

**BIOCUMULAÇÃO DE MERCÚRIO E CARACTERIZAÇÃO
HISTOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL DO TECIDO NERVOSO
DE *Hoplias malabaricus* (Traíra – Bloch, 1794) SOB O EFEITO DA
EXPOSIÇÃO *IN VIVO* POR MERCÚRIO.**

RAFAELA SAMPAIO GOMES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

OUTUBRO - 2007

**BIOCUMULAÇÃO DE MERCÚRIO E CARACTERIZAÇÃO
HISTOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL DO TECIDO NERVOSO
DE *Hoplias malabaricus* (Traíra – Bloch, 1794) SOB O EFEITO DA
EXPOSIÇÃO *IN VIVO* POR MERCÚRIO.**

RAFAELA SAMPAIO GOMES

“Dissertação apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense “Darcy Ribeiro”, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais”

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Veiga de Carvalho

**CAMPOS DOS GOYTACAZES
OUTUBRO - 2007**

**BIOCUMULAÇÃO DE MERCÚRIO E CARACTERIZAÇÃO
HISTOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL DO TECIDO NERVOSO
DE *Hoplias malabaricus* (Traíra – Bloch, 1794) SOB O EFEITO DA
EXPOSIÇÃO *IN VIVO* POR MERCÚRIO.**

“Dissertação apresentada ao Centro de
Biotecnologia e Biociências da
Universidade Estadual do Norte
Fluminense “Darcy Ribeiro”, como parte
das exigências para a obtenção do título
de Mestre em Ecologia e Recursos
Naturais”

Aprovada em 01 de outubro de 2007.

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Ciro Alberto de Oliveira Ribeiro - UFPR

Prof. Dr. Carlos Eduardo de Rezende – CBB/LCA - UENF

Prof. Dra. Cristina Maria Magalhães de Souza - CBB/LCA - UENF

Prof. Dr. Carlos Eduardo Veiga de Carvalho - CBB/LCA - UENF

Prof. Dr. Edésio Tenório J. Melo – CBB/LBCT - UENF

Por mais belas e sinceras que sejam as palavras ditas nesse momento, serão sempre insuficientes para traduzir meus sentimentos por vocês: aos meus pais e irmãos, pelo amor incondicional e paciência infinita, dedico esta dissertação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus.

Ao meu orientador Dr. Carlos Eduardo V. de Carvalho por acreditar em mim e me dar toda a oportunidade de crescimento durante o mestrado. Obrigada pela paciência!

Ao co-orientador Dr. Edésio Tenório por seu apoio na área de microscopia.

Ao André Machado pela força, por ter toda a paciência do mundo em me ouvir e aconselhar. Agradeço pelas palavras de ânimo nos momentos que mais precisei!

Às minhas amigas de laboratório Micaela, Cristiane, Taíse e, em especial, à Beatriz. Valeu pela força meninas!

Aos meus pais, Rafael e Carmen, agradeço infinitamente por tanto trabalho, dedicação e confiança em mim depositados. Tudo que sou hoje é graças a vocês. Amo-os com toda a minha força!

Aos meus amados irmãos e companheiros Daniel e Marcela. Minha vida sem vocês seria um tédio!

Ao meu amado Thiago. Sou grata pelo amor, pelo carinho e por estar ao meu lado todos os instantes. Você tornou a minha vida muito melhor. “Thi amo muito!”

A Gegê, que foi e sempre será uma amigona, uma segunda mãe.

Ao Dr. Carlos Logullo por me aceitar no LQFPP para as minhas “experiências malucas”, me incentivando sempre a ir além.

Aos técnicos do LCA: Ana Paula, Marcelo Almeida, Alcemir, Cristiano e Arizoli.

Às técnicas do LBCT, Bia e Giovanna.

Ao pessoal do LQFPP e LBCT. Agradeço especialmente à Arianne, pelos ensinamentos e paciência.

A todos os meus familiares que amo demais, em especial à tia Elba, por ser o exemplo que sigo.

A Dr. Sílvia Nascimento, por toda a atenção dispensada.

A Dr. Ana Paula di Benedetto pelo apoio inesperado. E não é que eu consegui suportar o meu “fardo”!!! Sou sinceramente grata pela força!

Ao pessoal do Projeto Ecologia da Paisagem da UENF e a UFRRJ.

A todos os meus amigos do LCA! Em especial ao Tigrão, Vanessa e Eugênia.

A UENF pelo apoio logístico e financeiro.

ÍNDICE

Lista de Figuras.....	vii
Lista de Tabelas.....	viii
Resumo.....	ix
Abstract.....	x
1-) Introdução	
1.1-) Considerações Gerais.....	01
1.2-) Acúmulo na biota.....	03
1.3-) Histórico da contaminação por mercúrio no Norte Fluminense	05
1.4-) O sistema nervoso dos teleósteos	06
1.5-) Mercúrio no tecido nervoso de teleósteos.....	07
2-) Objetivos.....	08
3-) Justificativa.....	08
4-) Material e Métodos	
4.1-) Área de Estudo	09
4.2-) Descrição da espécie	11
4.3-) Coleta, preparo e digestão da amostra	12
4.4-) Preparo da amostra para microscopia	14
5-) Resultados	
5.1-) Mercúrio nos tecidos muscular e nervoso	15
5.2-) Aspectos histológicos e ultraestruturais	20
6-) Discussão	
6.1-) Mercúrio nos tecidos muscular e nervoso.....	25
6.2-) Aspectos histológicos e ultraestruturais	30
7-) Considerações Finais	33
8-) Referências Bibliográficas	33
Apêndice.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclos atmosférico e hidrogeoquímico do mercúrio no meio ambiente.....	03
Figura 2. Caracterização anatômica do encéfalo de teleósteo.....	07
Figura 3. Mapa da área de estudo	10
Figura 4. Fotos das lagoas de Cima e Campelo	10
Figura 5. Foto de um exemplar de <i>Hoplias malabaricus</i> (traíra).....	12
Figura 6. Foto do cérebro de traíra	13
Figura 7. Gráficos comparando a massa total e o comprimento padrão dos espécimes coletados nas lagoas.....	15
Figura 8. Gráficos comparando as concentrações de Hg total dos tecidos muscular e nervoso nas lagoas de Cima e do Campelo.....	16
Figura 9. Comparação das médias de concentração de mercúrio nos tecidos muscular e nervoso dos espécimes coletados nas lagoas	16
Figura 10. Relação entre massa e comprimento padrão nas lagoas a-) de Cima e b-) do Campelo.....	17
Figura 11. Gráficos exibindo as correlações entre as concentrações de Hg nos tecidos e as respectivas massas. Massa x [Hg] músculo a-) na lagoa do Campelo; b-) na lagoa de Cima e massa x [Hg] cérebro c-) na lagoa do Campelo, e d-) na lagoa de Cima.....	18
Figura 12. Relação entre comprimento padrão e [Hg] nos tecidos muscular e nervoso nas lagoas de Cima e do Campelo.....	19
Figura 13. Correlação entre concentração de mercúrio no tecido muscular vs cérebro nas lagoas	19
Figura 14. Cortes semi-finos de tecido nervoso de <i>Hoplias malabaricus</i> provenientes da lagoa de Cima e lagoa do Campelo.....	21
Figura 15. Fotografia (microscopia óptica) do tecido nervoso de traíra.....	22
Figura 16. Corte semi-fino do tecido nervoso de <i>H. malabaricus</i>	23
Figura 17. Cortes ultrafinos de tecido nervoso de <i>Hoplias malabaricus</i>	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios, desvio padrão, mínimo e máximo das variáveis massa, comprimento total e concentração de Hg nos tecidos muscular e cerebral dos exemplares de <i>Hoplias malabaricus</i> coletados.....	15
Tabela 2. Tabela comparativa dos valores médios de Hg em tecido muscular de traíra obtidos no presente estudo com os obtidos na literatura, com seus respectivos autores e área de coleta.....	26
Tabela 3. Valores da concentração de Hg nos tecidos muscular e nervoso, comprimento padrão e peso total de cada exemplar coletado na lagoa de Cima.....	45
Tabela 4. Valores da concentração de Hg nos tecidos muscular e nervoso, comprimento padrão e peso total de cada exemplar coletado na lagoa do Campelo.....	46
Tabela 5. Valores de P (probabilidade) do teste U.....	47
Tabela 6. Valores de correlação de Spearman (r) e de P associados.....	47

RESUMO

Estudos pretéritos em *H. malabaricus* revelaram a existência de contaminação ambiental por mercúrio em lagoas da região norte Fluminense, onde a lagoa do Campelo apresentou maiores concentrações de Hg no tecido muscular e hepático, enquanto a lagoa de Cima apresentou as menores concentrações deste metal. O objetivo deste estudo foi caracterizar as alterações sofridas pelo tecido nervoso de *H. malabaricus* frente à contaminação ambiental pelo Hg, avaliando a utilização deste tecido como bioindicador da contaminação por este metal. Amostras do tecido nervoso central foram coletadas e preparadas para microscopia de luz e eletrônica de transmissão e para a determinação de Hg total, além do tecido nervoso, também foram amostradas alíquotas de tecido muscular. Na lagoa de Cima, a concentração média de Hg no tecido muscular foi de 273,2 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ e no tecido nervoso, 303,3 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$, enquanto na lagoa do Campelo os valores foram de 49,7 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ e 415,3 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$, respectivamente. Quando comparadas amostras de tecido nervoso central de espécimes coletados na lagoa do Campelo com os da lagoa de Cima, foi possível observar uma descompactação tecidual e o nucléolo mais eletrondenso. A análise estrutural das amostras da lagoa do Campelo confirmou a presença destes nucléolos eletrondensos com a fragmentação da cromatina, caracterizando células apoptóticas. Estes resultados demonstram que mesmo com concentração de Hg estatisticamente semelhantes, as alterações foram observadas apenas nas amostras da lagoa do Campelo. Isto deve estar relacionado ao tempo de exposição dos indivíduos ao metal, onde indivíduos com maior tempo de exposição sofrem alterações mais evidentes. Este estudo parece indicar que o tecido nervoso de *H. malabaricus* é um bom indicador de contaminações ambientais pretéritas de Hg.

Palavras-Chave: contaminação ambiental, mercúrio, tecido nervoso, *H. malabaricus*, alterações histológicas e ultraestruturais.

Previous studies with *H. malabaricus* showed the existence of Hg contamination in lakes from the North of Rio de Janeiro State, where Campelo Lake was the lake where the highest mercury concentrations were found in muscle and hepatic tissues in contrast with Cima Lake that was the lowest concentrations of this metal. The objective of the present study is to characterize the alterations in the nervous system of *Hoplias malabaricus* caused by mercury contamination, as well as to test the possibility of using this tissue as a bioindicator. Central nervous system samples were collected and prepared for optical and electronic microscopy and for total mercury determination. Muscle tissue were sampled to mercury determination. The Cima Lake average Hg concentrations was $273.2 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ in muscular tissue and 303.3 in the nervous system. In the samples from Campelo Lake the average Hg concentration in muscle was $49.7 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ and $415.3 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ in nervous system. When comparing the histological aspects of the nervous system from both the studied areas the Campelo Lake samples presented larger tissue spaces and a more condensed nucleus when compares with the Cima Lake samples. The structural analysis revealed cells with apoptotic nucleus, a more fibrous extra cellular matrix and increased cellular space. Although no difference in mercury concentrations was observed between both studied areas, only in the Campelo Lake evident alterations were observed. This fact is probably related with the time exposure. This study reinforces the use of the nervous system as bioindicator also for past contaminations with Hg, being possible to detect them through an ultrastructural and histological study of the fish (*H. malabaricus*) brain.

Key words: environmental contamination, mercury, nervous system, *H. malabaricus*, histological alterations, ultraestrutural alterations.

1-) Introdução

1.1-) Considerações gerais

Metais pesados ocorrem na natureza, de um modo geral, em pequenas concentrações, da ordem de partes por milhão a bilhão (ppm a ppb). Alguns metais pesados como Fe, Zn, Mn, Cu e Co, são essenciais aos seres vivos, ainda que em pequenas concentrações, e têm importante papel no metabolismo dos organismos aquáticos. Outros metais pesados, como Hg, Pb, Cd, Ag e Ni, entretanto, não têm função biológica conhecida e são geralmente tóxicos a uma grande variedade de organismos. Mesmo aqueles com função biológica definida podem, quando em grandes concentrações, apresentar alta toxicidade aos organismos em geral (Scott & Sloman, 2004).

Dentre os metais pesados, o mercúrio destaca-se por apresentar características que o tornam muito peculiar como agente contaminante e tóxico para os organismos. O mercúrio resiste a processos naturais de degradação, podendo permanecer por muitos anos sem perder sua toxicidade (Câmara et al., 1998). Dependendo da forma química, o Hg apresenta afinidade a grupos tiol (SH-) de proteínas, formando um complexo estável. Esta condição permite que o Hg atravesse membranas e acumule em tecidos alvos. Sua capacidade de bioacumular e biomagnificar ao longo da cadeia trófica o destaca como um poluente de alto risco para os organismos (Clarkson, 1997).

As propriedades do mercúrio (incluindo a sua forma química) resultam em larga dispersão e em elevada exposição ambiental, mesmo sob condições naturais. Portanto, perturbações, mesmo que pequenas, em etapas chave de seu ciclo biogeoquímico (ex: taxa de deposição atmosférica; acúmulo na biota), poderão resultar em aumentos significativos na exposição/ incorporação do mercúrio em populações humanas e componentes de nível trófico elevado de cadeias alimentares (Lindberg, 1985; Lacerda, 1990).

O mercúrio é um dos poucos poluentes que já provocou a morte de seres humanos devido à ingestão de alimentos contaminados. Um episódio de intoxicação coletiva por mercúrio ocorreu em Minamata, Japão, quando resíduos provenientes de efluentes industriais foram lançados na Baía de Minamata, contaminando a água e o pescado, principal alimento da população local (Azevedo, 2003; Irukayama *et al.*, 1961). Sabe-se que, no homem, o mercúrio afeta o sistema nervoso central (Carta *et al.*, 2003) e os rins de forma irreversível. A seriedade da situação ocasionou um intenso controle das emissões de Hg na maioria dos países. Esta atitude resultou em uma queda

substancial nas emissões globais de mercúrio para o meio ambiente (Lacerda & Salomons, 1991).

Basicamente dois ciclos controlam a distribuição e, eventualmente, a disponibilidade do mercúrio lançado no meio ambiente: o ciclo atmosférico e o ciclo hidrogueoquímico (Figura 1). Na atmosfera, o mercúrio elementar (Hg^0) é oxidado a mercúrio inorgânico (Hg^{+2}) quando em contato com substâncias oxidantes como o ozônio (O_3), a hidroxila (OH) e o cloro (Cl_2). O tempo de residência do mercúrio na atmosfera varia de dias a anos em função de suas reações químicas. Nos solos a maior parte do mercúrio está complexada à matéria orgânica deste, sobretudo ao material húmico, e pode sofrer processos de eluição. Por essa razão, o tempo de retenção do mercúrio no solo pode ser longo, resultando no seu lançamento para a superfície das águas e para outros meios por longos períodos, possivelmente centenas de anos (Azevedo, 2003).

Nas águas, em aerobiose, a distribuição do mercúrio dissolvido varia de acordo com a época do ano e com a profundidade da coluna de água. Próximo à interface ar-água a concentração de Hg^0 é alta, já a concentração total de mercúrio inorgânico e metilmercúrio é alta próximo ao sedimento (Morel *et al.*, 1998). Também há a possibilidade do mercúrio se complexar na superfície da água com formas de enxofre e se ligar a ácidos húmicos. Por meio dessa ligação com carbono orgânico dissolvido, o mercúrio pode ser mobilizado e transportado (Morel *et al.*, 1998).

Nas camadas superiores do sedimento, que são biologicamente ativas, o mercúrio bivalente é, em parte, metilado por bactérias a metilmercúrio e depois a dimetilmercúrio (Figura 1), o que eleva sua capacidade para atravessar membranas biológicas. Nas camadas inferiores do sedimento o mercúrio é complexado, principalmente sob a forma de sulfeto. O metilmercúrio irá se integrar nas cadeias tróficas ou, se as condições de pH forem apropriadas, dará origem ao dimetilmercúrio, o qual por ser insolúvel e volátil passará à atmosfera e será recolhido nas águas das chuvas. Se estas forem ácidas, o dimetilmercúrio irá se transformar no metilmercúrio, retornando ao meio aquático e, assim, completando o ciclo (Azevedo, 2003).

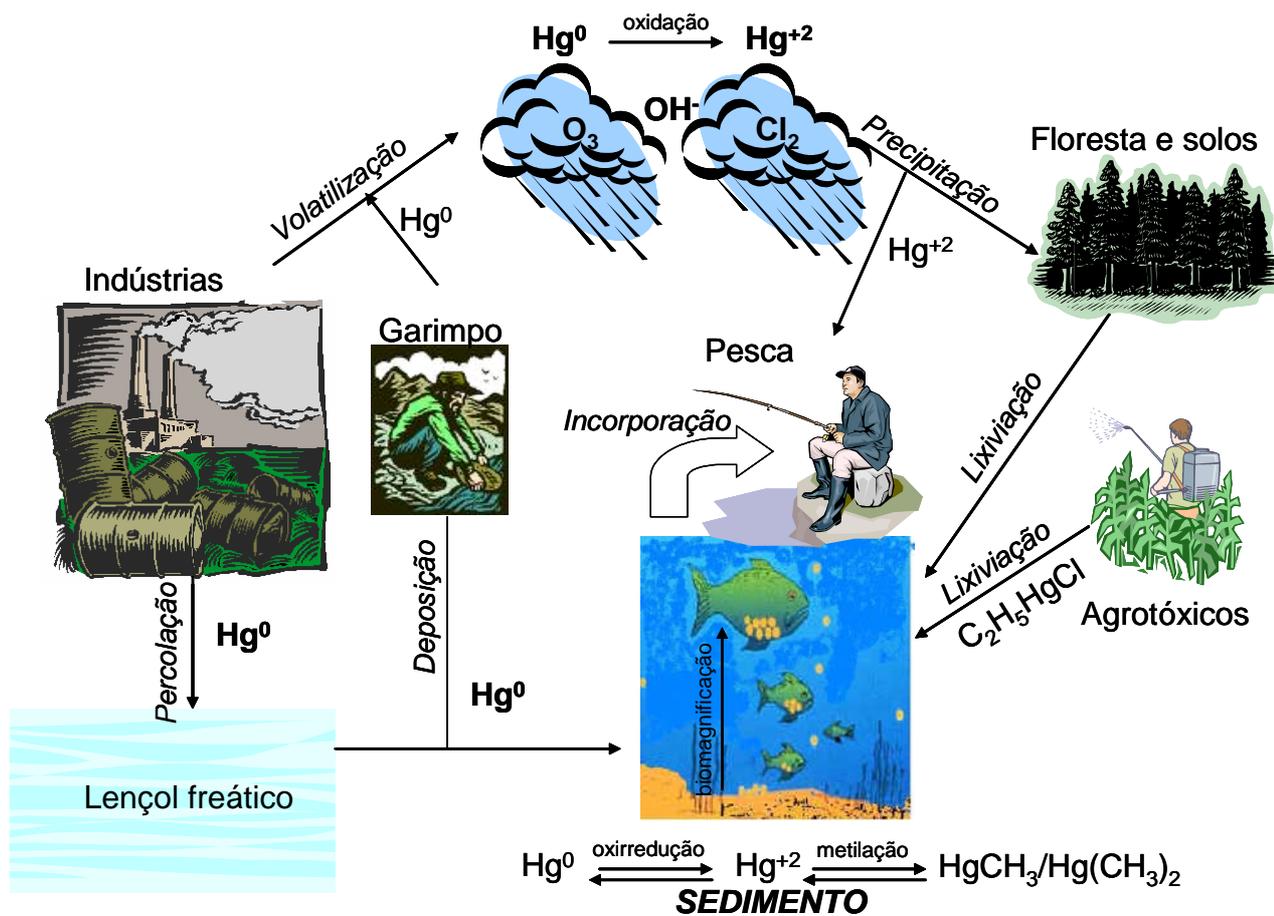


Figura 1. Ciclos atmosférico (águas/solos – atmosfera) e hidrogeoquímico (solos – coluna d’água – sedimento) do mercúrio no meio ambiente, indicando suas principais rotas.

1.2.- Acúmulo na biota

O acúmulo de mercúrio nos seres vivos e deslocamento através da cadeia alimentar atestam sua toxicidade para a biosfera, sendo os organomercuriais muito mais tóxicos do que o mercúrio inorgânico (Souza, 1994).

O mercúrio pode contaminar a água, sedimento (Rodrigues Filho & Maddock, 1997; Hylander *et al.*, 2000a), organismos bentônicos e peixes (Hylander *et al.*, 2000b; Yokoo *et al.*, 2001; Weech *et al.*, 2004). Os peixes são importantes agentes concentradores e, por isso, são usados como indicadores de contaminação por mercúrio em sistemas aquáticos (Clarkson, 1998). A posição trófica de uma determinada espécie é um importante fator na bioacumulação de mercúrio nos tecidos dos peixes (Sweet & Zelikoff, 2001). As espécies carnívoras de peixe são as que apresentam maior potencial de bioacumulação (Dórea *et al.*, 2004; Durrieu *et al.*, 2004), pois estão posicionados no

topo das cadeias alimentares, possuindo, assim, maior probabilidade de afetar a saúde do homem pelo consumo de pescado contaminado (Yokoo *et al.*, 2001; Mergler, 2002).

Os peixes são abundantes, diversificados e possuem larga distribuição geográfica e, por isso, são muito utilizados na alimentação humana como fonte de proteína (Yokoo *et al.*, 2001). Além disso, atualmente, o consumo de peixe está sendo estimulado, devido ao seu baixo nível de colesterol em relação às carnes vermelhas, principalmente a bovina. É um elemento comprovadamente mutagênico (Porto *et al.*, 2004) e teratogênico. Nos peixes, níveis elevados induzem à morte. Concentrações subletais podem afetar o crescimento, o comportamento e o sucesso reprodutivo (Mergler, 2002; Carta *et al.*, 2003). Essa preocupação com a contaminação dos peixes por mercúrio constitui motivo de estudo de autores de muitos países (Mergler, 2002; Kehrig *et al.*, 2002; Weech *et al.*, 2004; Dórea *et al.*, 2004).

As principais vias de acesso do Hg para os peixes são através da absorção direta pelas brânquias e da cadeia trófica. Os organismos que ocupam o topo da cadeia tendem a apresentar concentrações mais elevadas de Hg quando comparados com organismos situados em níveis inferiores. Este fenômeno é conhecido como biomagnificação. Segundo Morel *et al.*, (1998), o número de níveis tróficos dentro de uma cadeia alimentar, é diretamente proporcional ao acúmulo de Hg pelos membros situados nas posições mais elevadas da cadeia. Como resultado final, certos tecidos tendem a apresentar valores de concentrações mais elevados do que na água em que estes organismos vivem, o que os credenciam como monitores biológicos de exposição ambiental para Hg e outros metais pesados.

De um modo geral, a ictiofauna constitui um grupo muito sensível às modificações do ambiente em que vivem, por serem fisiologicamente mais complexos se comparados com a maioria dos outros organismos aquáticos. Esta característica os credencia como excelentes indicadores da presença do Hg no ambiente, em comparação com outros organismos como moluscos, crustáceos e anelídeos (Paiva, 1989).

Teleósteos sob exposição crônica de pequenas doses de Hg tendem a apresentar mecanismos de proteção celular que antecedem aos efeitos total ou parcialmente deletérios que o mercúrio pode provocar no organismo como um todo. De acordo com Schramm *et al.*, (1999), em sistemas biológicos as reações de biomarcadores ocorrem em uma ordem seqüencial de resposta ao poluente estressante. Efeitos a níveis hierárquicos superiores (celular, tecido e organismo) são sempre precedidos por mudanças em processos biológicos anteriores (molecular e subcelular). Eventualmente,

tais mecanismos de proteção celular/tecidual tendem a resultar numa homeostase aos estresses provocados pela exposição ao poluente (Tom *et al.*, 1998).

1.3-) Histórico da contaminação por mercúrio no Norte Fluminense

Câmara (1986), em um estudo realizado com duas populações de agricultores em Campos (com e sem contato direto com o fungicida organomercurial), constatou que apesar dos agricultores não mais manipularem o produto desde 1980, estes ainda apresentavam elevadas concentrações deste elemento no cabelo, assim como distúrbios e seqüelas causados pela contaminação direta ou indireta pelos fungicidas. Neste mesmo trabalho o autor também cita não haver diferenças estatísticas entre os dois grupos de agricultores. Desta forma, ambos os grupos estariam sofrendo a contaminação, apesar de apenas um destes ter contato direto com o produto. Este fato parece corroborar a conclusão do estudo que indica que as possíveis vias de contaminação da população seriam duas: a) ingestão de água ou alimentos contaminados e/ou b) a manipulação do solo contaminado com mercúrio (Câmara, 1986; 1990).

Lacerda *et al.*, (1993) em estudo realizado na plataforma continental em frente à foz do rio Paraíba do Sul, detectaram concentrações de mercúrio de cinco a sete vezes acima dos níveis de base para áreas tropicais não impactadas. O autor cita a utilização em grande escala de fungicidas organo-mercuriais e a presença de antigas áreas de garimpo de ouro na região como as possíveis principais fontes deste elemento para o ambiente costeiro. Os valores observados foram superiores aos valores de base sugeridos por Salomons & Forstner (1984) assim como mais elevados que os valores de áreas controle dentro da própria bacia de drenagem estudada.

Estudos realizados por Souza (1994) na bacia de drenagem do rio Paraíba do Sul determinaram Hg em peixes de hábitos carnívoros, encontrando elevadas concentrações deste metal nos exemplares desta região. Este rio apresenta um canal que o liga diretamente à lagoa do Campelo, podendo ser um fator que influencia a contaminação da lagoa.

Yallouz *et al.*, (2000) analisaram tecido muscular de várias espécies de peixes da região Noroeste do Estado do Rio de Janeiro que compreende o trecho, com cerca de 60 km, do baixo curso do Rio Paraíba do Sul, que abrange os Municípios de Itaocara, Cambuci e São Fidélis. Foram observados os valores mais elevados de Hg nos espécimes de hábito carnívoro, tendo o dourado e a traíra as maiores concentrações médias, 301 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e 151 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, respectivamente.

Sousa (2000) determinou a concentração de Hg nos sedimentos e solos de lagoas do norte do Estado do Rio de Janeiro. Os valores encontrados foram de 158,4 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de mercúrio no sedimento da lagoa de Cima e 213,1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ no sedimento da lagoa do Campelo. Posteriormente, Ferreira *et al.*, (2003), analisaram exemplares de *H. malabaricus* em quatro lagoas da região Norte Fluminense, determinando as concentrações de Hg nos tecidos hepático e muscular dos organismos coletados. Dentre as lagoas, foram observados espécimes com maiores concentrações de Hg na lagoa do Campelo, 525,8 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ no tecido muscular e 540,2 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ no tecido hepático. A lagoa de Cima apresentou os espécimes com as menores concentrações de mercúrio, 138,9 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e 56,40 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ nos tecidos muscular e hepático, respectivamente, sendo considerada a área controle do presente estudo.

1.4-) O sistema nervoso dos teleósteos

O sistema nervoso dos peixes se caracteriza pelo cérebro dividido em cinco partes: o mielencéfalo, metaencéfalo, mesencéfalo, diencéfalo, telencéfalo e a medula espinhal (Figura 2). O telencéfalo tem função olfativa; o diencéfalo nos peixes origina o tálamo, o centro para impulsos olfativos e visuais. Do diencéfalo surgem duas estruturas medianas; anteriormente surge o corpo parietal, e na região posterior, o corpo pineal (Prechtl *et al.*, 1998). Nos ciclóstomos existem as duas estruturas, enquanto que na maioria dos peixes ocorre somente o corpo pineal. O mesencéfalo dos peixes é o centro de coordenação nervosa. Esta estrutura desenvolve a partir da região dorsal dois lobos ópticos. O metencéfalo dá origem ao cerebelo, o centro de coordenação muscular, sendo mais desenvolvido nos tubarões, peixes de movimentos muito rápidos. O mielencéfalo forma o bulbo do encéfalo, que, em todos os vertebrados está relacionado com os centros de atividades vitais, como a respiração, batimento cardíaco e metabolismo. Nos peixes esta região é o centro do sistema da linha lateral e do ouvido interno. Da mesma maneira que os anfíbios os peixes possuem 10 nervos cranianos (Lagler *et al.*, 1977; Prechtl *et al.*, 1998).

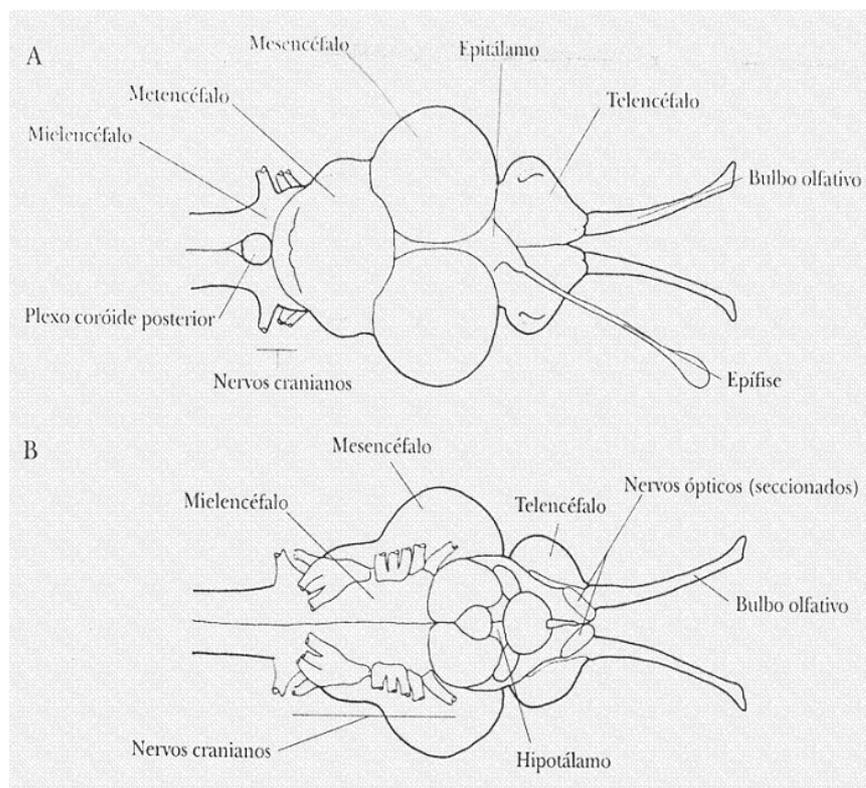


Figura 2. Caracterização anatômica do encéfalo de curimatá (*Prochilodus lineatus*), um peixe teleósteo. **A.** vista dorsal; **B.** vista ventral. (Höfling *et al.*,1995, p. 199).

1.5-) Mercúrio no tecido nervoso de teleósteos

De acordo com Berntessen *et al.*, (2003) e Baatrup (1991), tanto o mercúrio orgânico quanto o inorgânico causam danos no sistema nervoso central (SNC) de teleósteos. O mercúrio orgânico (MeHg), metilado, atravessa prontamente a barreira hematoencefálica e é considerada a forma mais neurotóxica deste metal. O mercúrio inorgânico pode ser metilado no lúmen intestinal antes de ser absorvido ou absorvido diretamente, se unindo a grupos sulfidrilas de proteínas e enzimas. Em peixes o mercúrio provoca patologias em regiões do cérebro e mudanças no comportamento.

O cérebro parece ser o órgão mais sensível aos danos oxidativos provocados pelo mercúrio quando comparado com outros órgãos em peixes expostos ao MeHg via oral. Embora o rim e o fígado acumulem a maioria do MeHg, as injúrias oxidativas ocorrem no cérebro devido a pequena capacidade de regeneração, e não no fígado e nos rins, como esperado (Berntssen *et al.*,2003).

O Hg, bem como outros metais pesados, produz a depleção dos principais agentes antioxidantes celulares como a glutadiona (GSH) peroxidase, superóxido dismutase (SOD), monoamina oxidase (MAO), principalmente os que contêm grupos

tiólicos (Ercal *et al.*,2001). Ele pode aumentar a geração de espécies reativas de oxigênio (*reactive oxygen species* – ROS), como os radicais hidroxila, os radicais superóxido ou o peróxido de hidrogênio. Esta maior produção de oxigênio reativo provoca o estresse oxidativo, uma vez que perturba o mecanismo de defesa antioxidante intrínseco das células (Stohs & Bagchi, 1994).

Por apresentar um alto metabolismo oxidativo mitocondrial, os tecidos cerebrais de peixes e mamíferos requerem elevada quantidade de ATP para o processamento neural. Além disso, os tecidos nervosos de mamíferos e peixes têm um alto conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados facilmente oxidáveis, quando comparados a outros tecidos. Estes aspectos juntos com a pronta difusão através da barreira hematoencefálica devem explicar o motivo pelo qual o conteúdo lipídico do tecido nervoso é particularmente suscetível ao MeHg induzindo danos peroxidativos peixes, principalmente no tecido nervoso (Berntssen *et al.*,2003).

O mesmo pesquisador observou que a toxicidade do Hg em cérebro de mamíferos é caracterizada por injúrias na região posterior deste órgão, resultando em perdas de células piramidais, geralmente as células de Purkinje, e também na proliferação de astrócitos. Estes astrócitos normalmente funcionam para preservar o ambiente local do tecido durante danos cerebrais, realizando com algum sucesso durante a exposição do salmão ao Hg inorgânico, porém, durante a exposição ao MeHg, falha na prevenção de danos (Berntssen *et al.*, 2003).

2-) Objetivos:

O presente estudo tem como principais objetivos:

- Caracterizar histologicamente possíveis alterações no tecido nervoso de *Hoplias malabaricus* quando da contaminação por Hg;
- Caracterizar ultraestruturalmente o tecido nervoso de *H. malabaricus* e comparar possíveis alterações citológicas nas amostras coletadas nas lagoas de Cima (controle) e do Campelo (contaminada).
- Avaliar a eficácia da utilização do tecido nervoso como bioindicador da contaminação ambiental por mercúrio em *H. malabaricus*.

3-) Justificativa

O tecido nervoso parece ser o tecido mais sensível aos danos oxidativos quando comparados a tecidos de outros órgãos de teleósteos. As células deste tecido são sítios

de acúmulo de metais pesados e as injúrias nele provocadas podem causar danos irreparáveis.

Respostas celulares e bioquímicas ao estresse ambiental provocadas pela exposição ao Hg podem freqüentemente ser detectadas antes de estar aparentes na fisiologia do organismo. A respeito disto, tais alterações devem representar um “sinal precoce de advertência” para detecção rápida e sensível de distúrbios ambientais. O estudo destas respostas biológicas induzidas pelo mercúrio em *H. malabaricus* possibilitaria uma forma de avaliar o impacto antropogênico na ictiofauna da região.

4-) Material e métodos:

4.1-) Área de estudo:

A lagoa do Campelo (Figura 3) é a maior lagoa de restinga do norte do Estado do Rio. Está localizada na latitude 21° 38' S e longitude 41° 08' W, entre a foz dos rios Paraíba do Sul e Itabapoana. Situada no segmento setentrional da restinga norte, ela acompanha a direção dos cordões arenosos, dispostos paralelamente à linha da costa. Trata-se de uma lagoa cercada por brejos, pastagens e plantações de cana-de-açúcar. Atualmente a pesca está em acentuado declínio, fato relacionado, principalmente, às alterações ambientais sofridas pela lagoa (Bidegain *et al.*, 2002). Sua comunicação com o rio Paraíba do Sul é feita pelo canal do Cataia, cuja corrente oscila de acordo com o nível do rio e em função da vegetação que nele cresce. Relatos de Barroso e Bernardes (1995) destacam que a diminuição da pesca na lagoa está provavelmente relacionada às alterações ambientais sofridas pela lagoa, associada a ineficiente renovação de suas águas.

A lagoa de Cima (Figura 3) possui uma área de 15 km², com largura máxima de 4 km e comprimento máximo de 7 km. Está localizada na latitude 21° 46' S e longitude 41° 31' W. Constitui um sistema hidrológico primariamente controlado pelos rios Imbé e, de menor contribuição, o rio Urubu. De grande importância sócio-econômica, dela depende grande parte das comunidades adjacentes, que basicamente são compostas por pescadores. Outras atividades são desenvolvidas junto à lagoa, como agropecuária, a agricultura com a monocultura da cana-de-açúcar, a extração de rochas para a construção civil e, mais recentemente, o turismo (Sousa, 2000).

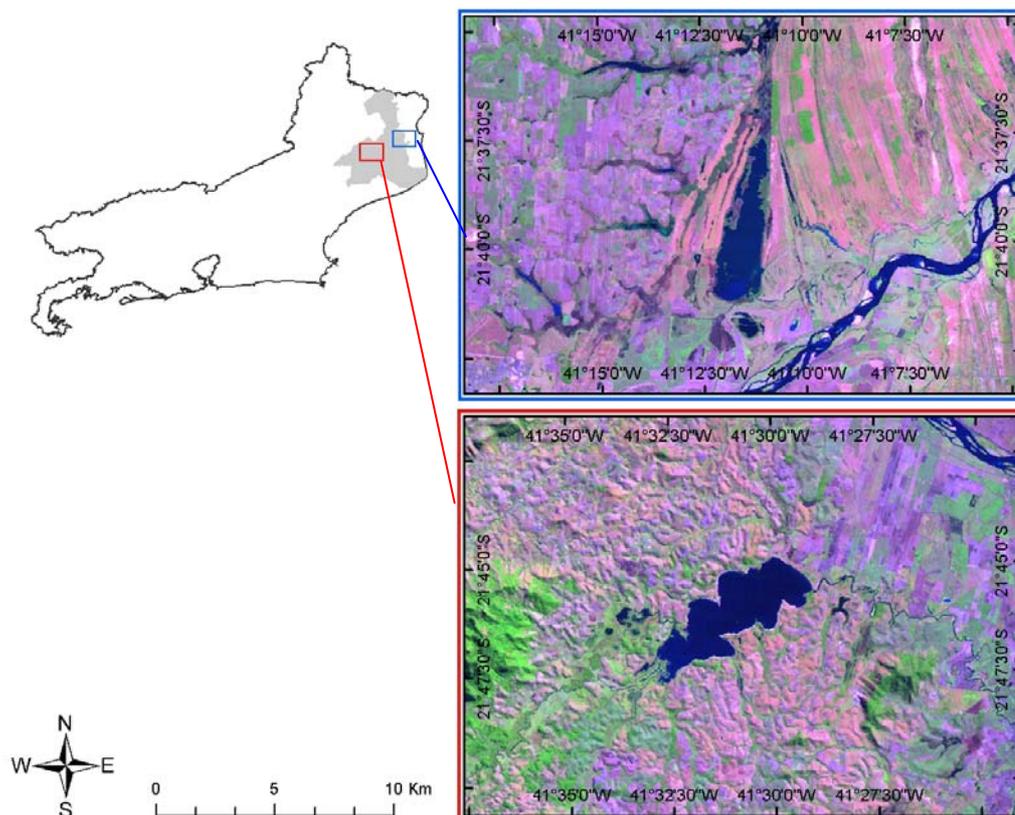


Figura 3. Mapa da área de estudo com contorno azul destacando a lagoa do Campelo e o vermelho, a lagoa de Cima.

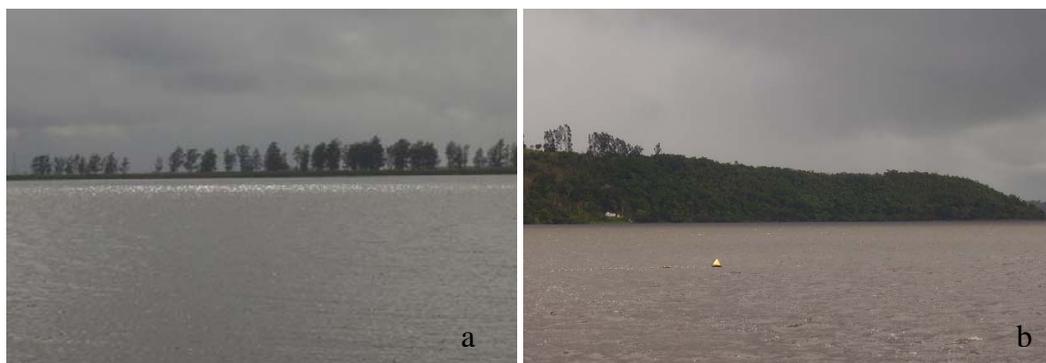


Figura 4. Fotos das lagoas. a-) Lagoa do Campelo e; b-) Lagoa de Cima

4.2.-) Descrição da espécie

H. malabaricus (Figura 5) é um peixe de corpo alongado e cilíndrico, irregularmente manchado; dentes caninos no maxilar; língua com dentículos ásperos. Possui as características adaptativas de todos os carnívoros: boca relativamente grande, dentes caninos (numerosos e resistentes), estômago de tamanho médio com paredes musculosas não muito reforçadas e com única cavidade e intestino curto (Barbieri *et al.*, 1982; Moyle & Cech 1996).

É um peixe sedentário, e desenvolve seu ciclo de vida inteiro dentro de uma área geográfica relativamente pequena (Bialecki *et al.*, 2002). Durante a fase larval é planctófago; os alevinos, cujo comprimento varia de 50 mm até 100 mm, são principalmente insetívoros e muito vorazes, suportando menores períodos de jejum. Na fase juvenil, quando atingem em torno dos 140 mm de comprimento total, são também ictiófagos, sendo que até este comprimento ingerem grãos de areia e pedras, sugerindo que se alimentam à custa de organismos bentônicos (Paiva, 1974; Bistoni *et al.*, 1995).

Na fase adulta, a partir de 200 mm de comprimento padrão, *H. malabaricus* é um peixe predominantemente ictiófago, parecendo ingerir indiscriminadamente peixes que estejam disponíveis. Esta espécie é um predador agressivo; de hábito noturno e que costuma espreitar, quase imóvel, a aproximação de sua presa. Em decorrência dos hábitos sedentários, sua frequência alimentar é bastante variável, podendo apresentar grande resistência aos períodos de jejum, independentemente de estarem em fase reprodutiva (ao contrário da maioria dos peixes). (Paiva, 1974; Barbieri *et al.*, 1982; Bistoni *et al.*, 1995; Reid *et al.*, 2000; Rios *et al.*, 2002).

Além de sua importância ecológica, *H. malabaricus* possui ótima aceitação pelo mercado consumidor de pescados. Este peixe destaca-se por sua carne ser considerada de baixo teor de gordura saturada e alto valor nutricional, principalmente em relação ao seu teor protéico (Santos *et al.*, 2000).



Figura 5. Foto de um exemplar de *Hoplias malabaricus* (traíra).

4.3-) Coleta, preparo e digestão das amostras

Na coleta dos organismos foram utilizadas duas estratégias de amostragem: a) coleta através de anzóis e redes de espera nas Lagoas de Cima e Campelo; b) compra direta dos pescadores locais que trabalham nas lagoas. No total, foram amostrados 38 peixes na lagoa de Cima e 40 na lagoa do Campelo. Os espécimes foram coletados no período de março de 2005 a junho de 2006.

Os dois maiores espécimes de cada lagoa foram anestesiados pela imersão em solução de óleo de cravo (1:2000) para a retirada de pequenas alíquotas de tecido nervoso (Figura 6) que foram imediatamente fixados para microscopia ótica e eletrônica de transmissão. Alíquotas de tecido muscular também foram retiradas para análise de Hg total.

Todos os indivíduos coletados foram devidamente identificados, medidos (comprimento padrão, em cm) e pesados (massa total em g) no laboratório. Após esta etapa, foram retiradas amostras de tecido muscular e de tecido nervoso central de cada indivíduo, sendo armazenados em freezer (-5°C) até o momento das análises. Ainda no laboratório os tecidos nervoso e muscular foram submetidos à extração ácida para determinação da concentração de mercúrio total.



Figura 6. Foto do cérebro de traíra (*Hoplias malabaricus*).

O procedimento para extração química de mercúrio total tem como base a metodologia descrita por Bastos *et al.*, (1997). Alíquotas de 0,5 a 1g de tecido¹ muscular de peixe úmido foram retiradas e, transferidas para tubos identificados. Adicionou-se 1ml de H₂O₂ 30% (em gelo) e em seguida adicionou-se 3 ml, em etapas de 1 ml, de uma solução H₂SO₄(conc) : HNO₃(conc) (1:1) . Após essa etapa os tubos foram para o bloco digestor à 60 °C até completa solubilização, seguido da adição de 5 mL de KMnO₄ 5% e aquecimento à 60 °C em bloco digestor por 30 minutos. Após o resfriamento, as amostras foram tituladas com solução de cloridrato de hidroxilamina 12% e filtradas. Aferiu-se o volume a 20 mL utilizando-se água desmineralizada.

O controle da qualidade analítica foi garantido através de triplicatas de padrões de referência “interna” cedido pelo Instituto de Biofísica da UFRJ. O padrão utilizado foi AFPX - 5130 - músculo peixe. O percentual de recuperação do Hg foi de 88%, confirmando a confiabilidade do método.

A precisão do método foi determinada avaliando-se a reprodutibilidade dos resultados entre as triplicadas de músculo, obtendo um coeficiente de variação entre as réplicas de, no máximo, 10%.

Para verificação de possíveis contaminações, foram analisados brancos para cada grupo de dez amostras.

Todas as determinações de mercúrio em amostras de tecido muscular e nervoso foram realizadas por ICP-AES da Varian (modelo Liberty II) com acessório de geração de vapor frio (VGA-77).

¹ Para o tecido nervoso só foi obtido uma alíquota de aproximadamente 0,1g.

O limite de detecção do método utilizado foi de 17,93 µg/kg , de acordo com a seguinte fórmula descrita abaixo:

$$LD = 3 \cdot s/a$$

Onde *s* é desvio padrão das intensidades dos brancos e *a* é o coeficiente angular da reta de calibração (Skoog & Leary, 1992).

4.4-) Preparo da amostra para microscopia

O preparo para microscopia seguiu protocolo de rotina com fixação das amostras em solução contendo tampão de cacodilato de sódio 0,1 M e sacarose 5% em pH 7,0, formaldeído recém-preparado 4% e glutaraldeído 2,5% por aproximadamente 2 horas. Após esta etapa, as amostras foram pós-fixadas com tetróxido de ósmio 1% por 1 hora e desidratadas sucessivamente com acetona (50% / 70% / 90% / 100% comum / 100% super seca). A infiltração foi realizada em resina Epóxi : Acetona (1:3, 1:2; 1:1; 2:1, 3:1, resina epóxi pura), posteriormente polimerizada em estufa a 60° C (48 h).

As amostras obtidas foram cortadas no ultra-micrótomo em seções semi-finas de 50 nm, montadas sobre lâmina e lamínula após coloração com solução de azul de toluidina 1% e bórax 1% . Estas amostras foram observadas em microscópio óptico de campo claro (ZEISS - Axioplan).

Para microscopia eletrônica de transmissão, seções ultra-finas de 80 nm foram obtidas, contrastadas com acetato de uranila 5% e citrato de chumbo para posterior análise em Microscópio Eletrônico de Transmissão (Zeiss TEM 900).

As amostras de cérebro destacadas para microscopia foram divididas nos componentes específicos (mielencéfalo, metaencéfalo, mesencéfalo, diencéfalo e telencéfalo) e subdivididas em regiões medulares e corticais a fim de determinar, comparativamente, as áreas que apresentavam alterações histológicas. Cortes semi-finos de cada uma destas áreas foram observados no microscópio óptico e as regiões medular do metencéfalo e corticais do mesencéfalo e telencéfalo do tecido nervoso da traíra foram as selecionadas para o presente estudo.

5-) Resultados

5.1-) Mercúrio nos tecidos muscular e nervoso

No total foram coletados 78 espécimes que apresentaram comprimento superior a 20 cm e massa superior a 82g (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios, desvio padrão, mínimo e máximo das variáveis massa, comprimento padrão e concentração de Hg nos tecidos muscular e nervoso dos exemplares de *Hoplias malabaricus* coletados.

Lagoas	n	Massa Total (g)	Comprimento		
			padrão (cm)	Hg músculo ($\mu\text{g.Kg}^{-1}$)	Hg cérebro ($\mu\text{g.Kg}^{-1}$)
Cima	38	450 ± 404	$27,1 \pm 7,8$	$273,2 \pm 94,2$	$303,3 \pm 188,2$
		82 – 1580	20 – 49	62,8 – 484,2	91,3 – 937,4
Campelo	40	357 ± 223	$25,6 \pm 4,1$	$49,7 \pm 28,4$	$415,3 \pm 586,6$
		189 – 1343	21 – 41	<17,9 – 151,3	<17,9 – 3025

As medidas do comprimento padrão obtidas dos peixes na lagoa de Cima variaram de 20cm a 49 cm (27,1 cm de média) e na lagoa do Campelo de 21cm a 41 cm (25,6 cm de média). O teste não paramétrico de Mann- Whitney revelou não haver diferença significativa entre as duas populações das áreas amostradas. A massa dos espécimes da lagoa de Cima variou de 82g a 1580g e na lagoa do Campelo de 189g a 1343g (Tabela 1). Também não foram observadas diferenças significativas entre as massas das duas populações amostradas (Figura 7).

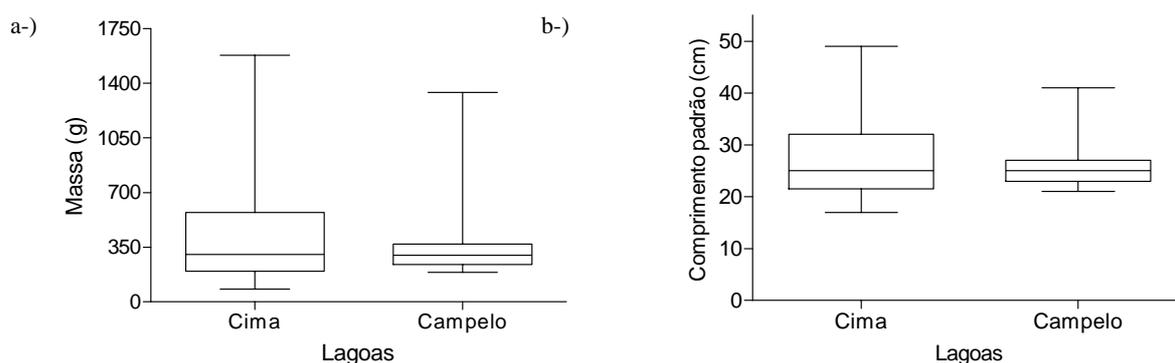


Figura 7. Gráficos comparando as lagoas quanto a-) a massa total e b-) o comprimento padrão dos espécimes coletados.

A concentração de Hg total no tecido muscular variou de 62,8 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ a 484 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de peso úmido, com média de 273 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ na lagoa de Cima. Na lagoa do

Campelo variou de $11 \mu\text{g.kg}^{-1}$ a $151 \mu\text{g.kg}^{-1}$, com média de $49,7 \mu\text{g.kg}^{-1}$. O teste não paramétrico de Mann-Whitney ($p < 0,05$) revelou haver diferença significativa entre as concentrações médias de Hg entre as lagoas estudadas (Tabela 1).

No cérebro, as concentrações variaram de $91,3 \mu\text{g.kg}^{-1}$ a $937 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (com média de $303 \mu\text{g.kg}^{-1}$) de peso úmido na lagoa de Cima. Na lagoa do Campelo os valores variaram entre $<17,9$ e $3025 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (com média de $415 \mu\text{g.kg}^{-1}$) de peso úmido. Os valores mínimo e máximo foram observados na lagoa do Campelo, que apresentou o maior desvio padrão entre as duas lagoas (Tabela 1). A análise estatística não paramétrica de Mann-Whitney ($p < 0,05$) revelou não existir diferença significativa entre as médias das concentrações de Hg no tecido nervoso dos espécimes coletados nas duas lagoas (Figura 8).

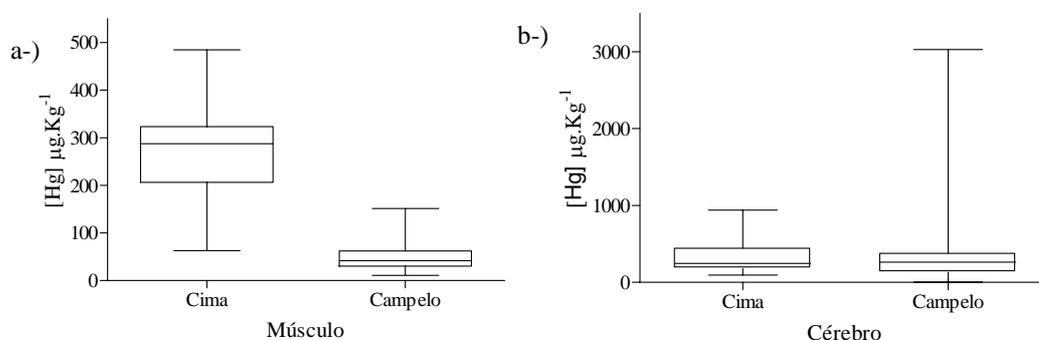


Figura 8. Gráficos comparando as concentrações de Hg total dos tecidos muscular (a) e nervoso (b) nas lagoas de Cima e do Campelo.

Comparando-se as médias das concentrações de Hg nos tecidos muscular com a concentração de Hg no tecido nervoso de uma mesma área de estudo, a lagoa de Cima não apresentou diferença significativa. Por outro lado, a lagoa do Campelo apresentou diferença significativa entre as médias de Hg total dos tecidos estudados (Figura 9).

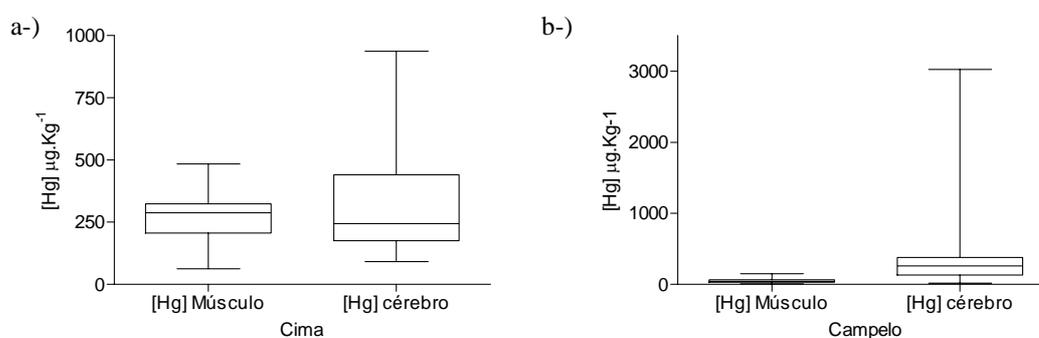


Figura 9. Comparação das médias de concentração de mercúrio nos tecidos muscular e nervoso dos espécimes coletados a-) na lagoa de Cima e b-) na lagoa do Campelo.

Correlações positivas significativas foram observadas entre o comprimento padrão e a massa total nas duas lagoas (Figura 10), apuradas através da correlação de Spearman ($p < 0,05$).

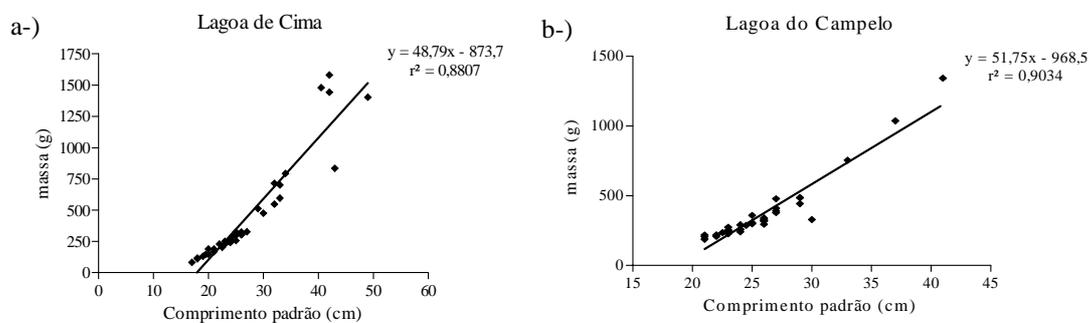


Figura 10. Relação entre massa e comprimento padrão nas lagoas a-) de Cima e b-) do Campelo.

As correlações entre massa e concentração de Hg total no músculo, massa e concentração de Hg total no cérebro nas duas lagoas não foram significativas (Figura 11). Também não foram significativas as correlações entre comprimento padrão e concentrações de Hg total nos tecidos muscular e nervoso (Figura 12).

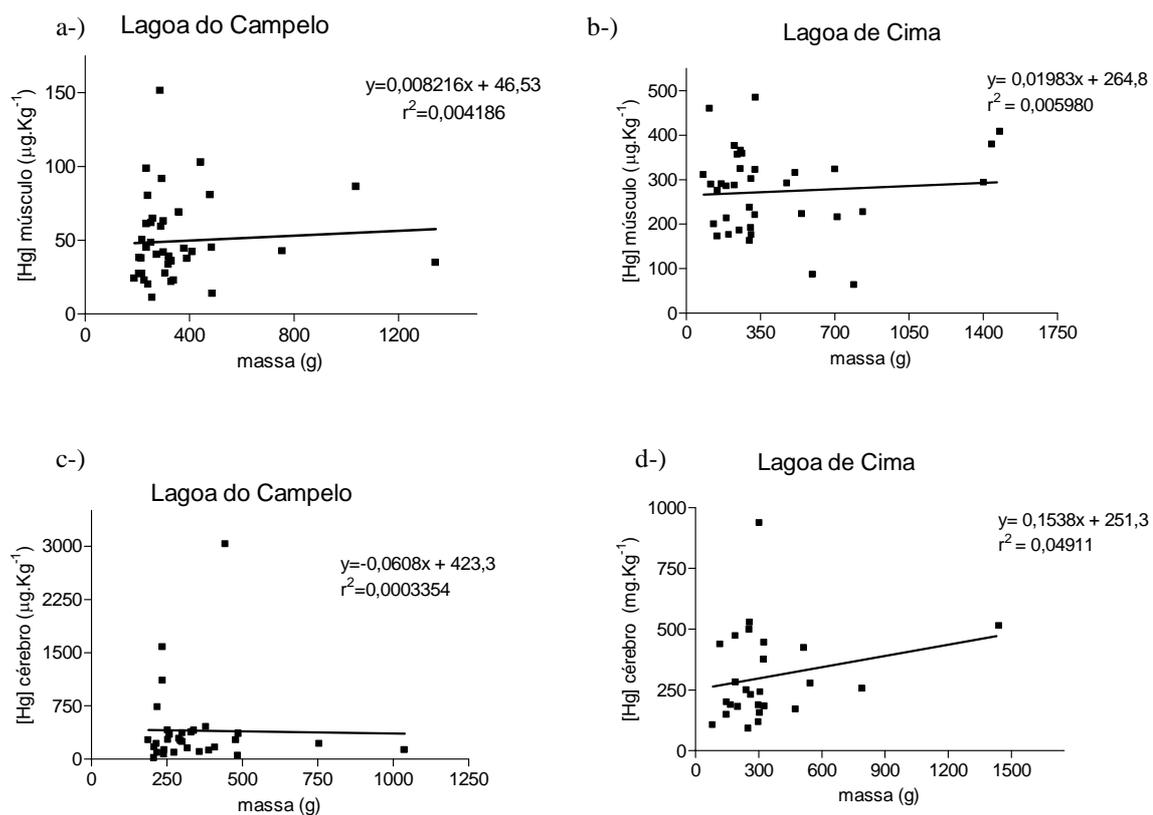


Figura 11. Gráficos exibindo as correlações entre as concentrações de Hg nos tecidos e as respectivas massas. Massa x Hg]músculo a-) na lagoa do Campelo; b-) na lagoa de Cima e massa x Hg cérebro c-) na lagoa do Campelo, e d-) na lagoa de Cima.

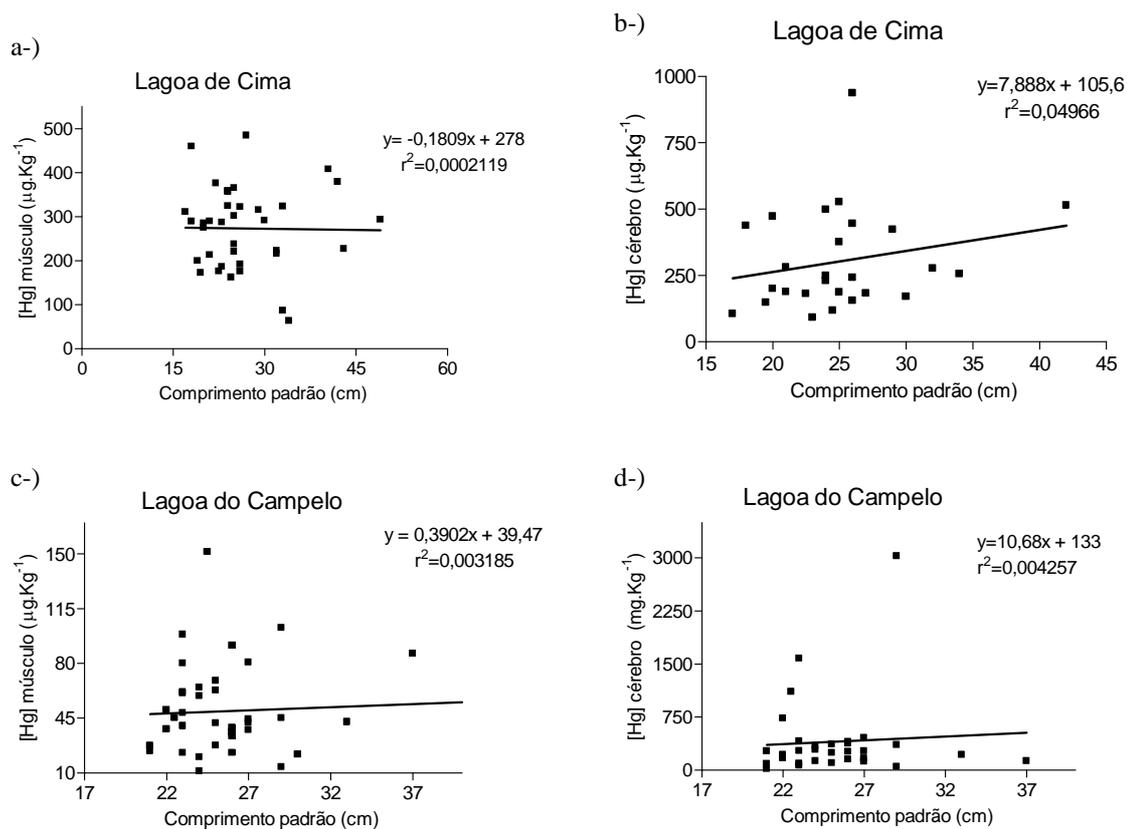


Figura 12. Relação entre comprimento padrão e [Hg] nos tecidos muscular (itens a e c) e nervoso (b e d) nas lagoas de Cima e do Campelo.

Quando correlacionadas às concentrações de mercúrio no músculo e no cérebro (Figura 13), não se observa correlação significativa ($p < 0,05$) para os peixes das duas lagoas.

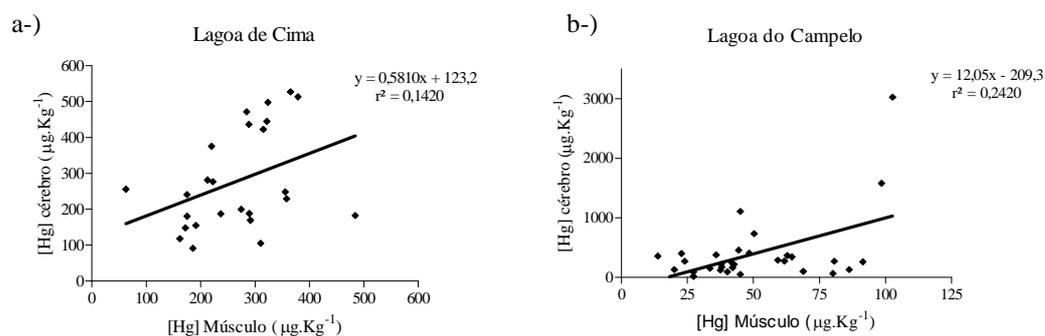


Figura 13. Gráficos de correlação relacionado a concentração de mercúrio no tecido muscular vs cérebro nas lagoas a-) de Cima e b-) do Campelo.

5.2-) Aspectos histológicos e ultraestruturais

Aspectos histológicos

Na Figura 14 (itens A e B) é possível visualizar cortes semi-finos do tecido nervoso dos peixes da lagoa de Cima que, caracteristicamente, possuem grande quantidade de matriz extracelular, onde as células estão distribuídas homogeneamente. Nas amostras de tecido nervoso dos espécimes coletados na lagoa do Campelo foi observada na mesma região uma descompactação tecidual, onde a matriz se apresentava descontinuada (Figura 14, itens C e D).

Os espécimes provenientes da lagoa de Cima apresentaram típica distribuição histológica onde núcleos celulares estavam presentes no seu aspecto normal, com nucléolo pouco eletrondenso (Figura 15, itens A e B e C). No entanto, amostras de tecido nervoso de traíras da lagoa do Campelo apresentaram núcleos celulares com nucléolos eletrondensos na mesma região observada nas amostras da lagoa de Cima (Figura 15, itens E, F e G).

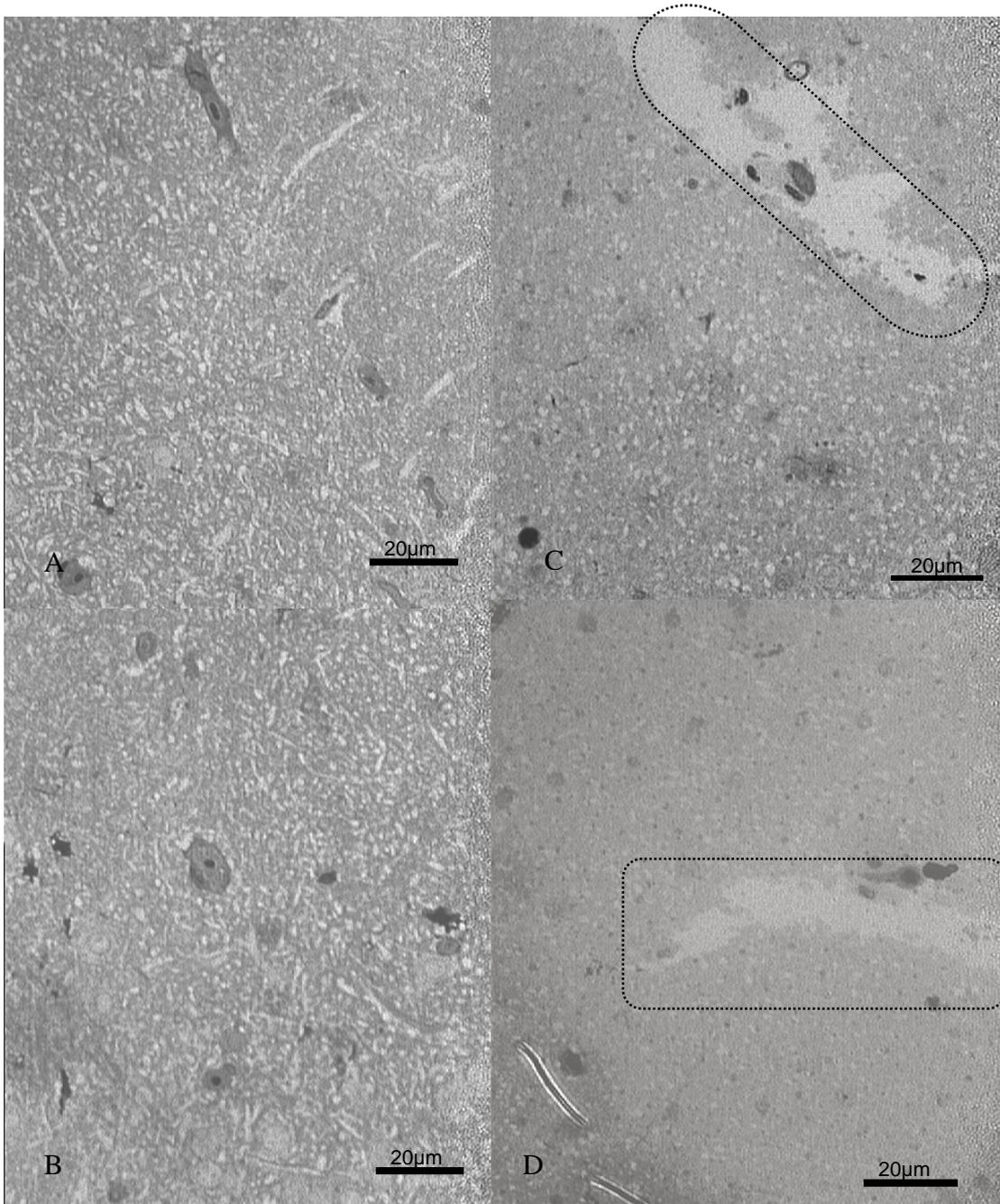


Figura 14. Fotomicrografia de tecido nervoso de *Hoplias malabaricus* provenientes da lagoa de Cima (14A e 14B), e lagoa do Campelo (14C e 14D). O círculo indica a descompactação tecidual.

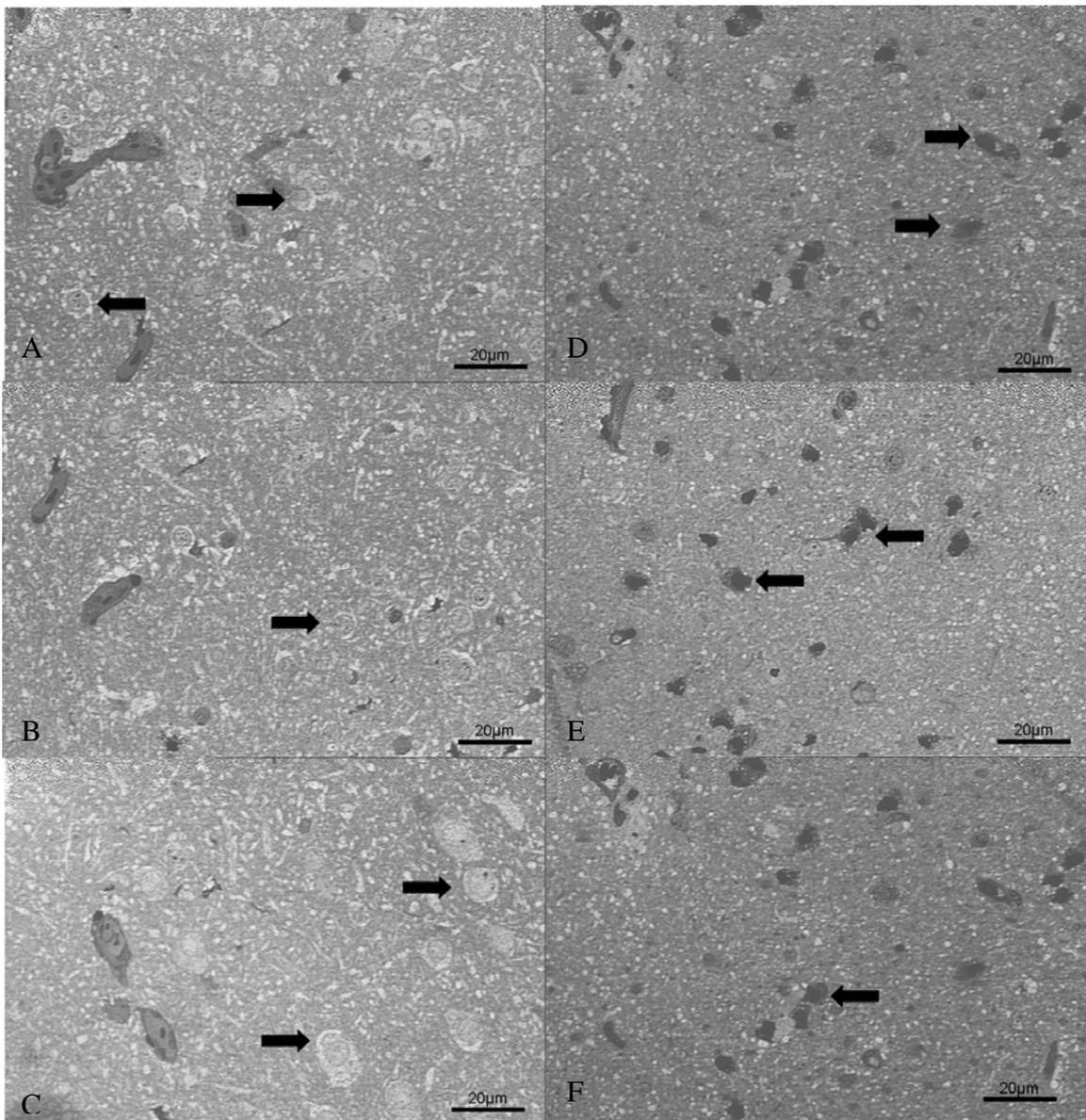


Figura 15. Fotomicrografia do tecido nervoso de *Hoplias malabaricus* provenientes da lagoa de Cima (15A, 15B e 15C), e lagoa do Campelo (15D, 15E e 15F). As setas indicam o núcleo com o nucléolo.

Aspectos ultraestruturais

Seções ultra-finas do tecido nervoso dos peixes da lagoa de Cima (Figura 16) foram comparadas quanto aos aspectos ultraestruturais, com as amostras coletadas nos peixes da lagoa do Campelo (Figura 17). É possível visualizar nas células nervosas dos indivíduos coletados na lagoa de Cima os nucléolos pouco eletrondensos, confirmando o observado na microscopia óptica.

As amostras de tecido nervoso dos espécimes coletados na lagoa do Campelo apresentaram uma elevada frequência de células com núcleos apoptóticos, onde se observa a fragmentação da cromatina (Figura 17).

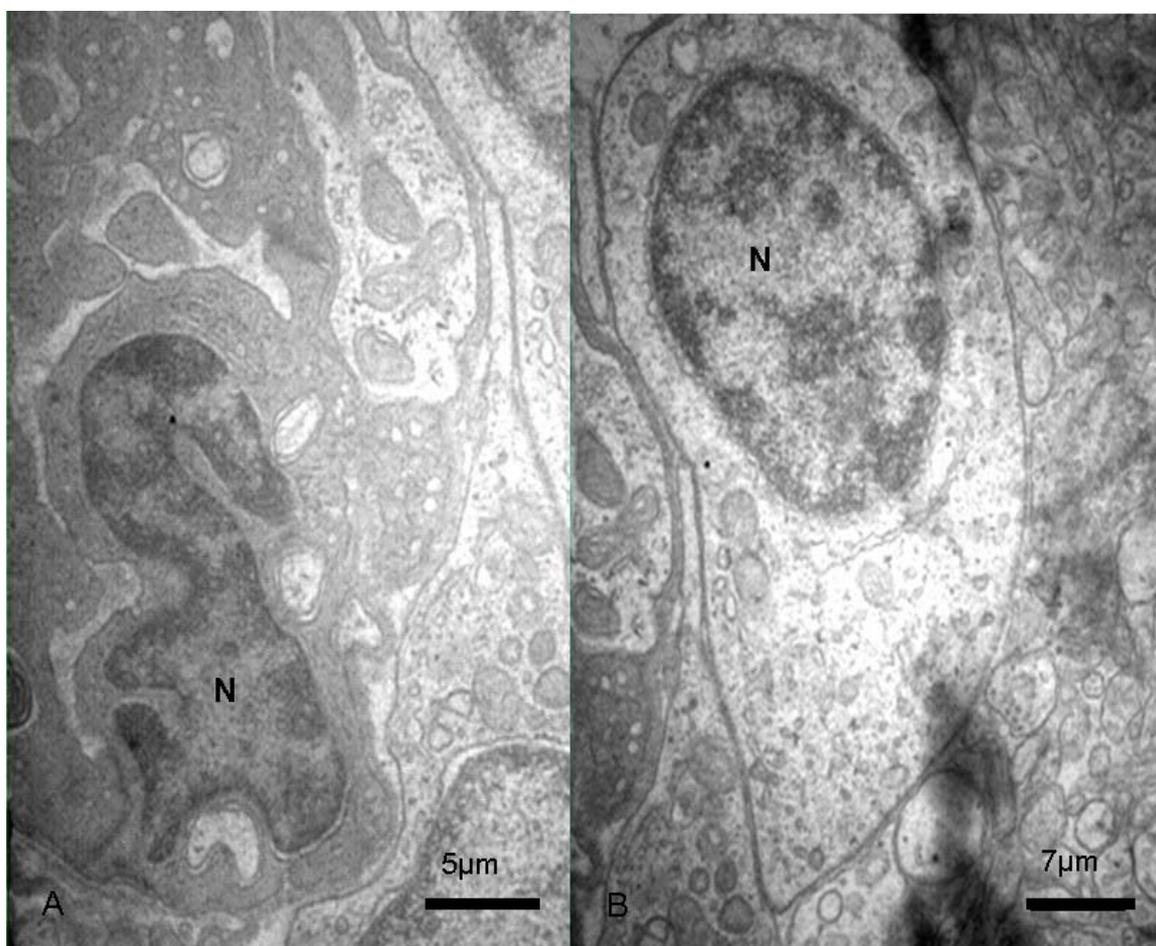


Figura 16. Eletromicrografia do tecido nervoso de *H. malabaricus* proveniente da lagoa de Cima, destacando o núcleo (N).

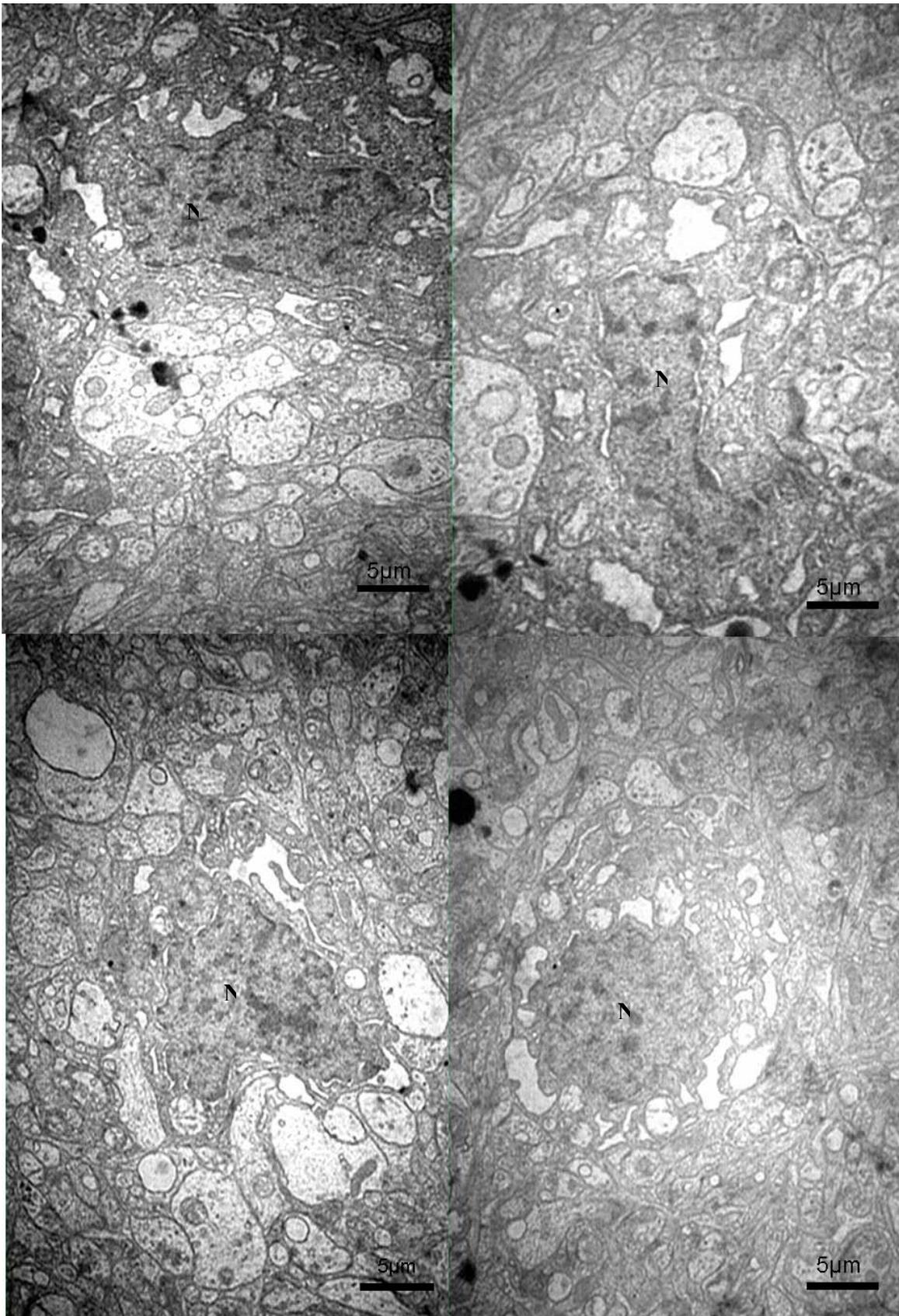


Figura 17. Eletromicrografia do tecido nervoso de *H. malabaricus* do indivíduo da lagoa do Campelo. O núcleo apoptótico está destacado (N).

6-) Discussão

6.1-) Mercúrio nos tecidos muscular e nervoso

O fator sexo não foi considerado no nosso estudo, uma vez que Ferreira (2004) observou que não havia diferença estatística significativa entre machos e fêmeas de *H. malabaricus* para os parâmetros biológicos nas lagoas de Cima e Campelo. O mesmo foi observado por Liao *et al.*, 2006, em *Oryzias latipes*, que mostrou o mesmo acúmulo de Hg em ambos sexos. Porém, estudos de Foster *et al.*, (2000), apresentaram diferenças significativas na concentração de Hg entre os sexos, sendo um parâmetro que necessita de maiores investigações.

As relações positivas significativas entre massa e comprimento padrão demonstram que o animal ganha massa de forma regular. O mesmo não ocorre quando se estabelece relações entre massa e concentração de Hg total no tecido muscular e tecido nervoso, cuja relação não foi significativa. A ausência de correlações entre as variáveis biométricas e de concentração, sugerem que os indivíduos capturados apresentavam o mercúrio se redistribuindo nos tecidos analisados, não apresentando ainda sua forma de acomodação e acumulação final, conforme descrito por Oliveira-Ribeiro (1996). Tal fato também poderia ser atribuído a reduzida variação de tamanho e massa em função da padronização do esforço de pesca (Ferreira, 2004).

Os espécimes de *H. malabaricus* coletados nas lagoas estudadas apresentaram, em sua maioria (85% dos peixes), o estômago vazio. A mobilização de contaminantes durante o período de jejum é documentada em várias espécies de peixes e mamíferos (Jorgensen *et al.* 1999; Stewardson *et al.* 1999), mas ainda há pouca informação sobre a dinâmica do Hg no músculo de peixe durante este período. A hipótese é que em condições de subnutrição o peixe cataboliza o tecido muscular para obtenção de energia, a quantidade total de massa muscular é reduzida mais rapidamente que as ligações do MeHg, aumentando efetivamente a concentração de Hg no tecido remanescente. Esta bioconcentração interna é essencialmente o oposto da biodiluição. É possível que o MeHg seja liberado quando o músculo do peixe é metabolizado, sendo redistribuído parcialmente ao músculo remanescente, onde existe uma alta afinidade pelo Hg devido ao grupo sulfidril das proteínas (Olsson, 1976).

Um estudo realizado por Yallouz *et al.*,(2000) no baixo curso do rio Paraíba do Sul, que abrange os Municípios de Itaocara, Cambuci e São Fidélis, os autores encontraram valores de mercúrio em tecido muscular de traíra de $151\mu\text{g.kg}^{-1}$, variando

de 75 a 235 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Em Florianópolis-SC, Kitahara *et al.*, (2000) observaram uma média de $260 \pm 29 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de mercúrio nos espécimes coletados de traíra. Estes valores estão próximos aos observados no presente estudo nos indivíduos capturados na lagoa de Cima e de 4-5 vezes maiores que aos da lagoa do Campelo (Tabela 2).

Tabela 2. Tabela comparativa dos valores médios de Hg em tecido muscular de traíra obtidos no presente estudo com os obtidos na literatura, com seus respectivos autores e área de coleta.

Autor (es)	Concetração média Hg $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Local
Yallouz <i>et al.</i> , (2000)	151	Itaocara, Cambuci e São Fidélis (RPS)
Kitahara <i>et al.</i> , (2000)	260	Florianópolis -SC
Ferreira (2004)	525,8	lagoa do Campelo
Ferreira (2004)	138,9	lagoa de Cima
presente estudo	49,7	lagoa do Campelo
presente estudo	273,2*	lagoa de Cima
WHO	500	_____
ANVISA	1000	_____

A maioria dos dados relacionados à quantificação da bioacumulação dos níveis de mercúrio nos peixes está baseada na determinação nos tecidos musculares dos mesmos, uma vez que, em termos de massa, este é o maior compartimento (60% da massa do peixe), tem acesso mais fácil para a amostragem e, em particular, porque está mais associado aos riscos de contaminação via consumo de peixe. Na maioria dos casos, apenas o tecido muscular é consumido, motivo pelo qual os valores limites de mercúrio em pescado é definido para o músculo (500 $\mu\text{g}/\text{kg}$, peso úmido—WHO, 1990 e 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, peso úmido – ANVISA, 1998). Os valores de mercúrio no tecido muscular de peixes carnívoros nas lagoas estudadas situam-se abaixo do limite máximo determinado pela Anvisa e WHO para concentrações de mercúrio neste tecido.

A concentração de mercúrio na maioria das espécies aumenta com o tamanho e massa do indivíduo (Lathrop *et al.*, 1991; Neumann e Ward, 1999), tendência não observada no presente estudo. Provavelmente este fato ocorre devido a maioria dos

peixes estarem dentro de uma faixa de tamanho e massa que dificultam a dispersão dos dados.

A metilação do Hg, cuja transformação é a mais significativa do ponto de vista toxicológico no ciclo biogeoquímico, aumenta a exposição da vida selvagem e de populações humanas via dieta de peixes carnívoros/onívoros (Morel *et al.*, 1998; Wiener *et al.*, 2002). De fato, a forma orgânica é absorvida eficientemente através da barreira digestiva (49%) e eliminada bem lentamente (Boudou e Ribeyre, 1997; Wiener *et al.*, 2002). Estudos de Gilmour *et al.*, 1992; Rudd, 1995; Guimarães *et al.*, 1998; King *et al.*, 2001, reforçam o papel chave da metilação do Hg (II) inorgânico, baseado nas vias bióticas e abióticas, embora a metilação microbiana e, mais especificamente, bactéria redutora de sulfato, são consideradas as mais importantes produtoras da forma orgânica nos sistemas aquáticos. Dados recentes do rio Tapajós no Brasil foram concordantes com numerosos estudos conduzidos no hemisfério norte: 15% do Hg total está na forma de metilmercúrio no fitoplâncton, 44% no zooplâncton, e 85% em espécies diversas de peixes (Roulet *et al.*, 2000; Roulet e Maury-Brachet, 2001; Watras e Bloom, 1992; Mason *et al.*, 2000; Meili, 1997; e Tremblay *et al.*, 1996).

Aschner (2002) observou em seu estudo a porcentagem de 75 a 95% de todo o mercúrio encontrado nos tecidos dos peixes encontra-se na forma de metilmercúrio. Cizdziel *et al.*, 2003, observaram no lago Little Rock (Wisconsin, USA), que a quantidade de mercúrio orgânico acumulado no peixe é equivalente a 65% do Hg total estimado na coluna d'água (Watras *et al.*, 1994). As concentrações de MeHg na fração dissolvida representa menos que 5% do Hg total, exceto em regiões aquáticas onde a metilação do Hg inorgânico é mais intensa (ambientes anóxicos em reservatórios naturais ou artificiais, planícies alagáveis, zona de raízes de macrófitas aquáticas) (Coquery *et al.*, 2003; Guimarães *et al.*, 1998; Roulet *et al.*, 2000).

A distribuição de mercúrio nos órgãos do peixe é resultado da ação e interação entre três grupos de fatores ecotoxicológicos: (i) condições de exposição, notavelmente a importância de rotas de entrada (água/ingestão de presas) e formas químicas do metal (Hg inorgânico, Hg(II)/MeHg); (ii) funções fisiológicas e bioquímicas dos organismos vivos; (iii) propriedades funcionais e estruturais das diferentes espécies de peixes que podem afetar a entrada através das barreiras biológicas como a parede do intestino e brânquias, processos de estocagem nos tecidos e células e mecanismos de depuração/excreção (Boudou e Ribeyre, 1997; Jackson, 1998; Wiener *et al.*, 2002).

O presente estudo observou uma alta concentração de Hg no tecido muscular, variando significativamente entre as lagoas, enquanto o tecido nervoso não apresenta variação significativa entre as lagoas. Estes fatos podem ser explicados segundo a hipótese de Wiener & Spry (1996) de que os estados de estocagem de MeHg no músculo esquelético serve como um mecanismo de proteção do peixe, cujo seqüestro do músculo reduz a exposição do sistema nervoso central ao MeHg. No estudo de Gonzalez *et al.*, (2005) seus resultados revelaram que o músculo foi afetado pelo MeHg em paralelo ao alto nível de bioacumulação do MeHg no cérebro.

A alta concentração do Hg no tecido muscular dos indivíduos coletados na lagoa de Cima, quando comparados aos valores obtidos por Ferreira (2004), parece indicar uma recente contaminação de mercúrio, que resultaria nas elevadas concentrações deste metal observada no músculo dos peixes analisados no presente estudo. A provável origem do Hg seria o solo da floresta do Imbé, na qual a lixiviação provocada pela chuva carrearia o metal para o rio Imbé, que é o principal controlador hidrológico da lagoa de Cima. A precipitação no período da coleta (1347mm²) do presente estudo é maior que a no período da coleta de Ferreira (2004), que foi de aproximadamente 700mm¹. Assim, uma maior carga do metal poderia entrar no sistema, aumentando a concentração do Hg na coluna d'água e, conseqüentemente, na biota.

Em contraste com o mercúrio inorgânico, o MeHg atravessa prontamente as membranas biológicas, sendo capaz de acumular no tecido muscular esquelético, o que poderia alcançar concentrações observadas comumente em outros órgãos como o fígado e o rim (Boudou & Ribeyre, 1997; Simon & Boudou, 2001; Wiener, *et al.*, 2003). Após o acúmulo no músculo de peixe, principalmente na forma de complexos cisteína-tiol (Harris *et al.*, 2003), o MeHg é excretado bem lentamente: a estimativa sugere uma meia-vida de 400 dias (Downs *et al.*, 1998).

Outro fator que influenciaria na meia-vida do Hg nos tecidos seria o fato do MeHg apresentar altas taxas de absorção através da barreira do intestino. Este composto orgânico é transportado via sanguínea, principalmente pelas hemácias, para todos os órgãos e tecidos, distribuindo aos diferentes compartimentos internos, produzindo uma alta concentração no músculo esquelético, similar aos medidos em fígado e cérebro. Após a exposição do peixe via direta ou via trófica, a transferência inter-órgãos produz um acúmulo de MeHg no tecido muscular esquelético, que atua como um

² Dados obtidos na UFRRJ.

compartimento receptor com alta capacidade de estoque e baixas taxas de depuração (Ribeyre e Boudou, 1997; Downs *et al.*, 1998; Wiener *et al.*, 2003).

Na truta, a molécula de hemoglobina aparentemente funciona como a principal proteína transportadora de metilmercúrio, transportando cerca de 90% deste organometal e também transferindo MeHg para grupos SH⁻ localizados em outras células (Giblin & Massaro, 1975). Porém, opostamente ao que se espera, a ligação do MeHg com a hemoglobina não neutraliza sua toxicidade, e sim aumenta seus efeitos tóxicos, facilitando a distribuição do xenobionte para os tecidos, sendo a ligação MeHg-hemoglobina reversível (Giblin & Massaro, 1975).

Tais observações sugerem que uma parte do mercúrio liberado pode não ser excretado imediatamente, e sim retido pela hemoglobina e redistribuído novamente para os tecidos, o que acaba resultando em um longo tempo de permanência do MeHg no organismo (Friberg & Vostal, 1972; Giblin & Massaro, 1975).

Atchison *et al.*, (1996) quando descrevem os efeitos dos metais no comportamento de peixes, concluem que a exposição a estes compostos neurotóxicos produz danos comportamentais, os quais podem dificultar a sobrevivência do indivíduo. Neste aspecto, um grande número de estudos tem demonstrado a dificuldade de fuga predatória em organismos expostos a metais (Sullivan *et al.*, 1978; Kraus & Kraus 1986; Little *et al.*, 1993). Isto indica que metais pesados podem afetar o desempenho natatório e comprometer a habilidade desses organismos de escapar dos predadores ou de procurar sua presa. O desempenho natatório é um comportamento que além de implicações ecológicas como a fuga predatória é também importante na manutenção da posição do indivíduo na água.

Foi descrito por Babcock, (1985) que peixes expostos a MeHg apresentaram uma diminuição na recepção quimiosensorial com prováveis conseqüências no comportamento alimentar, reprodutivo e defesa. Dificuldades de locomoção de captura da presa também foram observadas em larvas de *Fundulus heteroclitus* expostas ao MeHg quando ainda embriões (Weis & Weis 1995a; 1995b). Isso vem demonstrar de forma mais direta a interferência desse metal na sobrevivência dos organismos aquáticos associada ao potencial neurotóxico do metal.

Muitos estudos envolvendo a neurotoxicidade do MeHg têm dado importância à latência dos sintomas neurológicos (Berlin *et al.*, 1973; Evans *et al.*, 1997). A duração desta fase depende da frequência de administração do MeHg, quantidade da dose e tamanho do organismo utilizado.

Gonzalez *et al.*, (2005) realizaram um experimento em que os peixes foram contaminados por mercúrio orgânico via alimentar com $13,5\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de Hg (massa seca). Os peixes foram alimentados durante 63 dias com ração contaminada e seus tecidos foram usados para determinação de Hg total. As amostras de cérebro apresentaram média de $63,5 \pm 4,4 \mu\text{g}$ de $\text{Hg}\cdot\text{g}^{-1}$ (massa seca), o que correspondeu a concentração duas vezes maior que os níveis de bioacumulação medidos no músculo esquelético. Neste estudo foi observada uma maior concentração de Hg no tecido nervoso do que no muscular dos indivíduos coletados em ambas lagoas, fato que corrobora o estudo de Gonzalez *et al.*, 2005. No músculo esquelético há uma tendência de acumulação durante os primeiros 21 dias na condição alimentar estudada. Entre 21 e 63 dias, a taxa de acúmulo reduziu, resultando uma bioacumulação final $32,7 \pm 3 \mu\text{g}$ de $\text{Hg}\cdot\text{g}^{-1}$ (peso seco). As maiores concentrações de Hg total foram encontradas no cérebro após 63 dias de contaminação e representa 4,6 vezes a concentração de mercúrio na ração. O fato do cérebro ser capaz de acumular grandes quantidades de mercúrio devido ao seu maior teor lipídico, poderia explicar a neurotoxicidade associada a contaminação por MeHg.

6.2-) Aspectos histológicos e ultraestruturais

Os peixes dependem de um sistema nervoso intacto, incluindo os órgãos dos sentidos, para realizar comportamentos relevantes para a sua sobrevivência como a busca de alimento, reconhecimento de predadores, comunicação e orientação. Infelizmente o sistema nervoso é o mais vulnerável ao mercúrio devido ao seu elevado conteúdo lipídico e elevada atividade mitocondrial, na qual injúrias a este tecido deve mudar drasticamente o comportamento e, conseqüentemente, a sobrevivência do peixe (Baatrup, 1991).

O mercúrio afeta a integridade do sistema nervoso dos peixes estruturalmente, fisiologicamente e bioquimicamente. Por isso, o uso de biomarcadores a nível ultraestrutural permitiria determinar mecanismos pelo qual a célula está sofrendo o dano. Baseada neste conhecimento é possível fornecer informações sobre efeitos potenciais secundários e iniciar estratégias de biorremediação antes que o dano ambiental se torne irreversível (Schram *et al.*, 1999 e Cajaraville *et al.*, 2000).

As regiões em que foram observadas alterações no presente estudo são as áreas responsáveis pelo olfato (telencéfalo), visão (mesencéfalo) e centro de coordenação nervosa (metencéfalo). Baatrup *et al.*, (1990), observaram que o mercúrio orgânico provoca a vulnerabilidade do sistema olfatório de salmão e déficit visual em truta

(Hawryshyn *et al.*, 1982 *apud* Baatrup *et al.*, 1990). Tal fato é corroborado pelo presente trabalho, uma vez que as alterações observadas se encontravam nas mesmas regiões que as citadas anteriormente. Além disso, órgãos periféricos do olfato de peixes possuem uma pronunciada atividade de biotransformação que (Smolowitz *et al.*, 1992; Monod *et al.*, 1994; Saucier *et al.*, 1999 *apud* Ortiz-Delgado *et al.*, 2002), juntamente com o contato direto e constante destes órgãos com o ambiente externo, as células do sistema olfativo seriam alvos mais suscetíveis a entrada, metabolismo e ação de xenobióticos (Saucier *et al.*, 1999 *apud* Ortiz-Delgado *et al.*, 2002). Além disso, o fato dos neurônios receptores do olfato possuírem seus dendritos apicais terminando no epitélio sensorio e seus axônios terminando no bulbo olfativo, permitiria o acesso direto do contaminante ao SNC, contribuindo para os efeitos neurotóxicos (Ortiz-Delgado *et al.*, 2002).

Os dados disponíveis na literatura sobre aspectos histológicos e ultraestruturais de tecido nervoso de teleósteos tropicais contaminados por Hg *in vivo* são escassos. A maior parte dos trabalhos publicados refere-se aos aspectos bioquímicos e alterações metabólicas provocadas pela exposição *in vitro* de cultura de células nervosas específicas de cobaias, contendo um tipo celular apenas (Sakaue *et al.*, 2005; Liao *et al.*, 2006; Berntssen *et al.*, 2003).

No presente estudo foram observadas algumas alterações teciduais no cérebro de *H. malabaricus* na lagoa do Campelo, quando comparadas às traíras da lagoa de Cima, provavelmente associadas à exposição *in vivo* por mercúrio. Estas alterações estariam relacionadas aos efeitos secundários da contaminação, ou seja, aos mecanismos de adaptação celular frente à contaminação no ambiente.

A descompactação tecidual observada na microscopia óptica no presente estudo pode ser devido ao processo de morte celular, não sendo possível definir o provável processo pelo qual teria sido deflagrado. Porém, as micrografias dos espécimes coletados na lagoa do Campelo apresentaram características de morte celular apoptótica e não necrótica. Apoptose é uma forma de morte celular caracterizada pela redução celular progressiva. Geralmente atinge células individuais e separadas. Estas células sofrem a condensação nuclear e citoplasmática, resultando no aparecimento de núcleos picnóticos e subsequente fragmentação nuclear (Robertson e Orrenius, 2000). Estas alterações levam a formação de corpos apoptóticos com fragmentos nucleares rodeados por organelas celulares circundadas pela membrana plasmática. Estes chamados corpos apoptóticos são rapidamente fagocitados por macrófagos, não ocorrendo inflamação. Uma vez que a integridade da membrana plasmática é mantida durante a apoptose, o

que previne a liberação do conteúdo citosólico ao meio extracelular, esta forma de morte celular não está associada com resposta inflamatória. Já a necrose, que é uma forma passiva de morte celular associada à inflamação, afeta tipicamente um grupo de células contínuas, que sofrem o rompimento da membrana plasmática e das organelas, liberando enzimas lisossomais e o conteúdo celular (Robertson e Orrenius, 2000).

Estudos anteriores (Kunimoto, 1994) usando sistemas de cultura *in vitro* de células nervosas têm mostrado a toxicidade do metilmercúrio e que este composto pode induzir a morte apoptótica das células a baixas concentrações, uma vez que altas concentrações induzem a morte celular por necrose. MeHg provoca a morte celular neuronal devido a quebra da homeostase intracelular, alterando a concentração de Ca^{2+} intracelular, inibindo a síntese dos microtúbulos e aumentando a formação de espécies reativas de oxigênio (Sakaue *et al.*, 2005).

Estresse oxidativo tem sido sugerido como um importante mecanismo através do qual o mercúrio exerce seus efeitos neurotóxicos iniciais (Stohs e Bagchi, 1995). O mercúrio pode aumentar a formação de espécies reativas de oxigênio que induzem a oxidação de lipídios, proteínas e DNA (Yee e Choi, 1994), aumentando a peroxidação lipídica em vários tecidos e redução dos níveis de glutadiona (GSH). Entretanto, células vivas desenvolveram inúmeros mecanismos de defesa para neutralizar os efeitos deletérios dos radicais livres. O sistema de defesa antioxidante tais como a superóxido dismutase (SOD), glutadiona peroxidase (GSH-Px) e outros compostos detoxificantes, tais como GSH, ascorbato e vitamina E (Huang *et al.*, 1996; Freeman e Crapo, 1982; Frei, 1999). A indução destas enzimas antioxidante indica uma resposta adaptativa do sistema de defesa redox para o estresse oxidativo (Zhang *et al.*, 2004).

Antioxidantes são quaisquer substâncias que, quando presentes em pequenas concentrações, comparadas com aqueles substratos oxidáveis, que significativamente retardam ou inibem a oxidação deste substrato e podem agir em diferentes níveis da seqüência oxidativa. Gershman & Gilbert (1954) *apud* Zhang *et al.*, (2004) propuseram que a maioria dos efeitos danosos causados pelas concentrações elevadas de oxigênio nos organismos vivos pudesse ser atribuída à formação de radicais livres.

O efeito tóxico do Hg reside na forte interação com grupos R-SH e R-S-S-R de proteínas, causando alterações estruturais e inibição de enzimas. A redução dos grupos livres sulfidrilas leva a indução de estresse oxidativo, resultando em danos teciduais. O mercúrio causa a redução da atividade da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutadiona peroxidase (GSH-Px), enzimas responsáveis pela proteção das células

contra a ação peroxidativa de ânions superóxido e hidroperóxidos (Baatrup, 1991). Há uma evidência na qual a glutadiona (GSH) exerce um papel chave na detoxificação das espécies reativas de oxigênio (ROS). A deficiência de GSH está ligada a um número de desordens neurodegenerativas, aumentando o efeito tóxico do mercúrio (Ji *et al.*, 2006).

7-) Considerações Finais

Os exemplares de *H. malabaricus* coletados na lagoa do Campelo apresentaram valores médios de concentração de mercúrio no tecido muscular de $49,7 \mu\text{g.kg}^{-1}$, valor inferior ao limite máximo estabelecido pela ANVISA para consumo humano de peixes carnívoros ($1000 \mu\text{g.kg}^{-1}$), e $415,3 \mu\text{g.kg}^{-1}$ no tecido nervoso central. Para os indivíduos coletados na lagoa de Cima, os valores observados foram de $273,2 \mu\text{g.kg}^{-1}$ no tecido muscular e $303,3 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Os indivíduos de *H. malabaricus* coletados nas duas lagoas não apresentam risco para consumo humano.

Foram observadas alterações histológicas e ultraestruturais no tecido nervoso nos indivíduos de *H. malabaricus* coletados na lagoa do Campelo, quando comparados com o tecido nervoso de indivíduos da lagoa de Cima. Apesar das concentrações de mercúrio no tecido nervoso em dos espécimes das duas lagoas serem estatisticamente iguais, apenas os indivíduos da lagoa do Campelo apresentaram alterações histológicas e estruturais. Provavelmente o fato dos indivíduos coletados na lagoa do Campelo estarem expostos a uma elevada concentração de Hg ambiental por um período maior que os da lagoa de Cima deve ter influenciado as injúrias observadas.

As principais alterações histológicas observadas foram: nucléolos celulares condensados e descontinuidade tecidual. As alterações estruturais foram células com núcleos apoptóticos. Este estudo parece indicar que o tecido nervoso é um bom indicador de contaminações pretéritas de Hg, sendo possível detectá-las através de estudos histológicos e ultraestruturais do cérebro de *H. malabaricus*.

8-) Referências Bibliográficas

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 1998. Portaria 685 de 27 de Agosto de 1998. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php>. Acessado em 27/04/07.

- Aschner, M. (2002). Neurotoxic mechanisms of fish-borne methylmercury. *Environmental toxicology and pharmacology*, 12:101-104.
- Atchison, G.J., Sandheinrich, M.B. & Bryan, M.D. (1996). Effects of environmental stressors on interspecific interactions of aquatic animals. In: *Ecotoxicology: A hierarchical treatment* (Newman, M.C., Jagoe, C.H.) CRC Press, Inc., Boca Raton, 319-345.
- Azevedo, Fausto Antônio de. (2003). *Toxicologia do Mercúrio*. RiMa: São Carlos. InterTox: São Paulo. 292p.
- Baatrup, E.; Doving, K.B. (1990). Histochemical demonstration of mercury in the olfactory system of salmon (*Salmo salar* L.) following treatments with dietary methylmercuric chloride and dissolved mercuric chloride. *Ecotoxicol. Environm. Safety*. 20:277-289.
- Baatrup, Erick. (1991). Structural and functional effects of heavy metals on the nervous system, including sense organs, of fish. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol 100C, nº1/2, 253-257p.
- Babcock, M.M. (1985). Morphology of olfactory epithelium of pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, and changes following exposure to benzene: a scanning electron microscopy study. In: *Marine biology of polar regions and effects of stress on marine organisms* (Gray, J. S.; Christiansen, M. E.) John Wiley & Sons. New York, 259-267.
- Banerjee, S.; Bhattacharya, S. (1995). Histopathological changes induced by chronic nonlethal of elsan, mercury, and ammonia in the small intestine of *Channa punctatus* (Bloch). *Ecotoxicological and Environmental Safety*, v.31, p.62-68.
- Barbieri, G., Verani, J.R. & Barbieri M.C. (1982). Dinâmica quantitativa da nutrição de *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) na represa do Lobo (Brotas-Itirapina/SP), Pisces, Erythrinidae. *Ver. Brasil. Biol.* v.42 (2), p. 295-302.
- Barroso, L.V. & Bernardes, M.C. (1995). Um Patrimônio Natural Ameaçado: Poluição, Invasões e Turismo sem Controle Ameaçam Lagoas Fluminenses. *Ciência Hoje*, 19 (110): 70-74 pp.
- Bastos, W. R.; Malm, A.; Pfeiffer, W. C.; Cleary, D. (1997). Establishment and Analytical Quality Control of Laboratories for Hg Determination in Biological and Geological Samples in the Amazon, Brazil. *Ciência e Cultura*. Vol. 50 (4). 255-260 pp.

- Berlin, M.; Norcerg, G. & Hellberg, J. (1973). In: Mercury, mercurials and mercaptans (Miller, M. W.; Clarkson, T. W.) Charles C. Thoams Books. Springfield, 111.
- Berntssen, M.H.G.; Aatland, A.; Handy, R.D. (2003). Chronic dietary mercury exposure causes oxidative stress, brain lesions, and altered behaviour in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. *Aquatic Toxicology*, 65:55-72.
- Bialetzki, A., Nakatani, K., Sanches, P.V. & Baumgartner, G. (2002). Spatial and temporal distribution of larvae and juveniles of *Hoplias* aff. *malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae) in the upper Paraná River floodplain, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v.1, p. 210-214.
- Bidegain, P. ; Bizerril, C.; Soffiati, A. (2002) .Lagoas do Norte Fluminense – Perfil Ambiental. Rio de Janeiro : Semads. 148p.
- Bistoni, M.D.L.A., Haro, J.G. & Gutierrez, M. (1995). Feeding of *Hoplias malabaricus* in the wetlands of Dulce river (Cordoba, Argentina). *Hydrobiologia*, v.316, p. 103-107.
- Boudou, A., Ribeyre, F., (1997). Mercury in the food web: accumulation and transfer mechanisms. In: Sigel, A., Sigel, H. (Eds.), *Mercury and its Effects on Environment and Biology*. Marcel Dekker, New York, USA, pp. 289–320.
- Brosset, C. (1987). The behaviour of mercury in the physical environment. *Water Air and Soil Pollution*. 34: 145-166p.
- Cajaraville m, M.; Behrens, A.; Braunbeck, T.; Eckwert, H.; Köler, H.-R.; Konradt, J.; Müller, E.; Pawert, M.; Schwaiger, J.; Segner, H.; Tribskorn, R. (1999). Cellular, Histological and Biochemical Biomarkers. *Environmental Science Forum*. Vol.6 (1999), 33-64p.
- Câmara, V.M. (1986). Estudo comparativo dos efeitos tardios dos fungicidas organo-mercuriais no Município de Campos - RJ, Rio de Janeiro, Tese de Doutorado, ENSP/FIOCRUZ, 283pp.
- Câmara, V.M. (1990). O caso de Campos, R.J.: Estudo do quadro de morbidade causado pela exposição pregressa dos trabalhadores aos fungicidas mercuriais. In: *Riscos e conseqüências do uso do mercúrio. FINEP/CNPq/MS/IBAMA*, Rio de Janeiro, 229-246 pp.
- Carta, P.; Flore, C.; Alinovi, R.; Ibba, A.; Tocco, M. G.; Aru, G.; Carta, R.; Girei, E.; Mutti, A.; Lucchini, R.; Randaccio, F. S. (2003). Sub-clinical neurobehavioral abnormalities associated with low level of mercury exposure through fish consumption. *NeuroToxicology*, v.24, p.617-623.

- Cizdziel, J. V.; Hinners, T. A.; Pollard, J. E.; Heithmar, E. M.; Cross, C. L. (2002). Mercury Concentrations in Fish from Lake Mead, USA, Related to Fish Size, Condition, Trophic Level, Location, and Consumption Risk. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 43, 309–317.
- Clarkson, T. W. (1998). Human toxicology of mercury. *J. Trace Elem. Exp. Med.*, v.11, p.303-317.
- Coquery M, Cossa D, Peretyazhko T, Azemard S, Charlet L. (2003). Methylmercury formation in the anoxic waters of the Petit-Saut reservoir (French Guiana) and its spreading in the adjacent Sinnamary river. *J Phys.*107:327– 31.
- Dórea, J. G.; Barbosa, A.; Souza, J.; Fadini, P.; Jardim, W. F. (2004). Piranhas (*Serrasamus* spp.) as markers of mercury bioaccumulation in amazon ecosystems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v.59, p.57-63.
- Downs, S. G.; MacLeod, C. L.; Lester, J. N. (1998). Mercury in precipitation and its relation to bioaccumulation in fish: a literature review. *Water, Air, Soil Pollut.*, 108, 149-187.
- Durrieu, G.; Maury-Brachet, R.; Boudou, A. (2004). Goldmining and mercury contamination of piscivorous fish *Hoplias aimara* in French Guiana (Amazon basin). *Ecotoxicology and Environmental Safety*.
- Ercal, N.; Gurer-Orhan, H.; Aykin-Burns, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr. Top. Med. Chem.*, v.1, n.6, p.529-539.
- Evans, H.L.; Garman, R.H. & Weiss, B. (1997). *Toxicology and applied pharmacology*, 30:243-251.
- Ferreira, A.G. (2004). Efeitos ecotoxicológicos da contaminação ambiental por mercúrio em *Hoplias malabaricus* (Traíra – Bloch, 1794 – Pisces, Erythrinidae) de quatro lagoas do Norte do estado do Rio de Janeiro. Tese de doutorado em Biociências e Biotecnologia – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 161p.
- Ferreira, A.G.; Melo, E.J.T.; Carvalho, C.E.V. (2003). Histological aspects of mercury contamination in muscular and hepatic tissues of *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae) from lakes in the north of Rio de Janeiro State, Brazil. *Acta Microscopica*, 12 (1): 49-54.
- Foster, E.P.; Drake, D.L. & DiDomenico, G. (2000). Seasonal changes and tissue distribution of mercury in largemouth Bass (*Micropterus salmoides*) from

- Reservoir, Oregon. Archives of Environmental Contamination Toxicology. 38:78-82pp.
- Freeman, B.A., Crapo, J.D. (1982). Biology of disease, free radicals and tissue injury. Lab. Invest. 47, 412–426.
- Frei, B., (1999). Molecular and biological mechanisms of antioxidant action. FASEB J. 13, 963–964.
- Friberg, L. & Vostal, J. – Eds - (1972). Mercury in the environment, erc press, Cleveland, Ohio.
- Gilmour, C.C., Henry, E., Mitchell, R., (1992). Sulfate stimulation of mercury methylation in freshwater sediments. Environ. Sci. Technol. 26, 2281–2287.
- Giblin, F.J. & Massaro, E.J (1975). The erythrocyte transport and transfer of methylmercury to the tissues of the rainbow trout. Toxicology, 5:243-254.
- Gonzalez, P.; Dominique, Y.; Massabuau, J. C.; Boudou, A.; Bourdineaud J. P. (2005). Comparative Effects of Dietary Methylmercury on Gene Expression in Liver, Skeletal Muscle, and Brain of the Zebrafish (*Danio rerio*). Environ. Sci. Technol. 2005, 39, 3972-3980
- Guedes, Luciano. (2005). Associação geoquímica de metais pesados em perfis sedimentares de dois ecossistemas lacustres do norte do Estado do Rio de Janeiro – lagoa do Campelo e lagoa do Jacaré. Dissertação de mestrado em Ciências Biológicas, área de concentração: Ciências Ambientais. Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 53p.
- Guimaraes, J.R.D., Meili, M., Malm, O., Souza Brito, E.M., (1998). Hg methylation in sediments and flooding meadows of a tropical lake in the pantanal floodplain, Brazil. Sci. Total Environ. 213, 165–175.
- Harris, H. H.; Pickering, I. J.; George, G. N. (2003). The chemical form of mercury in fish. Science, 301, 1203.
- Huang, Y.L., Cheng, S.L., Lin, T.H., (1996). Lipid peroxidation in rats administered with mercuric chloride. Biol. Trace Elem. Res. 52,193–206.
- Hylander, L. D.; Meili, M.; Oliveira, L. J.; Castro e Silva, E.; Guimarães, J. R. D.; Araujo, D. M.; Neves, R.P.; Stachiw, R.; Barros, A. R.; Silva, G. D.(2000a) Relationship of mercury with aluminum, iron, and manganese oxy-hydroxides in sediments from the Alto Pantanal, Brazil. The Science of the Total Environment, v. 260, p. 97-107.

- Hylander, L. D.; Pinto, F. N.; Guimarães, J. R.D.; Meili, M.; Oliveira, L. J.; Castro E Silva, E. de. (2000b). Fish mercury concentration in the alto Pantanal, Brazil: Influence of season and water parameters. *The Science of the Total Environment*, Stockholm, v.261, p. 9-20.
- Höfling, E.; Oliveira, A.M.S.; Rodrigues, M.T.; Trajano, E.; Rocha, P.L.B. (1995). *Chordata: Manual para um curso prático*. São Paulo. Ed. da Universidade de São Paulo. 198-199pp.
- Irukayama, K.; Fujiki, M.; Kai, F.; Kondo, T. (1961). Studies on the origin of the causative agent of Minamata Disease: I. Organic mercury compound in the fish and shellfish from Minamata Bay. *Kuramoto Med. J.*, v. 14, p.157-169.
- Jackson TA. (1998). Mercury in aquatic ecosystems. In: Langston WJ, Bebianno MJ, editors. *Metal metabolism in aquatic environments*. London Chapman & Hall. p. 97–159.
- Ji, Xiuling ; Wang, Wenhua; Cheng, Jinping; Yuan, Tao; Xu, Fang; Qu, Liya; Wang, Wenhua. (2006). Oxidative stress on domestic ducks (*Shaoxing duck*) chronically exposed in a Mercury–Selenium coexisting mining area in China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64: 171–177.
- Jorgensen EH, Bjorn EB, Jobling M. (1999). Influence of nutritional status on biomarker responses to PCB in the Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquat Toxicol* 44:233–244.
- Kehrig, H. A.; Costa, M.; Moreira, I.; Malm, O. (2002). Total and methylmercury in a Brazilian estuary, Rio de Janeiro. *Marine Pollution*, v. 44, p. 1018-1023.
- King, J.K., Kostka, J.E., Frischer, M.E., Saunders, F.M., Jahnke, R.A., (2001). A quantitative relationships that demonstrates mercury methylation rates in marine sediments are based on the community composition and activity of sulfate-reducing bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 35, 2491–2496.
- Kitahara, Sandra Emi; Okada, Isaura A.; Sakuma, Alice M.; Zenebon, Odair; Jesus, Rogério Souza de; Tenuta-Filho, Alfredo. (2000). Mercúrio Total em Pescado de Água-Doce. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* Vol.20 N°2, Campinas Maio/Agosto.
- Kraus, M.L. & Kraus, D.B. (1986). Differences in effects of mercury on predator avoidance in two populations of *Grass shrimp and Palaemonetes pugio*. *Marine pollution bulletin*, 18:277-289.
- Kunimoto, M. (1994). Methylmercury induces apoptosis of rat cerebellar neurons in primary culture. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 204:310-317.

- Lacerda, L.D. (1990). Ciclo biogeoquímico do mercúrio no ecossistema amazônico: proposta para estudos prioritários. In: Riscos e conseqüências do uso do mercúrio. *FINEP/CNPq/MS/IBAMA*, Rio de Janeiro, 80-90p.
- Lacerda, L.D. & Salomons, W. (1991). Mercury in the Amazon: A Chemical Time Bomb? Dutch Ministry of Housing, Physical Planning and Environment. Chemical Time Bomb Project. 47 p.
- Lacerda, L.D.; Carvalho, C.E.V. Rezende, C.E. & Pfeiffer, W.C. (1993). Mercury in sediments of the Paraíba do Sul River Continental Shelf, S.E. Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 26 (4): 220-222.
- Lagler, K.F.; Bardach, J.E.; Miller, R.R.; Passino, D.R.M. (1977). *Ichthyology*. 2ª edição. Ed. John Wiley & Sons Inc. USA. 95-97pp.
- Lathrop RC, Rasmussen PW, Knauer DR. (1991) Hg concentration in Walleyes from Wisconsin (USA) Lakes. *Water Air Soil Pollut.* 56:295–307.
- Liao, CY; Fu, JJ; Shi, JB; Zhou, QF; Yuan, CG; Jiang, GB. (2006). Methylmercury accumulation, histopathology effects, and cholinesterase activity alterations in medaka (*Oryzias latipes*) following sublethal exposure to methylmercury chloride. *Env. Tox. And Pharm.*, 22:225-233.
- Lindberg, S.E. (1985). Mercury. *SCOPE*, Toronto, Canadá, 16p.
- Little, E.E., Fairchild, J.F. & Delonay, A.J. (1993). Behavioral methods for assessing impacts of contaminants on early life stage fishes. *Aquatic Toxicology*, 14:67-76.
- Mason, R., Reinfelder, J.R., Morel, F.M.M., (1995). Bioaccumulation of mercury and methylmercury. *Water Air Soil Pollut.* 80 : 915–921.
- Meili M. Mercury in lakes and rivers (1997). In: Sigel A, Sigel H, editors. Mercury and its effects on environment and biology. *Metal Ions in Biological Systems*. New York & Marcel Dekker. p. 21– 51.
- Mergler, D. (2002). Review of neurobehavioral deficits and river fish consumption from the Tapajós (Brazil) and St. Lawrence (Canada). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 00, p. 1-7.
- Morel, F. M.; Kraepiel, A. M. L.; Amyot, M. (1998). *Annu. Rev. Ecol. Syst.* Vol. 29, 543-566.
- Moyle, P.B. & Cech Jr., J.J. (1996). *Fishes: an introduction to Ichthyology*. New Jersey: Prentice-Hall International, 590 p.
- Neumann RM, Ward SM. (1999) Bioaccumulation and biomagnification of Hg in two warm water fish communities. *J Freshw Ecol* 14:487–97.

- Oliveira-Ribeiro, C. A.; Guimarães, J.R.D.; Pfeiffer, W.C. (1996). Accumulation and distribution of inorganic mercury in a tropical fish (*Trichomycterus zonatus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 34: 190-195.
- Olsson M. (1976). Mercury level as a function of size and age in northern pike 1 and 5 years after the mercury ban in Sweden. *Royal Swed Acad. Sci.* 5:73–76.
- Ortiz-Delgado, J.B.; Sarasquete, C.; Behrens, A.; González de Canales, M.L.; Segner, H. (2002). Expresión, celular distribution and induction of cytochrome P4501A (CYP1A) in gilthead seabream, *Sparus aurata* brain. *Aquatic Toxicology*. 60: 269-283.
- Paiva, M.P. (1989). Sensibilidade da ictiofauna da Amazônia, Cerrado e Pantanal de Mato Grosso a danos causados por usos antrópicos. IBAMA – Programa Nacional do Meio Ambiente; Subcomponente: Tecnologias de Gestão Ambiental, 10-11p.
- Paiva, M.P. (1974). Crescimento, alimentação e reprodução da traíra, *Hoplias malabaricus* (Bloch), no nordeste brasileiro. Editora da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 216 p.
- Porto, J. I. R.; Araujo, C. S. O.; Feldberg, E. (2004). Mutagenic effects of mercury pollution as revealed by micronucleus test on three Amazonian fish species. *Environmental Research*.
- Prechtl, James C.; Emde, Gerhard von der; Wolfart, Jakob; Karamürsel, Saçit; Akoev, George N.; Andrianov, Yuri N. and Bullock, Theodore H. (1998). Sensory processing in the pallium of a mormyrid fish. *The Journal of Neuroscience*, 18 (18):7381-7393.
- Reid S.G., Sundin L., Kalinin, A.L., Rantin, F.T. & Milsom, W.K. (2000). Cardiovascular and respiratory reflexes in the tropical fish traíra (*Hoplias malabaricus*): CO₂/pH chemoresponses. *Respiratory Physiology*. v.120, n.1, p.47-59.
- Rios, F.S., Kalinin, A.L. & Rantin, F.T. (2002). The effects of long-term food deprivation on respiration and haematology of the neotropical fish *Hoplias malabaricus*. *Journal of Fish Biology*, v.61, n.1, p.85-95.
- Robertson, J. D. & Orrenius, Sten. (2000). Molecular mechanisms of apoptosis induced by cytotoxic chemicals. *Critical Reviews in Toxicology*, 30 (5):609-627.
- Rodrigues Filho, S.; Maddock, J. E. L. (1997). Mercury pollution in two gold mining areas of the Brazilian Amazon. *Journal of Geochemical Exploration*, v. 58, p.231-240.

- Roulet M, Lucotte M, Guimaraes JRD, Rheault I. (2000). Methylmercury in water, seston and epiphyton of an Amazonian river and its floodplain, Tapajos river, Brazil. *Sci Total Environ.* 261:43– 59.
- Roulet, M., Maury-Brachet, R., (2001). Le mercure dans les organismes aquatiques amazoniens. In: Carmouze, J.P., Lucotte, M., Budou, A. (Eds.), *Le mercure en Amazonie*. IRD, Paris, France, pp. 203–271.
- Rudd, J.W.M., (1995). Sources of methylmercury to freshwater ecosystems: a review. *Water Air Soil Pollut.* 80, 697–713.
- Sakaue, Motoharu; Okazaki, Maiko; Hara, Shuntaro. (2005). Very low levels of methylmercury induce cell death of cultured rat cerebellar neurons via calpain activation. *Toxicology*, 213:97-106.
- Salomons, W.; Forstner, U., (1984). *Metals in hydrocycle*. Springer, Berlin Heidelberg, New York pp.349.
- Santos, A.B., Melo, J.F.B., Lopes, P.R.S. & Malgarim, M.B. (2000). Composição química e rendimento do filé da traíra. *Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro.* v.7, n.1, p. 33-39.
- Schramm, M.; Behrens, A.; Braunbeck, T.; Eckwert, H.; Köler, H.-R.; Konradt, J.; Müller, E.; Pawert, M.; Schwaiger, J.; Segner, H.; Triebkorn, R. (1999). Cellular, Histological and Biochemical Biomarkers. *Environmental Science Forum*. Vol6 pp. 33-64.
- Scott, Graham R. & Sloman, Katherine A. (2004). The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. *Aquatic Toxicology*, 68: 369–392.
- Simon, O.; Boudou, A. (2001). Direct and trophic contamination of the herbivorous carp *Ctenopharyngodon idella* by inorganic mercury and methylmercury. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 50, 48-59.
- Skoog & Leary (1992). *Principles of instrumental Analysis*. Fourth edition. Harcourt Brave College Publishers. FortWorth. 125:47-66.
- Soths, SJ; Bagchi, D (1994). Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology & Medicine*. Vol.18, n°2, 321-336pp.
- Sousa, W.P. (2000). Determinação de Mercúrio e Carbono Orgânico em Solos e Sedimentos da Região Norte do Estado do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado.

- Universidade Estadual do Norte Fluminense. Centro de Biociências e Biotecnologia. 75p.
- Souza, C.M.M. (1994). Avaliação ambiental dos riscos do mercúrio, em áreas de garimpo no Brasil. Tese de Doutorado, IBCCF, UFRJ. 127pp
- Stewardson CL, DeKock A, Saunders C. (1999). Concentrations of heavy metals and organochlorine contaminants in the blubber of cape fur seals off the Eastern Cape coast of South Africa. *Royal Soc South Africa* 54:205–215
- Sullivan, J.F., Atchison, G.J., Kolar, D.J. & MacIntosh, A.W. (1978). Changes in predator-prey behavior of fathead minnow *Pimephales promelas* and largemouth bass *Micropterus salmonides* caused by cadmium. *Fish biology*, 35:446-451.
- Sweet, Leonard; Zelikoff, Judith. (2001). Toxicology and Immunotoxicology of Mercury: A Comparative Review. In *Fish And Humans. Journal of Toxicology and Environmental Health Part B*, 4: 161-205.
- Tom, M.; Moran, O.; Jakubov, E. Cavari, B. & Rinkevich, B. (1998). Molecular Characterization of Metallothionein-cDNA of *Sparus aurata* Used for Detecting Heavy Metal Pollution Along the Mediterranean Coast of Israel. *Marine Pollution Bulletin*. Vol. 36, No. 2, 131-137 p.
- Tremblay A, Lucotte M, Rheault I.(1996). Methylmercury in a benthic food web of two hydroelectric reservoirs and a natural lake of Northern Quebec (Canada). *Water Air Soil Pollut.* 91:255– 69.
- Yallouz, Allegra Viviane; Silva, Marilu de Menezes da & Tatiana Maria Paulino Calixto (2000). Avaliação dos Teores de Hg em Pescado do Trecho Itaocara – S. Fidélis, Baixo Curso do rio Paraíba do Sul. In : XI Congresso Nacional de Geologia Econômica. Anais, vol.III, 270-275.
- Yee, S., Choi, B., (1994). Methylmercury poisoning induces oxidative stress in the mouse-brain. *Exp. Mol. Pathol.* 60, 188_/196.
- Yokoo, E. M.; Valente, J. G.; Sichieri,R.; Silva, E. C. (2001). Validation and calibration of mercury intake through self-referred fish consumption in riverine populations in Pantanal Mato-grossense, Brazil. *Environmental Research, section A*, v. 86, p. 88-93.
- Watras CJ, Bloom NS, Hudson RJM, *et al.*,(1994). Sources and fates of mercury and methylmercury in Wisconsin lakes. In: Watras CJ, Huckabee JW, editors. *Mercury pollution: integration and synthesis*. Boca Raton & Lewis Publ. p. 153– 77.

- Weech, S. A.; Scheuhammer, A. M.; Elliott, J. E.; Cheng, K.M. (2004). Environmental Pollution, v. 131, p. 275-286.
- Weis, J. S. & Weis, P. (1995a). Effects of embryonic exposure to methylmercury on larval prey capture ability in the mummichog, *Fundulus heteroclitus*. Environmental toxicology and Chemistry, 14:153-156.
- Weis, J. S. & Weis, P. (1995b). Swimming performance and predator avoidance by mummichog (*Fundulus heteroclitus*) larvae after embryonic or larval exposure to methylmercury. Journal of fish biology, 52:2168-2173.
- WHO (World Health Organization). Environmental Health Criteria Methylmercury 1990, vol. 101. Geneva, Switzerland & WHO/IPCS.
- Wiener, J. G.; Spry, D. J. (1996). Toxicological significance of mercury in freshwater fish. In: Environmental contaminants in wildlife: interpreting tissue concentrations; Beyer, W. N., Heinz, G. H., Redmon-Norwood, A. W., Eds.; Lewis Publishers: Boca Raton, FL; pp 297-339.
- Wiener, J.G., Krabbenhoft, D.P., Heinz, G.H., Scheuhammer, A.M., (2002). Ecotoxicology of mercury. In: Hoffman, D.J., Rattner, B.A., Burton, G.A., Cairns, J. (Eds.), Handbook of Ecotoxicology. CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 409–463.
- Zhang, J.F., Shen, H., Wang, X.R., Wu, J.C., Xue, Y.Q., (2004). Effects of chronic exposure of 2,4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. Chemosphere, 55, 167–174.

Apêndice

Tabela 3. Valores da concentração de Hg nos tecidos muscular e nervoso, comprimento padrão e peso total de cada exemplar coletado na lagoa de Cima.

massa (g)	Comp.padrão (cm)	[Hg] Músculo (µg/Kg)	[Hg] Cérebro (µg/Kg)
1479	40,5	407,1	*
1442	42,0	378,8	513,4
702,4	33,0	323,1	*
597,1	33,0	86,2	*
1403	49,0	293,2	*
834,9	43,0	226,7	*
547,1	32,0	222,5	276,7
792,2	34,0	62,9	255,7
191,0	21,0	213,0	281,6
305,7	26,0	191,3	155,1
307,5	26,0	175,1	240,9
714,5	32,0	215,5	*
306,8	25,0	301,4	*
228,7	22,0	375,4	*
111,4	18,0	459,4	*
228,4	23,0	286,8	*
257,8	25,0	365,2	527,1
299,8	25,0	237,3	187,1
82,0	17,0	310,4	105,1
130,9	19,0	199,5	*
476,2	30,0	291,3	169,5
325,7	26,0	321,9	444,9
325,3	25,0	220,3	375,7
303,5	26,0	*	937,4
263,7	24,0	358,1	229,2
256,0	24,0	323,6	497,6
147,2	19,5	172,1	148,0
514,6	29,0	315,3	423,0
251,6	23,0	185,7	91,3
243,0	24,0	355,7	248,4
148,7	20,0	274,6	199,5
201,6	22,5	175,6	180,7
168,1	21,0	289,5	188,0
299,8	24,5	162,1	118,1
190,4	20,0	284,9	472,0
326,8	27,0	484,2	182,8
117,8	18,0	288,8	437,0

* Não analisados

Tabela 4. Valores da concentração de Hg nos tecidos muscular e nervoso, comprimento padrão e peso total de cada exemplar coletado na lagoa do Campelo.

massa (g)	Comp.padrão (cm)	[Hg] Músculo (µg/Kg)	[Hg] cérebro (µg/Kg)
1038	37,0	86,19	130,5
330,0	30,0	21,77	*
487,9	29,0	Nd	357,8
236,2	22,5	45,02	1107
189,2	21,0	23,96	268,6
380,1	27,0	44,33	457,3
340,0	26,0	22,72	402,2
1343	41,0	34,75	*
331,6	26,0	35,87	376,4
218,3	21,0	27,24	88,51
301,0	25,0	41,81	243,9
241,9	24,0	20,03	130,9
479,3	27,0	80,60	271,2
359,4	25,0	68,88	99,54
208,0	21,0	27,28	nd
291,5	24,0	59,18	287,9
241,2	23,0	80,11	64,62
756,1	33,0	42,59	217,6
485,5	29,0	45,03	52,37
259,4	24,0	64,54	342,8
275,2	23,0	40,11	92,61
410,3	27,0	42,03	165,3
295,8	26,0	91,44	259,8
254,5	23,0	61,70	272,6
319,6	26,0	33,52	151,7
253,3	23,0	48,38	407,3
390,0	27,0	37,44	120,4
444,1	29,0	102,67	3025
219,3	22,0	50,22	732,4
208,9	22,0	37,95	167,3
228,1	23,0	22,70	*
308,3	25,0	27,51	*
216,0	22,0	37,84	218,2
288,6	24,5	151,34	*
235,9	23,0	60,98	*
301,5	25,0	62,80	365,9
321,2	26,0	38,86	*
236,0	23,0	98,51	1578
258,1	24,0	Nd	*
324,0	26,0	36,06	*

* Não analisados

nd – não detectável

Tabela 5. Valores de P (probabilidade) do teste U para as médias das variáveis observadas.

	Mann- Whitney (valor de P)
Músculo	<0,0001***
Cérebro	0,5587
Músculo x Cérebro (L. Cima)	0,8139
Músculo x Cérebro (L. Campelo)	<0,0001***
Massa	0,9150
CP	0,8650

Tabela 6. Valores dos coeficientes de correlação de Spearman (r) e valores de P associados.

Correlação	Spearman (r)	P
[Hg] músculo x CP (L.Campelo)	0,0559	0,7315
[Hg] músculo x CP (L.Cima)	0,0355	0,8368
[Hg] cérebro x CP (L.Campelo)	0,0478	0,7982
[Hg] cérebro x CP (L. Cima)	0,2552	0,2082
[Hg] músculo x massa (L.Cima)	0,0494	0,7747
[Hg] músculo x massa (L.Campelo)	0,1066	0,5128
[Hg] cérebro x massa (L. Campelo)	0,0076	0,9674
[Hg] cérebro x massa (L.Cima)	0,2411	0,2355
[Hg] cérebro x [Hg] músculo (L.Cima)	0,4469	0,0251*
[Hg] cérebro x [Hg] músculo (L.Campelo)	0,2512	0,1728