p. 369-380, 1995a.

NUSSEY, G.J.H.J.; VAN VUREN; DU-PREEZ, H.H. Effect of copper on the differential white blood cell counts of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 111C, n. 3, p. 381-388, 1995b.

O'CONNOR, D.V.; FROMM, P.O. The effect of methyl mercury on gill metabolism and blood parameters of rainbow trout. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v.13, n.4, p. 406-411, 1975.

OLIVEIRA, F.R.T.; FERREIRA, J.R.; SANTOS, C.M.C.; MACÊDO, L.E.M.; OLIVEIRA, R.B.; RODRIGUES, J.A.; NASCIMENTO, J.L.M.; FARO, L.R.F.; DINIZ, D.L.W.P. Estradiol reduces cumulative mercury and associated disturbances in the hypothalamus-pituitary axis of ovariectomized rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 63, p. 488-493, 2006.

OLIVEIRA-RIBEIRO, C.A.; NETO, F.F.; MELA, M.; SILVA, P.H.; RANDI, M.A.F.; RABITTO, I.S.; COSTA, J.R.M.A.; PELLETIER, E. Hematological findings in neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary dose of methylmercury, inorganic lead, and tributyltin chloride. *Environmental Research*, n. 101, p. 74-80, 2006.

OLIVEIRA-RIBEIRO, C.A.; BELGER, L.; PELLETIER, É. and ROULEAU, C. Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environmental Research*, v.90, p. 217-225, 2002.

OLIVEIRA-RIBEIRO, C.A.; PELLETIER, E.; PFEIFFER, W.C.; ROULEAU, C. Comparative uptake, bioaccumulation, and gill damages of inorganic mercury in tropical and Nordic freshwater fish. *Environmental Research Section A*, n. 83, p. 286-292, 2000.

OLIVEIRA-RIBEIRO, C.A.; GUIMARÃES, J.R.D.; PFEIFFER, W.C. Accumulation and distribution of inorganic mercury in a tropical fish (*Trichomycterus zonatus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.34, p. 190-195, 1996.

OLIVEIRA-RIBEIRO, C.A.; TORRES, R.F. Acute effects evaluation of HgCl<sub>2</sub> on epidermis of *Trichomycterus brasiliensis* (Siluroidei; Trichomycteridae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, n. 32, p. 260-266, 1995.

OLIVEIRA-RIBEIRO, C.A.; FERNANDES, L.M.; CARVALHO, C.S.; CARDOSO, R.I.; TURCATTI, N.M. Acute effects of mercury chloride on the olfactory epithelium of *Trichomycterus brasiliensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, n. 31, p. 104-109, 1995.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; PEDINI, M. Situação atual da Aquicultura brasileira e Mundial. p. 354 – 381. In: VALENTI, C.V.; POLI, C.R.; PEREIRA, J.A.; BORGHETTI, J.B. *Aquicultura no Brasil bases para um Desenvolvimento Sustentável*. Brasília: CNPQ / Ministério da Ciência e Tecnologia. 399p. 2000.

PAN, H.S.; SAKAMOTO, M.; LIU, X.J.; FUTATSUKA, M. Déficits in the Brain Growth in rats induced by methylmercury treatment during brain growth spurt. *Journal of Health Science*, v. 51, n. 1, p. 41-47, 2005.

PEDERSEN, E.B.; JORGENSEN, M.E.; PEDERSEN, M.B.; SIGGAARD, C.; SORENSEN, T.B.; MULVAD, G.; HANSEN, J.C.; ASMUND, G.; SKJOLDORG. Relationship between mercury in blood and 24-h ambulatory blood pressure in Greenlanders and Danes. *American Journal of Hypertension*, v. 18, p. 612-618, 2005.

PEIXOTO, N.C.; PEREIRA, M.E. Effectiveness of ZnCl<sub>2</sub> protecting against nephrotoxicity induced by HgCl<sub>2</sub> in newborn rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 66, p. 441-446, 2007.

PEREIRA, M.E.; MORSCH, V.M.; CHRISTOFARI, R.S.; ROCHA, J.B.T. Methyl mercury exposure during post-natal brain growth alters behavioral response to SCH 23390 in young rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 63, p. 256-262, 1999.

PERLINGEIRO, R.C.; QUEIROZ, M.L. Measurement of the respiratory burst and chemotaxis in polymorphonuclear leukocytes from mercury-exposed workers. *Human and Experimental Toxicology*, v. 14, n. 3, p. 281-286, 1995.



PERRY, S.F.; REID, S.G.; SALAMA, A. The effects of repeated physical stress on the b-adrenergic response of the rainbow trout red blood cell. J. Exp. Biol. v. 199, p. 549-562, 1996.

PIRRONE, N.; COSTA, P.; PACYNA, J.M.; FERRARA, R. Atmospheric mercury emissions from anthropogenic and natural sources in the Mediterranean region. Atmospheric Environment, v. 35, p. 2997-3006, 2001.

PORTO J.I.R.; ARAUJO, C.S.O.; FELDBERG, E. Mutagenic effects of mercury pollution as revealed by micronucleus test on three Amazônia fish species. Environmental Research, v. 97, p. 287-292, 2005.

PORVARI, P. Mercury levels of fish in Tucuruí hydroelectric reservoir and in River Mojú in Amazonia, in the state of Pará, Brazil. The Science of the Total Environment. v.175, p.109 – 117, 1995.

PYLE, G.G.; RAJOTTE, J.W.; COUTURE, P. Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. Ecotoxicology and Environmental Safety. Rapid Communication, v. 61, p. 287-312, 2005.

QUEIROZ, I.R. Determinação do metilmercúrio em peixes de região de garimpo. 1995. 109f. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

QUENTEL, C; OBACH, A. The cellular composition of the blood and haematopoietic organs of turbot *Scophthalmus maximus* L. Jour. Fish Biol., v. 41, p. 709-716, 1992.

QUEVAUVILLER, P.; DRABAEK, I.; MUNTAU, H.; BIANCHI, M.; BORTOLI, A.; GRIEPINK, B. Certified reference materials (CRMs 463 and 464) for the quality control of total and methylmercury determination in tuna fish. Trends in Analytical Chemistry, v. 15, n. 15, p. 160-167, 1996.

RALDÚA, D.; DÍEZ, S.; BAYONA, J.M.; BARCELÓ, D. Mercury levels and liver pathology in feral fish living in the vicinity of a mercury cell chlor-alkali factory. Chemosphere. v. 66, p. 1217-1225, 2007.

RANA, S.V.S.; BOORA, P.R. Antiperoxidative mechanisms offered by selenium against liver injury caused by cadmium and mercury in rat. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 48, n. 1, p. 120-124, 1992.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; SILVA-SOUZA, Â.T. Hematologia de peixes brasileiros. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.A.P. (Ed.) *Varela: Sanidade de organismos aquáticos*. São Paulo, 2004. cap 4, p. 89-120.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; EIRAS, A.C. Células sanguíneas e contagem diferencial de leucócitos de 13 espécies de teleósteos do rio Paraná-Pr. *Acta Scientiarum*, v. 34, p. 54-62, 1992.

RÉGINE, M.B.; GILLES, D.; YANNICK, D. ; ALAIN, B. Mercury distribution in fish organs and food regimes: Significant relationships from twelve species collected in French Guiana (Amagonian basin). *Science of the Total Environment*, v. 368, p. 262-270, 2006.

RENZONI, A.; ZINO, F.; FRANCHI, E. Mercury levels along the food chain and fish for exposed populations. *Environmental research, Section A*, v. 77, p. 68-72, 1998

RIBAROV, S.R.; BENOVA, L.C. Relationship between the hemolytic action of heavy metals and lipid peroxidation. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 640, n. 3, p. 721-726, 1981.

RICE, D. C.; SCHOENY, R.; MAHAFFEY, K. Methods and rationale for derivation of a reference dose for methylmercury by the U.S. EPA. *Risk Analysis*, v. 23, n. 1, p. 107-115, 2003.

ROSENFELD, G. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue. Noções práticas sobre corantes pancreáticos e estudo de diversos fatores. *Mem. Inst. Butantan*, v. 20, p. 315 – 328, 1947.

ROTLLAND, J.; PAVLIDIS, M.; KENTOURI, M.; ABAD, M.E.; TORT, L. Non-specific immune responses in the red porgy *Pagrus pagrus* after crowding stress. *Aquaculture*, v. 156, p. 279-290, 1997.

RUMBEIHA, W.K.; FITZGERALD, S.D.; BRASELTON, W.E.; ROTH, R.A.; PESTKA, J.J.; KANEENE, J.B. Augmentation of mercury-induced nephrotoxicity by endotoxin in the mouse. *Toxicology*, v. 151, p. 103-116, 2000.

SAKAMOTO, M.; KAKITA, A.; OLIVEIRA, R.B.; PAN, H.S.; TAKAHASHI, H. Dose-dependent effects of methylmercury administered during neonatal brain spurt in rats. *Developmental Brain Research*, v. 152, p. 171-176, 2004.

SANGA, R. N.; BARTELL, S. M.; PONCE, R. A.; BOISCHIO, A. A. P.; JOIRIS, C. R.; PIERCE, C. H.; FAUSTMAN, E. M. Effects of Uncertainties on Exposure Estimates to Methylmercury: A Monte Carlo Analysis of Exposure Biomarkers versus Dietary Recall Estimation. *Risk Analysis*, v. 21, n. 5, p. 859-868, 2001.

SANTOS, E.C.O.; JESUS, I.M.; CÂMARA, V.M.; BRABO, E.; LOUREIRO, E.C.B.; MASCARENHAS, A.; WEIRICH, J.; LUIZ, R.R.; CLEARY, C. Mercury exposure in Mundurucu indians from the community of Sai Cinza, state of Pará, Brazil. *Environmental Research Section*, v. 90, p. 98-103, 2002.

SANTOS, E.C.O.; JESUS, I.M.; BRABO, E.S.; LOUREIRO, E.C.B.; MASCARENHAS, A.F.S.; WIERICH, J.; CÂMARA, V.M. CLEARY. Mercury exposures in riverside Amazon communities in Pará, Brazil. *Environmental Research Section A*, v. 84, p. 100-107, 2000a.

SANTOS, L.S.N.; MÜLLER, R.C.S.; SARKIS, J.E.S.; ALVES, C.N.; BRABO, E.S.; SANTOS, E.O.; BENTES, M.H.S. Evaluation of total mercury concentrations in fish consumed in the municipality of Itaituba, Tapajós River Basin, Pará, Brazil. *The Science of the Total Environment*, v. 261, p. 1-8, 2000b.

SARDER, M.R.I.; THOMPSON, K.D.; PENMAN, D.J.; McANDREW, B.J. Immune responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) clones: I. Non-specific responses. *Developmental and Comparative Immunology*, v. 25, p. 37-46, 2001.

SELLERS, P.; KELLY, C.A; RUDD, J.W.M.; MACHUTCHIN, A.R. Photodegradation of methylmercury in lakes. *Nature*, v. 380, p. 694-697, 1996.

SENER, G.; SEHIRLI, O.; TOZAN, A.; VELIOGLU-OVUNÇ, A.; GEDIK, N.; OMURTAG, G.Z. *Ginkgo biloba* extract protects against mercury (II)-induced oxidative tissue damage in rats. *Food and Chemical Toxicology*, v. 45, p. 543-550, 2007.

SIMON, O.; BOUDOU, A. Direct and trophic contamination of the herbivorous carp *ctenopharyngodon idella* by inorganic mercury and methylmercury. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 50, p. 48-59, 2001.

SCHMITT, C.J.; HINCK, J.E.; BLAZER, V.S.; DENSLOW, N.D.; DETHLOFF, G.M.; BARTISH, T.M.; COYLE, J.J.; TILLIT, D.E. Environmental contaminants and biomarker responses in fish from the Rio Grande and its U.S. tributaries: Spatial and temporal trends. *Science of the Total Environment*, v. 350, p. 161-193, 2005.

SCHOBER, S.E.; SINKS, T.H.; JONES, R.L.; BOLGER, P.M.; McDOWELL, M.; OSTERLOH, J.; GARRETT, E.S.; CANADY, R.A.; DILLON, C.F.; SUN, Y.; JOSEPH, C.B.; MAHAFFEY, K.R. Blood mercury Levels in US children and women of childbearing age, 1999-2000. *American Medical Association - JAMA*, April 2, v. 289, n. 13, p. 1667-1674, 2003.

SCHULTZ, I.R.; PETERS, E.L.; NEWMAN, M.C. Toxicokinetics and disposition of inorganic mercury and cadmium in channel catfish after intravascular administration. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 140, p. 39-50, 1996.

SHARMA, M.K.; PATNI, R.; KUMAR, M.; KUMAR, A. Modification of mercury-induced biochemical alterations in blood of Swiss albino mice by *Spirulina fusiformis*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 20, p. 289-296, 2005.

SHAW, B.P.; DASH, S.; PANIGRAHI, A.K. Effects of methylmercury chloride treatment on hematological characteristic and erythrocyte morphology of Swiss mice. *Environ. Pollut.*, v. 72, p. 43-52, 1991.

SHENKER, B.J.; BERTHOLD, P.; ROONEY, C.; VITALE, L.; DEBOLT, K.; SHAPIRO, I.M. Immunotoxic effects of mercuric compounds on human lymphocytes and monocytes. III. Alterations in B-cell function and viability. *J. Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, v. 15, n. 1, p. 87-112, 1993.

SHIGEMATSU, J.; YASUDA, T.; GOTO, Y.; TANAKA, K.; TOBIMATSU, S.; KATO, M. Recovery of brain dysfunction after methylmercury exposure in rats. *Journal of the Neurological Sciences*, v. 182, p. 61-68, 2000.

SMITH, J.H.; McCORMACK, K.M.; BRASELTON, W.E.Jr., HOOK, J.B. The effect of prenatal methylmercury administration on postnatal renal functional development. *Environ. Res.*, v. 30, n. 1, p. 63-71, 1983.

SONG, K.B.; LEE, Y.E.; JEONG, S.H.; KIM, H.Y.; KNOW, H.K. Mercury distribution and concentration in rats fed powdered dental amalgam. *Archives of oral Biology*, v. 47, p. 307-313, 2002.

SOUZA, J.R.; BARBOSA, A.C. Contaminação por mercúrio e o caso da Amazônia. *Química nova na escola*. Nº 12. 2000.

SPROVIERI, F.; PIRRONE, N. A preliminary assesment of mercury levels in the Antarctic and Artic troposphere. *J. Aerosol Sci.*, v.31, n.1, p. 757-758, 2000.

STERN, A.H. A review of the studies of the cardiovascular health effects of methylmercury with consideration of their suitability for risk assessment. *Environmental Research*, v. 98, p. 133-142, 2005.

STEUERWALD, U.; WEIHE, P.; JORGENSEN, P. J.; BJERVE, K.; BROCK, J.; HEINZOW, B.; BUDTGZ-JORGENSEN, E.; GRANDJEAN, P. Maternal seafood diet, methylmercury exposure, and neonatal neurologic function. *The Journal of Pediatrics*, v. 136, n.5, p. 599-605, 2000.

STORELLI, M.M.; STORELLI, A.; GIACOMINELLI-STUFFLER, R.; MARCOTRIGIANO, G.O. Mercury speciation in the muscle of two commercially important fish, hake (*Merluccius merluccius*) and striped mullet (*Mullus barbatus*) from the Mediterranean Sea: estimated weekly intake. *Food Chemistry*, v. 89, p. 295-300, 2005.

STOROZHUK, N.G.; GULEVA, I.B. Qualitative composition and morphology of blood cells of Coho Slamon, *Oncorhynchus kisutch* (Salmonidae), as influenced by mercury. *Journal Ichthyology*, v. 2, n. 5, p. 128-137, 1983.

SUN, L.T.; CHEN, G.R.; CHANG, C.F. Acute responses of blood parameters and comatose effects in salt-acclimated tilapias exposed to low temperatures. *J. Therm. Biol.*, v. 20, n. 3, p. 299-306, 1995.

SUNDERLAND, E.M; CHMURA, G.L. An inventory of historical mercury emissions in Maritime Canada: implications for present and future contamination. *The Science of the Total Environment*, n. 256, p. 39–57, 2000.

SZÁSZ, A.; BARNA, B.; GAJDA, Z.; GALBÁCS, G.; KIRSCH-BOLDERS, M.; SZENTE, M. Effects of continuous low-dose exposure to organic and inorganic mercury during development on epileptogenicity in rats. *NeuroToxicology*, v. 23, p. 197-206, 2002.

SWIFT, J.A. Morphology and histochemistry of human hair. *EXS.*, v. 78, p. 149-175, 1997.

TAKAHASHI, Y.; TSURUTA, S. HASEGAWA, J.; KAMEYAMA, Y.; YOSHIDA, M. Release of mercury from dental amalgam fillings in pregnant rats and distribution of mercury in maternal and fetal tissues. *Toxicology*, v.163, p. 115-126, 2001.

TAKIZAWA, Y.; OSAME, M. Understanding of Minamata disease-methylmercury poisoning in Minamata and Niigata, Japan. Japan Public Health Association, Tokyo, 2001.

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M.L.; SCHALCH, S.H.C.; ONAKA, E.M.; QUINTANA, C.I.D.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R. Alterações hematológicas e histopatológicas em pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes, Characidae), tratado com sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>). *Acta Scientiarum*, v. 24, n. 2, p. 547-554, 2002.

TAVARES-DIAS, M.; SANDRIM, E.F.S.; MORAES, F.R.; CARNEIRO, P.C.F. Physiological responses of “Tambaqui” *Colossoma macropomum* (Characidae) to acute stress. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 27, n. 1, p. 43-48, 2001.

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M.L.; MORAES, F.R.; KRONKA, S.N. Fator de condição e relação hepato e esplenosomática em teleósteos de água doce naturalmente parasitados. *Acta Scientiarum*. v. 22, n. 2, p. 533-537, 2000.

THOMSON, D.R. Metal levels in marine vertebrates. In: FURNESS, R.W., RAINBOW, P.S. Heavy Metals in the Marine Environment. CRC Press, Boca Raton, Flórida, pp. 143-182, 1990.

TOPLAN, S.; ÖZCELIK, D.; GULYASAR, T.; ACYOLCU, M.C. Changes in hemorheological parameters due to lead exposure in female rats. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, v. 18, p. 179-182, 2004.

TÜNDE, V.; PAPP, A.; KURUNCZI, A.; PÁRDUCZ, A.; NARAY, M.; LASZLO, N. Behavioral and neurotoxic effects seen during and after subchronic exposure of rats to organic mercury. Environmental Toxicology and Pharmacology, v. 19, p. 785-796, 2005.

UNEP CHEMICALS. Current exposure and impacts of mercury on human health. In: \_\_\_\_ Global mercury assessment. Switzerland: UNEP, 2002. cahp. 4. Disponível em: < <http://www.chem.unep.ch/mercury/WGmeeting/revreport-Ch4.pdf>> Acesso em: 30 ago. 2006.

UREÑA, R.; PERI, S.; RAMO, J.; TORREBLANCA, A. Metal and metallothionein content in tissues from wild and farmed *Anguilla anguilla* at commercial size. Environment International, v. 33, n. 4, p. 532-539, 2007.

USEPA. Mercury health effects updates: Health issue assessment. Final report, Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Office of Health and Environmental Assessment (Document n. EPA 600/8-84-019F), 1984.

VALENTI, W.C.; POLI, C.R.; PEREIRA, J.A.; BORGHETTI, J.R. Aqüicultura no Brasil bases para um desenvolvimento sustentável. CNPQ / Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasília. 399 p. 2000.

VANDAL, G.M.; MASON, R.P.; FITZGERALD, F. Cycling of volatile mercury in temperate lakes. Water, Air, Soil Pollut. v.56, n.1, p. 791-803, 1991.

VAN VUREN, J.H.J.; MERWE, M.V.; Du PREEZ, H.H. The effect of copper on the blood chemistry of *Clarias gariepinus* (Clariidae). Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 29, p. 187-199, 1994.

VASILIEV, O.F.; OBOLENSKIY, A.A.; YAGOLNITSER, M.A. Mercury as a pollutant in Siberia: sources, fluxes, and a regional budget. *The Science of the Total Environment*, v. 213, p. 73-84, 1998.

VAHTER, M.; AKESSON, A.; LIND, B.; BJÖRS, U.; SCHÜTZ, A.; BERGLUND, M. Longitudinal study of methylmercury and inorganic mercury in blood and urine of pregnant and lactating women, as well as in umbilical cord blood. *Environmental Research Section A*, v. 84, p. 186-194, 2000.

VEIGA, M.M.; MEECH, J.A.; HYPOLITO, R. Educational measures to address mercury pollution from gold-mining activities in the Amazon. *Ambio.*, v. 24, p. 371-375, 1995.

VICENTE, E.; BOER, M.; NETTO, C.; FOCHESSATTO, C.; DALMAZ, C.; SIQUEIRA, I.R.; GONÇALVES, C.A. Hippocampal antioxidant system in neonates from methylmercury-intoxicated rats. *Neurotoxicology and Teratology*, v. 26, p. 817-823, 2004.

VIJAYAN, M.M.; REDDY, P.K.; LEATHERLAND, J.F.; MOON, T.W. The effects of cortisol on hepatocyte metabolism in rainbow trout: a study using the steroid analogue RU486. *General and Comparative Endocrinology*, Duluth, v. 96, p. 75-84, 1994.

VIRTANEN, J.K.; RISSANEN, T.H.; VOUTILAINEN, S.; TUOMAINEN, T.P. Mercury as risk factor cardiovascular diseases. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 18, n. 2, p. 75-85, 2007.

WALKER, R.F.; GUERREIRO, E.J.; TOSCANO, T.V.; WEIDEMAN, C.A. Relative cerebellar weight: A potential indicator of developmental neurotoxicity. *Neurotoxicol. Teratol.*, v. 11, p. 251-255, 1989.

WASSERMAN, J.C.; AMOUROUX, D.; WASSERMAN, M.A.V.; DONARD, O.F.X. Mercury speciation in sediments of a tropical coastal environment. *Environmental Technology*, v. 28, n.8, p. 899-910, 2002.

WEDEMEYER, G.A.; BARTON, B.A.; McLEAY, D.J. Stress and acclimation. In: SCHREEK, C.B.; MOYLE, P.B., *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society, Bethesda, MD, p. 451-489, 1990.



WEPENER, V.; VAN VUREN, J.H.; DuPREEZ, H.H. Effect of manganese and iron at a neutral and acid pH on the hematology of the banded Tilapia (*Tilapia sparrmani*). Bull. Environ. Contam. Toxicol., v. 49, n. 4, p. 613-619, 1992.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. Elemental mercury and inorganic mercury compounds: Human health aspects. Geneva, Concise International Chemical Assessment Document 50. 60p. 2003.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. Air quality guidelines. Copenhagen, Dinamarca. Mercury. Second edition. Chapter 6.9, 15p. 2000.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dental amalgam and alternative direct restorative materials. Oral Health Division of Noncommunicable Diseases World Health Organization. Geneva, 243 p. 1997.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. Inorganic mercury. Geneva, Environmental Health Criteria, n. 118. 168p., 1991.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. IPCS Environmental Health Criteria 101 Methylmercury, Geneva, 144p. 1990.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. Mercury-Environmental Aspects, Geneva. Environmental Health Criteria 86. 115p. 1989

WINTROBE, M.M. Variation in the science and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. Folia Haematologica, v. 51, p. 32-49, 1934.

WOJTASZEK, J.; DZIEWULSKA-SZWAJKOWSKA, D.; LOZINSKA-GABSKA, M.; ADAMOWICZ, A.; DZUGAJ, A. Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio* L.): Cortisol effect on the carp blood. General and comparative endocrinology, Estados Unidos, v.125, p.176-183, 2002.

WOLF, J.C.; WOLFE, M.J. A brief overview of nonneoplastic hepatic toxicity in fish. Toxicologic Pathology, v. 33, p. 75-85, 2005.

XUN, L.; CAMPBELL, N.E.R.; RUDD, J.W.M. Measurements of specific rates of net methyl mercury production in the water column and surface sediment of acidified and circumneutral lakes. Can. J. Fish. Aquat. Sci., v. 44, p. 750-757, 1987.

YAHAGISAWA, H.; NODERA, M.; SATO, M.; MORIDAIRA, K.; SATO, G.; WADA, O. Decreased expression of brain nitric oxide synthase in macula densa cells and glomerular epithelial cells of rats with mercury chloride-induced acute renal failure. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 184, p. 165-171, 2002.

YASUTAKE, A.; NAKANO, A.; MIYAMOTO, K.; ETO, K. Chronic effects of methylmercury in rats. Biochemical aspects. *Tohoku J. Exp. Med.* v. 182, n. 3, p. 185-196, 1997.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)