

Marianna Badini da Costa

**Mercúrio e selênio em fígado e rim de baleia-piloto
(*Globicephala melas*, Cetacea: Delphinidea) (Lesson,
1828) das Ilhas Faroe, Atlântico Norte.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO VISANDO A
OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS (BIOFÍSICA)



**Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
2008**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Mercúrio e selênio em fígado e rim de baleia-piloto (*Globicephala melas*, Cetacea: Delphinidea) (Lesson, 1828) das Ilhas Faroe, Atlântico Norte.

MARIANNA BADINI DA COSTA

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador:
Prof^o Olaf Malm

**Rio de Janeiro
Julho de 2008**

Mercúrio e selênio em fígado e rim de baleia-piloto (*Globicephala melas*, Cetacea: Delphinidea) (Lesson, 1828) das Ilhas Faroe, Atlântico Norte.

MARIANNA BADINI DA COSTA

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
VISANDO A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS

Banca Examinadora:

Profº Drº. José Lailson Brito Junior

Profº Drº. Alexandre de Freitas Azevedo

Profº Drº. Jean Remy Davee Guimarães

Profª Drª. Valéria Freitas de Magalhães – Revisora e Suplente interna

Profº Drº. Marcos Antônio dos Santos Fernandez – Suplente externo

Profº Drº - Olaf Malm - Orientador

FICHA CATALOGRÁFICA

Costa, Marianna Badini da

Mercúrio e selênio em fígado e rim de baleia-piloto (*Globicephala melas*, Cetacea: Delphinidea) (Lesson, 1828) das Ilhas Faroe, Atlântico Norte. /Marianna Badini da Costa – Rio de Janeiro: UFRJ/IBCCF, 2008.

XV, 82f, 22 figuras, 5 tabelas

Orientador: Olaf Malm

Dissertação (Mestrado em Biofísica Ambiental) – UFRJ/IBCCF^o/Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, 2008.

Referências Bibliográficas: f.67-82

1. Mercúrio Orgânico. 2. Baleia-piloto 3. Desmetilação 4. Ilhas Faroe.

DEDICATÓRIA

Quero dedicar este trabalho a minha mãe, que sempre lutou por minha educação e formação. A memória de minha madrinha (Maura) e dos meus avós (Dulce e Costa).

Agradecimentos

Ao meu Orientador professor Olaf Malm, por ter me dado oportunidade de fazer meu mestrado no laboratório, por sua grande dedicação às correções do meu trabalho e por ter acreditado em mim.

Ao professor João Paulo, quem me acolheu no laboratório, quando iniciei meu estágio de iniciação científica, me dando a oportunidade de começar uma nova etapa de minha vida.

À Helena Kehrig, por seus ensinamentos químicos e suas dicas e ajudas nas horas em que eu mais me enrolava.

À Tércia por seu grande apoio no laboratório com seus conhecimentos químicos e suas ajudas nas análises no forno de grafite.

Ao José Lailson que me deu a maior força na seleção para o mestrado, me explicando as dúvidas que tinha.

À Madalena e Michele que apesar de não estarem mais no laboratório, me ensinaram muito, principalmente na lavagem da vidraria.

À Luciana, grande amiga, que me aturou no início do meu estágio no laboratório, me explicando a rotina de funcionamento, tanto na parte das análises com metais pesados, como de organoclorados.

À Renata, que teve a grande paciência de me ensinar a tão pavorosas estatísticas, que aprendi a gostar, e por ter lido meu trabalho e ter me dado muitas sugestões importantíssimas. Obrigada por aplicar seu tempo nas intermináveis correções, o que não seria feito por qualquer amigo.

A todos meus amigos do laboratório que sempre me apoiaram e estavam sempre dispostos a ajudar, Rodrigo Meire, Cláudio Eduardo, Antônio, Márcio, Petrus, Diogo.

As minhas amigas Gisele, Daniele Kasper, Daniele Botaro, Larissa, Natacha, Carol, Ana Carolina, Bete, Rejane, pela troca de idéias e pelos momentos de descontração. Vocês foram e são amigas incríveis muito sucesso para vocês!!!!

Ao Ricardinho por suas intermináveis ajudas nas análises no FIMS e no que faltasse no laboratório, e claro, acompanhado de seus comentários terríveis!!!

A todos meus amigos da faculdade, que reclamavam comigo, quando não tinha tempo pra almoçar com eles e diziam que eu me escondia no subsolo da biofísica.

A minha grande amiga Aline, agora mãe do meu afilhado José Miguel (o mais lindo!!!!), que sempre me compreendia nas ausências da madrinha. E ao seu marido Ademar que sempre tornou prazeroso todos os programas que fazíamos juntos.

Ao Fábio (meu namorado) por ter aparecido na minha vida em um dos momentos mais conturbados, e ter sempre me incentivado. E nos momentos de estresse, mau humor e cansaço, ter me proporcionado bons momentos.

Ao meu pai (Francisco), que apesar da distância sempre me apoiou, e tentou de alguma forma se manter informado dos acontecimentos.

A minha família que mesmo não estando tão perto sempre me apoiaram e me incentivaram a ir em frente sempre!!!

Aos professores que aceitaram a participar da Comissão examinadora.

À Doret Bloch, quem forneceu os amostras e me ajudou decifrar os códigos de identificação das baleias, sempre respondendo meus e-mails na maior gentileza.

A CAPES, CNPq, pelos auxílios concedidos, sem os quais este trabalho não poderia ser realizado.

A todos os que não foram mencionados nominalmente, mas que de algum modo contribuíram para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!!!!!!!

RESUMO

Há séculos a população Faroese vem consumindo diferentes tecidos de baleia-piloto (*Globicephala melas*), sendo assim uma forma de exposição ao mercúrio e ao selênio. O objetivo deste trabalho foi analisar mercúrio total (HgT), mercúrio orgânico (HgOrg) e selênio total (SeT), no fígado e nos rins, de baleia piloto (n=29), mamífero marinho capturado nas ilhas Faroe (Atlântico Norte). O mercúrio, após uma digestão ácida a quente em sistema aberto, foi determinado por Espectrometria de Absorção Atômica (vapor frio), com borohidreto de sódio como agente redutor. Para selênio foi realizada uma digestão ácida em sistema fechado e as concentrações foram determinadas por Espectrometria de Absorção Atômica, com forno grafite com plataforma PIN, utilizando Pd como modificador de matriz. As concentrações de mercúrio total (em peso úmido) no fígado variaram de 1,13 a 152,42 µg/g e nos rins variou de 0,04 a 13,40 µg/g. O mercúrio orgânico variou de 0,13 a 3,77 µg/g no fígado e de 0,04 a 1,23 µg/g nos rins, respectivamente. As concentrações de selênio total variaram de 0,78 a 176,83 µg/g no fígado e de 0,26 para 19,40 µg/g nos rins. Para todas as espécies químicas analisadas, o fígado parece ser o órgão preferencial para a acumulação. Houve uma correlação significativa e positiva entre a concentração molar do SeT e HgT no fígado ($p = 0,001$) e rim ($p = 0,008$). Este padrão entre HgT e SeT sugere um mecanismo de destoxificação através da formação de um complexo Hg-Se. Os indivíduos adultos apresentam uma melhor correlação quando comparados com os indivíduos imaturos, sugerindo um mecanismo mais ativo em indivíduos com idade mais avançada e, portanto, com as maiores concentrações de Hg.

ABSTRACT

There are centuries the Faroese population is consuming different tissues of pilot whale (*Globicephala melas*), thus a form of exposure to mercury and selenium. The aim of the study was to analyze total mercury (THg), organic mercury (OrgHg) and total selenium (TSe) in the liver and kidney of pilot whale (n=29), a marine mammal caught at the Faroe Islands (North Atlantic). Mercury in the liver and kidney of the pilot whale samples were determined by cold vapor Atomic Absorption Spectrometer with sodium borohydride as a reducing agent. For selenium, the acid digests were analyzed by Atomic Absorption Spectrometry with graphite furnace, using Pd as the matrix modifier. Total mercury concentration (in a wet weight basis) in the liver ranged from 1.13 to 152.42 $\mu\text{g/g}$ and in kidney ranged from 0.04 to 13.40 $\mu\text{g/g}$. Organic mercury ranged from 0.14 to 3.77 $\mu\text{g/g}$ and 0,04 to 1.23 $\mu\text{g/g}$ in liver and kidney respectively. Selenium concentrations varied from 0.78 to 17.83 $\mu\text{g/g}$ in the liver and 0.26 to 19.40 $\mu\text{g/g}$ in kidney. In all cases, the liver appears to be the preferential organ for accumulation. There was a significant positive correlation between the molar concentration of TSe and THg in the liver ($p=0.001$) and kidney ($p=0.008$). This correlation suggests a detoxification mechanism throughout the formation of a Hg-Se complex. Adults have a better correlation compared to immatures, suggesting a more active mechanism in older individuals and therefore with the greatest Hg concentrations.

SUMÁRIO

1 Introdução.....	1
1.1 Considerações Gerais dos Elementos Analisados.....	1
1.2 O estudo com os cetáceos.....	8
1.3 Metabolismo do mercúrio e selênio nos cetáceos.....	10
1.4 A problemática nas Ilhas Faroe.....	12
2 Objetivos	15
2.2 Objetivo Geral.....	15
2.3 Objetivos Específicos.....	15
3 Material e Métodos	16
3.1 Área de estudo.....	16
3.2 Ecologia da Espécie.....	17
3.3 Amostras de cetáceos deste trabalho.....	21
3.4 Análises químicas	24
3.4.1 Determinação de Mercúrio Total (HgT).....	24
3.4.2 Determinação de mercúrio orgânico (HgOrg).....	25
3.4.3 Determinação de selênio total (SeT).....	26
3.4.4 Certificação dos métodos.....	26
3.4.5 Limite de Detecção (LD).....	27
3.5 Tratamento estatístico.....	28
4 Resultados.....	30
4.1. Relação entre Comprimento Total X Massa.....	32
4.2. Relação entre as concentrações de mercúrio total (HgT), mercúrio orgânico (HgOrg) e selênio total (SeT) no fígado e nos rins de baleia-piloto com o Comprimento Total (CT).....	34
4.3. Relação entre as concentrações de HgT, HgOrg e SeT no fígado e nos rins de baleia-piloto e suas idade.	36

4.4. Relação entre as concentrações de HgT, HgOrg e SeT no fígado e nos rins de baleia-piloto e seus status reprodutivos.....	38
4.5 Relação entre as concentrações de HgT, HgOrg e SeT no fígado e nos rins.....	39
4.6 Relação entre HgT, HgOrg e SeT em fígado e rim de baleia piloto.....	41
4.7 Percentual de Mercúrio Orgânico (%HgOrg) em relação ao mercúrio total (HgT).....	46
4.8 Comparação entre as concentrações de HgT, HgOrg e SeT em cada grupo coletado.....	47
4.9 Comparação com outros estudos.....	50
5. Discussão..	52
6. Conclusões.....	65
7. Referências Bibliográficas.....	67
8- Apêndice.....	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Localização geográfica das Ilhas Faroe no Atlântico Norte e as três áreas de amostragem.....	16
Figura 2: Distribuição geográfica de <i>Globicephala melas</i>	20
Figura 3: <i>Globicephala melas</i> também conhecida como baleia piloto.....	20
Figura 4: Baleias mortas na praia, nas Ilhas Faroe, Atlântico Norte.....	22
Figura 5: Baleias mortas na praia, nas Ilhas Faroe, Atlântico Norte.....	22
Figura 6: Baleias mortas na praia, nas Ilhas Faroe, Atlântico Norte.....	22
Figura 7: Relação entre Massa (M) e o Comprimento Total (CT) dos indivíduos de baleia piloto da área de WBL das Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....	32
Figura 8: Relação entre a Idade (anos) e o Comprimento Total (CT) dos indivíduos de baleia piloto das Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....	33
Figura 9: Concentrações de SeT nos rins em relação ao comprimento total (CT) de baleias piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....	35
Figura 10: Concentrações de HgT nos rins em relação a idade (anos) de baleias piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....	36

Figura 11: Concentrações de SeT no fígado em relação a idade (anos) de baleias piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....	37
Figura 12: Relação entre as concentrações de HgT no fígado e nos rins de baleias piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....	39
Figura 13: Relação entre as concentrações de HgOrg no fígado e no rins de baleias piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....	40
Figura 14: Relação entre as concentrações de HgOrg em função do HgT no fígado de baleia-piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....	41
Figura 15: Relação entre as concentrações de HgOrg em função do HgT nos rins de baleia-piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....	42
Figura 16: Relação entre as concentrações molares de SeT em função do HgT no fígado de baleia piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....	43
Figura 17: Relação entre as concentrações molares de SeT em função do HgT nos rins de baleia-piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).	44
Figura 18: Relação entre as concentrações molares de SeT em função do HgOrg no fígado de baleia-piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....	45
Figura 19: Relação entre as concentrações molares de HgT em relação ao SeT no fígado de fêmeas mães de baleia-piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....	46

Figura 20 Variação do percentual de HgOrg em relação ao HgT no fígado de indivíduos maduros e imaturos de baleia-piloto das Ilhas Faroe, Atlântico Norte.....47

Figura 21: Concentração de HgOrg no fígado e nos rins de baleia-piloto em cada grupo coletado (WBL e OK) das Ilhas Faroe (Atlântico Norte).....48

Figura 22: Concentração de SeT no fígado e nos rins de baleia-piloto em cada grupo coletado (WBL e OK) das Ilhas Faroe (Atlântico Norte), (* outliers).....49

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I: Dados biológicos de baleias piloto das Ilhas Faroe.....	23
Tabela II Concentrações de mercúrio total (HgT), orgânico (HgOrg) e selênio (SeT) detectadas no padrão certificado (TORT-2).....	27
Tabela III: Limite de detecção para HgT, Hg-Org e SeT para as amostras biológicas analisadas.....	28
Tabela IV: Concentrações de HgT, HgOrg e SeT em fígado e rins de baleia piloto coletados nas Ilhas Faroe, Atlântico Norte, com seus intervalos, a média para cada área separada pelos seus respectivos estágios de vida e o número de machos e fêmeas.....	31
Tabela V: Concentrações de HgT, SeT e HgOrg ($\mu\text{g/g}$ p.u.) em fígado de diferentes espécies de cetáceos.....	61

1- INTRODUÇÃO

1.1 - CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ELEMENTOS ANALISADOS

MERCÚRIO (Hg)

O mercúrio é considerado como um elemento não essencial por não desempenhar função biológica conhecida no metabolismo animal ou vegetal, sendo um elemento exógeno e altamente prejudicial à saúde (Feroci *et al.*, 2005).

Desde 1600 a.C. o mercúrio já era conhecido por egípcios, além de gregos e romanos. Mineradores romanos já sofriam com intoxicações pelos vapores mercuriais a partir do uso de sulfeto de mercúrio na extração do ouro (Pires *et al.*, 2000).

No século XVII, reconheceu-se que o uso de nitrato de mercúrio na preparação de feltros nas fábricas de chapéu e no tratamento de couro, ocasionava sérios problemas neurológicos e comportamentais aos trabalhadores. Deste fato nasceu a inspiração para o personagem “chapeleiro maluco” por Lewis Carroll, autor da fábula, “Alice no país das maravilhas”. Contudo na Europa, a terapia por mercúrio foi desenvolvida para o tratamento de sífilis, por volta do século XVIII (Silveira, 2004).

No século XX, as intoxicações por mercúrio tomaram novas formas principalmente após o acidente ocorrido em Minamata, Japão. A companhia Chisso Fertilizer descartava metilmercúrio, um subproduto do processo de produção de acetaldeído, nas águas da baía levando à contaminação de peixes posteriormente pescado e consumido pela população local. A elevada concentração de mercúrio orgânico deixou milhares de pessoas com deficiências físicas e mentais (ataxia, distúrbios sensoriais, alteração na fala, restrição do campo visual e alteração na audição). Este acidente levou aproximadamente 630 pessoas à morte, devido ao consumo de peixes e mariscos contaminados com

metilmercúrio (organomercurial), fazendo com que os sintomas de contaminação mercurial fossem conhecidos como “mal/doença de Minamata”. Outro grande acidente ocorreu no Iraque, onde por volta de 6.000 pessoas ficaram hospitalizadas e outras 400 morreram por intoxicação devido ao consumo de pão produzido com semente de trigo tratado com fungicidas a base de mercúrio (Tsubaki e Takahashi, 1986; ATSDR, 1999; WHO, 2000).

As fontes naturais de mercúrio mais significativas são a gaseificação da crosta terrestre, as emissões de vulcões e a evaporação do mercúrio nos corpos aquáticos. Anualmente, emissões naturais são estimadas entre 2.700 e 6.000 toneladas. Em geral, o Hg é emitido na forma de vapor elementar (Hg^0) ou disponibilizado para o ambiente na forma de Hg^{2+} .

A contaminação ambiental por mercúrio pode ser considerada de escala global, resultando na elevação dos níveis de *background* na água, sedimentos e organismos marinhos. A provável via de transferência para ambientes marinhos costeiros é através de rios, onde o metal encontra-se adsorvido ao material em suspensão. Em regiões oceânicas, como há uma grande distância do continente, portanto ausência de fontes pontuais de mercúrio, a principal via deste metal é por transporte atmosférico (Gilbert e Grant – Webster, 1995), todavia as correntes marinhas e a biota também estão envolvidas nesta dispersão (LARES *et al.*, 2002).

Estima-se que os lançamentos anuais de mercúrio resultante de atividade humana variem de um terço a dois terços do mercúrio total liberado (WHO, 2000). As indústrias são as principais responsáveis pela dispersão atmosférica do mercúrio. Aproximadamente 80% do mercúrio liberado por esta atividade é o Hg elementar que é lançado para a atmosfera primariamente através da queima de combustíveis fósseis, indústrias de cloro soda, mineração, fundição e incineração de resíduos sólidos. Cerca de 15% do Hg total é lançado no solo através do uso de fertilizantes e fungicidas (no passado um fungicida mercurial era amplamente usado na agricultura como preservativo de sementes para o plantio). Os 5% restantes são liberados em resíduos industriais para águas no meio ambiente (ATSDR, 1999).

No ambiente o mercúrio ocorre naturalmente no estado elementar (Hg^0), sobretudo na forma gasosa, esta forma pode ser oxidada a íon mercurioso (Hg^{+1}), forma pouco estável em sistemas naturais, ou a íon mercúrico (Hg^{+2}). Em suas formas orgânicas o íon mercúrico apresenta-se ligado a um radical orgânico, formando dentre outros, o metilmercúrio (CH_3Hg^+), mais comumente encontrado, e o dimetilmercúrio [$(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$], que é tão volátil quanto o Hg^0 . Esta organificação é um processo biológico mediado por microorganismos, uma reação não enzimática entre Hg^{+2} e um composto de metilcobalamina, um análogo da vitamina B_{12} que é produzido por bactérias, em ambientes aquáticos (Canela, 1995; Horvat, 1996).

A eficiência da metilação em sistemas aquáticos depende do tipo de comunidade bacteriana presente e da biodisponibilidade de Hg inorgânico, mais do que a quantidade total do mercúrio existente no ambiente. Esses fatores, por sua vez, são dependentes de aspectos físicos e químicos do ambiente, como temperatura, potencial de oxirredução, pH, condutividade elétrica, carbono orgânico dissolvido e outros. Interações entre esses fatores podem aumentar ou reduzir a taxa de metilação (Watras *et al.*, 1998). Aparentemente, as maiores taxas de metilação de mercúrio estão relacionadas com pH ácido, baixa salinidade e a presença de matéria orgânica em decomposição em condições redutoras (Ulrich *et al.*, 2001).

Uma vez presente no ambiente aquático, o metilmercúrio alcança rapidamente os organismos pelo fato de apresentar uma grande afinidade por grupamentos sulfidrílicos, presentes nas proteínas e pelas aminocarbonilas e hidroxilas, presentes nas enzimas, o que promovem uma estabilidade química e reduz sua excreção favorecendo desta forma sua bioacumulação nos tecidos. (ATSDR, 1999). A taxa de incorporação de metilmercúrio é de 10 a 100 vezes maior do que a do mercúrio inorgânico (Huckabee *et al.*, 1979), podendo, deste modo, ser biomagnificado ao longo da cadeia alimentar. A biomagnificação é definida como o aumento na concentração de um elemento sucessivamente ao longo dos níveis tróficos da cadeia alimentar. Assim, organismos de nível trófico

superior normalmente apresentam concentrações do poluente que excedem àquelas encontradas em organismos de nível trófico inferior (Watras *et al.*, 1998).

Os organismos de topo de cadeia, tais como os peixes predadores e os mamíferos aquáticos geralmente apresentam as maiores percentuais de metilmercúrio em relação ao mercúrio total, no tecido muscular, podendo chegar a quase 100% de metilmercúrio (WHO 1990). Entre os peixes, as espécies piscívoras apresentam as mais altas concentrações de metilmercúrio, quando comparadas com as encontradas em espécies de peixes que apresentam outros hábitos alimentares como, herbívoros e planctívoros (Kehrig e Malm 1999). A absorção e a depuração dependem de diferentes fatores, como por exemplo, a forma do metal, da fonte de exposição (água ou alimento) e do tipo de tecido receptor, resultando em diferentes padrões de acumulação.

Outros parâmetros também podem influenciar na acumulação e concentração do mercúrio nos tecidos dos organismos, sendo um dos mais importantes, a concentração a que o organismo está exposto através da água, sedimento e alimento. O acúmulo de mercúrio nos tecidos dos organismos também pode ser influenciado fortemente por parâmetros biológicos, tais como: idade, sexo, peso corporal, estágio reprodutivo, entre outros (Huckabee *et al.* 1979, Kehrig *et al.* 1998).

Entre 70 a 90% do metilmercúrio ingerido é absorvido pelo trato gastrointestinal e assimilado pelos tecidos, sendo dificilmente excretado (Huckabee *et al.*, 1979). O mesmo alcança rapidamente a corrente sangüínea, concentrando-se no fígado e sendo posteriormente distribuído entre diferentes tecidos. Devido à sua forte afinidade com o enxofre, o metilmercúrio se associa às proteínas, principalmente àquelas ricas em aminoácidos que formam ligações dissulfeto, como a cisteína, formando compostos estáveis. Apresenta acumulação principalmente em tecidos musculares e sistema nervoso. Em contraste com o mercúrio elementar, os efeitos neurotóxicos do metilmercúrio são irreversíveis (Skerfving, 1972). A maior parte do mercúrio inorgânico acumulado é encontrada basicamente no fígado, um órgão de destoxificação, apresentando uma reduzida

eliminação neste órgão (aproximadamente 500 dias em cetáceos). (Windom e Kendall, 1979).

Apesar do grande número de investigações da toxicidade do mercúrio sobre a vida aquática e terrestre, os efeitos deste elemento na organização biológica (ecossistema, comunidade, população) não são bem compreendidos (USEPA, 1997).

SELÊNIO (Se)

O selênio é um elemento reconhecido como um micronutriente essencial para plantas, animais e humanos (NAS, 1977; Chatterjee *et al.*, 2001) porém, em concentrações acima das doses requeridas nutricionalmente (e.x. :7 a 30x a dose requerida de 3µg/g de Se para peixe e 0.005 mg/kg/dia de Se para humanos) é considerado tóxico (Chatterjee e Bhattacharya, B., 2001; EPA, 2003).

O selênio foi identificado como elemento essencial para os organismos em 1957 por Schwartz e Foltz. Até então, acreditava-se ser ele apenas um substituto da vitamina E, suprimindo em vários casos sua deficiência. A confirmação do seu papel como elemento essencial independente da vitamina E foi evidenciada a partir de experiências de Thompson e Scott (1969) com aves. Eles mostraram que animais cuja dieta continha menos de 5 µg/g de selênio apresentavam baixo crescimento ou índice superior de mortalidade, ainda que com suprimento adequado de vitamina E (Tinggi, 2003).

O selênio encontrado no meio ambiente, é proveniente de fontes naturais (rochas e solos) sendo liberado através de processos geofísicos e biológicos, e fontes antrópicas (processos industriais e agricultura). Como fontes antrópicas de selênio para o ambiente aquático podem-se citar: águas de drenagem, efluentes, plantas de beneficiamento de carvão, refinarias, mineração de fosfatos e outros metais (Hamilton, 2004). Os principais usos do selênio ocorrem pelas suas características de material semicondutor, na eletro-eletrônica, e também na

metalurgia e na fabricação de pigmentos, vidros e cerâmicas (Azevedo e Chasin, 2003).

Lemly (1999) sugeriu que três processos podem acontecer ao selênio quando este entra no ambiente aquático: (1) pode ser ingerido e/ou absorvido pelos organismos; (2) pode ligar-se ou complexar-se seja ao material particulado ou à camada superficial do sedimento; (3) ou pode permanecer livre em solução.

Nos oceanos, ele pode ser encontrado naturalmente em quatro estados de oxidação (-II, 0, +IV e +VI) e em várias formas químicas (inorgânicas e orgânicas). Alguns de seus compostos são voláteis (dimetilseleneto, dimetildiseleneto, dimetilselenona, seleneto de hidrogênio, dióxido de selênio) o que facilita sua distribuição no ambiente (WHO, 1987).

A toxicidade e a biodisponibilidade dos compostos de selênio vai depender em grande parte da sua forma química. Por exemplo, o selenato – Se VI (SeO_4^{2-}) e o selenito – Se IV (SeO_3^{2-}) são espécies altamente solúveis em água e são conhecidos por serem tóxicas para sistemas biológicos em concentrações relativamente baixas. O selênio elementar (Se^0) é uma espécie insolúvel em água e até o momento não se conhece nada a respeito de sua toxicidade para os sistemas biológicos. As formas orgânicas mais biodisponíveis para os organismos são formadas a partir da atividade bacteriana. Nenhuma recomendação em relação a toxicidade das espécies de selênio está disponível, o que pode estar relacionado a dificuldade associada com as técnicas analíticas (Olivas *et al.*, 1994).

O selênio pode ser altamente tóxico para sistema aquático marinho, uma vez que a principal rota para a bioacumulação pelos organismos deste ambiente ocorre através da acumulação via cadeia alimentar, ou seja, através da dieta (Fowler e Benayoun, 1976; Zhang *et al.*, 1990). Porém, uma variedade de parâmetros abióticos (ex.:pH, potencial de oxirredução) e bióticos (ex.:composição da dieta, sexo e idade) podem influenciar na eficiência com que os organismos marinhos acumulem o selênio em seus tecidos e órgãos (Reinfelder *et al.*, 1998).

Estudos comprovaram que existe uma diferença de metabolismo entre o selênio absorvido diretamente da água e o ingerido via dieta, sendo o último mais tóxico. Por exemplo, Hodson e Hilton (1983) propuseram dois modelos diferentes: em um deles o selênio seria diretamente absorvido pelas brânquias de peixes, circulando então pela maioria dos tecidos, tornando-se desta forma disponível para estes tecidos, antes de chegar ao fígado. Enquanto no segundo modelo, o selênio, incorporado via dieta, após absorção intestinal, passaria integralmente pelo fígado e seria acumulado neste órgão, causando então, maior toxicidade. Em condições de exposição a altas doses de selênio, as maiores concentrações são encontradas no fígado seguido pelo rim. Formas orgânicas de Se, ficam mais tempo retidas nos tecidos comparados às formas inorgânicas. Em mamíferos a principal via de excreção é a urinária, seguida da pulmonar (ar exalado) e fezes, o suor também contribui na excreção no caso de humanos (Azevedo e Chasin, 2003).

O selênio é um constituinte importante na ação da glutathiona-peroxidase (enzima que catalisa a redução da peroxidase e assim protege células contra os danos oxidativos), e pode atuar na proteção do organismo contra metais pesados. O selênio é importante também na produção de hormônios tireoideanos e no funcionamento do sistema imunológico, formando complexos de Se (Metilselenol, Dimetilselenito e Trimetilselenio) e seleno proteínas (Se-P) no plasma sanguíneo. O processo sugerido da ação do selênio na proteção contra a ação tóxica de metais pesados seria o seguinte: as Se-P interagem com o MeHg, desmetilando o MeHg. O Hg^{+2} se liga equimolar com o Se^{-2} formando os grânulos inertes de seleneto de mercúrio (HgSe) que se depositam principalmente no fígado e o tornam menos tóxico ao organismo.

Este mecanismo que resulta na formação de seleneto de mercúrio, foi observado inicialmente em mamíferos marinhos (ATSDR, 2003). Muitos estudos vêm apresentando uma significativa correlação entre as concentrações de Hg e de Se no fígado destes mamíferos, mesmo sob condições normais de exposição (Pelletier, 1985; Wageman *et al.*, 1998; Palmisano *et al.*, 1995; Dietz *et al.*, 2000),

bem como sua importância para o sistema imune. Estas ações do selênio estão relacionadas ao fato deste elemento ser parte integral de várias enzimas e proteínas (ATSDR, 2003).

O conhecimento sobre os compostos de selênio no ecossistema aquático é muito limitado, a maioria dos trabalhos analíticos neste campo são geralmente realizados para selênio total ou para espécies de selênio inorgânico. Além disso, poucos compostos orgânicos de selênio foram identificados e determinados em amostras marinhas.

Sabe-se, segundo Kölbl (1995), que devido a sua semelhança química com o enxofre, ambos possuem ciclos análogos no meio ambiente. Quando está presente em excesso, o selênio substitui “erroneamente” o enxofre nas proteínas que estão sendo formadas dentro das células. Ligações S-S (dissulfeto iônico) são necessárias para ordenar as moléculas de proteína em sua estrutura terciária (hélice) que é necessária para promover o funcionamento da proteína. A substituição do enxofre pelo selênio resulta na inativação da proteína ou enzima (Lemly, 1997).

1.2 - O ESTUDO COM OS CETÁCEOS

Os cetáceos vêm sendo afetados por vários tipos de perturbações ambientais, dentre elas destaca-se a poluição química, incluindo metais pesados, considerado como uma das mais preocupantes nas últimas décadas (Kemper *et al*, 1994; O Shea, 1999; NRC, 2005).

Apesar dos metais ocorrerem em baixas concentrações nos oceanos (Bryan, 1984), os cetáceos podem apresentar concentrações muito superiores, e podem, portanto, ser empregados como monitores da contaminação ambiental. As variações nas concentrações de metais entre espécies que ocorrem na mesma região, está associado a composição da dieta alimentar, a massa corporal, a composição química corpórea, taxas metabólicas, estado nutricional, incidência de doenças, idade, sexo e *status* reprodutivo (Aguilar *et al*, 1999; Das *et al*, 2003).

Deste modo, o tipo de presa ingerida pode contribuir em maior ou menor grau para a acumulação de metais como, Hg e Se. Diferentes concentrações, destes elementos, também podem ser observadas num mesmo indivíduo, em seus diferentes tecidos e órgãos (ex.: pulmão, fígado, músculo e rim), o que pode estar relacionado à eliminação, redistribuição e a biotransformação de determinados íons e compostos (Joiris *et al.*, 2001).

Do ponto de vista ecotoxicológico, a longevidade é um parâmetro importante, pois os poluentes tendem a aumentar nos tecidos e órgãos durante a vida dos cetáceos (André *et al.*, 1990). Além da longevidade e da posição trófica, o fato de serem animais homeotérmicos faz com que estes organismos tenham que manter a temperatura corporal, em um ambiente de alto calor específico, como a água, conduzindo assim, a um elevado requerimento energético, que se reflete no consumo de grande quantidade de alimento (Doksaeter *et al.*, 2008).

Reijnders (1988) sugeriu que as fêmeas podem transferir poluentes orgânicos, como o MeHg, para os filhotes via placenta e em menor proporção durante a amamentação. Estes fatos podem contribuir para a diminuição da carga corporal de contaminantes em determinadas fases da vida.

Atualmente, a maior parte dos estudos de contaminação por metais pesados realizados com cetáceos é proveniente do Hemisfério Norte, o que está relacionado ao hábito de alguns países (e.g. Groenlândia, Região ártica do Canadá) utilizarem estes organismos como parte da dieta alimentar (Leonzio *et al.*, 1992; Caurant *et al.*, 1994; Dietz *et al.*, 1996; Wegemann *et al.*, 1996; Capelli *et al.*, 2000; Szefer *et al.*, 2002; Roditi-Elasar *et al.*, 2003).

Considerando-se que existe uma proximidade filogenética (e.g. fisiologia), entre alguns mamíferos marinhos e o homem, os cetáceos podem ser considerados como um bom modelo para o monitoramento ambiental das concentrações de elementos traço no meio ambiente aquático, pois ambos estão expostos a estes elementos através do consumo de peixes e cefalópodes.

1.3 - METABOLISMO DO MERCÚRIO E SELÊNIO NOS CETÁCEOS

Mercúrio e selênio podem ser assimilados por diferentes processos metabólicos nos organismos aquáticos. Vários estudos têm mostrado que a principal fonte de exposição, ocorre através da dieta alimentar, pela ingestão de suas presas (Bustamante *et al.*, 1998; Wagemann *et al.*, 1988; Das *et al.*, 2003). No caso do Hg, o contato com a pele, a inalação e transferência via placenta entre mãe-feto ou leite materno podem ser também uma das formas de exposição dos mamíferos aquáticos.

O metilmercúrio (MeHg), a espécie orgânica de mercúrio mais tóxica, é a forma predominante presente no tecido muscular dos mamíferos marinhos. Entretanto, nos órgãos internos, tais como o fígado e os rins, o mercúrio apresenta-se com elevadas concentrações, como mercúrio inorgânico. Estudos sugerem que o fígado dos mamíferos aquáticos pode agir como um órgão de desmetilação e/ ou de seqüestro de ambas as formas orgânicas e inorgânicas de mercúrio (Wagemann *et al.*, 2000; Endo *et al.*, 2002).

O fígado vem se destacando como o órgão preferencial na acumulação de Hg, pois desempenha funções importantes no organismo dos mamíferos tais como: metabolização de nutrientes, a biotransformação de poluentes e elementos essenciais, remoção de elementos não essenciais e toxinas das células do sangue, entre outras (Frodello *et al.*, 2000). Desta forma, o fígado apresenta as maiores concentrações de mercúrio, como foi observado em alguns trabalhos (Marcovecchio *et al.*, 1994; Wagemann *et al.*, 1998; Gerpe *et al.*, 2002; Lailson-Brito *et al.*, 2002a,b; Monteiro-Neto *et al.*, 2003; Kehrig *et al.*, 2004, Lailson-Brito, 2007).

Um dos meios de destoxificação de alguns metais, como o mercúrio e o cádmio em vertebrados, é através da ligação à metaloproteínas, denominadas metalotioneínas. A função primária destas proteínas é manter a homeostase do zinco. No entanto, devido a sua alta afinidade com cádmio e mercúrio elas também desempenham função no metabolismo desses metais. A presença das

metaloproteínas tem sido verificada no fígado e rim de baleias piloto (Caurant *et al.*, 1996).

O selênio também pode está envolvido no processo de destoxificação do mercúrio em cetáceos, diminuindo a toxicidade do mercúrio, através da desmetilação de sua forma orgânica e a formação dos grânulos inertes de HgSe (seleneto de mercúrio) (Wagemann *et al.*, 1998; 2000; Endo *et al.*, 2002). Nos mamíferos aquáticos o mecanismo hipotético indica que o selênio através das selenoproteínas proporciona a desmetilação do metilmercúrio (quebra da ligação entre o radical orgânico (CH_3^-) e o íon mercúrico (Hg^+)) formando os grânulos inertes de HgSe, diminuindo a biodisponibilidade ou toxicidade da forma orgânica do Hg no organismo (Wagemann *et al.*, 1998). Desta forma, uma grande quantidade de mercúrio na forma inorgânica tem sido verificada no fígado de baleia-piloto, o que sugere o efeito protetor do selênio contra a toxicidade do mercúrio (Caurant *et al.*, 1996).

Peter (1985) e Cuvin-Aralar e Furness (1991) relataram a existência de afinidade entre o selênio e o mercúrio no meio ambiente e nos organismos. A biota aquática, especialmente os mamíferos marinhos, apresenta uma significativa correlação entre as concentrações hepáticas destes elementos. A relação molar de 1:1 entre o mercúrio e o selênio (Se) tem sido freqüentemente reportada no fígado de mamíferos marinhos (Koeman *et al.*, 1972; Nigro e Leonzio, 1996; Wagemann *et al.*, 2000). Entretanto em um estudo com cetáceos costeiros tropicais observou-se uma relação molar de 1:4 entre Hg e Se, o que poderia sugerir a participação do Se no processo de destoxificação de outros metais, como o cádmio e a prata, além do mercúrio (Seixas *et al.*, 2007).

Estudos com indivíduos de golfinho nariz de garrafa (*Tursiops truncatus*) (Martoja e Viale, 1977; Nigro e Leonzio, 1996) e golfinho de risso (*Grampus griseus*) (Nigro e Leonzio, 1996) verificaram no tecido hepático destes cetáceos, por meio de microscopia eletrônica, grânulos de seleneto de mercúrio de forma esférica e com tamanhos variáveis.

O declínio de muitas populações de cetáceos e os eventos de morte massivos tem sido relacionados à acumulação de xenobióticos. Alguns estudos atribuem patologias adquiridas por cetáceos aos altos níveis de mercúrio encontrados em seus tecidos e órgãos. Essas altas concentrações estariam alterando o sistema imunológico destes animais e, conseqüentemente, deixando-os mais suscetíveis à doenças (Bennett *et al.*, 2001), além de estarem prejudicando a reprodução. Outros estudos relacionaram os altos níveis à presença de tumores (Reijders, 1986; De Guise *et al.*, 1994).

1.4 – A PROBLEMÁTICA NAS ILHAS FAROE

Durante pelo menos cinco séculos a população humana das Ilhas Faroe tem como parte da dieta alimentar carne de baleia-piloto (*Globicephala melas*), um hábito tradicional que vem sendo desestimulado pelo governo devido ao surgimento de problemas neurológicos em crianças, já que mulheres grávidas ao se alimentarem são expostas a altas cargas de poluentes, principalmente mercúrio e organoclorados (Counter e Buchanan, 2004).

Grandjean *et al.*, (1992, 1997) documentaram alterações cognitivas em um grupo de crianças *Faroeses* expostas a elevados níveis de metilmercúrio devido ao consumo de carne de baleia-piloto pelas mães durante a gestação. Estudos posteriores também forneceram evidências de atraso no crescimento de crianças devido à grande exposição a contaminantes provenientes do leite materno (Grandjean *et al.*, 2003). O fato é que o mercúrio elementar (Hg^0) e o metilmercúrio (MeHg) possuem grande facilidade para atravessar membranas celulares, a membrana hematoencefálica e barreiras até recentemente consideradas protetoras intransponíveis, como a placenta, em comparação aos sais inorgânicos de Hg^{2+} e Hg_2^{2+} (Suzuki *et al.*, 1991).

Segundo Clarkson (1998), as autoridades responsáveis pela saúde pública recomendam aos adultos, o consumo de carne de baleia-piloto somente uma ou duas vezes por mês, e que a população em geral evite o consumo de rins e fígado

destes cetáceos. Gestantes, lactantes e outros grupos vulneráveis, como crianças em desenvolvimento, também devem evitar o consumo de qualquer tipo de carne de baleia-piloto, pois a absorção de muitos orgânometálicos presentes no leite materno é considerável e a eliminação de contaminantes pelo lactente durante anos da vida é muito pequena ou nenhuma. Segundo Grandjean *et al.* (1997), a carne de baleia-piloto, uma importante fonte protéica, pode ser a principal via de exposição humana ao metilmercúrio nas Ilhas Faroe. Foi estimado que entre 1970 e 1984 o consumo de tecidos de baleia-piloto variou de 82 - 555 g/ semana por indivíduos. Estudos comparativos em amostras de tecidos humanos entre populações da Noruega e Ilhas Faroe demonstraram que os níveis de mercúrio em fígado e rim de *Faroeses* foram aproximadamente dez vezes maiores que os residentes de Bergen na Noruega. Essa diferença foi atribuída pelos autores ao alto consumo de tecidos de baleia-piloto pela população das Ilhas Faroe (Juhlshamn *et al.*, 1989).

Arsênio, cádmio, cobre, mercúrio, selênio e zinco têm sido determinados em fígado, rim e músculo de *G. melas* coletadas de diferentes grupos nas Ilhas Faroe (Caurant *et al.*, 1993; 1994). De acordo com estudo realizado por Caurant *et al.* (1994) a concentração média de mercúrio no fígado foi de 64 µg/g (p.u.) em análise realizada em 125 indivíduos de 4 diferentes grupos, correspondentes 4 diferentes áreas de coleta. No rim o valor médio encontrado foi de 5,2 µg/g (p.u.) em 55 indivíduos de 2 diferentes grupos (Caurant *et al.*, 1994).

Alguns autores sugerem duas possíveis razões para esses altos valores encontrados nessas espécies, uma delas seria a intensa atividade tectônica nesta área, o que estaria liberando metais de uma forma natural para o ambiente marinho. A outra seria a tolerância de *G. melas* aos metais pesados, o que pode ser um indicativo de que ocorre o processo de destoxificação, baseado na habilidade desses indivíduos em estocar poluentes em uma forma química não tóxica (Caurant *et al.*, 1996).

Nos anos 80 foi calculada a ingestão de metais tóxicos (mercúrio total, metilmercúrio, cádmio) pela população das Ilhas Faroe e verificou-se que esta

excedia os limites estabelecidos pelas Ingestões toleráveis semanais recomendadas pela WHO, e a população foi incentivada a evitar o consumo regular de órgãos que possuíam as mais altas concentrações (rim e fígado) (Andersen *et al.*, 1987 apud Caurant *et al.*, 1994).

Considerando as informações acima, este estudo pretende avaliar as concentrações de mercúrio total e selênio total e as formas orgânicas de mercúrio em fígado e rim de baleia-piloto, provenientes das Ilhas Faroe, Atlântico Norte. Complementando, desta forma, os estudos de exposição humana uma vez que, os cetáceos, assim como os humanos, são organismos que ocupam o topo da cadeia alimentar. Além disso, por serem mamíferos estão filogeneticamente próximos aos humanos. Este trabalho também apresenta organismos com diferentes status reprodutivos, comprimento total, idade e sexo o que pode gerar informações adicionais e complementares a estudos já realizados com cetáceos.

2- OBJETIVOS

2.2 - Objetivo Geral:

- Determinar as concentrações de Mercúrio Total, Mercúrio Orgânico e Selênio Total em fígado e rim de baleia-piloto, *Globicephala melas*, provenientes das Ilhas Faroe, Atlântico Norte.

2.3 - Objetivos específicos:

- Verificar se existe uma relação entre o comprimento total, idade e os status reprodutivo na bioacumulação de HgT, HgOrg e SeT, em baleia-piloto;
- Identificar possíveis correlações entre os elementos e espécies químicas analisados em cada tecido.
- Verificar a existência de diferença entre as concentrações das espécies químicas analisadas e o status reprodutivo dos indivíduos.
- Verificar a existência de correlações entre as concentrações molares de mercúrio total e selênio total, indicadores da ocorrência do processo de detoxificação.
- Verificar a existência de diferenças entre as concentrações de HgT, HgOrg e SeT entre os grupos coletados.

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Área de estudo

O estudo foi realizado com material coletado nas *Ilhas Faroe*, um pequeno arquipélago situado na região Sub-Ártica (62° de latitude Norte e 7° de longitude Oeste). A região apresenta origem vulcânica de 110 milhões de anos atrás, com paisagem peculiar caracterizada por uma topografia rochosa, recursos naturais escassos e vegetação predominante composta por gramíneas com temperatura média anual em torno dos 6,7°C. O arquipélago fica distante de atividades urbanas e industriais intensas (Figura 1) (Britta Fångström, 2005).

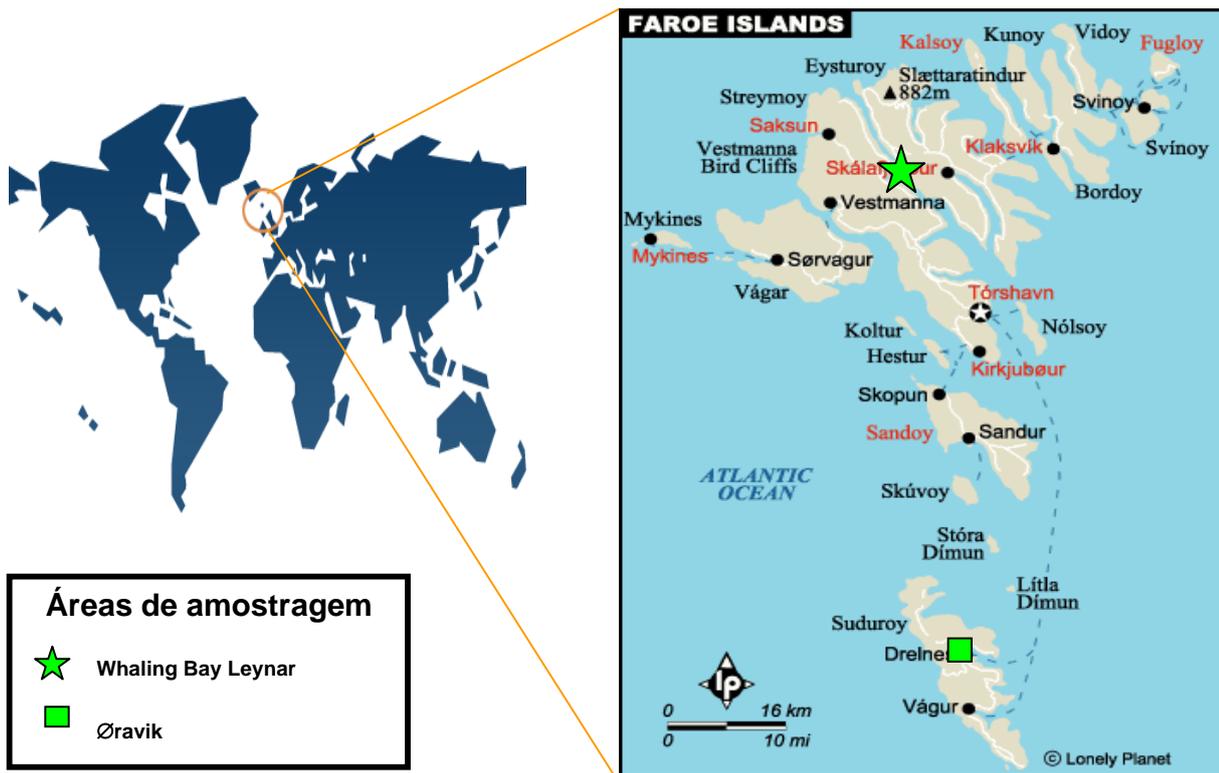


Figura 1: Localização geográfica das Ilhas Faroe no Atlântico Norte e as duas áreas de amostragem.

A população das *Ilhas Faroé* é descendente de Nórdicos. Possui 48 mil habitantes que vivem em 17 das 18 ilhas, em uma área de 1499 km², tendo como capital das Ilhas, a cidade de *Tórshavn*. A população vive basicamente da pesca, com um estilo de vida que inclui pescadores, criadores de peixes (piscicultura) e outras atividades relacionadas à pesca (Britta Fångström, 2005).

O alimento proveniente do mar é a parte mais importante da dieta local, com 44% da proteína animal consumida baseada em pescado. A pesca é responsável por 96 a 98% das exportações realizadas e as comunidades pesqueiras são altamente dependentes do ambiente marinho. Desde os tempos medievais, a baleia-piloto (*Globicephala melas*) tem sido caçada e consumida por habitantes das Ilhas. Hoje a carne e a gordura de baleia-piloto não são mais exportadas e nem vendidas, mas continuam sendo distribuídas localmente (Britta Fångström, 2005).

As altas concentrações de mercúrio e organoclorados nos habitantes das Ilhas Faroé têm sido relacionadas ao consumo de baleia-piloto, sendo desta forma uma significativa fonte de exposição para estes contaminantes entre aqueles que consomem tecido muscular e/ou gordura de baleia (Britta Fångström, 2005).

3.2 - Ecologia da Espécie

Habitat: No Atlântico Norte existem sub-espécies boreais e sub-árticas, sendo encontradas da Carolina do Norte, Açores, Madeira e Maurtânia até o norte do Estreito de Davis, Groenlândia e Oceano de Barents. Ocorre também a oeste do Mediterrâneo, no Mar do Norte e no Golfo de St. Lawrence. No Pacífico Norte, essas espécies são conhecidas apenas por evidências arqueológicas, acredita-se no entanto no momento estejam extintas. Na parte Sul as sub-espécies são círculo-polares sendo limitadas a norte, próximo à São Paulo (Brasil), Cidade do Cabo (África do Sul), Ilhas “Crozet” e “Heard”, sul da Austrália, Nova Zelândia, e à 19°S de distância do Chile (Reeves *et al.*, 2002 e Jefferson *et al.*, 2008). Não

existem indicações de que as baleias piloto façam grandes migrações sazonais, no entanto, pode haver uma mudança na distribuição regular, relacionada à abundância de seu principal alimento, os cefalópodes (NAMMCO, 1998). A ocorrência de baleia-piloto ao redor das ilhas Faroe parece estar relacionada à ocorrência de sua presa favorita, a lula (*Todarodes sagitatus*).

Descrição: A baleia-piloto-de-peitorais-longas possui um corpo longo e robusto e uma cabeça globosa. As nadadeiras são longas (18-27% do comprimento do corpo) e finas, apresentando uma extremidade angular que parece formar um “cotovelo”. A barbatana dorsal corresponde a 1/3 do tamanho da coluna vertebral até a ponta do focinho. Comparado com as fêmeas, os machos são maiores, com a cabeça mais globosa, nadadeiras dorsais espessas e nadadeiras caudais com curvatura mais abrupta (Reeves *et al.*, 2002 e Jefferson *et al.*, 2008). As espécies apresentam dimorfismo sexual. Os adultos alcançam 6,7m (machos) e 5,7m (fêmeas) em comprimento. As fêmeas podem atingir um peso de 1.300Kg, e os machos acima de 2.300Kg. Os filhotes podem variar seu tamanho de 1,7-1,8m e o peso pode chegar a aproximadamente 75Kg (Reeves *et al.*, 2002 e Jefferson *et al.*, 2008).

Esta espécie apresenta coloração predominantemente escura, variando de marrom-acinzentado a preto, com uma mancha clara em forma de âncora no tórax que se estende até a área uro-genital. Na parte dorsal há também uma faixa cinza claro próxima à nadadeira dorsal. Existe também uma listra clara que se estende dos olhos até a parte frontal da nadadeira dorsal. Os filhotes são significativamente mais claros que os adultos, podendo apresentar um tom distinto acastanhado (Reeves *et al.*, 2002 e Jefferson *et al.*, 2008).

Reprodução: O período de acasalamento ocorre principalmenmte entre o final da primavera e o outono (Abril-Setembro). A gestação dura aproximadamente um ano e a lactação dois anos. As fêmeas raramente apresentam períodos de gestação e lactação ao mesmo tempo, o ciclo reprodutivo total dura no mínimo

três anos e no máximo cinco anos. No Atlântico Norte as fêmeas podem ter gestações até os 55 anos de idade, embora após os 40 anos, este fato seja raro. A atividade sexual é comum dentro dos grupos de baleia-piloto, mas a reprodução envolve machos de grupos diferentes ao que a fêmea faz parte (Reeves *et al.*, 2002 e Jefferson *et al.*, 2008).

Alimentação: A alimentação consiste principalmente de lulas e cavalas, mas ocasionalmente, também podem ingerir camarão e outras espécies de peixes. São capazes de caçar suas presas a profundidades de 200-500m, embora possam certamente caçar em profundidades maiores se necessário. Algumas de suas presas migram verticalmente e assim podem ser caçadas principalmente à noite quando os organismos se aproximam da superfície (Reeves *et al.*, 2002 e Jefferson *et al.*, 2008).

Comportamento: São espécies extremamente sociais. O tamanho dos grupos é difícil de avaliar porque são grupos muito grandes, contendo centenas de baleias-piloto, podendo chegar acima de mil indivíduos. Podem se dispersar em pequenos grupos de 10 a 20 indivíduos. Esses pequenos grupos são compostos de fêmeas adultas e seus filhotes. São espécies conhecidas pela associação com outras espécies de cetáceos, como golfinhos e grandes baleias (Reeves *et al.*, 2002 e Jefferson *et al.*, 2008).

A proporção de indivíduos maduros e imaturos, fêmeas e machos em um grupo de baleias piloto, é de 40% fêmeas maduras, 20% fêmeas imaturas, 14% machos maduros e 26% machos imaturos (Bloch *et al.*, 1993).

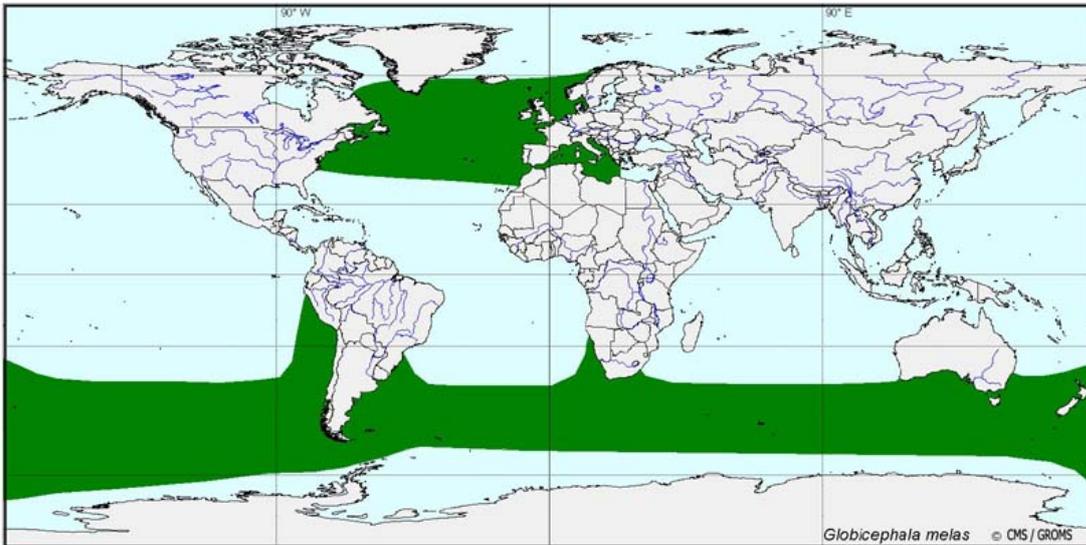


Figura 2: Distribuição geográfica de *Globicephala melas* (Olson e Reilly 2002; © CMS / GROMS).

No Atlântico Norte são os cetáceos mais abundantes, sendo considerados os grandes predadores deste ecossistema marinho. Possuem poucos predadores além de humanos, podendo ser predados por baleias assassinas (*Orcinus orca*) e grandes tubarões (NAMMCO, 1998).



Figura 3: *Globicephala melas* também conhecida como baleia-piloto.

Classificação científica

Reino: [Animalia](#)
Filo: [Chordata](#)
Classe: [Mammalia](#)
Ordem: [Cetacea](#)
Subordem: [Odontoceti](#)
Família: [Delphinidae](#)
Gênero: ***Globicephala***

[Lesson, 1828](#)

3.3 - Amostras de cetáceos deste trabalho

As baleias piloto foram capturadas entre os anos de 1986 - 1987 nas localidades de *Whaling Bay Leynar* (n=17) e *Øravík* (n=12) (Figura 1). Essas localidades representam dois diferentes grupos (*schools*).

As baleias foram capturadas por baleeiros faroenses que utilizaram barcos motorizados cercaram as baleias e as levaram em direção a praia, em águas mais rasas. Lá foram mortas manualmente com ganchos chamados “*gaffs*” e facas no pescoço, que atingiram sua artéria principal. (<http://www.wdcs.org/dan/websearch.nsf/search?createdocument>). As figuras 4 e 5, 6 e 7 (http://en.wikipedia.org/wiki/Whaling_in_the_Faroe_Islands) mostram as baleias após serem mortas (<http://www.wdcs.org/dan/websearch.nsf/search?createdocument>).

As amostras (fígado e rim) deste estudo foram selecionadas em um banco de amostras pelo Prof. Olaf Malm e gentilmente cedidas pela Diretora do Museu de História Natural Faroese Dorete Bloch, das Ilhas Faroese. Neste estudo foram utilizados tecidos de 29 exemplares de baleia-piloto dentre eles 8 machos, 21 fêmeas. Os tamanhos variaram de 215 - 590 cm, o peso de 492 - 2,176 Kg e a idade de 1 - 34 anos (Tabela I). Todas as amostras foram liofilizadas para uma melhor homogeneização do tecido e armazenadas em vidro âmbar para posterior análise. Cada indivíduo recebeu um código alfanumérico de identificação.

Apesar de não ter sido presenciada as identificações dos parâmetros biológicos das amostras serão descritos abaixo os procedimentos específicos utilizados, após a captura, para a verificação de cada parâmetro biológico individual (peso, status reprodutivo, idade, comprimento total):

Peso: O peso total das baleias foi registrado por meio de um caminhão guindaste equipado com uma balança. Dois tipos de balanças foram usadas, uma balança eletrônica à prova d'água a qual pode pesar acima de cinco toneladas, e um tensor conectado a uma balança com capacidade para uma tonelada. A balança levanta a baleia-piloto pela nadadeira dorsal e então o dispositivo de

pesagem é colocado através de um furo no tecido no meio da nadadeira dorsal (Donavan *et al*, 1983).

Status reprodutivo: Para cada baleia foi registrado o status reprodutivo. No grupo das fêmeas foram identificados indivíduos imaturos, lactantes, grávidas e lactantes, grávidas não lactantes. No grupo dos machos foram identificados indivíduos imaturos e maduros. Para todos os animais maduros e imaturos, foram medidos os ovários ou pelo menos um dos testículos (incluindo o epidídimo).

Em cada fêmea com corpo lúteo, o feto foi cuidadosamente procurado. Quando o feto era encontrado, fazia-se a identificação do sexo, medição e verificação do peso em campo, quando possível. O sexo dos fetos foi determinado através de observações macroscópicas e/ou exame histológico e/ou o uso da expressão da cromatina sexual (Donavan *et al*, 1983).

Idade: Para a identificação da idade são coletados e examinados os dentes de cada indivíduo de baleia-piloto. Após os dentes serem coletados recebem um tratamento inicial e é feito todo um trabalho de corte e coramento para que as camadas de cimento e/ou dentina sejam visualizadas como descrito por Bloch *et al* (1993a). A idade de cada indivíduo é determinada de acordo com a quantidade de camada que se observa em seus respectivos dentes, pois cada camada corresponde aproximadamente a um ano (Donavan *et al*, 1983).

Comprimento total: O comprimento da cada baleia é medido por uma linha contínua graduada em centímetros de uma ponta que vai do focinho até a cauda, como sugerido por Norris (1961) (Donavan *et al*, 1983).

Retirada dos tecidos: A dissecação das baleias foi realizada pelo método tradicional, através de cortes transversais. Todos os tecidos foram envolvidos

separadamente em sacolas plásticas. Depois, os tecidos foram classificados em laboratório para serem distribuídos ou enviados para laboratórios relevantes (Donavan *et al*, 1983).



Figura 4 e 5: Baleias mortas na praia, nas Ilhas Faroe, Atlântico Norte.



Figura 6: Baleias mortas na praia, nas Ilhas Faroe, Atlântico Norte.

Tabela I - Dados biológicos (comprimento total, sexo, status reprodutivo, localização, peso e idade) de baleias piloto das Ilhas Faroer.

Indivíduo	Comprimento Total (cm)	SEXO	Status reprodutivo	Localização	Peso(Kg)	IDADE (anos)
OK1	215	M	Imaturo	Øravík	NI	ND
OK2	227	F	Imaturo	Øravík	NI	ND
OK3	242	F	Imaturo	Øravík	NI	1
OK4	308	F	Imaturo	Øravík	NI	ND
OK5	311	F	Imaturo	Øravík	NI	ND
OK6	314	F	Imaturo	Øravík	NI	ND
OK7	320	M	Imaturo	Øravík	NI	ND
WBL8	331	F	Imaturo	Whaling Bay Leynar	576	4
WBL19	357	F	Imaturo	Whaling Bay Leynar	518	8
WBL10	362	F	Imaturo	Whaling Bay Leynar	496	6
WBL11	366	M	Imaturo	Whaling Bay Leynar	492	7
OK12	415	F	Grávida	Øravík	NI	12
WBL13	419	F	Grávida	Whaling Bay Leynar	826	12
WBL14	430	M	Imaturo	Whaling Bay Leynar	898	ND
OK15	431	F	Grávida/ Lactante	Øravík	NI	13
OK16	433	M	Imaturo	Øravík	NI	ND
WBL17	434	F	Grávida/ Lactante	Whaling Bay Leynar	812	13
WBL18	434	F	Grávida/ Lactante	Whaling Bay Leynar	812	13
WBL19	442	F	Lactante	Whaling Bay Leynar	976	ND
WBL20	445	F	Grávida	Whaling Bay Leynar	858	22
WBL21	445	F	Grávida	Whaling Bay Leynar	858	22
WBL22	449	F	Lactante	Whaling Bay Leynar	936	24
WBL23	450	F	Lactante	Whaling Bay Leynar	876	20
OK24	455	F	Grávida/ Lactante	Øravík	NI	18
WBL25	465	F	Maturo	Whaling Bay Leynar	856	27
WBL26	476	F	Lactante	Whaling Bay Leynar	878	ND
OK27	560	M	Maturo	Øravík	NI	20
WBL28	564	M	Maturo	Whaling Bay Leynar	1652	26
WBL29	590	M	Maturo	Whaling Bay Leynar	2176	ND

WBL= Whaling Bay Leynar; OK=Øravík; NI=não identificado; ND= não determinado.

3.4 - Análises químicas

Todo o material empregado foi cuidadosamente limpo para evitar contaminação. Primeiro fez-se uma boa lavagem dos mesmos, com detergente e água; a seguir, colocou-se de molho em solução a 10% de Extran por, no mínimo, 24 horas. Decorrido este período, lavou-se o material com água deionizada e por fim deixou-se de molho em solução de ácido nítrico (HNO_3 15%) por no mínimo 24 horas, ou até o momento da extração. Para se ter o controle dos reagentes empregados e da contaminação do laboratório e da vidraria, foram utilizadas amostras controle (branco de reagentes sem adição de matriz), cujos resultados foram subtraídos dos resultados obtidos. Devido à heterogeneidade das amostras foi aceito um desvio padrão de até 10% entre as réplicas amostradas, porcentagem recomendada pela FAO como coeficiente de variação satisfatório. As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca, do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho – Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), onde os métodos adotados neste estudo já estão bem estabelecidos e são utilizados rotineiramente (Malm *et al.*, 1989).

3.4.1-Determinação de Mercúrio Total (HgT)

Alíquotas de aproximadamente 0,02 g p.s. de fígado e rim foram pesadas em balança analítica de precisão igual a 0,1 mg em tubos de ensaio. As amostras, em duplicata, juntamente com os brancos de reagentes e o material de referência foram submetidas à digestão ácida, utilizando-se 1 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e 3 mL de mistura sulfonítrica (H_2SO_4 : HNO_3 1:1 v/v), permanecendo em banho-maria (60°C) por aproximadamente 2 horas, até a total solubilização da matriz. Após atingir a temperatura ambiente, adicionou-se às amostras 5 mL de permanganato de potássio a 5% (KMnO_4), levando-as novamente ao banho-maria por mais 15 minutos, e posterior repouso durante 12h. O meio fortemente oxidante

das amostras foi neutralizado (reduzido) com 1 mL de cloridrato de hidroxilamina a (HONH₃Cl + NaCl 12%) e o seu volume final foi aferido para 15 mL com água Milli-Q. O Hg²⁺ presente na amostra foi reduzido à Hg⁰, por meio da reação com solução de borohidreto de sódio (NaBH₄ 2% + NaOH 0,05%) e a determinação realizada em seguida no FIMS-400 *Perkin Elmer* (Bastos *et al.*, 1998).

3.4.2-Determinação de mercúrio orgânico (HgOrg)

Foram pesadas aproximadamente 0,03 g p.s. de fígado e rim em tubos falcon de 50 mL. Após esta etapa, foram adicionadas às amostras em duplicatas, 5 mL de solução brometo de potássio (KBr 30%) e 7,5 mL de solução de sulfato de cobre (CuSO₄ 2,5%) ambas soluções foram feitas em meio ácido (ácido sulfúrico - H₂SO₄ 4N). Os tubos foram agitados por 1 minuto aproximadamente. Posteriormente, foram adicionados 5 mL de diclorometano-hexano (CH₂Cl₂/C₆H₁₄) 3:2 v/v. Agitou-se novamente por 2 minutos e foram colocados na centrífuga por 2 minutos para que a fase orgânica fosse separada da fase inorgânica. Foi retirado 1 mL da fase orgânica (superior) e transferido para um tubo de ensaio, com 5 mL de HNO₃: H₂SO₄, 1:4 v/v que logo após foi aquecido em banho-maria (60°C) por 30 minutos para a extração do mercúrio orgânico (Uthe *et al.*, 1972). As amostras foram retiradas do banho e após atingirem a temperatura ambiente colocou-se 5 mL de KMnO₄ 5%, retornando-se novamente ao banho-maria (60°C) por mais 15 minutos e deixando-se em repouso durante uma noite. O meio fortemente oxidante foi neutralizado com 1 mL de HONH₃Cl + NaCl 12% e o volume final aferido para 15 mL com água Milli-Q e a determinação realizada em seguida no FIMS-400 *Perkin Elmer* (Bastos *et al.*, 1998).

3.4.3- Determinação de selênio total (SeT)

A um tubo contendo aproximadamente 0,2 g de amostra seca e homogeneizada, foram adicionados 2 ml de HNO₃ concentrado para a digestão ácida do tecido, ou seja, para promover a oxidação da matéria orgânica. Os tubos foram deixados em repouso por 12h e, no dia seguinte, estes permaneceram em banho-maria (60°C) por 2 horas. Todo o procedimento foi realizado em sistema fechado. Após resfriar em temperatura ambiente, a solução ácida contendo a amostra foi injetada para detecção e quantificação do selênio em espectrofotômetro de absorção atômica com atomização em forno de grafite (AAS ZEE nit 60 – Analytic Jena) (Seixas *et al*, 2007a).

3.4.4 – Certificação dos métodos

A precisão dos métodos foi verificada com o uso de materiais certificados. Para a análise de mercúrio total, mercúrio orgânico e selênio foi utilizado o TORT-2 (hepatopâncreas de lagosta) do *National Research Council* do Canadá (Tabela II). Esse material de referência foi tratado e analisado sob as mesmas condições das amostras.

Tabela II. Concentrações de mercúrio total (HgT), orgânico (HgOrg) e selênio (SeT) detectadas no padrão certificado (TORT-2).

TORT-2			
Metais	Valor Certificado (µg/g)	Resultados (µg/g)	Recuperação (%)
HgT	0,27 ± 0,06	0,28±0,03	104
HgOrg	0,152± 0,013	0,16± 0,03	104
SeT	5,63± 0,67	5,55± 0,05	98,6

Os resultados obtidos demonstraram a boa precisão das metodologias analíticas empregadas. Obtiveram-se bons fatores de recuperação dos elementos analisados (entre 90% e 110%). Portanto, os métodos analíticos empregados mostraram-se eficientes e reproduzíveis para as análises de SeT, HgT e HgOrg em mamíferos aquáticos.

3.4.5 – Limite de Detecção (LD)

O limite de detecção (LD) representa a menor massa ou concentração da substância em exame, que pode ser detectado com grau de certeza estatística utilizando um determinado procedimento experimental. O limite de detecção para a análise de HgT, HgOrg e SeT (Tabela III) foi calculado a partir das médias dos desvios-padrão dos brancos de reagentes de todos os conjuntos de análises feitas e multiplicado por 3 (Welz, 1999 *apud* Seixas, 2004).

$$\text{LD} = \text{valor médio dos DP dos brancos } (\mu\text{g.L}^{-1}) \times 3$$

Tabela III. Limite de detecção para HgT, Hg-Org e SeT para as amostras biológicas analisadas.

Analito	LD ($\mu\text{g/L}$)
HgT	0,05
HgOrg	0,07
SeT	1,00

3.5 - Tratamento estatístico

Foram utilizados para a análise estatística dos dados os programas Systat 10.2 e BioEstat 2.0. Para a verificação da normalidade dos dados foi aplicado o teste W de *Shapiro-Wilk*. A partir deste teste foi observado que os dados não apresentavam distribuição normal, sendo assim optou-se pela aplicação dos testes estatísticos não-paramétricos.

O teste de correlação de *Spearman* (r_s) foi utilizado para verificar a existência de correlação entre as variáveis comprimento total, idade e as concentrações dos elementos analisados. O mesmo teste foi utilizado para verificar correlação entre as concentrações dos elementos analisados nos tecidos (fígado e rim), assim como para verificar a correlação entre o percentual de HgOrg e o HgT.

O teste de *Kruskal-Wallis* foi utilizado para verificar se havia diferença significativa entre as concentrações das espécies químicas analisadas e o status reprodutivo, e posteriormente, no caso de haver diferença, foi utilizado um *Post-Hoc* (*Duncan test*) para comparar os grupos par a par e indicar qual destes pares apresentariam concentrações significativamente diferentes.

O teste *U* de *Mann-Whitney* foi aplicado para verificar a existência de diferenças significativas das concentrações de HgT, HgOrg e SeT entre os grupos amostrados nas diferentes áreas de coleta (Whaling Bay Leynar e Øravig).

O teste *t* foi utilizado para verificar se haveria diferença entre as médias para HgT, HgOrg e SeT encontrados na literatura e a média do presente estudo.

As massas não foram utilizadas nos testes estatísticos, pois nem todos os indivíduos tiveram seus valores determinados, desta forma foi utilizado o CT como o indicativo deste parâmetro.

Em alguns casos os valores extremos (*outliers*) foram removidos, de acordo com as análises estatísticas.

As figuras apresentadas estão relacionadas apenas aos testes que obtiveram resultados significativos ($p < 0,05$).

Todos os resultados foram corrigidos para peso úmido (p.u.), podendo ser, desta maneira comparados aos resultados encontrados na literatura. Para esta conversão foi utilizada a fórmula:

$$[\text{Hg}] \text{ em peso úmido} = [\text{Hg}] \text{ em peso seco} * (\% \text{ peso seco da amostra} / 100)$$

4- RESULTADOS

Na tabela IV são apresentadas as concentrações, para HgT, HgOrg e SeT e suas médias em fígado e rins de baleia-piloto para cada grupo de acordo com sua área de coleta, separados pelos seus respectivos estágios de vida. Os intervalos de concentração para HgT no tecido hepático variaram de 1,13 a 152,42 $\mu\text{g/g}$ p.u. (média = 23,32 $\mu\text{g/g}$; mediana = 45,92 $\mu\text{g/g}$) e nos rins 0,04 a 13,40 $\mu\text{g/g}$ p.u. (média = 5,36 $\mu\text{g/g}$; mediana = 5,51 $\mu\text{g/g}$). Para HgOrg ficaram entre 0,13 e 6,04 $\mu\text{g/g}$ p.u. (média = 1,56 $\mu\text{g/g}$; mediana = 1,63 $\mu\text{g/g}$) e 0,04 e 1,23 $\mu\text{g/g}$ p.u. (média = 0,54 $\mu\text{g/g}$; mediana = 0,55 $\mu\text{g/g}$) para fígado e rins, respectivamente. A concentração de selênio total variou de 0,78 a 176,83 $\mu\text{g/g}$ p.u. (média = 16,15 $\mu\text{g/g}$; mediana = 18,23 $\mu\text{g/g}$) no fígado e nos rins de 0,26 a 19,40 $\mu\text{g/g}$ p.u. (média = 4,94 $\mu\text{g/g}$; mediana = 4,07 $\mu\text{g/g}$). Esta ampla faixa de resultados foi obtida devido a uma amostragem abrangendo idades variadas, representando diferentes status reprodutivos, que representam o tempo de exposição dos indivíduos. Contudo, as maiores concentrações para HgT, HgOrg e SeT, foram encontradas no tecido hepático como esperado.

Tabela IV – Concentração de HgT, HgOrg e SeT em fígado e rins de baleia-piloto das Ilhas Faroer, Atlântico Norte, com seus intervalos, a média para os indivíduos dos dois grupos analisados em suas áreas de coleta, separados pelos seus respectivos estágios de vida e o número de machos e fêmeas.

Área	Estágio de vida	Sexo		HgT(µg/g p.u.)		HgOrg(µg/g p.u.)		SeT(µg/g p.u.)	
		F	M	Intervalo	Intervalo	Intervalo	Intervalo	Intervalo	Intervalo
				(Média)	(Média)	(Média)	(Média)	(Média)	(Média)
				Fígado	Rim	Fígado	Rim	Fígado	Rim
WBL	Imaturo	3	2	3,26-24,18 (10,49)	1,94-5,36 (3,34)	0,31-2,05 (1,04)	0,10-0,60 (0,29)	2,58-9,62 (4,98)	2,30-6,01 (4,03)
	Maturo	1	2	13,82-72,87 (48,27)	0,24-9,61 (6,38)	1,39-2,11 (1,76)	0,37-0,43 (0,40)	13,83-31,83 (21,69)	5,14-10,15 (6,85)
	Grávida	3	-	1,13-89,77 (31,11)	0,04-7,30 (2,48)	0,13-2,33 (0,89)	0,04-0,55 (0,24)	0,78-27,33 (9,91)	0,26-6,72 (2,59)
	Lactante	4	-	8,94-150,64 (67,98)	5,75-9,49 (7,96)	1,53-3,06 (1,92)	0,19-0,54 (0,42)	23,05-42,35 (29,45)	3,56-4,82 (4,19)
	Grávida/Lactante	2	-	23,32-32,89 (28,10)	4,32-5,23 (4,77)	0,80-1,76 (1,28)	0,51-0,54 (0,52)	6,43-7,95 (7,19)	3,47-5,06 (4,26)
OK	Imaturo	5	3	1,18-152,42 (40,31)	2,42-10,09 (5,40)	0,26-6,04 (2,18)	0,42-1,03 (0,74)	5,95-176,83 (41,99)	1,75-19,40 (5,80)
	Maturo	-	1	132,36	13,40	3,77	1,23	42,15	6,62
	Grávida	1	-	93,64	7,19	2,91	1,12	29,29	7,80
	Lactante	-	-	-	-	-	-	-	-
	Grávida/Lactante	2	-	13,82- 58,13 (35,97)	0,24-9,29 (4,76)	1,80-2,11 (1,95)	0,37-0,42 (0,39)	19,31-31,83 (25,62)	5,14-5,26 (5,2)

WBL - Whaling Bay Leynar; OK - Øravík; F- Fêmea, M- Macho

4.1 – Relação entre Comprimento Total X Massa

Como nem todos os indivíduos possuíam o valor de sua massa, apenas para os indivíduos de WBL, foi realizado o teste de correlação de *Spearman* para verificar a existência de correlação entre o comprimento total e a massa dos indivíduos de baleia-piloto. A correlação se mostrou positiva e muito significativa ($n=17$, *Spearman* - $r_s = 0,8$; $p = 0,0002$)(Figura 7).

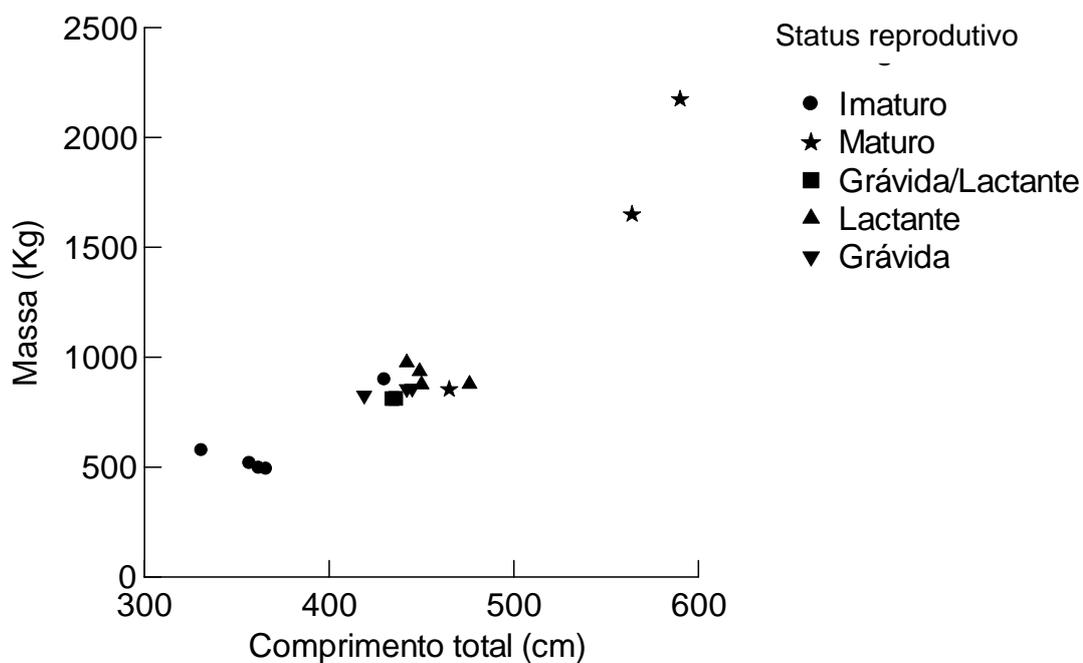


Figura 7: Relação entre Massa (M) e o Comprimento Total (CT) dos indivíduos de baleia – piloto da área de WBL das Ilhas Faroe (Atlântico Norte).

Foi realizado um teste de correlação entre a idade dos indivíduos e o comprimento total, onde tal correlação se mostrou positiva e muito significativa ($n=18$, *Spearman* - $r_s = 0,9$; $p < 0,0001$) (Figura 8).

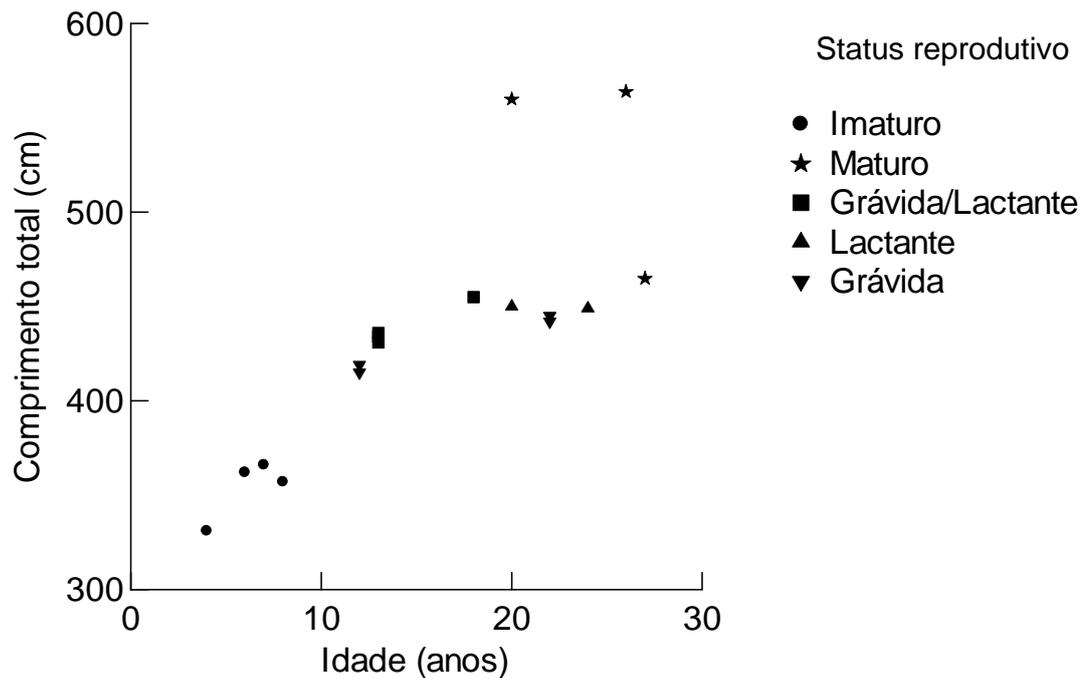


Figura 8: Relação entre a Idade (anos) e o Comprimento Total (CT) dos indivíduos de baleia – piloto das Ilhas Faroe (Atlântico Norte).

Nos resultados a seguir somente serão apresentadas figuras referentes aos resultados que obtiveram significância ($p < 0,05$).

Como as duas áreas de coleta apresentavam número diferenciado de indivíduos e com status reprodutivos diferentes, ou seja, eram áreas com amostragens complementares, os testes foram realizados com todos os indivíduos juntos.

4.2 – Relação entre as concentrações de mercúrio total (HgT), mercúrio orgânico (HgOrg) e selênio total (SeT) no fígado e nos rins de baleia-piloto com o Comprimento Total (CT).

Correlações entre as concentrações das espécies químicas analisadas no fígado/rim e o CT foram testadas. A correlação entre as concentrações de HgT no fígado e nos rins e o comprimento total não se mostrou significativa (fígado - *Spearman* - $r_s = 0,32$; $p = 0,09$ e rim - *Spearman* - $r_s = 0,3$; $p = 0,07$). Assim como para a correlação entre as concentrações de HgOrg no fígado e nos rins e o comprimento total (fígado - *Spearman* - $r_s = 0,26$; $p = 0,19$ e rim - *Spearman* - $r_s = 0,18$; $p = 0,38$).

Já para SeT não foi verificada correlação significativa entre os níveis de SeT no fígado e o CT (*Spearman* - $r_s = 0,09$; $p = 0,63$) mais houve uma correlação positiva moderada nos rins (*Spearman* - $r_s = 0,46$; $p = 0,02$) (Figura 9) no teste realizado com todos os indivíduos juntos (WBL e OK).

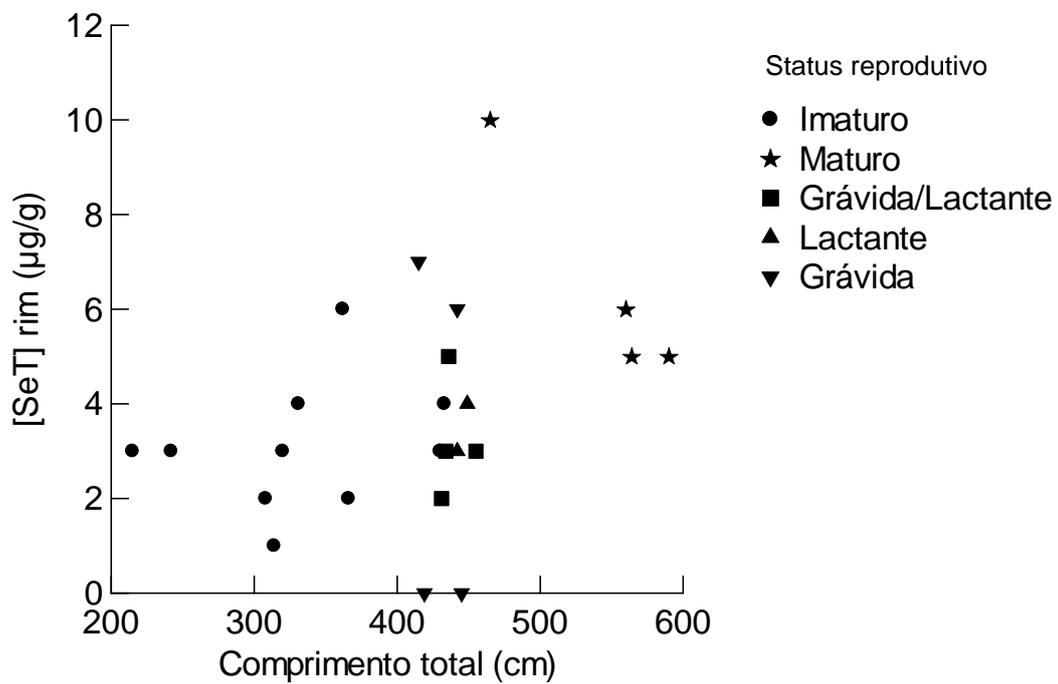


Figura 9: Concentrações de SeT nos rins em relação ao comprimento total (CT) de baleias piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).

4.3 - Relação entre as concentrações de HgT, HgOrg e SeT no fígado e nos rins de baleia-piloto e suas idade.

A correlação entre as concentrações de HgT no fígado não apresentaram significância (*Spearman* - $r_s = 0,15$; $p = 0,53$), já para os rins a correlação se mostrou significativa (*Spearman* - $r_s = 0,53$; $p = 0,02$) (Figura 10).

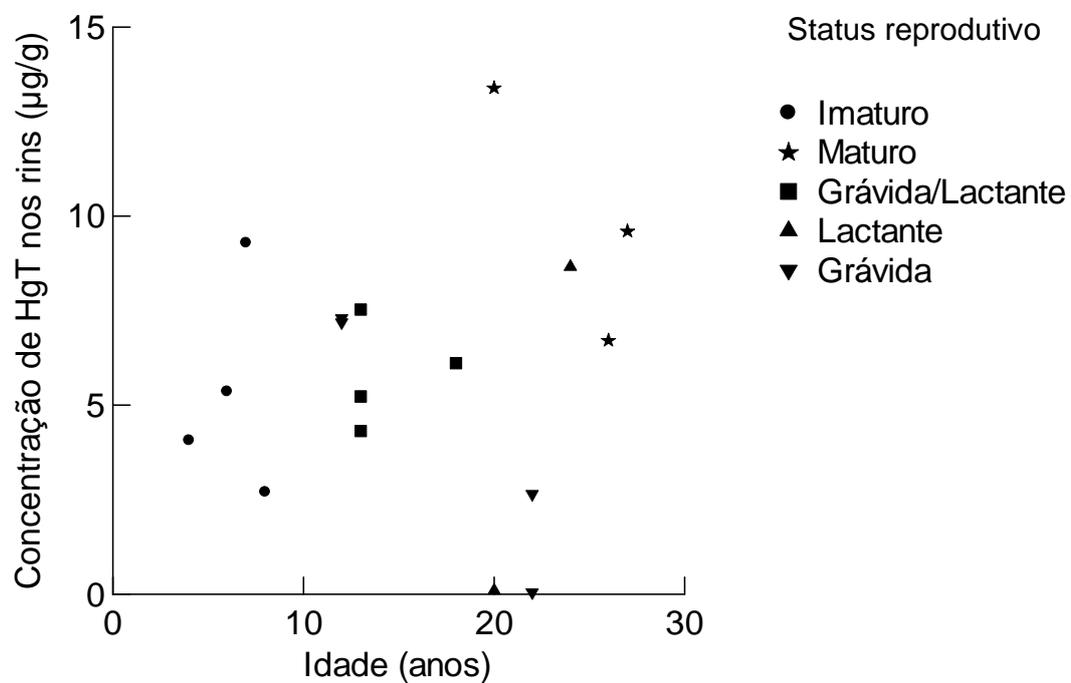


Figura 10: Concentrações de HgT nos rins em relação a idade (anos) de baleias piloto nas Ilhas Faroee (Atlântico Norte).

As concentrações de HgOrg no fígado e nos rins não apresentaram correlações significativas com a idades dos indivíduos de baleia-piloto (Fígado - *Spearman* - $r_s = 0,33$; $p = 0,16$; Rins - *Spearman* - $r_s = -0,02$; $p = 0,93$).

Para as concentrações de SeT no fígado e as idades dos indivíduos de baleia-piloto a correlação foi significativa (*Spearman* - $r_s = 0,55$; $p = 0,02$) (Figura 11), porém nos rins não se mostrou significativa (*Spearman* - $r_s = 0,35$; $p = 0,17$).

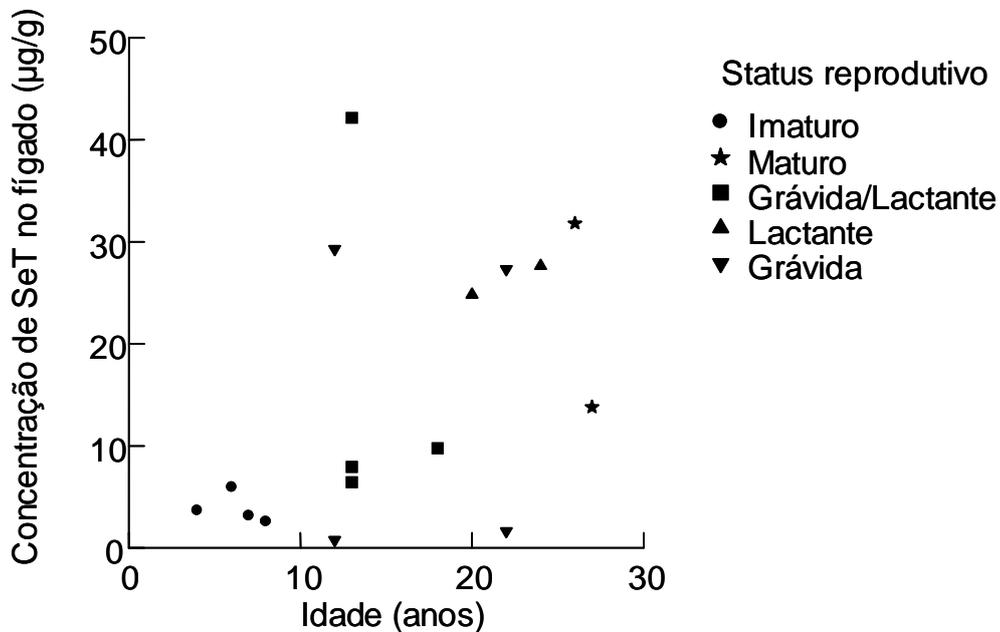


Figura 11: Concentrações de SeT no fígado em relação a idade (anos) de baleias piloto nas Ilhas Faroé (Atlântico Norte).

4.4- Relação entre as concentrações de HgT, HgOrg e SeT no fígado e nos rins de baleia-piloto e seus status reprodutivos.

Foi aplicado o teste U de *Mann-Whitney* para verificar se havia diferença entre os indivíduos imaturos e os maduros (Lactante, Grávida, Grávida/Lactante) e as concentrações das espécies químicas analisadas. Para as concentrações de HgT no fígado houve diferença significativa entre maduros e imaturos (*Mann-Whitney* – U = 32; p = 0,0047), já para o HgT nos rins não houve diferença significativa (*Mann-Whitney* – U = 58; p = 0,12).

Não foi verificada diferença significativa entre os status reprodutivos (maduros e imaturos) e a concentração de HgOrg no fígado e nos rins (Fígado- *Mann-Whitney* – U = 89; p = 0,53; Rins- *Mann-Whitney* – U = 81; p = 0,41) respectivamente. O mesmo ocorreu para as concentrações de SeT no fígado e nos rins (*Mann-Whitney* – U = 73; p = 0,3; *Mann-Whitney* – U = 43; p = 0,12).

Desta forma foi verificada se haveria diferença significativa entre os indivíduos maduros separadamente (Lactante, Grávida, Grávida/Lactante) e os imaturos.

Primeiramente foi aplicado teste entre os indivíduos imaturos e maduros separadamente (Lactante, Grávida, Grávida/Lactante) para verificar se haveria diferença significativa para as concentrações de HgT no fígado e no rim. No fígado da baleia-piloto foi verificada diferença significativa entre os grupos e as concentrações de HgT (*Kruskal-Wallis* – KW= 9,64; p= 0,04), mas o teste Dunn's de comparação múltipla não identificou quais destes grupos seriam diferentes, comparando-os par a par, mas observa-se que os indivíduos imaturos apresentam concentrações menores que os demais. Já no rim não foi verificada diferença significativa (*Kruskal-Wallis* – KW= 6,07; p= 0,2).

Para todos os outros elementos analisados não houve diferença significativa entre suas concentrações e o status reprodutivo: HgOrg no fígado (*Kruskal-Wallis* – KW= 2,22; p= 0,69), HgOrg nos rins (*Kruskal-Wallis* – KW=

1,69; $p= 0,79$), SeT no fígado (*Kruskal-Wallis* – $KW= 5.9$; $p= 0,2$) e SeT nos rins (*Kruskal-Wallis* – $KW= 6.7$; $p= 0,14$).

4.5 – Relação entre as concentrações HgT, HgOrg e SeT no fígado e nos rins.

A existência de correlação entre a concentração de HgT, HgOrg e SeT em fígado e rim foi testada reunindo todos os indivíduos de WBL e OK. A correlação entre os níveis de HgT entre os órgãos (fígado e rim) mostrou-se significativa positiva (*Spearman* - $r_s = 0,6$; $p = 0,0005$) (Figura 13).

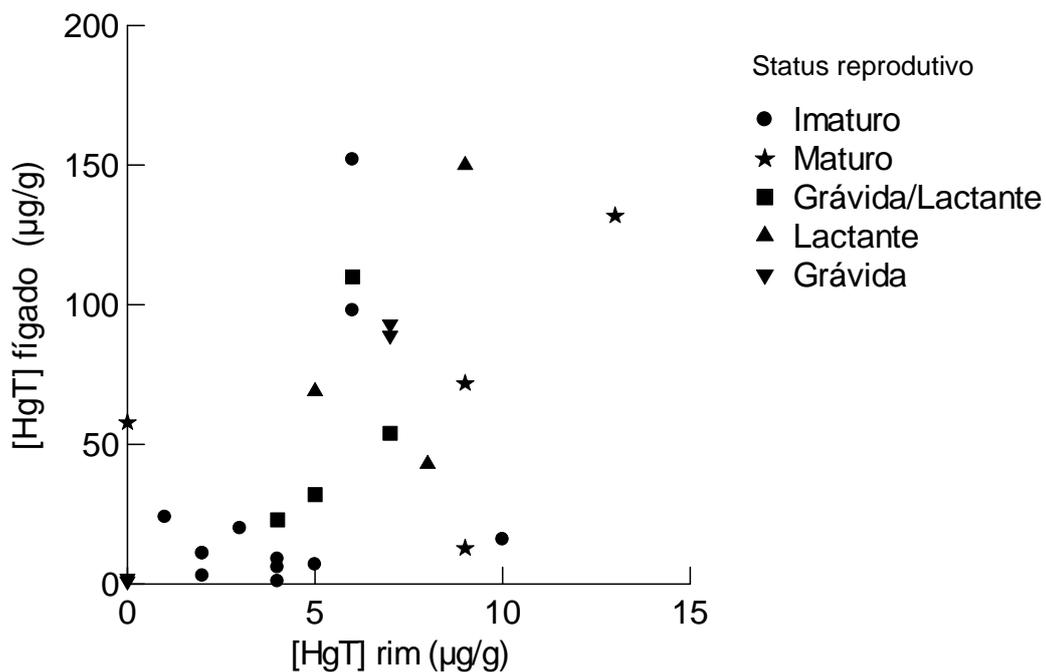


Figura 12: Relação entre as concentrações de HgT no fígado e nos rins de baleias piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).

As concentrações de HgOrg também apresentaram correlação significativa positiva moderada entre os órgãos (*Spearman* - $r_s = 0,43$; $p = 0,03$) (Figura 14). No caso do selênio não houve uma correlação entre as concentrações no fígado e nos rins (*Spearman* - $r_s = 0,33$; $p = 0,13$).

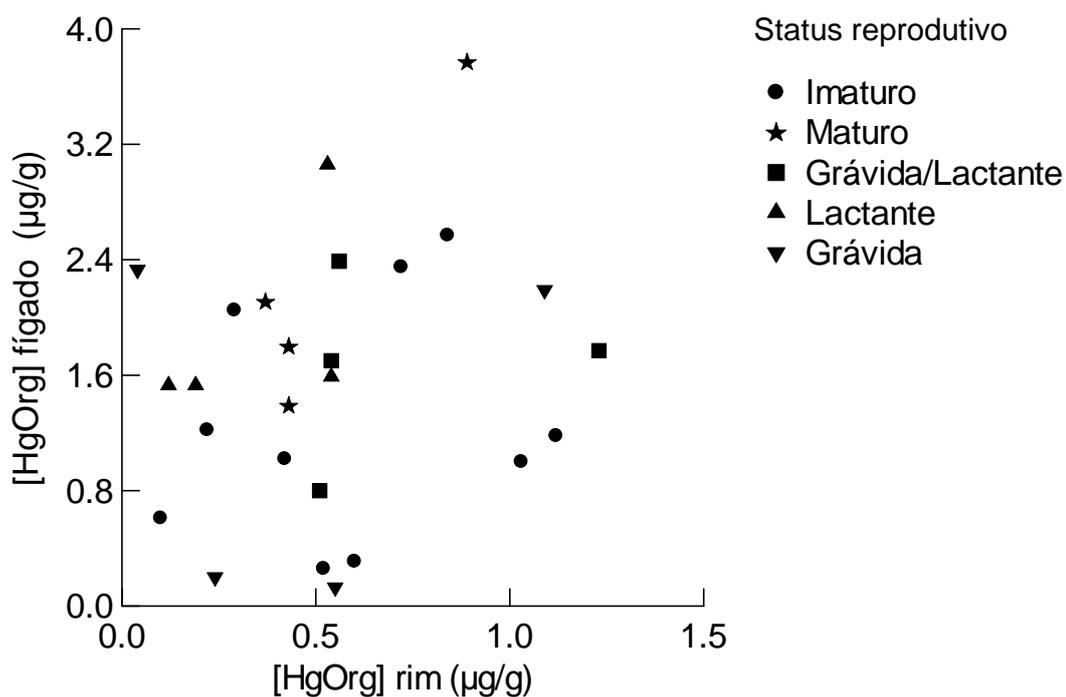


Figura 13: Relação entre as concentrações de HgOrg no fígado e no rins de baleias piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).

4.6 – Relação entre HgT, HgOrg e SeT em fígado e rim de baleia-piloto.

As concentrações de HgOrg e HgT apresentaram correlação significativa positiva no fígado (*Spearman* - $r_s = 0,45$; $p = 0,01$) e nos rins (*Spearman* - $r_s = 0,58$; $p = 0,0015$) (Figura 15 e 16) para todos os indivíduos.

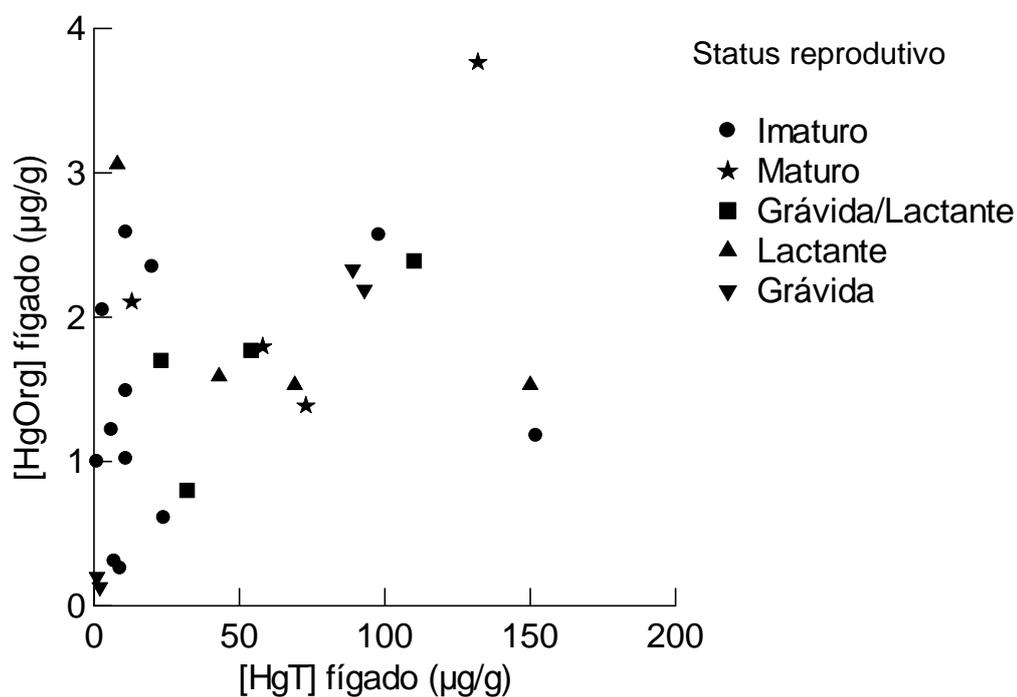


Figura 14: Relação entre as concentrações de HgOrg em função do HgT no fígado de baleia-piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).

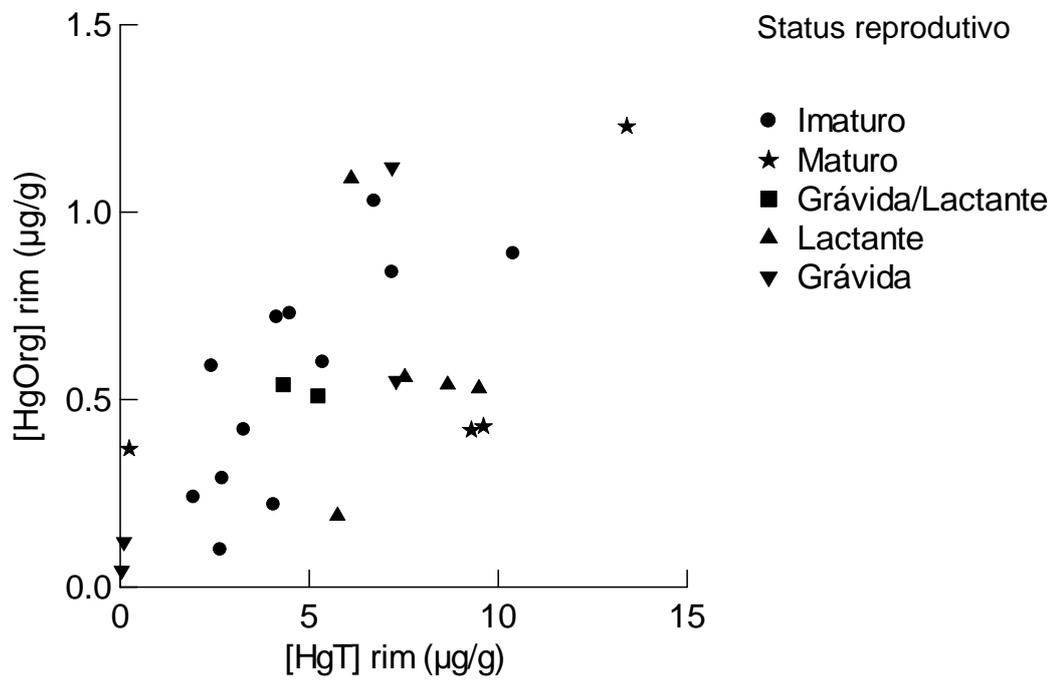


Figura 15: Relação entre as concentrações de HgOrg em função do HgT nos rins de baleia-piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).

Para correlacionar as concentrações de HgT ou HgOrg com o SeT foi realizada a mudança de unidade de $\mu\text{g/g}$ para nmol/g , essa alteração é feita para igualar o número de moles de diferentes massas atômicas dos compostos e desta forma poder melhor compará-los. Os níveis de SeT em relação aos níveis de HgT mostraram correlações significativas positivas tanto no fígado (*Spearman* - $r_s = 0,6$; $p = 0,001$) quanto nos rins (*Spearman* - $r_s = 0,53$; $p = 0,008$) para todos os indivíduos (Figuras 17 e 18).

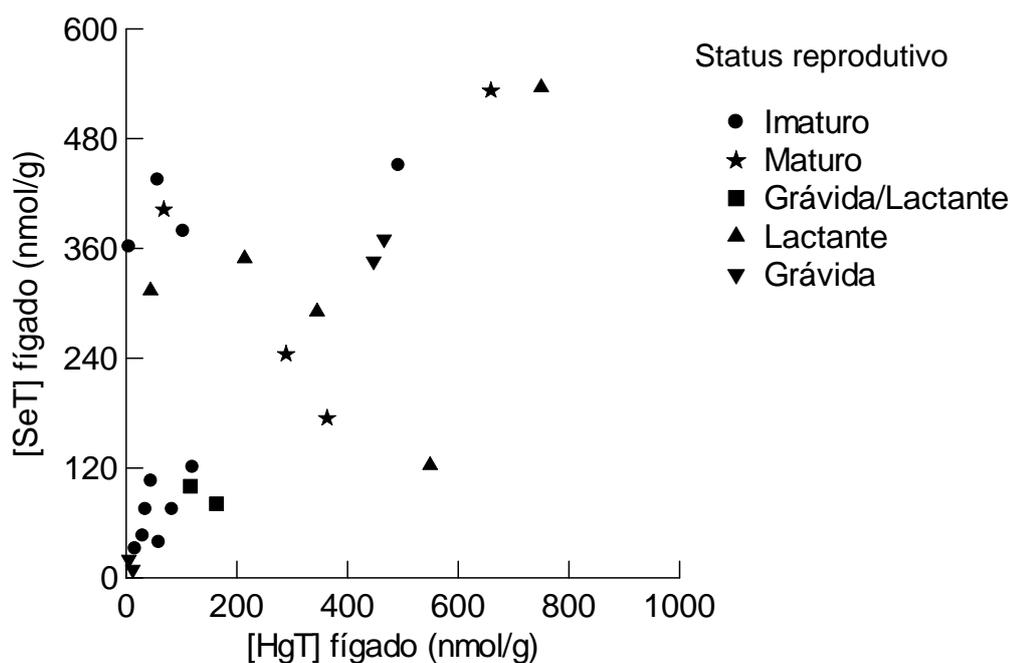


Figura 16: Relação entre as concentrações molares de SeT em função do HgT no fígado de baleia piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).

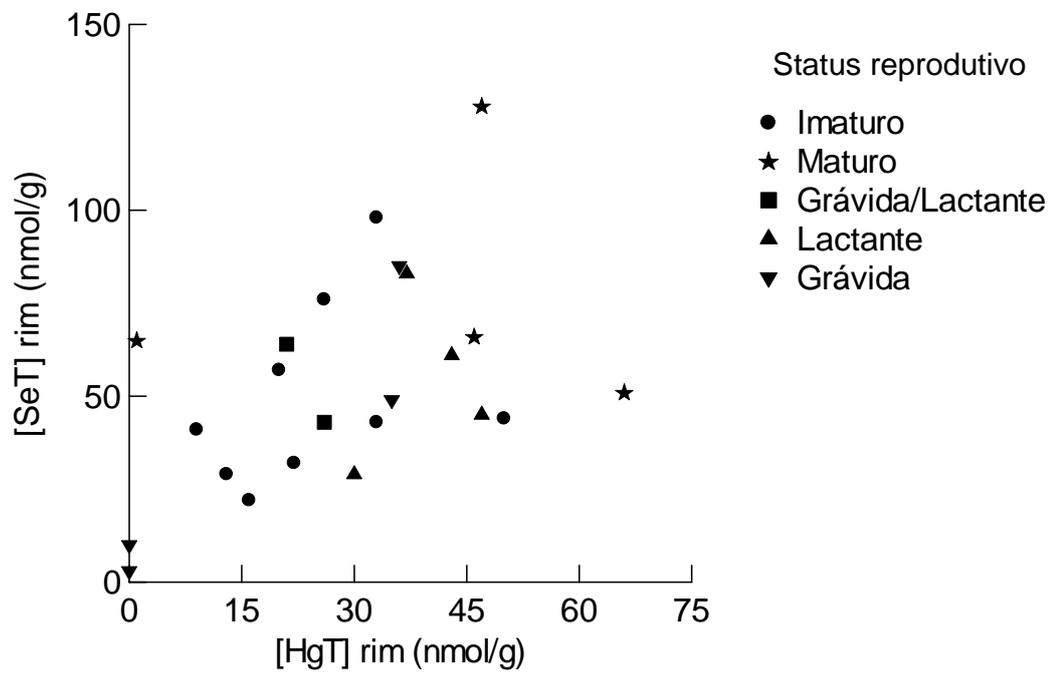


Figura 17: Relação entre as concentrações molares de SeT em função do HgT nos rins de baleia-piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).

Houve correlação significativa positiva entre os níveis de SeT e HgOrg no fígado (*Spearman* - $r_s = 0,62$; $p = 0,0008$), (Figura 19), mas as concentrações de SeT e HgOrg nos rins não estiveram correlacionadas (*Spearman* - $r_s = -0,38$; $p = 0,09$).

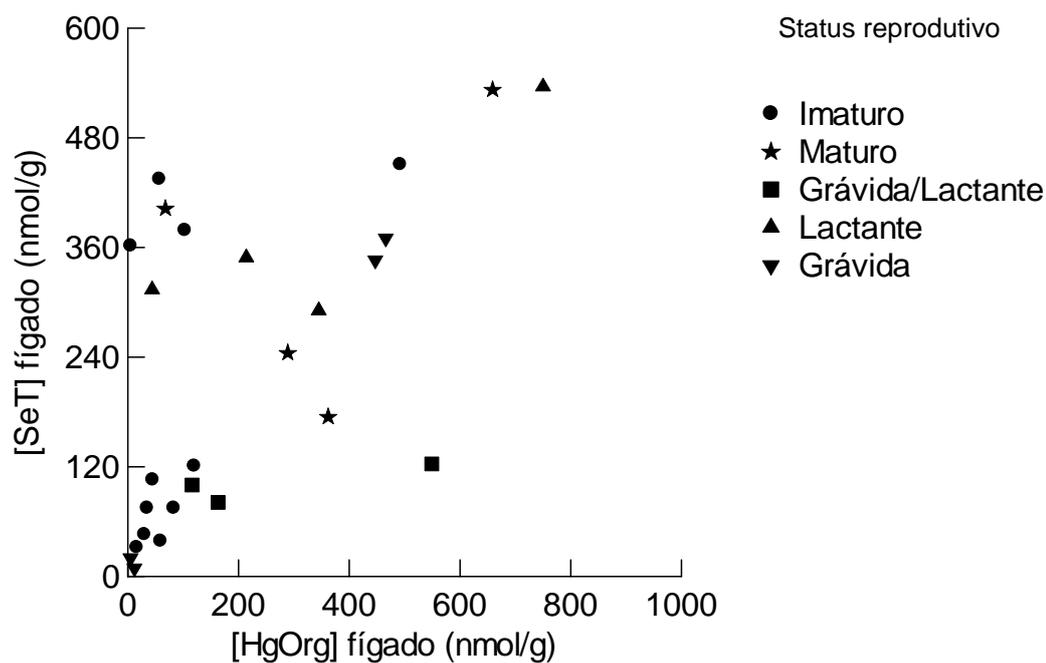


Figura 18: Relação entre as concentrações molares de SeT em função do HgOrg no fígado de baleia-piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).

Foi verificada uma correlação positiva altamente significativa entre as concentrações molares de SeT e HgT no fígado de fêmeas mães (*Spearman* - $r_s = 0,75$; $p = 0,0018$) (Figura 20) ao contrário do que foi observado em indivíduos imaturos (*Spearman* - $r_s = 0,50$; $p = 0,11$) para todos os indivíduos.

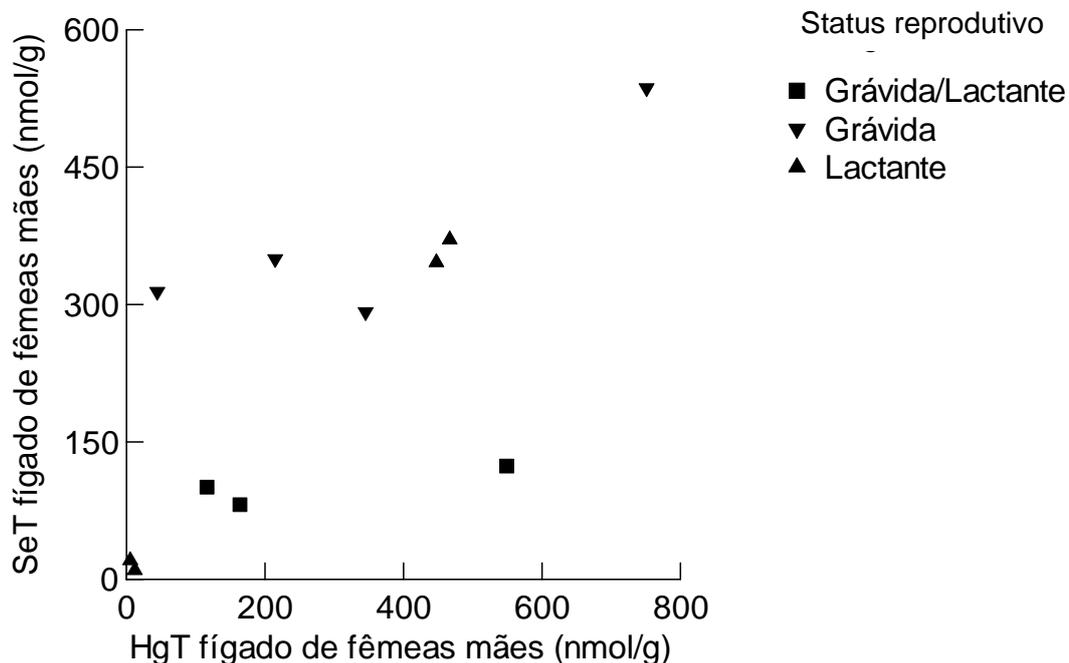


Figura 19: Relação entre as concentrações molares de HgT em relação ao SeT no fígado de fêmeas mães de baleia-piloto nas Ilhas Faroe (Atlântico Norte).

4.7- Percentual de Mercúrio Orgânico (%HgOrg) em relação ao HgT

No apêndice 1 estão relatados os percentuais de HgOrg em relação aos níveis de HgT no fígado e rim de todos os indivíduos de baleia-piloto. O percentual médio de HgOrg no fígado foi de 12,83 % e no rim de 21,41%. As proporções entre HgOrg/HgT variaram de 0,77 a 84,45% no fígado e 3,3 a 96,5% no rim. A correlação entre o percentual de HgOrg e os níveis de HgT no fígado mostrou-se negativa significativa (*Spearman* - $r_s = -0,8$; $p < 0,00001$), verificando-se uma diminuição da porcentagem de HgOrg com o aumento das concentrações de HgT no fígado (Figura 21). Este resultado suporta fortemente a hipótese de desmetilação que será aprofundada mais adiante, o que já não foi observado no rim de baleia-piloto (*Spearman* - $r_s = 0,20$; $p = 0,27$) para todos os indivíduos.

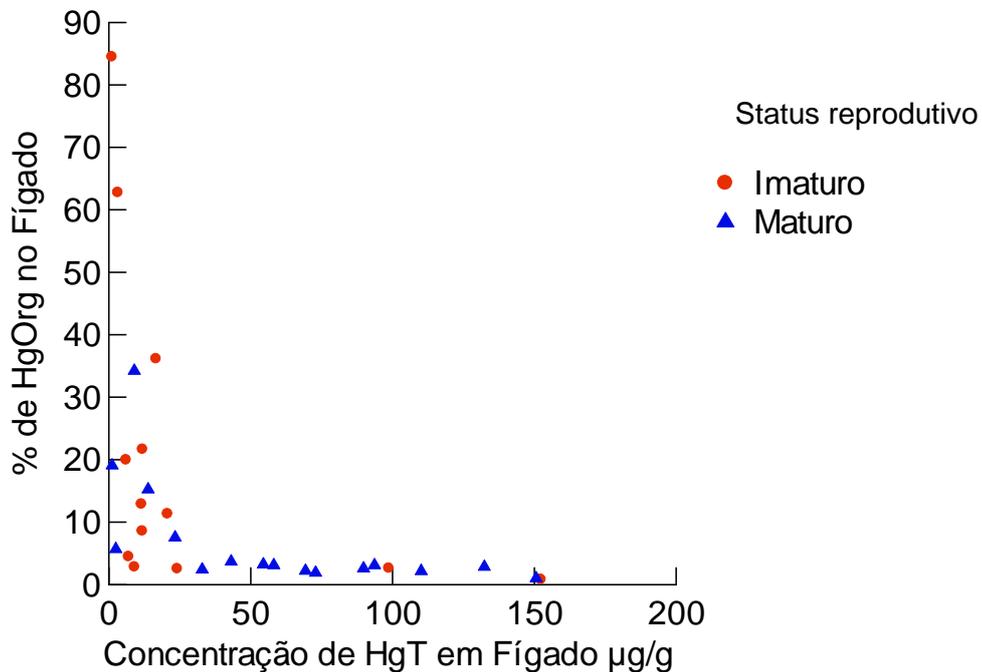


Figura 20: Variação do percentual de HgOrg em relação ao HgT no fígado de indivíduos maduros e imaturos de baleia-piloto das Ilhas Faroe, Atlântico Norte.

4.8 – Comparação entre as concentrações de HgT, HgOrg e SeT em cada grupo coletado.

Não houve diferença significativa entre as concentrações de HgT no fígado nos grupos de WBL e OK (*Mann-Whitney* – $U = 128$; $p = 0,137$) e nos rins (*Mann-Whitney* – $U = 104$; $p = 0,494$). Para as concentrações de HgOrg no fígado também não houve diferença significativa entre os grupos (*Mann-Whitney* – $U = 130$; $p = 0,086$), enquanto nos rins observou-se diferença significativa (*Mann-Whitney* – $U = 166,5$; $p < 0,0001$) (Figura 22).

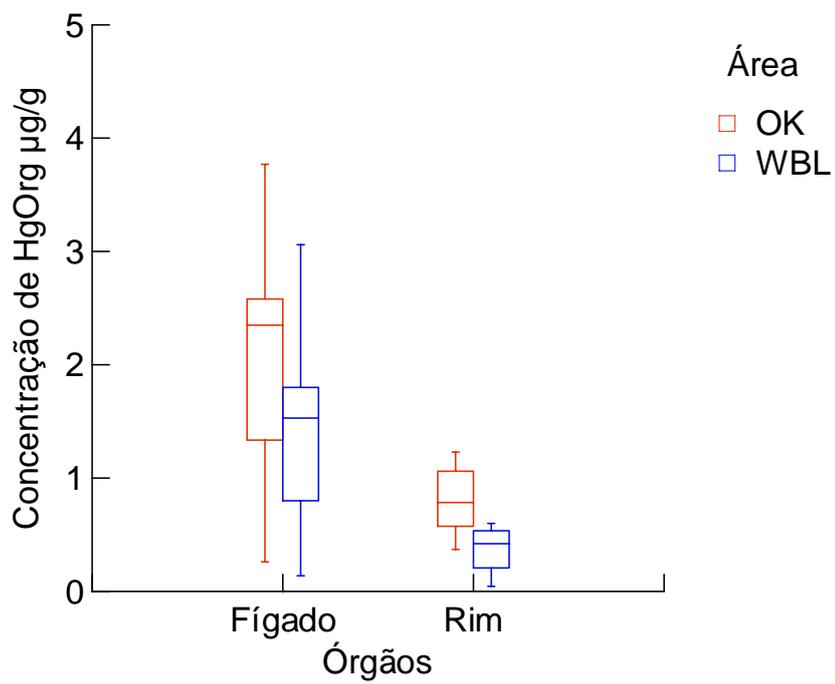


Figura 21: Concentração de HgOrg no fígado e nos rins de baleia-piloto em cada grupo coletado (WBL e OK) das Ilhas Faroe (Atlântico Norte).

O SeT no fígado entre os grupos apresentou diferença significativa (*Mann-Whitney* – $U = 143$; $p = 0,02$) (Figura 23), enquanto nos rins não apresentou (*Mann-Whitney* – $U = 64,5$; $p = 0,32$).

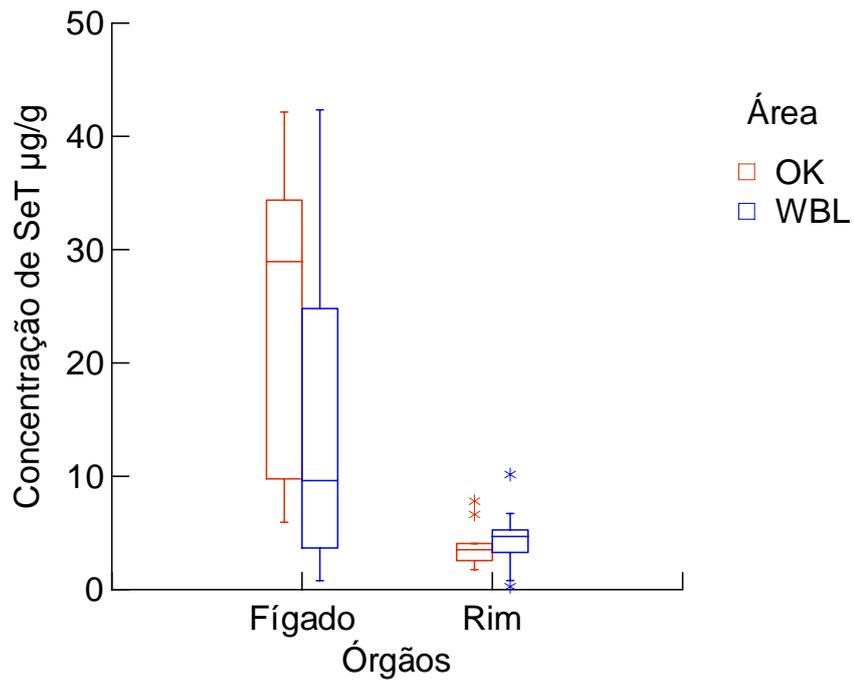


Figura 22: Concentração de SeT no fígado e nos rins de baleia-piloto em cada grupo coletado (WBL e OK) das Ilhas Faroe (Atlântico Norte), (* outliers).

4.9 - Comparação com outros estudos

As concentrações de HgT, HgOrg e SeT ($\mu\text{g/g p.u.}$) em fígado de cetáceos encontrados neste estudo foram comparadas com estudos realizados com indivíduos do mesmo gênero, a partir da elaboração de uma tabela (Tabela V). Abaixo de cada espécie são apresentados os números amostrais utilizados em cada estudo.

A espécie *Globicephala macrorhynchus* foi apresentada na tabela, por ser de mesmo gênero e apresentar hábito alimentar semelhante. A espécie foi coletada na Nova Caledônia (Pacífico Sul), os autores tinham o objetivo de verificar a influência de atividade garimpeira deste local nas concentrações de mercúrio no fígado destes animais.

A fim de verificar se haveria diferença significativa entre o estudo atual e os estudos encontrados na literatura foi aplicado o Teste t, onde, não houve diferença. Este resultado nos sugere que da mesma forma que outros estudos que apresentaram um desvio padrão muito alto (o teste leva em consideração o desvio padrão), nossos resultados estariam dentro deste desvio.

Tabela V: Concentrações de HgT, SeT e HgOrg ($\mu\text{g/g p.u.}$) em fígado de diferentes espécies de cetáceos

Espécies (n)	Localização	HgT	HgOrg	SeT	Autores
<i>Globicephala macrorhynchus</i> (2)	Nova Caledônia	313 \pm 323	0,38 \pm 2,59	146 \pm 162	Bustamente <i>et al.</i> , 2003.
<i>Globicephala melas</i> (14)	Ilhas Faroe Atlântico Norte	127,72 \pm 175,22	17,58 \pm 20,20	-	Schintu <i>et al.</i> , 1992.
<i>Globicephala melas</i> (9)	Noroeste do Oceano Atlântico	40,30 \pm 38,91	-	11,73 \pm 9,94	Mackey <i>et al.</i> , 1995.
<i>Globicephala melas</i> (125)	Ilhas Faroe Atlântico Norte	64*	-	-	Caurant <i>et al.</i> , 1994.
<i>Globicephala melas</i> (29)	Ilhas faroe Atlântico Norte	44,9 \pm 45,4	1,80 \pm 1,29	25,21 \pm 34,10	Presente estudo

Média, - concentrações não determinadas.

5- DISCUSSÃO

Em geral assumimos que os ambientes são modificados e contaminados pela atividade humana. Organismos selvagens dependem, para sua sobrevivência, de um ambiente preservado, por isso a perda e a degradação do habitat pode ter sérias conseqüências também para a população de cetáceos. Por outro lado tem sido difícil comprovar, definir e documentar os efeitos da atividade humana, a não ser quando estes organismos são mortos (Reeves e Leatherwood, 1998).

Embora as evidências de uma ligação entre poluentes químicos e a saúde dos cetáceos permaneçam em grande parte desconhecidas, existe uma crescente preocupação de que grandes cargas de contaminantes podem aumentar a susceptibilidade a doenças e afetar o desempenho reprodutivo destes animais. Além disso, já foi evidenciado que cetáceos (Odontocetos) de muitas áreas, especialmente no hemisfério norte, possuem grande carga de compostos organoclorados e metais pesados (Reeves e Leatherwood, 1998).

Dentre os metais pesados, o mercúrio, devido a sua toxicidade, alta lipofilicidade e elevada meia-vida biológica, principalmente o metilmercúrio, tem sido o elemento que mais vem preocupando a comunidade científica, pois atinge organismos que ocupam o topo da cadeia alimentar como os mamíferos aquáticos e o homem.

As Ilhas Faroe, mesmo estando situadas distantes de fontes antrópicas de poluentes podem estar recebendo mercúrio através da deposição atmosférica, já que os países que mais contribuem para poluição ambiental por este metal pesado estão localizados no hemisfério norte. A água do mar, o ar e também o cabelo das pessoas do hemisfério norte contém maiores concentrações de mercúrio em relação ao hemisfério sul, devido a sua alta industrialização (Mitra, 1986). Outro fator que pode colaborar para o aumento da carga deste metal são as atividades tectônicas, intensas nesta área geográfica, sendo também uma fonte natural deste elemento para o meio ambiente (Caurant *et al*, 1996). Segundo

Fitzgerald (1995), o Oceano Atlântico aparentemente apresenta maiores níveis de mercúrio devido à proximidade ao continente e ao seu menor tamanho.

Considerando que os indivíduos de baleias piloto aqui analisados apresentaram altas concentrações de Hg em fígado e rim (acima de 0,5µg/g de Hg), e que a população das Ilhas Faroe têm esses tecidos como parte de sua dieta, é de grande interesse compreendermos melhor como o mercúrio se apresenta nestes tecidos, para fins comparativos com estudos mais atuais desta mesma espécie e com outros estudos realizados com cetáceos em outras regiões remotas.

Apesar das concentrações de mercúrio e selênio serem elevadas em relação a outros estudos realizados com cetáceos, não existe indicação de que as populações de baleias piloto caçadas próximas as Ilhas Faroe estejam com sua saúde afetadas. Isto sugere que exista uma tolerância destas espécies a estes metais, o que pode ser um indicativo de que o processo de destoxificação esteja ocorrendo (Caurant *et al.*, 1996).

A notável capacidade de cetáceos em bioacumular mercúrio em seus tecidos tem sido tradicionalmente interpretada como um exemplo clássico de biomagnificação, denominação dada ao aumento de concentração de um determinado elemento na presa em relação ao seu predador (Neely, 1980 apud Nigro *et al.*, 2002). Em comparação com outros predadores de topo da cadeia alimentar marinha, como o atum e o peixe espada, cetáceos acumulam mercúrio em concentrações 2 a 3 ordens de magnitude superiores, principalmente no fígado. Esta diferença enfatiza a posição trófica como responsável por altos níveis de mercúrio em cetáceos. (Nigro *et al.*, 2002).

Pelo fato do fígado apresentar altos níveis de Hg, alguns estudos têm analisado este órgão com mais frequência (Lockahrt *et al.*, 2005). No estudo atual as maiores concentrações de mercúrio foram encontradas neste tecido.

O fígado é um órgão importante na metabolização e eliminação de vários compostos tóxicos presentes na corrente sanguínea, por isso a alta concentração neste órgão em relação aos rins. Alguns estudos mostram que por este órgão

apresentar uma grande concentração de proteínas ligantes (como as metalotioneínas), ele tenha a capacidade de seqüestrar grande parte do Hg presente na corrente sangüínea (Boush e Thieleke, 1983).

Estudo realizado por Caurant *et al* (1996) em fígado e músculo de baleia-piloto, em três diferentes grupos, mostrou como as concentrações médias de mercúrio nestes dois tecidos diferem: no fígado foi de 98 ± 57 , 133 ± 104 e 128 ± 175 $\mu\text{g/g}$ e no músculo de $1,69\pm 0,54$, $2,15\pm 0,0,94$ e $2,68\pm 0,18$ $\mu\text{g/g}$ nos três grupos respectivamente. Para mercúrio orgânico no fígado e no músculo foi de $2,37\pm 0,58$ e $1,41\pm 0,40$ $\mu\text{g/g}$, $3\ 4,01\pm 1,14$ e $1,64\pm 0,57$ $\mu\text{g/g}$ e de $17,6\pm 20,02$ e $1,92\pm 0,21$ $\mu\text{g/g}$ para cada grupo. No presente estudo as concentrações de Hg no fígado para os dois grupos estudados foram de $36,40\pm 40,54$ e $59,42\pm 54,83$ $\mu\text{g/g}$ e para HgOrg foram de $1,38\pm 0,80$ e de $2,36\pm 1,49$ $\mu\text{g/g}$ em cada grupo. Podemos observar que tanto para Hg como para HgOrg o estudo realizado por Caurant apresentou concentrações mais elevadas quando comparado com o estudo atual, e que o fígado é o órgão de acúmulo preferencial para o Hg, provavelmente por ser um órgão com a função de detoxificar o organismo.

Segundo Schintu *et al.* (1992), a fração de metilmercúrio em relação ao HgT encontrada no fígado está em torno de 30%. No presente trabalho o percentual de HgOrg no fígado está em torno de 12,82% em relação ao HgT. O que pode nos sugerir que o percentual de metilmercúrio se apresente em valores menores em relação ao estudo citado acima, já que o HgOrg encontrado no fígado na maioria dos casos não é em sua totalidade 100% metilmercúrio. Desta forma podem existir outras formas de HgOrg, além do metilmercúrio.

A relação entre a idade e as concentrações de HgT e SeT em mamíferos marinhos tem sido amplamente examinada (Leonizio *et al.*, 1992, Caurant *et al.*, 1994, Wagemann *et al.*, 1995, Dietz *et al.*, 1996, Monaci *et al.*, 1998, Szefer *et al.*, 2002, Monteiro – Neto *et al.*, 2003). Uma vida longa resulta em um maior tempo de exposição a vários tipos de metais. Organismos mais velhos tendem a apresentar maiores concentrações de HgT e HgOrg, apresentando maior vulnerabilidade aos efeitos tóxicos do mercúrio (Wagemann *et al.*, 1995). As

correlações realizadas entre as concentrações das espécies químicas analisadas e as idades dos indivíduos indicaram que os indivíduos de maior idade, apresentam concentrações maiores de HgT nos rins e de SeT no fígado. Para os outros tecidos (HgT no fígado e SeT nos rins) e para HgOrg nos dois tecidos este padrão não foi observado. Caurant *et al.*, (1994) sugerem que a variação idade-dependente das concentrações de HgT está associada com a diferença de taxas metabólicas ligadas aos ciclos hormonais, obviamente diferente entre os sexos. Sendo assim, este resultado pode ter sido influenciado pelo fato deste estudo apresentar indivíduos com status reprodutivos e gêneros diferenciados, o que caracteriza taxas metabólicas diferentes.

O aumento das concentrações de Hg com a idade ou comprimento, está relacionado principalmente a sua meia-vida biológica, bastante longa para este metal (aproximadamente 500 dias) com alta afinidade ao grupo sulfidril (SH) da cisteína (Kunito *et al.*, 2004). No fígado de baleia-piloto, o mercúrio é incorporado durante a vida em uma taxa que não decresce com a maturidade, já o aumento do cádmio, por exemplo, é particularmente rápido durante os primeiros anos, estabilizando aos 15 anos, idade em que a baleia-piloto cessa seu crescimento (Bloch e Lockyer 1989).

Muitos estudos vêm demonstrando que a diferença entre machos e fêmeas pode ser um fator que interfira na acumulação do mercúrio em mamíferos marinhos. Fatores como taxa de crescimento, reserva energética, estágio de vida e transferência via corrente sanguínea e leite para o feto podem ser os motivos pelo quais os níveis de mercúrio sejam diferentes entre machos e fêmeas. Visando uma maior eficiência na reprodução algumas fêmeas podem acumular reservas energéticas ingerindo uma maior quantidade de alimento (Huckabee *et al.*, 1979). A transferência transplacentar foi estimada por Itano *et al.* (1996) em 0,4% até 1% a carga de Hg transferida durante a gestação para golfinho – listrado (*Stenella coeruleoalba*).

Normalmente, as fêmeas apresentam os maiores níveis de HgT. Estudo já realizado com baleia-piloto mostrou este perfil (Caurant *et al.*, 1994), assim como

em golfinho – pintado – pantropical (*Stenella attenuata*) (André *et al.*, 1990) e narval (*Monodon monocerus*) (Hansen *et al.*, 1990). Os indivíduos machos de baleia-piloto crescem mais rapidamente que fêmeas e alcançam um maior tamanho com a mesma idade. Este fenômeno pode ser relacionado à diferença na taxa de alimentação ou metabolismo. Além disso, os machos continuam crescendo com a idade em relação às fêmeas (Bloch e Lockeyr 1989). Isto pode implicar um maior efeito de diluição e induzir uma menor concentração em machos (Caurant *et al.*, 1994).

Neste estudo os machos e as fêmeas apresentam diferentes status reprodutivos que foram utilizados para verificar se haveria diferença entre eles e as concentrações de HgT, HgOrg e SeT. Apenas para HgT no fígado houve diferença significativa entre os grupos, e que os indivíduos imaturos apresentavam as menores concentrações em relação aos outros indivíduos, nos levando a crer que de acordo com a literatura indivíduos mais jovens e conseqüentemente menos expostos ao Hg apresentariam concentrações menores deste elemento. Para os outros elementos não houve diferença significativa entre o status reprodutivo. Mesmo assim podemos observar neste trabalho que algumas fêmeas grávidas (WBL 11 e WBL 13) possuem concentrações menores de Hg quando comparadas com as outras fêmeas. Um aumento da eliminação pode ser devido à transferência transplacental do Hg para o feto, que já é bem conhecida em mamíferos marinhos. Outras fêmeas grávidas ou grávidas e lactantes (WBL 5, WBL 6, WBL 12, OK 23, OK 24, OK 25) apresentaram concentrações altas de Hg, o que pode estar relacionada a uma mudança na dieta destes indivíduos, ou seja, mudança nos padrões de absorção de metais. Os cefalópodes são os principais itens alimentares para baleia-piloto, mas uma maior quantidade e variedade de espécies de peixes têm sido observada na dieta de fêmeas lactantes, pois o valor energético do peixe é muito maior quando comparado ao cefalópode e este consumo maior de peixe pode ser necessário para suprir o gasto de energia para a produção de leite (Caurant *et al.*, 1996).

Por outro lado, alguns estudos sugerem que a transferência transplacentar de Hg pode ser limitada em cetáceos, devido a um eficiente processo de desmetilação no fígado das mães, com a formação de grânulos de seleneto de mercúrio (HgSe), processo pelo qual menores quantidades de MeHg são transferidos para os fetos (Caurant *et al.*, 1993). No presente trabalho, foi feita uma correlação entre as concentrações molares de SeT e HgT em fígado de fêmeas mães e indivíduos imaturos a fim de verificar em que etapa da vida dos cetáceos o processo de desmetilação é mais ativo. Foi observado que em fêmeas mães este processo é mais ativo, fortalecendo a hipótese acima, o que não foi observado em indivíduos imaturos indicando que este mecanismo não foi tão ativo nesta etapa da vida. Este acúmulo em indivíduos imaturos pode vir mais tarde, primeiro através do leite materno e depois pelos itens alimentares.

Neste estudo foi avaliada a relação entre as concentrações de SeT, HgT, HgOrg entre o fígado e os rins de baleia-piloto. Um proporcional acúmulo foi demonstrado no teste realizado com todos os indivíduos para HgT e HgOrg entre fígado e rim. Ikemoto *et al.*, (2004), assim como no presente trabalho, não observou relação significativa entre fígado e rim para selênio em diferentes espécies de pinípedes. De acordo com Ikemoto *et al.* (2004), há um controle homeostático da concentração de elementos essenciais, nos tecidos, mas não para elementos não essenciais, como no caso do Hg. Pelo fato do Hg pertencer a um grupo químico com alta afinidade pelo grupamento sulfidril (SH), ele mostra alto acúmulo em tecidos como fígado e rim (Haraguchi, 1999).

Das *et al.* (2003) sugerem que HgT não seja um indicador apropriado para os efeitos tóxicos de Hg em mamíferos marinhos, porque são os compostos orgânicos, principalmente o metilmercúrio, os mais tóxicos. As análises de mercúrio orgânico foram realizadas com o intuito de investigar a relação e o percentual de HgOrg em relação ao HgT, já que as análises feitas somente com as concentrações absolutas de HgT não são ideais quando se trata de animais que são utilizados para consumo humano. Os dados apresentados neste trabalho mostram baixos níveis de HgOrg em relação ao HgT, pois a maior parte do

mercúrio encontrado no fígado, de indivíduos adultos de baleia-piloto, está presente como Hg inorgânico, sua forma menos tóxica, sugerindo que o fígado é o órgão onde ocorre o processo de desmetilação (Itano *et al.*, 1984; Caurant *et al.*, 1996; Seixas *et al.*, 2007b).

Vem sendo observado em alguns trabalhos que o processo de desmetilação pode ser sugerido quando o %HgOrg decresce com o aumento de HgT no fígado de baleia piloto (Palmisano *et al.*, 1995, Caurant *et al.*, 1996, Becker *et al.*, 2000), este mesmo perfil também foi verificado no presente trabalho. O HgOrg, em sua maior parte representado pelo metilmercúrio é transformado em Hg inorgânico, por desmetilação. Embora o organismo continue ingerindo grandes cargas de Hg, o fígado continuará o processo de destoxificação, principalmente em organismos mais velhos, levando sempre a uma diminuição dessa proporção (HgOrg/HgT). No rim, apesar dessa relação não ter sido significativa, há uma tendência na diminuição da proporção HgOrg/HgT com o aumento dos níveis de HgT no rim, indicando também que pode estar ocorrendo o processo de desmetilação neste órgão, como já foi observado em trabalho realizado com cetáceos por Meador *et al.*, 1999.

Neste trabalho foi verificado que em alguns indivíduos jovens (WBL 4, OK 19, OK 27 e OK 29) as concentrações de HgOrg no fígado são maiores em relação a alguns indivíduos adultos, isto sugere que o processo de desmetilação em indivíduos jovens ainda não é bem desenvolvido. Os indivíduos jovens deste trabalho apresentaram um percentual médio de HgOrg de 21% e os indivíduos adultos de 8,11%. Este resultado também foi observado em entre indivíduos jovens e adultos de baleia-piloto 55% e 18% (Caurant *et al.*, 1996) e em outras espécies de cetáceos, como: 45% e 2,5%, em golfinho listrado (Itano *et al.*, 1984); 45% e 19% em baleia branca e narval (Dietz *et al.*, 1990).

Segundo Nielsen *et al.* (2000) e Zhang *et al.* (1990) a acumulação e a retenção de selênio em organismos marinhos são processos complexos, sendo a dieta a fonte mais importante deste elemento para estes organismos. No entanto, Maher *et al.* (1997), consideraram que o efeito da dieta sobre o organismo deve ser

avaliado juntamente com a idade, sexo, hábitat do animal ou condições físico-químicas predominantes.

A literatura revela que a taxa de incorporação de elementos, como o selênio, via dieta alimentar ou via absorção direta da água, pode influenciar o metabolismo e subsequente acumulação deste elemento pela biota. Então, as diferenças encontradas nas concentrações de selênio nos diferentes tecidos podem ser reflexo do modo de ingestão do elemento (Hodson e Hilton, 1983).

Altas concentrações de HgT e SeT em fígado de foca (*Phoca hispida*), um mamífero marinho, são relatados: 510 µg/g (p.u.) de Hg (média = 230 µg/g) e 270 µg/g (p.u.) de selênio (média = 81 µg/g) (Wagemann e Muir, 1984). Apesar destas altas concentrações em relação ao estudo atual (152,42 µg/g (p.u.) de Hg e 176,83 µg/g (p.u.) de Se), o animal não apresentou nenhum sintoma de intoxicação, o que pode ter sido prevenido pela ação mútua destes dois elementos.

O exato mecanismo da interação entre mercúrio e selênio ainda não é bem entendido. A seguir estão alguns dos possíveis mecanismos de proteção do selênio contra a toxicidade mercúrio: (1) redistribuição do mercúrio na presença do selênio, (2) competição por sítios de ligação entre mercúrio e selênio, (3) formação do complexo mercúrio-selênio, (4) conversão da forma tóxica do mercúrio em outra forma (mercúrio inorgânico) e (5) prevenção de danos oxidativos (Lourdes *et al.*, 1991).

Nas amostras de fígado analisadas no presente trabalho, a acumulação de mercúrio foi acompanhada pela acumulação de selênio. O que muitos estudos já vem relatando é que o processo de destoxificação ocorre como uma forma de imobilizar o mercúrio sob uma forma não tóxica, formando grânulos insolúveis de seleneto de mercúrio (Wagemann *et al.*, 1998, Capelli *et al.*, 2000, Das *et al.*, 2000, Dietz *et al.*, 2000, Endo *et al.*, 2002). O SeT e o HgT interagem equimolarmente, cuja relação molar é de 1:1 no fígado de mamíferos marinhos. A conclusão da existência de grânulos insolúveis de seleneto de mercúrio (HgSe) no fígado sugere fortemente a existência do processo de imobilização do

metilmercúrio, estocado na forma de mercúrio inorgânico, com o objetivo de reduzir a toxicidade do mercúrio (Nigro *et al.*, 2002). Grânulos de HgSe foram localizados principalmente em macrófagos no fígado, células de *Kupffer*, nos túbulos proximais do rim, pulmão e nos nódulos linfáticos de cetáceos (Das *et al.*, 2000). A precipitação destes grânulos durante a vida de cetáceos talvez justifique porque cargas corporais nestes organismos não alcançam um equilíbrio, mas aumentam por toda a vida do indivíduo (Nigro *et al.* 2002).

Ao contrário do que acontece em áreas com altos níveis de mercúrio, existem situações em que o selênio é o elemento que aparece em grandes concentrações e, desta forma, o mecanismo inverso pode ocorrer, ou seja, o mercúrio age na proteção contra a toxicidade do selênio (Wagemann *et al.*, 2000).

No apêndice 1 (em anexo) estão as relações molares SeT/HgT para todos os indivíduos de baleia-piloto (fígado e rim). Alguns indivíduos apresentaram uma relação molar Se/Hg maior que 1 no fígado, este perfil pode indicar que o Se estaria participando do processo de destoxificação de outros metais como, por exemplo, a prata. Estudo realizado por Becker *et al.*, (1994) com baleia-piloto relatou correlações positivas entre a prata e o selênio, e concluiu que a prata pode também se acumular com a idade, como acontece para mercúrio e selênio. Uma possível explicação para esta correlação é que a prata se liga ao selênio formando um complexo, como tem sido observado em animais de laboratório.

Em fígados de baleias piloto, o selênio é provavelmente envolvido na formação de HgSe, mas a destoxificação pode ser um indicativo de outro processo no rim, onde o selênio pode também promover a ligação do mercúrio com proteínas menos cruciais após a formação dos grupos de Se – trissulfeto com elevada afinidade por esses elementos tóxicos (Chen *et al.*, 1974 apud Caurant *et al.*, 1996). Alguns estudos relatam a presença de HgSe em rim de cetáceos (Das *et al.*, 2000; Arai *et al.*, 2004). Burke *et al.*, (1977) relataram que a maior parte do mercúrio em rim de ratos foi encontrada na fração solúvel, ou seja, ligados as metalotioneinas.

A alta absorção de mercúrio acompanhada por uma excreção insignificante podem ter forçado os cetáceos a desenvolverem, durante a sua evolução, um processo muito eficiente de estocagem e destoxificação do mercúrio (Nigro *et al.*, 1996). Ao contrario dos cetáceos, os pinípedes, possuem um eficiente processo de excreção pela pele, já as focas destoxificam o mercúrio através da ação das metalotioneínas. Em aves, os grânulos minerais são formados, somente se a eliminação através das penas não for suficiente (Nigro e Leonzio 1996).

A presença de metalotioneínas como proteínas capazes de formar um complexo solúvel com metais tóxicos tem sido demonstrado em baleia-piloto, porém mais de 95% do mercúrio foi encontrado ligado à fração insolúvel, mostrando que essas proteínas não participam na destoxificação do mercúrio (Caurant *et al.*, 1996).

Palmisano *et al.*, (1995) sugerem a existência de duas etapas dentro do processo de acumulação e desmetilação do Hg em cetáceos. Na primeira etapa quando o Hg se encontra em níveis baixos ele é retido na sua forma metilada e na segunda, em altos níveis, o Hg é desmetilado, com acúmulo simultâneo de Se, o que parece ser o mecanismo predominante. Os autores ainda determinaram que 63% do HgT presente no fígado de um golfinho está na forma de selenocompostos muito insolúveis, certamente presente na forma de seleneto de mercúrio (HgSe), mas também, o Hg pode estar envolvido na formação de outros selenocompostos como Hg-selenoproteínas. O seleneto de mercúrio não é excretado por cetáceos, sendo acumulado no interior das células, podendo ser este o último estágio no processo de destoxificação do mercúrio, particularmente importante em organismos mais velhos. (Martoja e Berry, 1980; Caurant *et al.*, 1994). Análises histológicas em fígado de beluga revelaram grânulos escuros em macrófagos que podem ser o indicativo da presença de HgSe, similar a outros estudos relatados em golfinhos (Nigro, 1996).

A capacidade de cetáceos em excretar Hg é muito baixa. Se o balanço é feito a partir da ingestão e excreção do Hg por toda a vida do animal, fica claro que a maior parte do mercúrio permanece nos tecidos. Esta fraca capacidade de

eliminação deve ser balanceada por diferentes mecanismos de proteção (Monaci *et al.*, 1998).

A tolerância a altos níveis de Hg pelos cetáceos pode ser devido a um metabolismo especial. Os pulmões dos cetáceos não são tão eficientes como as brânquias para excretar metilmercúrio, nenhum cetáceo tem glândulas de suor ou pêlos os quais são caminhos para excreção adicionais em outros animais. No entanto possuem a capacidade de transformar o metilmercúrio em microcristais de HgSe. A maior parte do Hg acumulado está nesta forma, a qual não é atacada por enzimas proteolíticas ou por ácidos fortes e é, portanto toxicologicamente inerte (Monaci *et al.*, 1998).

Em estudo realizado por Bennett *et al.* 2001, foi observado que a exposição crônica a metais tóxicos como o mercúrio vem causando imunossupressão em cetáceos. As concentrações de Hg, Se em fígado de *Phocoena phocoena* foram significativamente maiores em cetáceos que morreram de doenças infecciosas em relação a animais saudáveis que morreram de trauma físico agudo. Neste mesmo estudo, as concentrações médias de HgT e SeT em organismos que morreram de doenças infecciosas foi de $20,0 \pm 5,5$ e $10,0 \pm 3,5$ respectivamente e de trauma físico foi de $12,3 \pm 3,4$ para Hg e de $7,62 \pm 2,4$ para Se. Outro fato bem relevante neste estudo foi à associação entre Hg e Se, pois organismos que morreram por algum tipo infecção apresentaram as mais altas médias da razão molar Hg:Se. Esta associação prevê uma hipótese que metais tóxicos causam imunossupressão em mamíferos marinhos. Estudo realizado por Caurant (unplub) revelou que erosões gástricas e úlceras têm sido observadas em numerosos indivíduos de baleia-piloto, o mesmo tipo de distúrbio que tem sido descrito em belugas encontradas mortas ou encalhadas no poluído estuário de St. Lawrence, Canadá. (Martineau *et al.*, 1988). Os possíveis efeitos desses contaminantes na saúde e reprodução de baleia-piloto não foram ainda identificados (Dam e Bloch, 2000).

Comparação entre os grupos (WBL e Ø).

As concentrações de elementos traço têm sido mostradas variando substancialmente de grupo para grupo de baleia-piloto nas Ilhas Faroé (Caurant *et al.*, 1993). Mas para o presente trabalho observamos que não houve diferença significativa entre as concentrações de HgT no fígado e nos rins entre os grupos amostrados (WBL e Ø). Por outro lado às concentrações de HgOrg apresentaram diferença significativa nos rins entre os dois grupos, o que provavelmente está relacionado ao maior número de indivíduos imaturos, ou seja, indivíduos que apresentam um maior percentual de HgOrg, fato este que fortalece a hipótese do mecanismo de desmetilação ainda não ser tão ativo neste grupo. Houve também diferença significativa entre as concentrações de selênio no fígado dos indivíduos das duas áreas.

A contaminação parece ser dependente dos grupos nos quais os indivíduos pertencem. Esta diferença pode refletir uma segregação geográfica, sazonal ou comportamental entre os grupos em cada área de coleta. Além disso, estes grupos podem estar sendo expostos a ofertas alimentares diferentes em cada área de coleta, já que a baleia-piloto é um organismo oportunista, o que poderia estar influenciando nestas diferentes concentrações. Andersen (1993), a partir de análise de isoenzimas sugeriu a possibilidade da existência de pelo menos duas sub-populações de baleia-piloto Faroenses, o que pode levar essas populações a apresentarem mecanismos de bioacumulação e metabolismos diferentes.

Por outro lado, podemos observar que o número amostral de cada área foi diferente e conseqüentemente a distribuição do status reprodutivo foi diferenciada em cada área, o que pode ter influenciado o resultado final de comparação entre as duas áreas de coleta.

Comparação com outros estudos

Neste estudo foram quantificados níveis de HgT, HgOrg e SeT em fígado e rim de baleia-piloto (*Globicephala melas*). A maior parte dos estudos realizados usa o fígado como o tecido mais analisado devido a sua importância como órgão responsável no processo de destoxificação, assim as comparações foram realizadas somente com este órgão e com o gênero *Globicephala*. Podemos observar que de acordo com o teste aplicado o estudo atual não apresenta diferença significativa entre as concentrações de HgT, HgOrg e SeT, em relação aos estudos encontrados na literatura. Porém analisando os resultados apresentados na tabela, apesar dos altos desvios padrões, podemos observar que o estudo realizado por Schintu *et al.*, 1992, apresentou concentrações maiores para a mesma espécie, o que pode estar relacionado à idade mais avançada dos indivíduos analisados, ou também a oferta alimentar diferenciada do local de coleta.

Para a *Globicephala macrorhynchus* também foram achados valores altos em relação ao estudo atual, podendo estar relacionado ao local de coleta que é muito impactado por atividades garimpeiras, atingindo assim suas principais presas.

6-CONCLUSÕES

- As maiores concentrações para todos os elementos foram encontradas no fígado.

- As concentrações de HgT nos rins e SeT no fígado aumentam com a idade do animal, e conseqüentemente com o tamanho em baleia-piloto. Este perfil não foi observado para HgOrg.

- Indivíduos com maior idade, apresentaram concentrações maiores de HgT nos rins e de SeT no fígado. Para os outros tecidos (HgT no fígado e SeT nos rins) e para HgOrg nos dois tecidos este padrão não foi observado.

- No fígado da baleia-piloto foi verificada diferença significativa entre as concentrações de HgT quanto ao status reprodutivo da baleia-piloto, sugerindo que os indivíduos imaturos apresentem as menores concentrações de HgT.

- A comparação entre as concentrações de HgT e HgOrg nos tecidos demonstrou um aumento concomitante, com exceção das concentrações de SeT. Sugerindo que o fígado e o rim recebem cargas de mercúrio e participam de alguma forma no processo de mobilização deste elemento, seja inativando sua ação tóxica ou excretando suas formas não tóxicas.

- Foi observada uma diferença de concentração entre grávidas e grávidas e lactantes. Algumas fêmeas grávidas ou grávidas e lactantes possuem níveis menores de Hg quando comparadas com as outras fêmeas possivelmente devido à transferência transplacental do Hg para o feto.

- Fêmeas mães apresentaram uma boa correlação molar entre HgT e SeT em relação aos indivíduos imaturos, sugerindo que este processo de desmetilação é mais ativo quando as concentrações de HgT são maiores.

- O percentual de HgOrg foi maior em indivíduos imaturos em relação aos maduros, sugerindo novamente que o processo de desmetilação é mais ativo em indivíduos adultos, que conseqüentemente apresentam as maiores concentrações de HgT.

-A relação molar significativa entre HgT e SeT em baleia-piloto sugere fortemente que SeT tem um efeito protetor contra a ação de compostos tóxicos como o Hg nos indivíduos estudados.

- A diferença significativa encontrada entre as concentrações HgOrg no rim e os grupos, assim como para SeT no fígado, podem sugerir uma diferença na segregação geográfica, sazonal ou comportamental entre as populações, indicando que os níveis de contaminação parecem ser dependentes dos grupos nos quais os indivíduos pertencem. Além disso estes dois grupos podem possuir uma oferta alimentar diferenciada em cada área. Por outro lado, este resultado pode ser o reflexo da composição quantitativa da amostra do estudo em questão.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

AGUILAR, A., Borrell, A. and Pastor, T. Biological factors affecting variability of persistent pollutant levels in cetacean. **The Journal of Cetacean Research and Management**, Special Issues 1, p. 83-116, 1999.

ANDERSEN, L.W., 1993. Further studies on the population structure of the long-finned pilot whale, *Globicephalas melas*, off the Faroe Islands. *Rep. Int. Whal. Commn.* **14**, pp. 219–232 Special Issue.

ANDRÉ, J.M., Amiard-Triquet, C. Boudou, A., Amiard, J.C. e Ribeyre, F. Cadmiun contamination of tissues and organs of delphinids species (*Stenella Attenuata*) influence of biological and ecological factors. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.20, p. 290-306, 1990.

ARAI T., Ikemoto A., Terada Y., Kunito T., Tanabe S et al. Chemical forms of mercury and cadmium accumulated im marine mammals and seabirds as determined by XAFS analysis. **Environmental Science Technology**, v.38: p.6468 – 6474, 2004.

ARKIVE. Images of life on Earth. Long-finned pilot whale (*Globicephala melas*). (http://www.arkive.org/species/ARK/mammals/Globicephala_melas/more_info.htm) Acessado em 12 de Dezembro de 2007.

ATSDR (Agency for Toxic Sbstances and Disease Registry). Toxicological profiles for mercury. **U.S. Department of Health e Human Services**, 617p., 1999.

ATSDR (Agency for Toxic Sbstances and Disease Registry). Toxicological profiles for selenium. **U.S. Department of Health e Human Services**, 457p., 2003.

AZEVEDO F.A. and Chansin A. Da Matta. Metais. Gerenciamento da toxicidade. Ed. Atheneu intertox., São Paulo, 2003, 555 p.

BASTOS WR, Malm O, Pfeiffer WC, Cleary D: Establishment and analytical quality control of laboratories for Hg determination in biological and geological samples in the Amazon, Brazil. *Ciênc. Cult.* 50(4), 255-260, 1998.

BEVERIDGE. T.J., Hughes, M.N.; Lee, H., Leung, K.T., Poole, R.K., Savvaidis, I., Silver, S. and Trevores, J. T. Metal-microbe interactions: contemporay approaches. **Advances in Microbial Physiology**, Academic Press, v.38, p. 178-243, 1997.

BENNETT, P.M. , P.D. Jepson , R.J. Law , B.R. Jones , T. Kuiken, J.R. Baker, E. Rogan, J.K. Kirkwood. Exposure to heavy metals and infectious disease mortality in harbour porpoises from England and Wales. **Environmental Pollution**, v.112, p. 33-40, 2001.

BECKER R.P., Mackey E.A., Demiralp R., Suydams R. Early G., Koster B. J. and Wise S.A. Relationship of Silver with Selenium and Mercury in the Liver of Two Species of Toothed Whales (Odontocetes). **Marine Pollution Bulletin**, v. 30 p. 262-271, 1994.

BECKER P. R. Concentration of Chlorinated Hydrocarbons and Heavy Metals in Alaska Arctic Marine Mammals. **Marine Pollution Bulletin**, V. 40, (10), p. 819-829, 2000.

BLOCH, D., Lockyer, C. Age-related parameters of the pilot whales off the Faroe Islands. Paper SC/41/SM15, Rep. Int. Whal. Commn, 1989.

BLOCH D., Desportes G., Mouritsen R., Skaaning S. and Stefanson E. An introduction to studies of the ecology and status of the long-finned pilot whale (*Globicephala melas*) off the Faroe Islands, 1986–1988. **Rep Int Whaling Comm**, v.14, p. 1–32, 1993.

BOUSH, G.M. and Thieleke, J.R. Mercury Content in Sharks. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 30, p. 284-290, 1983.

BRITTA FÄNGSTRÖM. Human Exposure to Organohalogen Compounds in the Faroe Islands, **Department of Environmental Chemistry Stockholm University**, 2005.

BRYAN, G.W. Pollution due to heavy metals and their compounds. In: Kinne, O. (Ed.), **Marine Ecology**, v.5 Part 3. Wiley-Interscience, Chichester, p. 1289–143, 1984.

BURK, R. F., Jordan, H. E., JR., and Klker, K. W. Some effects of selenium status on inorganic mercury metabolism in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* V.40, p.7 1-82, 1977.

BUSTAMANTE P., Caurant F., Fowler S.W. and Miramand P., Cephalopods as a vector for the transfer of cadmium to top marine predators in the north-east Atlantic Ocean. **The Science of the Total Environment** . v. 220, pp. 71–80, 1998.

BUSTAMANTE, P., Garrigue, C., Breau, L., Caurant, F., Dabin, W., Greaves, J., and Dodemont, R. Trace elements in two odontocete species (*Kogia breviceps* and *Globicephala macrorhynchus*) stranded in New Caledonia (South Pacific). **Environmental Pollution**, v.124, p. 263–271, 2003.

CANELA, M. C.; “Determinação de Mercúrio”. **Dissertação de Mestrado**, UNICAMP, 1995.

CAPELLI R., Drava G, De Pellegrini R., Minganti V. and Poggi R. Study of trace elements in organs and tissues of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) found dead along the Ligurian coasts (Italy). **Advances in Environmental Research**, v.4, n.1, p. 31-42, 2000.

CAURANT, F., Amiard-Triquet, C., Amiard, J.C. Factors influencing the accumulation of metals in pilot whales (*Globicephala melas*). The Faroe Islands. **Rep. Int. Whal. Comm.** (Special Issue), v.14, p.369-390, 1993.

CAURANT, F., Amiard, C., Amiard-Triquet, C. E Sauriau, P.G. Ecological and biological factors controlling the concentration of trace elements (As, Cd, Hg, Cu, Se, Zn) in delphinids *Globicephala melas* from the North Atlantic Ocean. **Science Total Environmental**, v. 220, p. 71-80, 1994.

CAURANT, F., Navarro, M. and Amiard, C. Mercury in pilot whale: possible limits to the detoxification process. **The Science of the Total Environment**, v.186 p. 95-104, 1996.

CHATTERJEE, A. and Bhattacharya, B. Temporal and organ-specific variability of selenium in marine organisms from the eastern coast of India. **Advances in Environmental Research**, v. 5, p. 167-174, 2001.

CLARKSON T. W. Human toxicology of Mercury. **The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine**. V. 11 (2-3), p. 303 – 317, 1998.

CUVIN-ARALAR MA. L. A and Furness R. W. Mercury and selenium interaction: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.21, n.3, p. 348-364,1991.

COUNTER S. A. And. Buchanan L. H. Mercury exposure in children: a review. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 198, n.2, p. 209-230, 2004.

DAM M. U Bloch D. Screening of Mercury and Persistents Organochlorine Pollutants in Long-Finned Whale (*Globicephala melas*) in the Faroe Island. **Marine Pollution** ,v. 40,n.12, p. 1090-1099, 2000.

DAS K. Debacker V. Pillet S. and Bouquegneau JM. Metallothionein in marine mammals. **Cellular and Molecular Biology**, v. 46, p.283-294, 2000.

DAS K. Debacker V. Pillet S. Bouquegneau JM. Heavy metals im marine mammals, In: Vos, J.G., Bossart, G.D., Fournier, M., O' Shea, T.J., eds. **Toxicology of marine mammals**. London: Taylor and Francis Group, p. 135-167, 2003.

DE GUISE S, Lagace A, Béland P. Tumors in St. Laurence beluga whales (*Delphinapterus leucas*). **Veterinary Pathology**; v.31, p.444-9, 1994.

DIETZ R, C. O. Nielsen, M.M. Hanse and C.T. Hansen. Organic Mercury in Greenland birds and mammals. **Science Total Environmental**, v.95, p. 41-51, 1990.

DIETZ R, Riget F, Johansen P. Lead, cadmium, mercury and selenium in Greenland marine animals. **Science Total Environmental** v.186, p.67-93, 1996.

DIETZ, R.; Riget, F. and Born, E.W. An assessment of selenium to mercury in Greenland marine animals. **The Science of the Total Environment**, v. 245, p. 15-24, 2000.

DONOVAN, G. P., C. H. Lockyer, and A. R. Marti. Biology of Northern Hemisphere Pilot Whales: A Collection of Papers. **Reports of the International Whaling Commission**, Special Issue 14. Cambridge, 1993.

DOKSAETER L., Olsen E., Nottestad L., Ferno A. Distribution and feeding ecology of dolphins along the Mid-Atlantic Ridge between Iceland and the Azores. **Deep-Sea Research II** V. 55 p. 243-253, 2008.

DUDOK VAN HEEL, W.H. Raised levels of mercury and chlorinated hydrocarbons in newly captured *Tursiops truncatus* from Florida waters. **Aquatic Mammals**, v.1, p. 24-36, 1972.

ENDO T., Haraguchi K., Sakata M. Mercury and selenium concentration in the internal organs of toothed whales and dolphins marketed for human consumption in Japan. **Science Total Environmental**, v. 300, p.15-22, 2002.

FAIRWEATHER-TAIT S.J. Bioavailability of selenium. **European Journal of Clinical Nutrition** v. 51, Suppl 1:S203, 1997.

FEROCI G., Badiello R., Fini A. Interactions between different selenium compounds and zinc, cadmium and mercury **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**. V.18, (3), p. 227-234, 2005.

SILVEIRA, L.C., Ventura D.F. e Pinheiro M.C.N. Toxicidade Mercurial- Avaliação do sistema visual em indivíduos expostos a níveis tóxicos de mercúrio. *Revista Neurociências*. São Paulo. v.56, p. 36-38, 2004.

FITZGERALD, W. Is Mercury Increasing in the Atmosphere? The Need for an Atmospheric Mercury Network (AMNET). **Water, Air and Soil Pollution**, v. 80, p. 245-254, 1995.

FOWLER, S.W. AND Benayoun, G. Influence of environmental factors on selenium flux in two marine invertebrates. **Bulletin of Environment Contamination and Toxicology**, v. 37, p. 59-68, 1976.

FRODELLO J. P., Roméo M. and Viale D. Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. **Environmental Pollution**, v.108, n.3, p. 447-452, 2000.

GERPE MS, Rodriguez DH, Moreno VJ, Bastida RO, Moreno JAE. Accumulation of heavy metals in the Franciscana (*Pontoporia blainvillei*) from Buenos Aires Province, Argentina. **LATAM**; v.1,n.1, p. 95-106, 2002.

GILBERT, S.G. and Grant-Webster, K.S. Neurobehaviorial Effects of Developmental Methylmercury Exposure. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, p. 135-142, 1995.

GILLESPIE, R.B. AND Baumann, P.C. Effects of high tissue concentrations of selenium on reproduction by bluegills. **Transactions of American Fisheries Society**, v. 115, p. 208-213, 1986.

GRANDJEAN P., Weihe P., Jorgensen PJ., Clarkson T., Cenicchiari E., Videro T. Impact of maternal seafood diet on fetal exposure to mercury, selenium and lead. **Archives Environmental Health** v. 47,n.3, p. 185-195, 1992.

GRANDJEAN P., Weihe P., White RF, Debes F., Araki S., Yokoyama K., et al., Cognitive deficit in 7-year-old children whit prenatal exposure to methylmercury. **Neurotoxicology and Terato** v.19,n.6, p. 417-428, 1997.

GRANDJEAN P, Budtz-Jorgensen PJ., Steuerwald U., Heinzow B., Needdham L., Jorgensen P., et al. Attenuated growth of breast-fed children exposed to increased concentrations of methylmercury and polychlorinated biphenyls. **FESEBJ**, v.17, p. 699-701, 2003.

HAMILTON, S.J. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. **Science of the Total Environment**, v. 326, p. 1-31, 2004.

HANSEN C.T, Nielsen C.A., Dietz R. and Hansen M.M. Zinc, cadmium, mercury and selenium in minke whales, belugas and narwhals from West Greenland. *Polar Biology*. V.10 (7), p. 529-539, 1990.

HARAGUCHI H. Multielement profiling analyses of biological, geochemical and environmental samples as studied by analytical atomic spectrometry. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v.72, p.1163-86, 1999.

HODSON, P.V and Hilton, J.W. The nutritional requirements and toxicity to fish of dietary and waterborne selenium. **Ecology Bulletin**, v. 35, p. 335-340, 1983.

HORVAT, M.; "In Global and Regional Mercury Cycles: Sources, Fluxes and Mass Balances, Baeyens, W. Et al., p 1, 1996.

HUCKABEE, J.W.; Elwood, J.W. and Hildebrand, S.C.. Accumulation of mercury in freshwater biota. In: The biogeochemistry of mercury in the environment (J.O. Nriagu, eds.), **Elsevier**, p.277-302, 1979.

ITANO K., Kawai S., Miyazaki N., Tatsukawa R. and Fujiyama T., Mercury and selenium levels in striped dolphins caught off the Pacific coast of Japan. **Agricultural and Biological Chemistry** V. 48, p. 1109–1116, 1984.

IKEMOTO T, Kunito T, Watanabe I, Yasunaga G, Baba N, et al., Comparison of trace element accumulation in Baikal seals (*Pusa sibirica*), Caspian seals (*Pusa caspica*) and northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). **Environmental Pollution**, v 127 p. 83-97, 2004.

JEFFERSON T.A., Webber M.A. e Pitman R.L. Marine mammals of the world: A comprehensive guide to their identification. Published by Elsevier/USA. 573p, 2008.

JOIRIS, C.R.; Holsbeek, L.; Bolba, D.; Gascard, C.; Stanev, T.; Komakhidzes, A.; Baumgarten, W. and E Birkun, A. Total and organic mercury in the Black Sea harbour porpoise *Phocoena phocoena relicta*. **Marine Pollution Bulletin**, V.42,n.10, p. 905-911, 2001.

JULSHAMN, K., K.-J. Andersen, E. Svendsen, O. Ringdal and M. Egholm. Trace elements intake in the Faroe Islands III. Element concentration in humans organs

in population from Bergen (Norway) and the Faroe Island. **Science Total Environmental**, v.84, p.25-33, 1989.

KEHRIG, H.A.; Malm, O. and Moreira, I. Mercury in a widely consumed fish *Micropogonias furnieri* (Demarest, 1823) from four main Brazilian estuaries. **Science Total Environmental**, v.213, p. 263-271, 1998.

KEHRIG, H.A. and Malm, O. Methylmercury in fish as a tool for understanding the Amazon mercury contamination. **Applied Organometalic Chemistry**, v.13, p.689-696, 1999.

KEHRIG HA, Seixas TG, Baêta AP, Lailson-Brito Jr. J, Moreira I, and Malm O. Total mercury, methylmercury and selenium in the livers and muscle of different fishes and a marine mammal from a tropical estuary - Brazil. **RMZ-MandG**; v.51,n.1,p.1111-1114, 2004.

KEHRIG HA, Costa M., Moreira, I., and Malm, O. Total Mercury in Diffents Species of Mollusc from Two Estuarines in Rio de Janeiro State. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17,n.7, p.1409-1418, 2006.

KEMPER C, Gibbs P, Obendorf D, Marvanek S, and Lenghaus C. A review of heavy metal and organochlorine levels in marine mammals in Australia. **Science Total Environmental**; v.142,p. 129-139, 1994.

KOEMAN J. H., Hadderingh R. H., Bijleveld M. F. I. J. Persistent pollutants in the white-tailed eagle (*Haliaeetus albicilla*) in the Federal Republic of Germany. **BiologicalConservation**, V.4,(5), p.373-377,1972.

KÖLBL, G. Concepts for the identification and determination of selenium compounds in the aquatic environment. **Marine Chemistry**, v. 48, p. 185-197, 1995.

KUNITO T, Nakamura S, Ikemoto T, Anan Y, Kubota R, Tanabe S, Rosas FCW, Fillmann G, Readman JW. Concentration and subcellular distribution of trace elements in liver of small cetaceans incidentally caught along the Brazilian coast. **Marine Pollution Bulletin**, v.49, p. 574-587, 2004.

LARES, M.L., Flores-Munõz G. , Lara-Lara, R. Temporal variability of bioavailable Cd, Hg, Zn, Mn and Al in an upwelling regime. **Environmental Pollution** v.120 p. 595–608, 2002.

LAILSON-BRITO JR J, Azeredo MAA, Malm O, Ramos RA, Di Benedetto AP, Saldanha MFC. Trace metals in liver and kidney of the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) from the northern coast of Rio de Janeiro State, Brazil. **LATAM**; v.1,n.1, p.107-114, 2002a.

LAILSON-BRITO JR J, Kehrig HA, Malm O. Mercúrio total nos tecidos do boto-cinza, *Sotalia fluviatilis* (Cetacea, Delphinidae), da baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brasil. In: Prego R, Duarte A, Panteleichouk A, Santos TR, editors. Estudos sobre contaminação ambiental na Península Ibérica. **Instituto Piaget, Viseu**, Portugal, p. 291-300, 2002b.

LAILSON-BRITO JR J. Bioacumulação de mercúrio, selênio e compostos organoclorados (DDT, PCB e HCB) em cetáceos da costa Sudeste e Sul do Brasil. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.

LEMELY A. D. Teratogenic effects of selenium in natural populations of freshwater fish. **Ecotoxicology and Environment Safety**. V.26, p. 181-204, 1993.

LEMELY A. D. Environmental Hazard of Selenium in the Animas La Plata Water Development Project. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 37, (1), p. 92-96, 1997.

LEMELY, A.D. Selenium Impacts on Fish: An Insidious Time Bomb. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 5, n. 6, p. 1139-1151, 1999.

LEONZIO C., Focardi S. And Fossi C. Heavy metals and selenium in stranded dolphins of the Northern Tyrrhenian (NW Mediterranean). **The Science of The Total Environment**, v. 119, p.77-84, 1992.

LOURDES MA., Cuvin-Aralar A., Furness R.W. Mercury and selenium interaction: a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 21, (3), p.348-364, 1991.

LOCKHART W.L.; Stern G.A.; Wagemann R.; Hunt R.V.; Metner D.A. et al. Concentration of mercury in tissues of beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from several communities in the Canadian Arctic from 1981 to 2002. **Science of the Environmental**, v. 351-352, p. 391-412, 2005.

MACKEY E. A., Demiralp R., Becker P.R, Greenberg R.R., Koster B.J. and Wise S.A. Trace element concentrations in cetacean liver tissues archived in the National Marine Mammal Tissue Bank. **Science of the Total Environment**, n.1, p. 25-41, 1995.

MAHER, W.et al. Selenium occurrence, distribution and speciation in the cockle *Anadara trapezia* and the mullet *Mugil cephalus*. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 11, p. 313-326, 1997.

MALM O. Pfeiffer, W.C., Bastos, W.C. e Souza, C.M.M. Utilização do acessório de geração de vapor frio para análise de mercúrio em investigações ambientais por espectrofotometria de absorção atômica. **Ciência e cultura** (Revista da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência) v. 41(1) p. 88 – 92, 1989.

MARCOVECCHIO JE, Gerpe MS, Bastida R, Rodriguez DH, and Morón SG. Environmental contamination and marine mammals in coastal waters from Argentina: an overview. **Science Total Environmental**, v.154, p. 141-151, 1994.

MARTINEAU D., Lagacé T., Béland P., Higgins R., Armstrong D., and Shugart L. R. Pathology of stranded belugas whales (*Delphinapterus leucas*) from St. Lawrence estuary, Québec, Canada. **Journal of Comparative Pathology** v.98, p. 287-310, 1988.

MARTOJA R. and Viale D., Accumulation de granules de sélénure mercurique dans le foie d'Odontocètes (mammifères marins, Cétacés): un mécanisme possible de détoxification du méthylmercure par le sélénium. **Cr. Hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris D**, v. 285, p. 109–112, 1977.

MARTOJA R., and Berry JP. Identificación of tiemanmte as a probable product of demethylation of mercury by selenium in cetaceans. **Vie Milleu**, v.30, p. 7-10, 1980.

MEADOR J.P., Ernest D., Hohn A.A., Tilbury K., Goerzelany, G., Worthy J. and Stein E. Comparasion of Elements in Bottlenose Dolphins Stranded on the Beaches of Texas and Florida in the Gulf of Mexico over a One-Year Period. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.36, p.87-98, 1999.

MITRA S. Mercury in the ecosystem. Its Dispersion and Pollution Today. Trans Tech Publications. Switzerland-Germany-UK-USA, 1986.

MONACI F., Borrel, A Leonzio C., Marsili L. And Calzada N. Trace elements in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the western Mediterranean. **Environmental Pollution**, v. 99, n.1, p.61-68, 1998.

MONTEIRO-NETO C., Renata Vinhas Itavo, Luiz Eduardo de Souza Moraes. Concentration of heavy metals in *Sotalia fluviatilis* (Cetacea:Delphinidae) off the coast of Ceará, northeast Brazil. **Environmental Pollution** v.123, p 319–324, 2003.

NAMMCO- **North Atlantic Marine Mammals Commission**, *Status of Mammals In the North Atlantic*. The Long-Finned Pilot Whale, p.1-9, 1998.

NAS, Selenium, **National Academy of Sciences**, Washington D.C, 1977.

National Research Council (2005), Radiative forcing of climate change: Expanding the concept and addressing uncertainties, 207pp., National Academies Press.

NIELSEN J.B., Nielsen F., Jørgensen P.J., and Grandjean P. Toxic Metals and Selenium in Blood from Pilot Whales (*Globicephala melas*) and Sperm Whales (*Physeter catodon*). **Marine Pollution Bulletin**, V. 40,(4), p. 348-351, 2000.

NIGRO, M., Leonzio, C. Intracellular storage of mercury and selenium in different marine invertebrates. **Marine Ecology Progress Series**, v.135, p.137±143. Pauly, D., Trites, A.W., Capuli, E., Christensen, V., 1996.

NIGRO, M., Campana, A., Lanzillotta, R. and Ferrara, R. Mercury exposure and elimination rates in captive bottlenose dolphins. **Marine Pollution Bulletin**, v.44 p. 1071-1075, 2002.

OHLENDORF, H.M. Bioaccumulation and effects of selenium in wildlife. In: Jacobs LW, editor. Selenium in Agriculture and the Environment, **Soil Science Society of America Special publication**, n. 23, Madison, WI, p. 133-177, 1989.

OHLENDORF, H.M. Selenium was a Time Bomb. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 5, n.6, p. 1181-1185, 1999.

OLIVAS R. M., Donard O. F. X., Camara C., Quevauviller P. Analytical techniques applied to the speciation of selenium in environmental matrices. **Analytica Chimica Acta**, ISSN 0003-2670, 1994.

OLSON and Reilly 2002; © CMS / GROMS REVIEW ON SMALL CETACEANS: Distribution, Behaviour, Migration and Threats. Compiled for the Convention on Migratory species (CMS). Disponível em: www.cms.int/.../data/G_melas/g_melas.htm. Acesso em: 28/02/2008

Organização Mundial de Saúde (OMS). Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. In: (Ed). WHO Food Additives Series. **Cambridge Univer Press**, Cambridge, UK. p.295-328, 1989.

O'SHEA, T.J. Environmental contaminants and marine mammals In: (Reynolds III, J.E. and Rommel, S.A. ed.) **Biology of marine mammals**. Smithsonian Institution Press, Washington, p.485-563, 1999.

PALMISANO, F.; Cardellicchio, N. and Zambonin, P.G. Speciation of mercury in dolphin liver. A two-stage for the demethylation accumulation process and role of selenium. **Marine Environment Research**, v. 40, p. 109-121, 1995.

PELLETIER, E. Mercury-selenium interactions in aquatic organisms: a review. **Marine Environment Research**, v. 18, p. 111-132, 1985.

PETER J. ROMBOUGH. The influence of the zona radiata on the toxicities of zinc, lead, mercury, copper and silver ions to embryos of steelhead trout *salmo gairdneri*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology**, v.82, n.1, p. 115-117, 1985.

PETERS, G.M. Maher W. A., Krikowa F., Roach A. C. *et al.* Selenium in sediments, pore water and benthic infauna of Lake Macquarie, New South Wales, Australia. **Marine Environmental Research**, v. 47, p. 491-508, 1999.

PIRES J.A., Machado E.P., Bittar N. Exposição humana ao metilmercúrio em comunidades ribeirinhas da Região do Tapajós, Pará, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.33, n.3, 2000.

REIJNDERS, P.J.H. Reproductive failure in common seals feeding on fish from polluted coastal waters. **Nature**, v.324, p.456-7, 1986.

REIJNDERS, P.J.H. Ecotoxicological perspectives in marine mammalogy research: principles and goals for conservation policy. **Marine Mammals Science**, v. 4, p. 91-102, 1988.

REEVES, R.R. and Leathenwood, S. Dolphins, Porpoises, and Whales: Action Plan for the Conservation of Cetaceans. IUCN, Gland, Switzerland. 92 pp, 1998.

REEVES, R.R., Stewart B.S., Clapham, P.J.D., Powell, J.A. Guide to marine mammals of the world. Chantideer Press, New York/ USA. 528p, 2002.

REINFELDER J.R., Fisher N.S., Luoma S.N., Nichols J.W. and Wang W.X. Trace elements trophic transfer in aquatic organisms: A critique of the kinetic model approach. **The Science of the Total Environment** v.219, p. 117-135, 1998.

RODITI-ELASAR M., Kerem D., Hornung H., Kress N., Shoham-Frider E., Goffman O. and Spanier E. Heavy metal levels in bottlenose and striped dolphins off the Mediterranean coast of Israel. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, n.4, p. 503-512, 2003.

SCHWARZ, K., Foltz, C.M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.* V. 79, p. 3292-3293, 1957.

SEIXAS T.G. Selênio Total em tecidos de quatro diferentes organismos marinhos da Baía de Guanabara, RJ, Brasil. Tese de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica, 2004.

SEIXAS T.G, Kehrig H.A., Moreira I and Malm O. Distribuição de selênio em organismos marinhos da Baía de Guanabara/ RJ. **Quimica Nova**, v. 30, n.3, p.554-559, 2007a.

SEIXAS T.G., Kehrig H.A., Fillmann G., Di Benedetto APM, Souza CMM, Secchi E., Moreira I, and Malm O. Mercury, Cadmium, Arsenic and Selenium in the Liver and Kidney of a Small Cetacean (*Pontoporia blainvillei*) from Two Different Brazilian Coastal Areas. **Science Total Environmental** in press, 2007b.

SKERFING, S. Mercury in fish – Some Toxicological Considerations. **Food and Cosmetics Toxicology**, v.10, p. 545 – 556, 1972

SCHINTU M, Jean-Caurant F, Amiard JC. Organomercury determination in biological reference materials: application to a study on mercury speciation in marine mammals off the Farøe Islands. **Ecotoxicol Environ Safety** V24, n.1, p.95-101, 1992.

SZEFER P., Frelek K., Szefer K., Lee Ch. -B., Kim B. -S, Warzocha J., Zdrojewska I and Ciesielski T. Distribution and relationships of trace metals in soft tissue, byssus and shells of *Mytilus edulis trossulus* from the southern Baltic. **Environmental Pollution**, v. 120, n.2, p. 423-444, 2002.

THOMPSON J. N. and Scott M. L. Role of Selenium in the Nutrition of the Chick. **Journal of Nutrition** V.97 (3) p.335-342,1969.

TINGGI, U. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. **Toxicology Letters**, V. 137, p. 103-110, 2003.

TSUBAKI T. and Takahashi H. Recent Advances in Minamata Disease Studies. ISBN 4-06-202813-1. Kodansha LTD. Tokyo, 1986.

USEPA, United States Environmental Protection Agency. Mercury Study Report to Congress. Volume III: Fate and Transport of Mercury in the Environment. Dezembro, 1997.

ULRICH, S.M., Tanto T.W. and Abdrashitova S.A. Mercury in the aquatic environmental: a review of factores affecting methylation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v.31, p. 241-293, 2001.

WEGEMANN, R. And Muir, DCG. Concentration of heavy metals and organochlorines in marine mammals of northern waters: overview and evaluation. Canadian, **Technical Report of Fisheries and Aquatic Science**, v.1279, p. 1-97, 1984.

WAGEMANN R., Armstrong F. A. J. Trace metal determination in animal tissues: An interlaboratory comparison **Talanta**, V. 35, (7), p. 545-551, 1988.

WAGEMANN, R, Lockhart, WL, Welch, H and Innes, S. Arctic marine mammals as integrators and indicators of mercury in the Arctic. **Water Air Soil Pollution**, v.80, p. 683–693, 1995.

WAGEMANN R., Innes S., Richard P. R. Overview and regional and temporal differences of heavy metals in Arctic whales and ringed seals in the Canadian Arctic. **Science of The Total Environment**, V. 186, (1-2), p. 41-66, 1996.

WAGEMANN, R.; Trebacz, E.; Boila, G. and Lockhart, W.L. Methylmercury and total mercury in tissues of arctic marine mammals. **Science Total Environmental** v.218, p. 19-31, 1998.

WAGEMANN R., Trebacz E., Boila G. And Lockhart W. L. Mercury species in the liver of ringed seals. **The Science of The Total Environment**, v. 261, n.1-3, 16, p. 21-32, 2000.

WATRAS C.J., Back R.C., Halvorsen S., Hudson R.J.M., Morrison K.A. and Wente S.P. Bioaccumulation of mercury in pelagic freshwater food webs. **Science of The Total Environment**, v.219, n.2-3, p. 183-208, 1998.

WDACS (Whale and Dolphin Conservation Society). (<http://www.wdcs.org/dan/websearch.nsf/search?createdocument>). Acessado em 22 de Novembro de 2007.

WIKIPEDIA, the free encyclopedia. Whaling in the Faroe Islands. (http://en.wikipedia.org/wiki/Whaling_in_the_Faroe_Islands). Acessado em 28 de Novembro de 2007.

WINDOM, H.L. and Kendall, D.R.. Accumulation and Biotransformation of Mercury in Coastal and Marine Biota. In: J. N. Ed (Ed). **The Biogeochemistry of Mercury in the Environment**. Elsevier/ North – Holland Biomedical Press, Amsterdam. p.303-323, 1979.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Selenium**. Environmental health Criteria N° 58., Geneva, Switzerland, 1987.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Methylmercury**. Environmental Health Criteria, 101. Geneva, p.169, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Mercury**. Regional Office for Europe, Copenhagen, Dinamarca, Capítulo 9, 2000.

ZHANG, G.H.; HU, M.H. AND HUANG, Y.P. Se uptake and accumulation in marine phytoplankton and transfer of Se to the clam *Puditapes philippinarum*. **Marine Environmental Research**, v. 30, p. 179-190, 1990.

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](#)