

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

**Avaliação ecotoxicológica dos sedimentos das represas
de Barra Bonita e Bariri (SP) através de ensaios realizados
com peixes (*Danio rerio* e *Oreochromis niloticus*) com ênfase
na toxicidade do mercúrio**

Aluna: Solange de Carvalho

Orientadora: Prof. Dra. Maria José T. Ranzani de Paiva

Co-orientador: Prof. Dr. Julio Vicente Lombardi

**Dissertação apresentada ao Programa de pós-
graduação em Aqüicultura do Centro de
Aqüicultura da Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Mestre em Aqüicultura.**

**Jaboticabal
Abril/2005**

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

Avaliação ecotoxicológica dos sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri (SP) através de ensaios realizados com peixes (*Danio rerio* e *Oreochromis niloticus*) com ênfase na toxicidade do mercúrio

Solange de Carvalho

Jaboticabal
Abril/2005

A Deus em primeiro lugar, sempre guiando meus passos, ao meu pai (in memoriam), ainda sigo os seus ensinamentos, à minha mãe e ao Mauro pelo apoio e amor incondicional em todos os momentos, dedico este trabalho.

Agradecimentos

Agradeço a professora e orientadora Dra. Maria José Tavares Ranzani de Paiva e ao pesquisador e co-orientador Dr. Julio Vicente Lombardi, pelos ensinamentos, paciência, apoio e amizade, durante a realização desse trabalho.

Ao Dr. José Roberto Ferreira e a Dra Mônica Accaui Marcondes de Moura e Mello pela grande ajuda nas análises de mercúrio.

Ao Dr. Fernando Maiorino pela ajuda nas leituras das lâminas de histopatologia

A Secretária da pós-graduação do Caunesp Veralice Capatto tão solícita em todos os momentos.

Ao Instituto de Pesca por ter possibilitado a realização deste trabalho, através da utilização da sua estrutura.

Ao Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP) pela oportunidade de realização do curso.

Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro creditado no projeto 00/14460-3.

A piscicultura Águas Claras pelo fornecimento dos peixes.

Ao Sr. José de Souza Castanheira, proprietário do sitio São Bom Jesus, por ter fornecido o sedimento controle utilizado neste trabalho.

Aos estagiários do Instituto de Pesca, Nardo, Thaíse, Mariana, Natalia, Robson, Silmara, Dani, Patrícia e Fernanda pela ajuda e convívio.

Em especial a estagiária Flávia Maziero pela grande ajuda e amizade, e por sempre me fazer rir.

Ao Luis, técnico do laboratório do Instituto de Pesca pelas análises de água realizadas.

A Jakeline Galvão de França, pela amizade incondicional e carinho.

Ao doutorando do CAUNESP Nilton “Paraca” pela ajuda e amizade durante a realização deste trabalho.

A tia Isabel e tio João pelo amor e carinho em todos os momentos e por terem me acolhido em sua casa.

As minhas primas e amigas Priscila e Silvana, pela amizade e companheirismo.

Aos pesquisadores e funcionários do Instituto de Pesca pela amizade e prazeroso convívio.

A todos os pesquisadores e colegas do CAUNESP pela convivência.

A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Sumário

Resumo	1
Abstract.....	2
1-Introdução.....	3
2-Revisão Bibliográfica.....	6
2.1-Mercúrio.....	6
2.2 Testes de toxicidade com sedimento.....	10
2.3-Peixes como organismos-teste	14
3. Objetivos.....	15
4. Material e Métodos	16
4.1-Descrição Geral.....	16
4.2. Caracterização da área de estudo	17
4.2.1 Represa de Barra Bonita	17
4.2.2 Represa de Bariri	18
4.2.3 Local provedor do sedimento controle	19
4.3 Coleta do Sedimento	20
4.4 Caracterização dos organismos-teste	22
4.5 Bioensaios (testes de toxicidade)	24
4.5.1 Delineamento Experimental.....	24
4.5.2 Contaminação experimental dos sedimentos.....	25
4.5.3 Condução dos Bioensaios	26
4.5.4 Variáveis físicas e químicas da água	28
4.6 Análise de teores de Hg.....	29
4.6.1 Sedimento	29
4.6.2 Água.....	29
4.6.3 Peixes	30
4.7 Análises Histopatológicas	30
4.8 Análises Estatísticas	31
5. Resultados e Discussão.....	32
5.1 Variáveis físicas e químicas da água do experimento de toxicidade	32
5.2 Mortalidade	36
5.3 Análise do Sedimento quanto à presença de Hg	41
5.4 Análise de Hg na água.....	45
5.5 Bioacumulação dos peixes	45
5.6 Análise histopatológicas.....	53
6. Conclusões.....	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

Índice de Tabelas

Tabela 1-Comprimento total (CT) e peso médio (PM) dos peixes utilizados nos experimentos	23
Tabela 2- Média das variáveis físicas e químicas da água do EXPERIMENTO 1 com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg, utilizando <i>Danio rerio</i> e <i>Oreochromis niloticus</i> como organismos-teste	33
Tabela 3- Média das variáveis físicas e químicas da água do EXPERIMENTO 1 com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg, utilizando <i>Danio rerio</i> e <i>Oreochromis niloticus</i> como organismos-teste.	34
Tabela 4- Média das variáveis físicas e químicas da água do EXPERIMENTO 2 com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg, utilizando <i>Danio rerio</i> e <i>Oreochromis niloticus</i> como organismos-teste	35
Tabela 5- Média das variáveis físicas e químicas da água do EXPERIMENTO 2 com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg, utilizando <i>Danio rerio</i> e <i>Oreochromis niloticus</i> como organismos-teste. .	36
Tabela 6- Mortalidade acumulativa (%) de <i>Danio rerio</i> , em função do tempo no EXPERIMENTO 1, com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg.....	37
Tabela 7- Mortalidade acumulativa (%) de <i>Oreochromis niloticus</i> , em função do tempo, no EXPERIMENTO1, com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg.....	38
Tabela 8-Mortalidade acumulativa (%) de <i>Danio rerio</i> , em função do tempo, no EXPERIMENTO 2, com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg.....	38
Tabela 9- Média da concentração de Hg ($\mu\text{g/g}$ de peso seco) nos sedimentos dos experimentos com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg	41
Tabela 10. Bioacumulação de Hg ($\mu\text{g/g}$) em <i>D. rerio</i> e <i>O. niloticus</i> após sete dias de experimento (peso úmido), com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg	47

Índice de figuras

Figura 1-Ciclo do Mercúrio no ambiente	8
Figura 2. Mapa localizando os pontos onde os sedimentos foram amostrados nas represa de Barra Bonita e Bariri.....	17
Figura 3. Vista da represa de Barra Bonita, Barra Bonita, SP.....	18
Figura 4-Vista da represa de Bariri, Bariri, SP.....	19
Figura 5. Lago provedor do sedimento controle, sítio São Bom Jesus, Itatiba, SP.....	20
Figura 6-Precipitação mensal nas represas de Barra Bonita e Bariri	21
Figura 7- Granulometria dos sedimentos das represas de Barra Bonita, Bariri e sedimento controle	22
Figura 8- Granulometria dos sedimentos das represas de Barra Bonita, Bariri e sedimento controle	22
Figura 9- <i>Oreochromis niloticus</i>	23
Figura 10- <i>Danio rerio</i> ,	24
Figura 11-Esquema de montagem dos experimentos com sedimento.....	25
Figura 12. Disposição das unidades experimentais utilizadas no bioensaio com sedimento das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg	28
Figura 13-Análise dos sedimentos quanto à presença de Hg (peso seco)	43
Figura 14-Bioacumulação de Hg (peso úmido) em paulistinha (<i>D. rerio</i>)	49
Figura 15-Bioacumulação de Hg (peso úmido) em tilápia (<i>O. niloticus</i>)	50

Resumo

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos tóxicos dos sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri (SP), através de testes de toxicidade com peixes, e também quantificar o efeito deste na biodisponibilidade do mercúrio. Um experimento em condições de laboratório foi realizado com os seguintes tratamentos: C = Controle (somente água, sem sedimento); SC = sedimento controle; SBB = sedimento da represa de Barra Bonita; SBI = sedimento da represa de Bariri; SSHg = sedimento controle, experimentalmente contaminado - "spiking" com 1,0 mg/L Hg; SHgCL₅₀ = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração 0,2 mg/L Hg e HgCL₅₀ = somente água de diluição, com mercúrio na concentração 0,2 mg/L Hg. Os resultados foram avaliados através da mortalidade dos peixes, presença de Hg no sedimento e bioacumulação de Hg nos peixes. Verificou-se baixa mortalidade dos peixes expostos aos sedimentos de Barra Bonita e Bariri, baixa contaminação desse compartimento por mercúrio nas duas represas, determinado pelos baixos níveis de Hg nos peixes expostos a esses sedimentos. O sedimento adsorveu parte do mercúrio presente na coluna d'água, e influenciou a bioacumulação do metal, uma vez que os peixes do tratamento SHgCL₅₀ acumularam níveis inferiores de Hg quando comparados com os peixes do tratamento com concentração 0,2mg/L de Hg sem sedimento. O sedimento atuou como filtro retentor de Hg. Aparentemente, o sedimento saturado com Hg (tratamento SSHg) não disponibilizou Hg para a coluna d'água. Analisando-se este sedimento antes e depois do experimento verificou-se não haver diferença na concentração de Hg e os peixes expostos a esse tratamento acumularam pouco Hg.

Abstract

The objective of this paper was to study the Barras Bonita's and Bariri's reservoir sediment, through toxicity tests carried out with fishes, and also to analyze the role of the sediment in the bioavailability of Hg. The experiment was set up according to seven treatments: C= Control (only water, without sediment); SC= control sediment; SBB= Barra Bonita's reservoir sediment; SBI= Bariri's reservoir sediment; SSHg= control sediment, experimentally contaminated – “spiking” with 1.0 mg/L Hg; SHgCL₅₀= control sediment, maintained in constant contact with contaminated water (mercury), at the concentration of 0.2 mg/L Hg and, HgCL₅₀ = dilution water, at the concentration of mercury 0.2 mg /L Hg. The results showed low mortality of the exposed fish to the Barra Bonita's and Bariri's reservoir sediment and low contamination with mercury on this compartment. At the end of this experiment, the exposed fishes showed low levels of Hg bioaccumulation. The analysis of the treatment SHgCL₅₀ showed that sediment adsorbed part of mercury contained in the “water column”, which could be noticed by the bioaccumulation results, as the fishes of this treatment showed low Hg levels when compared with the treatment of concentration 0.2 mg/L of Hg (absence of sediment). It seemed that sediment play a role of a Hg filter. Apparently, the sediment saturated with Hg (treatment SSHg) did not contaminate the water column, as analysis in the sediment after and before the experiment showed no differences in the Hg concentration, and the fishes exposed to this treatment accumulated low levels of Hg.

1-Introdução

A aqüicultura atual do Brasil, como uma atividade economicamente emergente, encontra-se inteiramente dependente dos ecossistemas nos quais está inserida (VALENTI *et al.*, 2000). Os peixes vivem em contato estreito com o seu meio e, por isso, são afetados pelas mudanças causadas por diferentes agentes físicos, químicos e biológicos. Assim, a exploração econômica de qualquer espécie requer conhecimentos básicos dos principais fatores que direta ou indiretamente estejam ligados ao ambiente.

Uma das ferramentas úteis para avaliar os danos causados pelos contaminantes ambientais são os testes de toxicidade. Os testes de toxicidade com organismos aquáticos em condições de laboratório possibilitam a mensuração dos efeitos dos produtos tóxicos sobre a biota e a estimativa dos riscos de intoxicação ao ambiente. Para efeito de monitoramento de um corpo d'água possivelmente contaminado com substâncias tóxicas, os testes de toxicidade mais utilizados são os de avaliação da toxicidade aguda e crônica. (RAND e PETROCELLI, 1985).

No entanto, o monitoramento de ecossistemas aquáticos não deve estar limitado ao compartimento água, mas também deve incluir o sedimento, já que este compartimento, uma vez contaminado, pode se tornar fonte de diversas substâncias tóxicas, liberando-as para a coluna d'água através de fatores físicos químicos e biológicos. Os testes de toxicidade com sedimento permitem avaliar em organismos aquáticos o efeito interativo de misturas complexas presentes no sedimento. Estes testes medem, portanto, os efeitos tóxicos das frações deslocáveis presentes nos sedimentos, em condições controladas em laboratório ou através de testes de campo (REYNOLDSON e DAY, 1993).

Dentre os diversos organismos utilizados para testes de toxicidade estão os peixes. Bioensaios com peixes permitem estudar, sob condições controladas, alguns parâmetros como mortalidade, alterações comportamentais e danos nos tecidos ou células, podendo

ajudar a prever alguns efeitos de contaminantes em ecossistemas aquáticos naturais (OLIVEIRA-RIBEIRO *et al.*, 1996).

A tilápia apresenta grande potencial industrial, devido a suas características zootécnicas e a alta qualidade de sua carne e por apresentar boa aceitação pelo mercado consumidor. Atualmente é explorada em 22 Estados do Brasil, exceção feita apenas para alguns Estados da Região Norte (OSTRENSKY *et al.*, 2000).

O peixe ornamental *Danio rerio* popularmente conhecido como paulistinha é uma espécie de pequeno porte, muito apreciada entre os aquaristas. Esta espécie tem sido amplamente utilizada para realização de testes de toxicidade (KARLSSON-NORRGREN e RUNN, 1985; KARLSSON-NORRGREN *et al.*, 1985; FRACÁCIO *et al.*, 2003).

Em trabalhos realizados nos rios Piracicaba (FALÓTICO *et al.*, 1999) e Tietê (CETESB, 1985a) formadores das represas de Barra Bonita e Bariri, o mercúrio já foi identificado em todos os compartimentos, ou seja, água, sedimento e biota. Segundo SHANKER *et al.* (1996), rios que recebem grande carga de poluentes por estarem localizados próximos a grandes centros urbanos e áreas com atividade agrícolas e industriais, podem ser considerados uma fonte potencial de mercúrio. Esta é a situação dos rios Piracicaba e Tietê.

No trecho do rio Tietê que abrange as represas de Barra Bonita e Bariri, as indústrias não são numerosas, sendo as existentes relacionadas aos ramos de fiação e tecelagem, abatedouros e engenhos de aguardente. Existem na região duas indústrias de papel e celulose e três usinas de açúcar e ou álcool (CETESB, 1985b). Porém, a maior contribuição de poluentes lançados diretamente no rio Tietê é de origem doméstica, cerca de 70% (CETESB, 1991b).

No que se refere às fontes potenciais de poluentes, de uma forma geral, além de esgotos domésticos e industriais, a poluição por agroquímicos também é importante, já que 22% da bacia do rio Tietê é utilizada para cultivo de produtos de alta demanda de aplicação de

defensivos agrícolas e fertilizantes, tais como a cana-de-açúcar, café, além de frutas e hortaliças (CETESB, 1991-a).

O rio Piracicaba, além de abranger centros urbanos como Campinas, Limeira e Americana, abrigam importantes parques fabris do Estado, recebe efluentes de indústrias como as de papel e celulose, alimentícias, têxtil, curtumes, metalúrgicas, químicas e a refinaria petroquímica de Paulínia (CETESB, 1991-a). Ao longo de seu curso, o rio Piracicaba recebe contribuições de vários rios e ribeirões, transportadores de esgotos e de diversos poluentes inorgânicos (CETESB,1991-a). O produto agrícola mais significativo nesta região é a cana-de-açúcar, seguida pelo café, fruticultura e milho (CETESB, 1991-b).

A contaminação desses ambientes pode ter acontecido pelo uso de fertilizantes contendo quantidades não determinadas de mercúrio e fungicidas mercuriais, atualmente com seu uso proibido. Segundo a EPA (1999) descargas de efluentes industriais, principalmente de indústrias de celulose e papel, curtumes e manufatura de produtos químicos, são fontes de mercúrio para o ambiente aquático, além da deposição natural do metal proveniente da sua liberação das rochas e dos solos.

2-Revisão Bibliográfica

2.1-Mercúrio

O mercúrio vem sendo usado pelo homem desde longa data. Levantamentos revelam que, desde épocas pré-históricas, este metal tem sido usado como agente corante em tintas, nas pinturas em objetos de argila e pinturas faciais (CETESB, 1984).

A contaminação do mercúrio e os seus efeitos no ambiente e no homem só se tornaram uma preocupação real depois dos acidentes de Minamata e Niigata no Japão, durante os anos 50-60. Os pescadores de Minamata, em 1953, juntamente com outros consumidores de peixes, começaram a sofrer de encefalopatia aguda, cujos sintomas e sinais principais eram restrição no campo visual, surdez neurológica, ataxia, inibição motora, tremores e diminuição da sensibilidade. Somente em 1959 foi descoberto que o envenenamento era devido à contaminação dessa região por metilmercúrio. Em 1964, nova epidemia se desenvolveu em Niigata, com seis casos fatais (EYSINK *et al.*, 1988).

Com referência a Minamata, verificou-se que a população ingeria peixes e moluscos contaminados por mercúrio, cujo teor variava de 10 a 50 $\mu\text{g/g}$ (EPA, 1972). Os pescadores intoxicados revelaram ter se alimentado de peixes até três vezes ao dia. Calculou-se que a ingestão de mercúrio, nos casos fatais, foi da ordem de 1,64 mg/pessoa/dia (OMS, 1974).

No Brasil, acidentes envolvendo mercúrio vêm ocorrendo periodicamente, comprometendo seriamente o ambiente aquático. O lançamento contínuo de mercúrio na enseada dos Tainheiros, na Bahia, em 1975, contaminou peixes e crustáceos na região, os quais eram consumidos pela população local (CETESB, 1983). A contaminação do rio Botafogo, em Pernambuco, provocada pelos efluentes da indústria Igarassu (produtora de cloro e soda), além de comprometer a água e o sedimento daquele corpo de água, atingiu também o estuário e o canal de Santa Cruz. Conseqüência desta contaminação por mercúrio: 54% da fauna aquática atingiram níveis acima dos limites permissíveis para o consumo

humano (CETESB, 1981). Atualmente, as áreas mais atingidas, sem dúvida, são os locais onde se pratica garimpo de ouro, principalmente nos rios amazônicos.

O mercúrio pode ocorrer naturalmente no ambiente e os processos de emissão natural deste metal incluem: desgastes de depósitos minerais, emissões vulcânicas e queima de florestas (NRIAGU, 1989; LINDQVIST *et al.*, 1991; NRIAGU 1994; CAMARGO, 2002). Este metal pode ainda, ser liberado por atividades humanas, como descargas de efluentes industriais, resíduos de mineração e queima de combustíveis.

O mercúrio é distinto em duas classes de compostos: inorgânicos, na forma metálica ou elementar (Hg^0), mercúrio I (Hg^{1+}) e mercúrio II (Hg^{2+}), estados nos quais o átomo de mercúrio perde um e dois elétrons, respectivamente; e orgânicos: o mercúrio é ligado ao átomo de carbono de um grupo metil, etil ou propil (WHO, 1989).

Nesta biotransformação o metal é encontrado no sedimento (lodo) sob a forma de Hg^{1+} em equilíbrio com a forma Hg^{2+} . Na forma Hg^{1+} sofre ação bacteriana sendo convertido em mercúrio metálico, que é volátil e permanece no sedimento ou em metilmercúrio, que é altamente tóxico e se acumula na cadeia alimentar. Esta transformação do íon mercúrio em metilmercúrio se faz por intermédio de processos metabólicos com a participação da vitamina B_{12} . As bactérias permitem a transferência do grupamento metil da vitamina B_{12} ao mercúrio, formando dimetil-mercúrio, que abandonando o sedimento é convertido sob a ação dos raios ultravioleta em metano, etano e mercúrio metálico, o qual retorna ao sedimento (Figura 1).

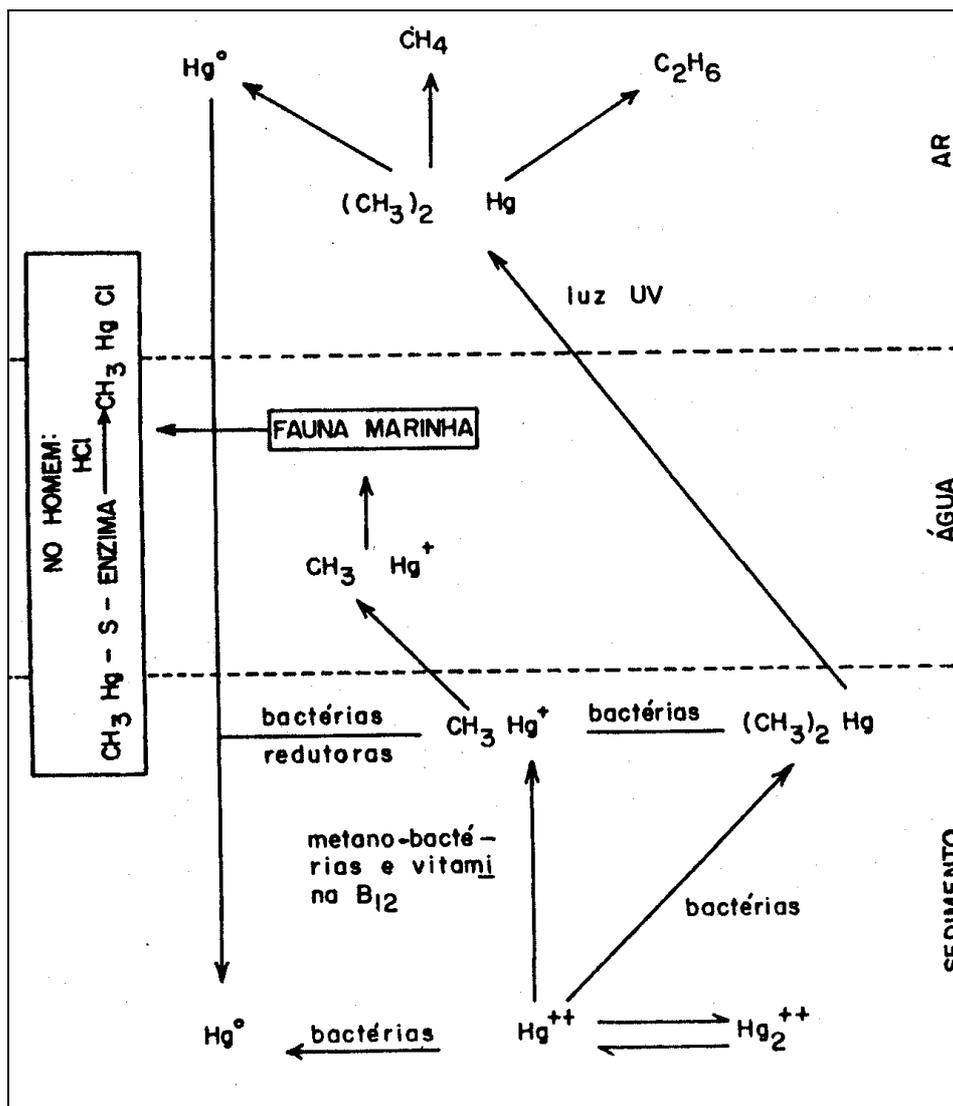


Figura 1-Ciclo do Mercúrio no ambiente

JACOBS e KEENEY (apud RADA *et al.*, 1986), em um estudo efetuado no rio Wisconsin, levantaram a hipótese de que ocorria alta transformação de mercúrio em metilmercúrio em sedimentos mais ácidos e que continham altas quantidades de matéria orgânica. CALLISTER e WINFREY (1986), em estudo sobre a metilação no sedimento, constataram que a metilação acontece nos primeiros 4cm de fundo do sedimento, decaindo à medida que aumenta a profundidade. Os autores referidos anteriormente, através de mercúrio radioativo chegaram ainda, às seguintes conclusões: a temperatura influi na metilação, sendo

que a máxima metilação ocorre a 35°C e a mínima a 4°C, em sedimentos organicamente ricos ocorre maior metilação que em sedimentos pouco eutrofizados, o processo ocorre com menos intensidade em ambientes aeróbicos que em ambientes anaeróbicos.

BERMAN e BARTHA (1986) observaram que altas concentrações de sulfeto inibem a atividade de metilação do mercúrio. Nessas condições, o mercúrio fica aderido ao enxofre, o que diminui a possibilidade do metal ser incorporado à biota.

Os peixes e organismos aquáticos em geral acumulam Hg em seu corpo diretamente da água, através da cadeia alimentar e sedimento (WREN *et al.*, 1995). Os peixes podem absorver tanto mercúrio orgânico quanto inorgânico, mas a maior parte do Hg (cerca de 85%) acumulado nos tecidos dos peixes encontra-se como metilmercúrio (SPRY e WIENER, 1991). KRAMER e NEIDHART (1975) demonstraram que metilmercúrio foi absorvido pelo peixe *Lebistes reticulatus* 17 vezes mais do que mercúrio inorgânico. A parede do intestino dos peixes é uma barreira efetiva para o cloreto de Hg, mas é permeável ao metilmercúrio (BOENING, 2000). Além disso, a perda de Hg inorgânico pelo peixe é muito rápida, enquanto a eliminação de metilmercúrio é na ordem de meses ou anos (WHO, 1989). Todos esses fatores contribuem para que os peixes acumulem mais metilmercúrio.

A biometilação de compostos de Hg inorgânico no sedimento e a acumulação de Hg orgânico em animais conduzem seus efeitos deletérios até os animais de níveis tróficos superiores (WALDOCK, 1994). Quando os organismos são expostos à contaminação por Hg, a concentração deste elemento acumula de acordo com a posição do animal na cadeia trófica (biomagnificação).

O conteúdo de Hg nos peixes é particularmente importante, porque este é o primeiro caminho da contaminação do homem, que os consome (GRAY *et al.*, 2000). A quantidade acumulada nos peixes depende do alimento ingerido, da idade, do tamanho e, principalmente, do seu nível trófico, uma vez que ocorre um acúmulo maior de mercúrio em peixes

predadores (HOLSBEEK *et al.*, 1997 e SOUZA e BARBOSA, 2000). WATRAS *et al.* (1998) acrescentam que condições exógenas como a concentração de mercúrio, pH, quantidade de matéria orgânica e temperatura da água determinam a bioacumulação desse metal pesado no ecossistema e nos peixes. O tempo de exposição e a taxa de metabolismo ou eliminação do tecido também influenciam nesse processo (OLSON *et al.* 1978).

A influência do pH na bioacumulação foi demonstrada por WREN e MACCRIMMON, (1983) em peixes coletados no centro-sul de Ontário. A taxa de crescimento e a concentração de mercúrio total no tecido muscular foram determinadas em *Lepomis gibbosus*. A média do pH da água variou entre 5,6 e 8,4. A taxa de crescimento foi relacionada positivamente com o pH do lago, enquanto o nível de mercúrio no peixe foi mais alto em pH baixo, mostrando que a redução no pH aumenta a absorção de mercúrio pelo peixe. A dureza da água também influencia a toxicidade do mercúrio, RODGERS e BEAMISH (1982) demonstraram que a absorção de metilmercúrio por trutas foi menor com dureza da água de 385 mg CaCO₃/L do que com 30 mg CaCO₃/L.

A presença do mercúrio no peixe causa alterações indesejadas à saúde do animal, como a inibição dos processos metabólicos, baixa fecundidade, pequena taxa de sobrevivência e alteração da imunidade celular e humoral (MIKRYAKOV e LAPIROVA, 1996). A intoxicação resulta em severos danos histológicos nas brânquias, nos hepatócitos e no epitélio renal (BANO e HASAN, 1990 e PANDEY *et al.*, 1996). Em relação aos sinais clínicos BOLDRINI e PÁDUA (1983) descreveram rigidez do corpo, movimento lento, perda de equilíbrio, asfixia e finalmente morte. (MENEZES e YANCEY, 1991).

2.2 Testes de toxicidade com sedimento

Os compostos químicos podem existir nos ecossistemas aquáticos disponíveis sobre três formas: dissolvidos ou adsorvidos em um componente biótico ou abiótico, suspenso na

coluna de água ou depositado no fundo e ainda acumulado nos organismos. Metais pesados, tais como mercúrio, tendem a se acumular no sedimento, onde poderão ser mobilizados através de fatores físicos e químicos do meio através dos diversos componentes da cadeia trófica, ocasionando sua bioconcentração (RAND e PETROCELLI, 1985).

O sedimento é um material particulado natural, orgânico ou mineral, que normalmente pode ser transportado e depositado no fundo de ecossistemas aquáticos. Uma das funções do sedimento é agir como depósito para contaminantes da água, fixando e removendo espécies químicas, entre as quais são encontrados elementos nocivos ao homem e à natureza (CIHACEK *et al.*, 1996).

Muitos contaminantes são relativamente insolúveis em água e se agregam a partículas suspensas de matéria orgânica, que geralmente se depositam no sedimento. Como consequência muitos sedimentos contêm maior concentração de contaminantes que a própria água.

A contaminação do sedimento pode ter efeito detrimental em um ecossistema. Alguns deles são evidentes, outros mais discretos ou desconhecidos. Por exemplo, a comunidade de invertebrados bênticos pode ser totalmente perdida ou então transformada em espécies tolerantes à poluição. Estas espécies tolerantes processam uma variedade de matéria e seus produtos metabólicos podem ser diferentes. Tais diferenças podem alterar funções do ecossistema como fluxo de energia, processos de produtividade e decomposição. A perda de qualquer comunidade biológica pode indiretamente afetar outros componentes do ecossistema. Por exemplo, se uma comunidade bêntica é alterada, o ciclo de nitrogênio pode ser afetado, de uma maneira que formas de nitrogênio necessárias para espécies fitoplânctônicas-chaves não sejam produzidas e o fitoplâncton pode ser substituído por cianobactérias capazes de fixar nitrogênio. A produção de neuro e hepatotoxinas pelas cianobactérias pode afetar peixes herbívoros (CARMICHAEL, 1981).

Outros efeitos dos sedimentos contaminados podem ser mais diretos, como observado no “Great lake” - EUA, onde peixes predadores de topo estavam altamente contaminados, por alimentarem-se de peixes e invertebrados bentônicos, que estavam carregados com sedimento associado a poluentes como, PAHs, PCB, mercúrio e pesticidas (BURTON e MACPHERSON, 1995).

Embora o sedimento possa ser considerado o último depósito para os contaminantes do ambiente aquático, nele podem ocorrer processos físicos, químicos, biológicos e também antropogênicos originando uma fonte secundária de contaminação da água. Por exemplo, pode ocorrer ressuspensão por ação física de ondas liberando as partículas para a coluna d'água. Através de processos químicos na interface sedimento-água as partículas de água intersticial podem produzir um gradiente de concentração que media a liberação de materiais. A bioturbação causada por invertebrados bênticos durante a atividade de escavação e ingestão de partículas, pode causar a reliberação de contaminantes para a coluna d'água. A Biomagnificação na cadeia alimentar também pode resultar na redistribuição de poluentes dentro do ecossistema. Atividade de dragagem pode ter um efeito no sedimento contaminado, iniciando a ressuspensão dos poluentes para a coluna d'água e cadeia alimentar. Alguns desses processos podem produzir efeitos ecotoxicológicos, os quais agem a nível celular, população e ou comunidade (REYNOLDSON e DAY, 1993).

Com relação à contaminação do sedimento, é crítico selecionar procedimentos que possam identificar problemas relacionados à toxicidade deste compartimento, que avaliem sua significância, identifique ações de prevenção e determinem o sucesso desse controle. Tais procedimentos devem ser baseados em princípios básicos de proteção da integridade ecológica do ambiente e devem utilizar medidas biológicas e testes para avaliar tais impactos. Protocolos para definir a necessidade e o sucesso do manejo preventivo e ações de remediação também devem ser levados em consideração (REYNOLDSON e DAY, 1993).

Os testes de toxicidade com organismos aquáticos em condições de laboratório possibilitam a mensuração dos efeitos dos produtos tóxicos sobre a biota e a estimativa dos riscos de intoxicação ao ambiente. Para efeito de monitoramento de ambientes aquáticos possivelmente contaminado com substâncias tóxicas, os testes de toxicidade mais utilizados são os de avaliação da toxicidade aguda e crônica. Nos testes de toxicidade aguda os organismos são expostos aos agentes tóxicos por curto período de tempo, determinando-se a concentração letal média (CL_{50}). Nos testes de toxicidade crônica o tempo de exposição envolve períodos mais longos com concentrações sub-letais, no qual se avaliam parâmetros como comportamento, alterações fisiológicas e morfológicas. Assim, o impacto dos poluentes sobre os organismos aquáticos pode ser estimado e monitorado por testes de toxicidade em condições de laboratório (RAND e PETROCELLI, 1985).

Testes de laboratórios (bioensaios com sedimentos) estimam a quantidade de material biologicamente ativo que podem ter efeito deletério nos organismos-teste. As vantagens dessas medidas são: a disponibilidade de metodologias padronizadas, comparação de espécies de diferentes níveis tróficos, e evidência direta do sedimento como o agente de toxicidade (REYNOLDSON e DAY, 1993).

Em testes de toxicidade utilizando sedimento, a avaliação dos efeitos dos contaminantes vai além de efeitos agudos, como a mortalidade. Efeitos crônicos podem mostrar os danos que os organismos sofrem, já que os contaminantes afetam estruturas e órgãos, comprometendo o organismo ou mesmo a comunidade. Vários marcadores (bioquímicos, fisiológicos e histológicos) podem ser usados para avaliar os efeitos de determinados poluentes no ecossistema aquático. O aumento no interesse pelo uso de biomarcadores é devido a sua sensibilidade, já que algumas alterações são específicas para um contaminante ou uma classe de contaminantes, e também devido a sua fácil utilização tanto em laboratório quanto em estudo de campo.

Entre os vários marcadores, as análises histológicas de diferentes órgãos podem indicar resposta biológica diante de uma situação desfavorável, já que freqüentemente a exposição prolongada dos organismos a agentes tóxicos pode não provocar diretamente sua morte, mas afetar a estrutura e a função de órgãos vitais, pondo em risco o indivíduo a população e, algumas vezes, a espécie (POLEKSIC e MITROVIC-TUTUNDZC, 1994; AU. *et al.*, 1999). Segundo WESTER e ROGHAI (1994), o estudo histopatológico pode revelar efeitos tóxicos estruturais específicos em vários órgãos de pequenos peixes utilizados experimentalmente em laboratório. Quando as alterações ocorrem em organismos expostos a uma amostra do ambiente, ela confirma a degradação da área (EWALD, 1995). Portanto, estudos histopatológicos consistem em uma ferramenta útil para avaliar o efeito desses contaminantes nos ambientes aquáticos.

2.3-Peixes como organismos-teste

Os peixes atuam como importante recurso ao exercer a função de bioindicadores de áreas possivelmente contaminadas e, entre os contaminantes, pode estar o mercúrio de origem natural e artificial (PORVARI, 1995 e HYLANDER *et al.*, 2000). Estes organismos têm sido utilizados para testes de toxicidade de efluentes e são considerados organismos padrão para testes de toxicidade aguda, assim como para testes de toxicidade crônica. Porém, até o presente, os peixes não têm sido muito utilizados para testes de toxicidade aguda ou crônica com sedimento (REYNOLDS e DAY, 1993).

A importância de peixes de água doce em ecotoxicologia é tanto ecológica quanto econômica. Os peixes, em sua maioria, não vivem em contato direto com o sedimento, não tendo a princípio a mesma importância de invertebrados bentônicos na avaliação da toxicidade do sedimento. No entanto, os contaminantes presentes nos sedimentos podem passar para a coluna d'água pela ação de fatores físicos, químicos e biológicos, e atingirem os

peixes. O fato dos peixes, principalmente os carnívoros, apresentarem níveis tróficos elevados entre os organismos aquáticos, faz com que estes animais, através da cadeia alimentar, acumulem altos teores de substâncias por biomagnificação. CHAPMAN *et al.* (1986) estudando *Pimephales promelas*, a mais freqüente espécie de peixe utilizada em testes de toxicidade em sedimento de águas doce no hemisfério norte, exposta ao sedimento observaram completa mortalidade das larvas, enquanto o microcrustáceo *Daphnia magna*, apresentou apenas 3% de mortalidade, o que mostra a sensibilidade diferencial desses organismos.

3. Objetivos

Este trabalho teve por objetivo avaliar a toxicidade dos sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, através da realização de bioensaios, utilizando os peixes *Danio rerio* e *Oreochromis niloticus* como organismos-teste, e como indicadores os índices de sobrevivência, bioacumulação nos peixes e análises histopatológicas.

Avaliar a contaminação dos sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri quanto à presença de mercúrio.

Analisar o sedimento, como depósito (adsorção) e fonte (dessorção) de mercúrio, através de testes de toxicidade com sedimento experimentalmente contaminado.

4. Material e Métodos

4.1-Descrição Geral

Os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri (Figura 2) foram coletados em duas épocas, na estação chuvosa e estação seca. Os exemplares de *Oreochromis niloticus* e *Danio rerio* foram expostos a esses sedimentos durante sete dias para verificar a toxicidade dos mesmos. Além do sedimento das represas foi avaliado o papel que o sedimento exerce como depósito de poluentes. Nesse sentido os peixes foram expostos a concentração 0,2 mg/L Hg, em duas condições diferentes, na presença e ausência de sedimento. Em um outro tratamento os peixes foram expostos a um sedimento saturado com 1,0mg/g de Hg, para avaliar a liberação desse Hg para a coluna d'água, tornando o sedimento a fonte do poluente.

A toxicidade dos sedimentos foi avaliada através da mortalidade, análise do conteúdo de mercúrio no sedimento e nos peixes e ainda através de análises histopatológicas.

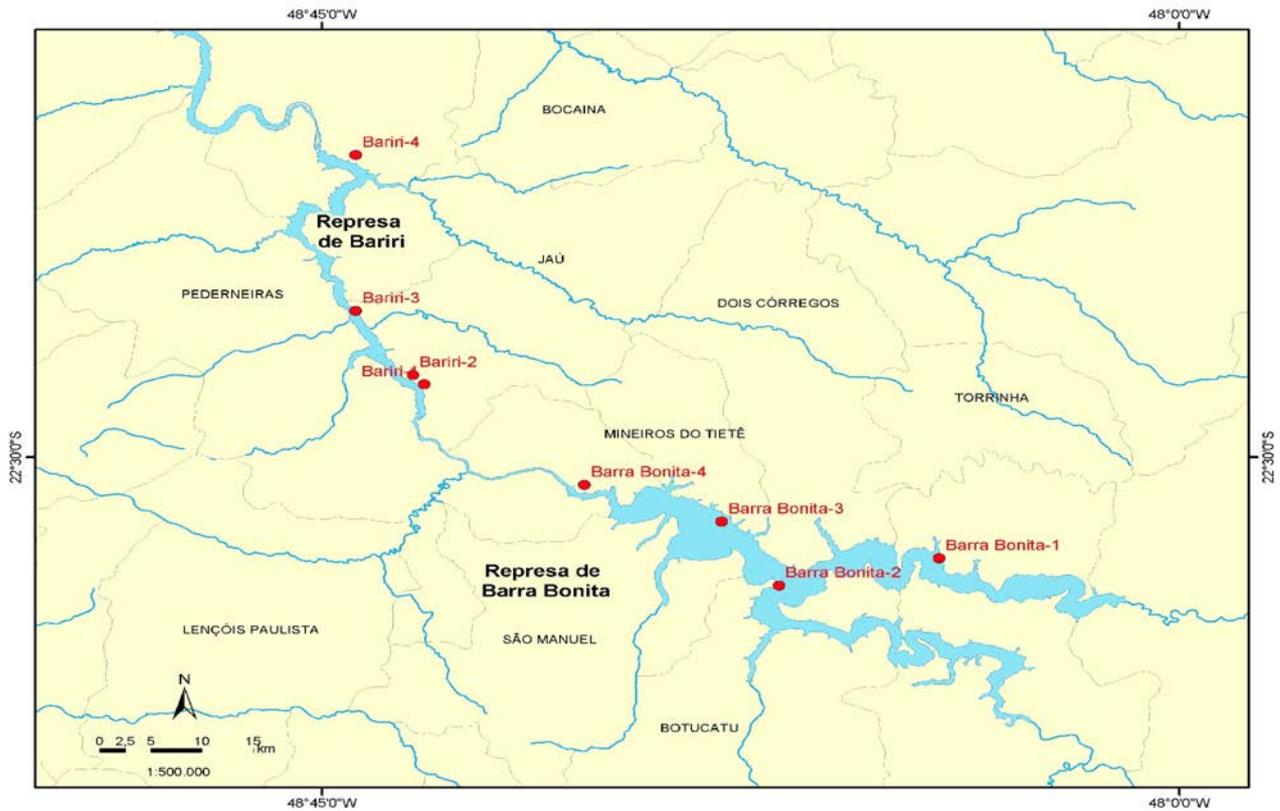


Figura 2. Mapa localizando os pontos onde os sedimentos foram amostrados nas represa de Barra Bonita e Bariri (no presente trabalho foram coletado sedimentos do ponto 2 de Bariri e pontos 3 e 4 de Barra Bonita) (MARCONDES, 2004)

4.2. Caracterização da área de estudo

4.2.1 Represa de Barra Bonita

A represa de Barra Bonita (Figura 3) pertence às sub-bacias de Piracicaba-Capivari-Jundiaí, é a maior e uma das mais importantes represas de usinas hidrelétricas de São Paulo. Está localizada a 22°29' latitude sul e 48°34' longitude oeste, com altitude de 430m, volume de água de $200 \times 10^6 \text{ m}^3$ e área inundada de 32.484 ha (TUNDISI, 1980). A principal finalidade desta represa é a geração de energia, embora seja também utilizada para irrigação, piscicultura, abastecimento e recreação.

O uso do solo da sub-bacia Tietê Médio-Superior se divide entre os típicos de áreas urbanas e de atividades rurais (plantações de cana de açúcar, café, cítricos, hortaliças e atividades granjeiras). As atividades industriais poluentes são as indústrias têxteis,

alimentícias, de papel e papelão, abatedouros, engenhos e cana de açúcar e álcool. A água dos rios é utilizada para abastecimento público, abastecimento industrial e lançamentos de efluentes industriais (CETESB, 2001a).



Figura 3. Vista da represa de Barra Bonita, Barra Bonita, SP

4.2.2 Represa de Bariri

A represa de Bariri (Figura 4) pertence à sub-bacia Tietê-Jacaré, localiza-se a 22°6'latitude sul e 48°45'longitude oeste, apresenta altitude de 442m, volume de água de $1.330 \times 10^6 \text{m}^3$ e área inundada de 5.420 ha (TUNDISI, 1980). Faz parte do complexo de barragens construído em série (sistema de cascatas), no centro-oeste do estado de São Paulo. A principal finalidade da represa não é a geração de energia, mas sim para contenção.

O uso do solo na região é caracterizado por atividades urbanas, industriais e agropecuárias, com grandes áreas de pastagens e de culturas agrícolas (cana de açúcar, café,

milho e citrus). As atividades industriais principais são as usinas de açúcar e álcool, engenho, curtumes e indústrias alimentícia (CETESB, 2001b).



Figura 4-Vista da represa de Bariri, Bariri, SP

4.2.3 Local provedor do sedimento controle

O sedimento controle foi coletado no sítio São Bom Jesus, localizado na cidade de Itatiba, SP. O lago provedor do sedimento possui nascente própria, estando livre de contaminação por atividades agropecuárias, industriais ou urbanas, sendo, portanto considerado de boa qualidade (Figura 5).



Figura 5. Lago provedor do sedimento controle, sítio São Bom Jesus, Itatiba, SP

4.3 Coleta do Sedimento

Os sedimentos das duas represas, bem como o sedimento controle foram amostrados no período de chuva-março de 2004 (Experimento 1) e no período de seca-agosto de 2004 (Experimento 2), utilizando-se draga do tipo Eckman-Birge, com área de 225 cm². Na Figura 6 são apresentados os dados de precipitação mensal na região das represas no ano de 2004, quando ocorreram as coletas dos sedimentos.

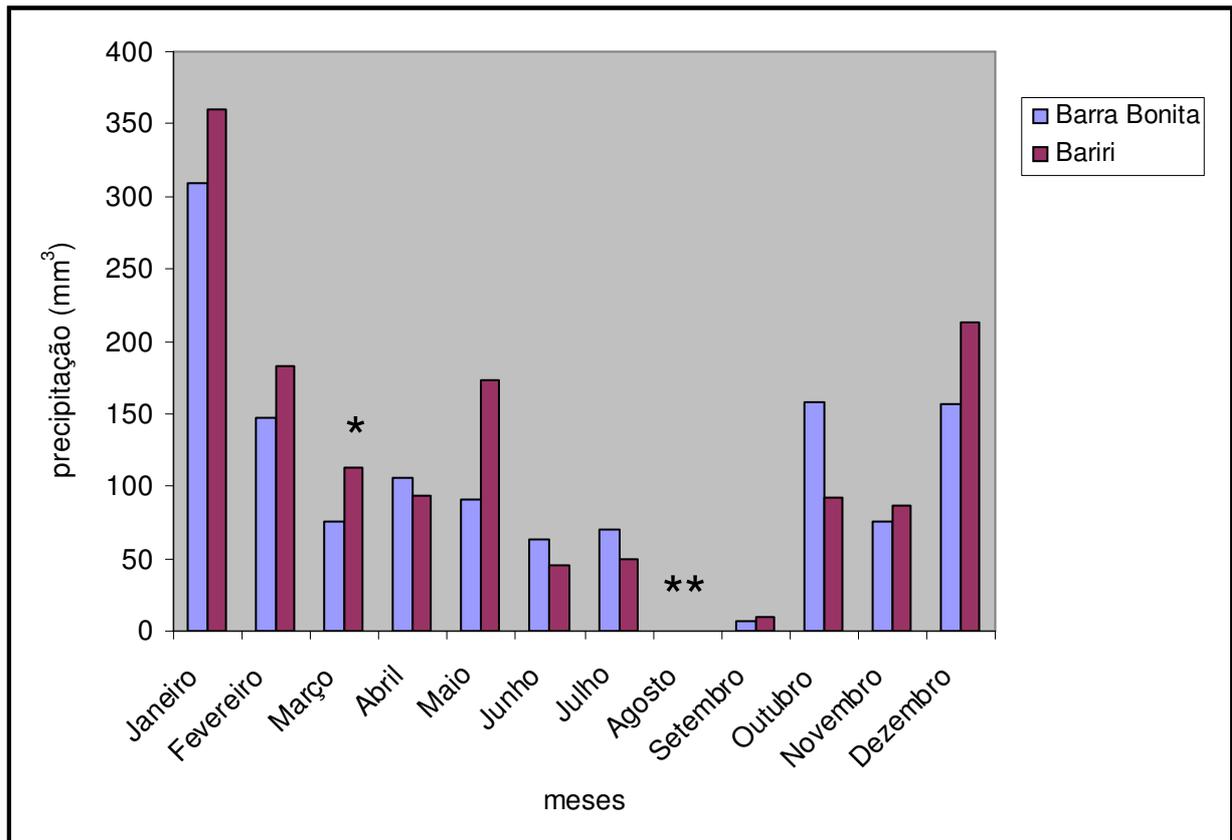


Figura 6-Precipitação mensal nas represas de Barra Bonita e Bariri, SP, no ano de 2004. * coleta do sedimento para o experimento 1; ** coleta do sedimento para o experimento 2.

A granulometria dos sedimentos de Barra Bonita, Bariri e sedimento controle estão apresentados nas Figuras 7 e 8. Os pontos de coleta do sedimento da represa de Barra Bonita foram diferentes nos dois períodos amostrados, devido a problemas de campo, o que refletiu na granulometria. No experimento 1 o sedimento de Barra Bonita foi formado basicamente por silte e argila e no experimento 2 por areia. Na represa de Bariri e no lago controle os pontos de coleta foram os mesmos nos dois experimentos.

As amostras de sedimento foram armazenadas sob baixa temperatura (4°C), e a realização dos bioensaios de toxicidade não ultrapassou o tempo máximo de seis semanas após a coleta do material, segundo recomendação de BURTON (1992).

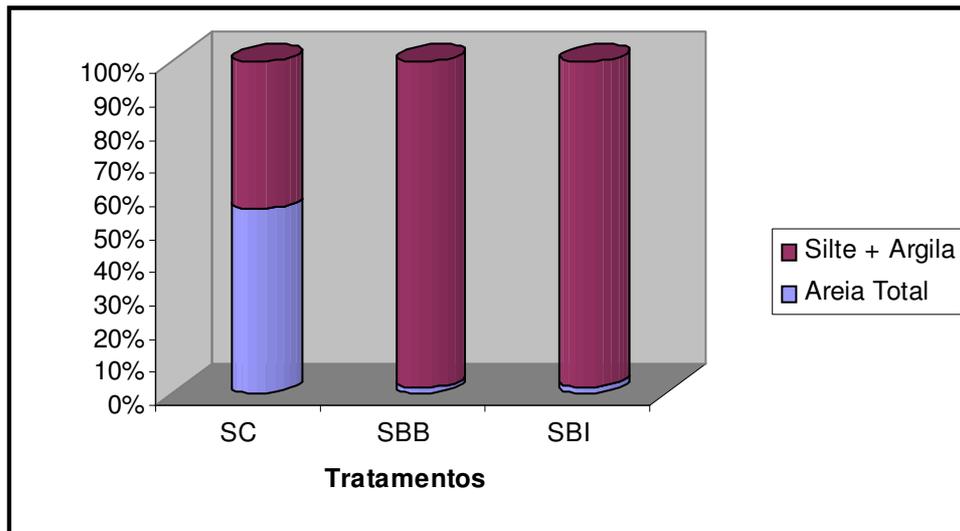


Figura 7- Granulometria dos sedimentos das represas de Barra Bonita, Bariri e sedimento controle, no EXPERIMENTO 1. SC: Sedimento Controle; SBB: sedimento de Barra Bonita; SBI: sedimento de Bariri

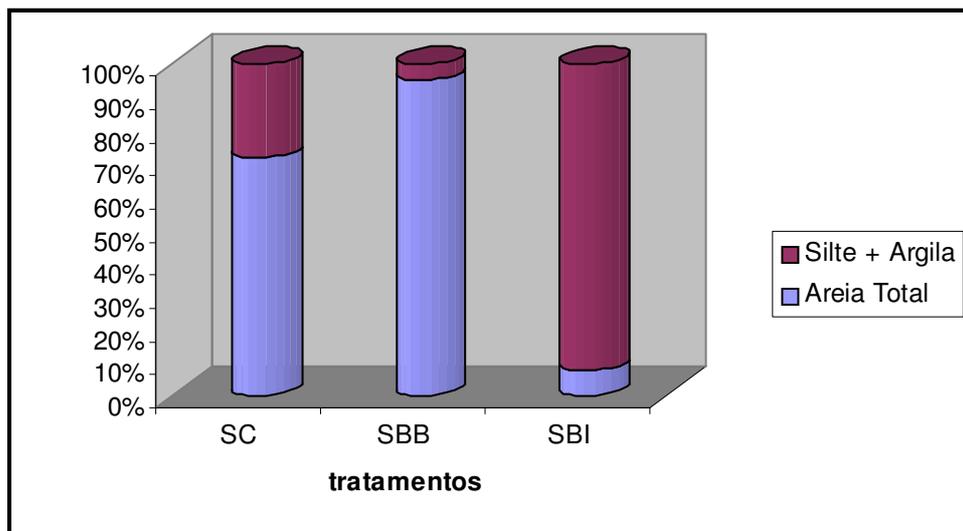


Figura 8- Granulometria dos sedimentos das represas de Barra Bonita, Bariri e sedimento controle, no EXPERIMENTO 2. SC: Sedimento Controle; SBB: sedimento de Barra Bonita; SBI: sedimento de Bariri

4.4 Caracterização dos organismos-teste

Os peixes utilizados nos experimentos foram alevinos de tilápia, *Oreochromis niloticus* (Figura 9) provenientes de piscicultura comercial. Esta espécie foi escolhida por ser abundante na região de estudo, além de ser encontrada pisciculturas durante o ano todo. Também o peixe ornamental paulistinha, *Danio rerio* (Figura 10), igualmente obtido de

estabelecimento comercial, esta espécie é considerada padrão em testes de toxicidade. Os pesos médios e comprimento total dos peixes estão registrados na Tabela 1.

Tabela 1-Comprimento total (CT) e peso médio (PM) dos peixes utilizados nos experimentos

	Experimento 1		Experimento 2	
	CT (cm)	PM (g)	CT(cm)	PM (g)
<i>Danio rerio</i>	3,30 ± 0,34	0,30 ± 0,06	3,10 ± 0,21	0,33 ± 0,09
<i>Oreochromis niloticus</i>	2,70 ± 0,27	0,30 ± 0,09	3,40 ± 0,21	0,74 ± 0,13



Figura 9- *Oreochromis niloticus*, organismo-teste utilizado nos experimentos com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e de sedimentos experimentalmente contaminados com Hg



Figura 10- *Danio rerio*, organismo-teste utilizado nos experimentos com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg

4.5 Bioensaios (testes de toxicidade)

4.5.1 Delineamento Experimental

O experimento foi conduzido com sete tratamentos e cinco réplicas simultâneas descritas a seguir e esquematizado na Figura 11:

C = Controle (somente água, sem sedimento)

SC = sedimento controle

SBB = sedimento da represa de Barra Bonita (SP)

SBI = sedimento da represa de Bariri (SP)

SSHg = sedimento controle, experimentalmente contaminado com 1,0 mg/L de Hg (vide item 4.5.2)

SHgCL₅₀ = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2 mg/L, determinada em estudos anteriores (vide item 4.5.2)

HgCL₅₀ = água contaminada com mercúrio na concentração letal média (0,2 mg/L).

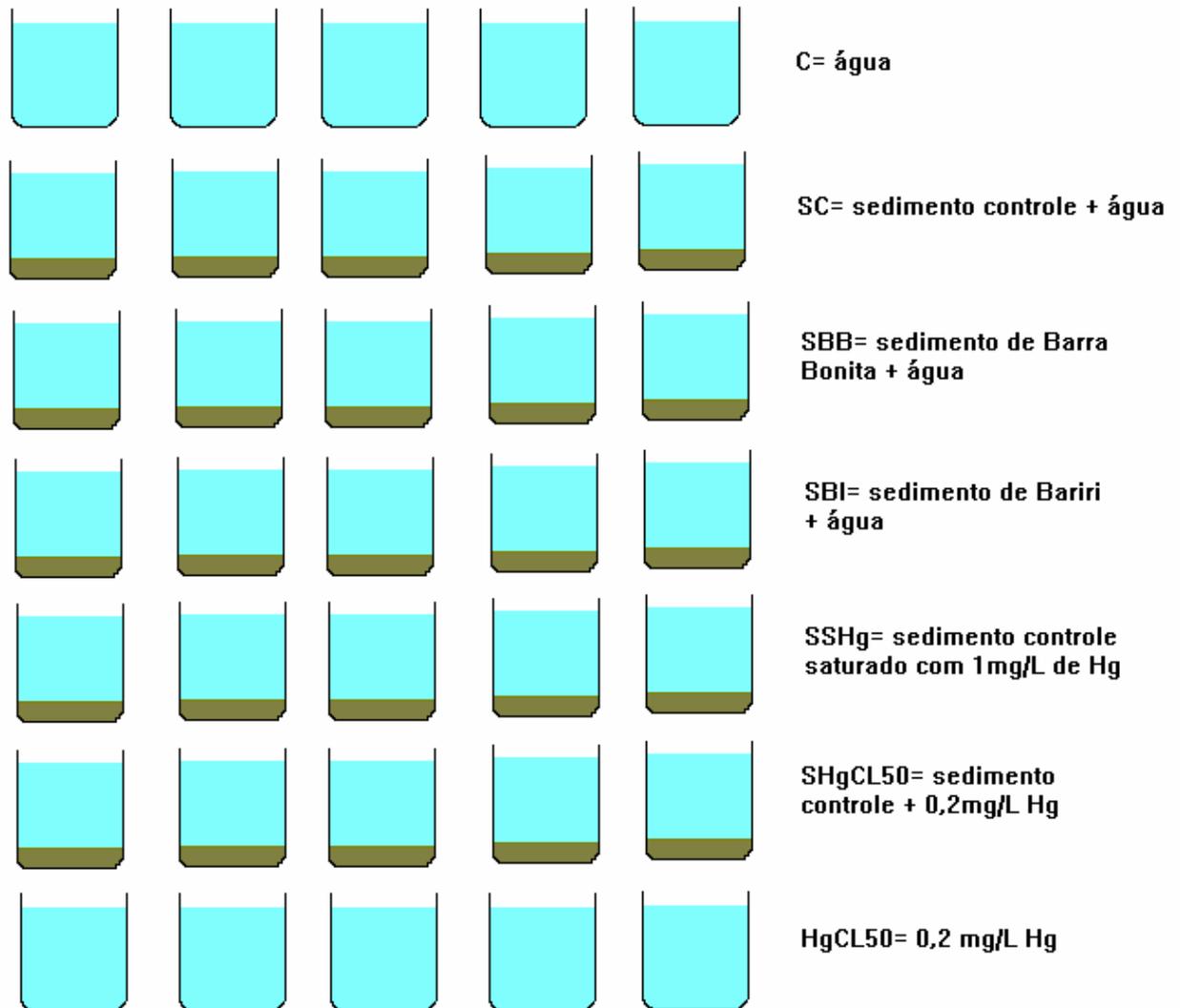


Figura 11-Esquema de montagem dos experimentos com sedimento

4.5.2 Contaminação experimental dos sedimentos

Para a contaminação do tratamento SSHg o sedimento controle foi saturado e permaneceu em solução com concentração de 1,0mg/L de Hg, por um período de 24 horas.

Durante esse período o sedimento foi homogeneizado, e após 24 horas o sedimento foi lavado com água deionizada e o excesso de água foi retirado. A concentração 0,2 mg/L de mercúrio utilizada em dois dos tratamentos é a CL_{50-96h} determinada por ISHIKAWA (2003) para *Oreochromis niloticus*. Em todos os tratamentos com adição de mercúrio foi utilizado o produto químico Cloreto de Mercúrio ($HgCl_2$) do laboratório *Sinth*[®].

4.5.3 Condução dos Bioensaios

A metodologia para condução de bioensaios foi padronizada de acordo com as recomendações expressas por Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater – APHA *et al.* (1998), e também por BURTON (1992) para testes de toxicidade com sedimento.

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos do Instituto de Pesca, no município de São Paulo. Antes do início do experimento os peixes foram aclimatados por dez dias nas mesmas condições de laboratório em que se realizou o experimento. As tilápias permaneceram em caixas de 250 L e os paulistinhas em aquários de 40 L. Durante este período, os animais ficaram em observação para se determinar possíveis doenças, presença de parasitos ou danos físicos.

A água de abastecimento urbano foi utilizada como fonte de água de diluição em todos os experimentos. O cloro residual desta fonte foi eliminado através do processo de filtração (filtros tipo cunho em duas séries de substrato de carvão), seguido de forte aeração.

Os testes de toxicidade foram realizados em béqueres de 600ml providos de 100 g de sedimento e 400mL de água de diluição, na proporção 1:4 (sedimento:água), conforme recomendação de BURTON (1992). Os béqueres possuíam aeração artificial (Figura 12) e foram povoados com seis peixes em cada unidade. Durante o período experimental os peixes foram alimentados diariamente, “ad libitum”, com ração comercial floculada. O sistema

utilizado foi o semi-estático, com troca de 1/3 da água a cada 24 horas. A água utilizada para a substituição dos tratamentos com a concentração 0,2 mg/L de Hg foi preparada anteriormente à troca e mantida como solução estoque na mesma concentração. Para os outros tratamentos, a substituição foi realizada com água de diluição (sem Hg). O teste foi conduzido por sete dias.

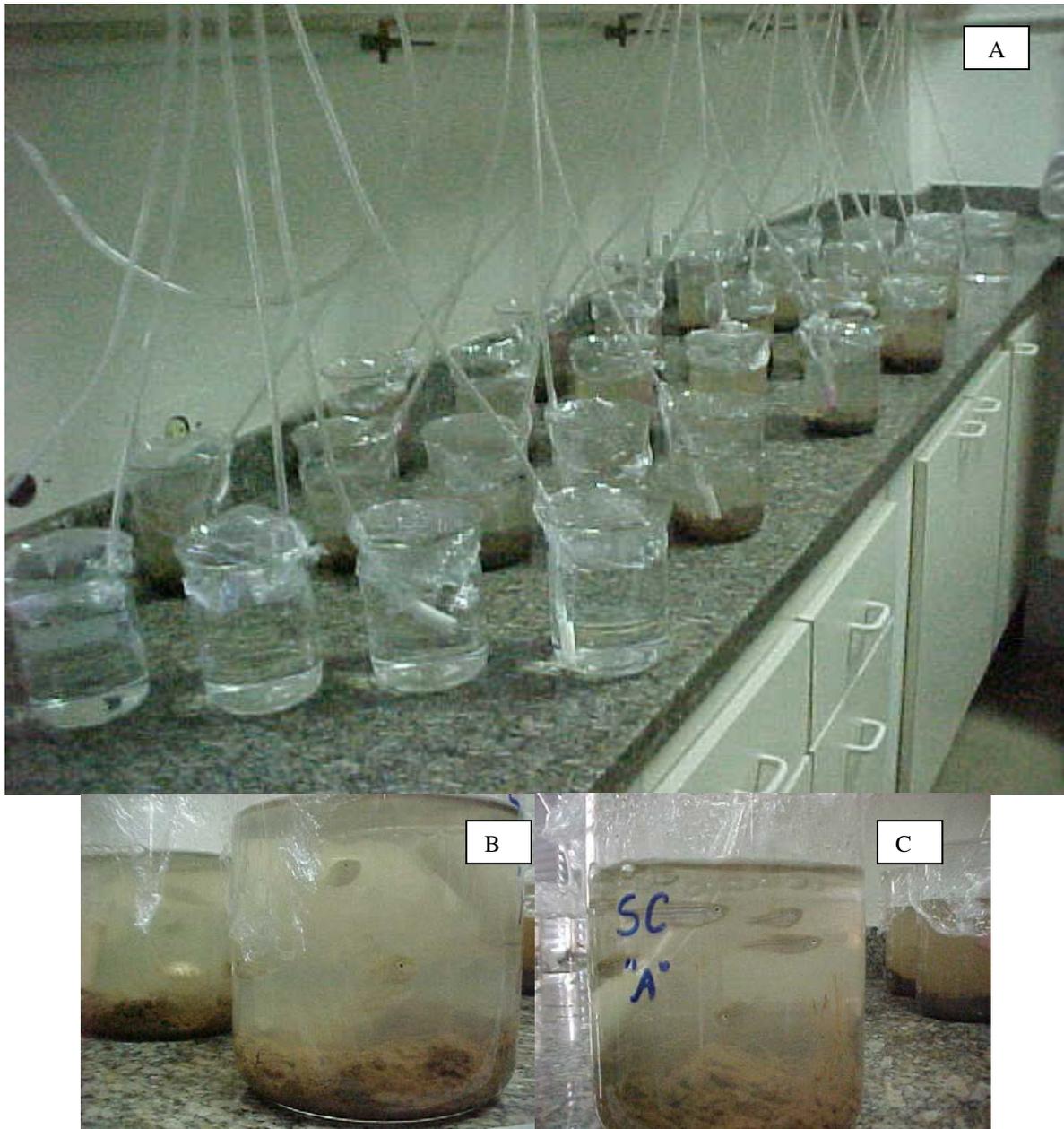


Figura 12. Disposição das unidades experimentais utilizadas no bioensaio com sedimento das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg
A = Bateria de béqueres. **B** = Béquer com tilápia (*O. niloticus*). **C** = Béquer com paulistinha (*D. rerio*)

4.5.4 Variáveis físicas e químicas da água

As seguintes variáveis físicas e químicas da água foram determinadas no início e a cada 24 horas, durante os experimentos: temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica. A determinação da dureza foi realizada pelo método titulométrico do EDTA,

alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3/\text{L}$) por titulometria e amônia total ($\text{mg NH}_4/\text{L}$) pelo método colorimétrico do reagente de Nessler. Estas determinações foram realizadas no início do experimento e ao final de sete dias. A mortalidade foi registrada a cada 24 horas e os indivíduos mortos retirados dos béqueres.

4.6 Análise de teores de Hg

4.6.1 Sedimento

Para a determinação da concentração de Hg nos sedimentos, os mesmos foram secos em estufa, não ultrapassando 40°C , por aproximadamente 15 dias. Depois de secos os sedimento foram triturados, utilizando cadinho e pistilo. Para a extração do Hg foram utilizados 500 mg de sedimento por amostra. A mistura digestora utilizada foi 5 mL de água régia ($3\text{HCl}:1\text{HNO}_3$) em cada amostra. As análises foram feitas em triplicata. A extração foi feita em bloco digestor (sistema aberto) por, aproximadamente, uma hora à temperatura de 100°C . Em seguida, adicionou-se 2 mL de água deionizada. As amostras voltaram ao bloco digestor por mais uma hora na mesma temperatura. A determinação do Hg total foi realizada com o espectrofotômetro de fluorescência atômica Merlin[®]. Os dados estão expressos em mg de peso seco de solo.

4.6.2 Água

Para a determinação das concentrações de Hg em todos os tratamentos, amostras de água dos diferentes tratamentos foram coletadas no primeiro, quarto e sétimo dias. As amostras foram conservadas com 1mL de ácido nítrico e mantidas em geladeira até o momento da análise.

A análise da água foi realizada em sistema aberto (bloco digestor) adicionando-se 1mL da solução $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{SO}_4$ (1:1). Essa mistura foi aquecida por uma hora a 60°C . Depois de

esfriada, 1 mL de KMnO_4 6% foi acrescentado à mistura. Após uma hora, algumas gotas de hidroxilamina foram adicionadas para reduzir o KMnO_4 e o volume foi completado a 50mL com água deionizada, seguindo-se à determinação do Hg total no espectrofotômetro de fluorescência atômica Merlin[®].

4.6.3 Peixes

Os peixes foram coletados no final do experimento, acondicionados em filme plástico e congelados para posterior análise. Antes do início do experimento, alguns exemplares (pré exposição) também foram separados para análise, que foi chamada de amostra do momento zero (MZ). Para a determinação da concentração de Hg acumulada no corpo inteiro dos organismos os peixes foram macerados e homogeneizados, com o auxílio de cadinho e pistilo. A digestão foi feita retirando-se dessa massa de peixe uma alíquota de 250 mg, sendo as análises realizadas em triplicata. A mistura digestora usada foi 1,5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) e 3,5 mL de HNO_3 destilado concentrado. A digestão das amostras foi realizada em bloco digestor (sistema aberto) por aproximadamente, 8 horas à temperatura de 100°C. Após a digestão, acrescentou-se 2,5 mL de BrCl , feita a redução com hidroxilamina e o volume completado a 50mL com água deionizada. A determinação do Hg total foi feita no espectrofotômetro de fluorescência atômica Merlin[®]. Os dados estão expressos em $\mu\text{g/g}$ de peso úmido.

4.7 Análises Histopatológicas

Ao final do experimento, 10 peixes de cada tratamento, tanto de *D. rerio* quanto de *O. niloticus*, foram sacrificados para análises histopatológicas. Os exemplares foram fixados inteiros em formol 10% por 24 horas à temperatura ambiente e posteriormente, transferido para álcool 70% e armazenados em frascos. Foram realizados cortes longitudinais ao longo do

corpo do animal e processados para a inclusão em parafina. Os cortes histológicos realizados foram de 6 μm de espessura, corados pela técnica de hematoxilina-eosina e analisados sob microscópio de luz comum.

4.8 Análises Estatísticas

Para verificar diferenças entre mais de dois tratamentos foi realizada análise de variância (ANOVA) e teste “t” de student para verificar diferenças entre dois tratamentos. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$ (ZAR, 1996).

5. Resultados e Discussão

5.1 Variáveis físicas e químicas da água do experimento de toxicidade

Neste trabalho não foram observadas alterações nas variáveis físicas e químicas da água entre os diferentes tratamentos e ao longo do experimento (Tabelas 2, 3, 4 e 5), que pudessem interferir nos resultados de mortalidade, estando todos dentro do limite estabelecido para conservação da vida aquática (BOYD, 1982). No experimento 2, a temperatura média foi mais baixa (21°C) que no experimento 1 (23° C). Entretanto, essa diferença não deve ter afetado os organismos-teste e permaneceu dentro dos limites recomendados na literatura, entre 20 e 25° C, para testes de toxicidade com peixes, (BURTON, *et al.*, 1995). Os níveis de oxigênio também permaneceram acima de 60%, o recomendado para testes de toxicidade (APHA *et al.*, 1998).

Tabela 2- Média das variáveis físicas e químicas da água do EXPERIMENTO 1 com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg, utilizando *Danio rerio* e *Oreochromis niloticus* como organismos-teste

Tratamento	Temperatura (°C)	Oxigênio Dissolvido (mg/L)	Oxigênio Dissolvido (% saturação)	pH	Condutividade elétrica (µS/cm)
<i>Danio rerio</i>					
C	23,9 ± 0,84	7,0 ± 0,28	90,9 ± 2,86	7,4 ± 0,25	130,2 ± 30,37
SC	23,3 ± 0,65	6,7 ± 0,27	87,8 ± 3,27	7,4 ± 0,25	126,7 ± 3 6,60
SBB	23,2 ± 0,52	6,8 ± 0,23	90,8 ± 3,25	7,5 ± 0,35	129,7 ± 13,97
SBI	23,4 ± 0,53	6,8 ± 0,26	89,7 ± 2,11	7,2 ± 0,16	103,6 ± 17,76
SSHg	23,4 ± 0,46	6,8 ± 0,09	89,4 ± 1,04	7,4 ± 0,26	113,3 ± 36,50
SHgCL ₅₀	23,5 ± 0,70	6,9 ± 0,12	90,1 ± 0,66	7,6 ± 0,36	113,2 ± 36,71
HgCL ₅₀	23,4 ± 0,56	6,9 ± 0,22	90,3 ± 3,40	7,6 ± 0,47	116,4 ± 30,80
<i>Oreochromis niloticus</i>					
C	23,7 ± 0,53	6,9 ± 0,28	90,3 ± 2,82	7,6 ± 0,13	123,8 ± 35,41
SC	23,5 ± 0,58	6,7 ± 0,26	88,3 ± 2,87	7,5 ± 0,18	108,1 ± 32,59
SBB	23,3 ± 0,54	6,7 ± 0,30	88,3 ± 3,98	6,5 ± 0,23	132,7 ± 18,82
SBI	23,5 ± 0,51	6,7 ± 0,20	87,7 ± 2,24	7,3 ± 0,58	89,2 ± 7,48
SSHg	23,6 ± 0,55	6,6 ± 0,20	86,9 ± 2,76	7,6 ± 0,26	110,6 ± 31,86
SHgCL ₅₀	23,5 ± 0,69	6,8 ± 0,30	88,8 ± 3,07	7,6 ± 0,19	114,3 ± 39,61
HgCL ₅₀	23,7 ± 0,57	6,8 ± 0,37	89,3 ± 5,04	7,5 ± 0,14	119,2 ± 29,19

C = Controle, S = sedimento controle, SBB = sedimento da represa de Barra Bonita, SBI = sedimento da represa de Bariri, SSHg = sedimento controle, contaminado com 1,0mg/L de Hg, SHgCL₅₀ = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2mg/L, HgCL₅₀ = somente água de diluição, com mercúrio na concentração letal média 0,2mg/L

Tabela 3- Média das variáveis físicas e químicas da água do EXPERIMENTO 1 com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg, utilizando *Danio rerio* e *Oreochromis niloticus* como organismos-teste. Alcalinidade, dureza e amônia total referem-se aos valores do sétimo dia de experimento

Tratamento	Alcalinidade	Dureza (mg CaCO ₃ /L)	Amônia não ionizada (mg NH ₃ /L)
<i>Danio rerio</i>			
C	59,9	56,4	0,06
SC	64,4	56,4	0,06
SBB	63,2	58,8	0,07
SBI	65,1	60,1	0,06
SSHg	62,2	58,7	0,07
SHgCL₅₀	57,7	51,8	0,07
HgCL₅₀	53,3	50,2	0,07
<i>Oreochromis niloticus</i>			
C	60,3	57,8	0,07
SC	58,9	56,4	0,07
SBB	57,8	53,1	0,06
SBI	56,9	52,2	0,06
SSHg	62,3	57,3	0,07
SHgCL₅₀	61,2	57,3	0,07
HgCL₅₀	59,4	55,5	0,07

C = Controle, **SC** = sedimento controle, **SBB** = sedimento da represa de Barra Bonita, **SBI** = sedimento da represa de Bariri, **SSHg** = sedimento controle, contaminado com 1,0mg/L de Hg, **SHgCL₅₀** = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2 mg/L, **HgCL₅₀** = somente água de diluição, com mercúrio na concentração letal média 0,2 mg/L

Tabela 4- Média das variáveis físicas e químicas da água do EXPERIMENTO 2 com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg, utilizando *Danio rerio* e *Oreochromis niloticus* como organismos-teste

Tratamento	Temperatura (°C)	Oxigênio Dissolvido (mg/L)	Oxigênio Dissolvido (%saturação)	pH	Condutividade (µS/cm)
<i>Danio rerio</i>					
C	21,7 ± 1,43	7,2 ± 0,30	90,2 ± 2,85	7,6 ± 0,23	131,5 ± 32,38
SC	21,2 ± 1,5	7,3 ± 0,41	90,4 ± 2,80	7,6 ± 0,31	114,9 ± 41,76
SBB	21,3 ± 1,42	7,1 ± 0,44	89,4 ± 3,04	7,8 ± 0,22	134,4 ± 39,37
SBI	21,4 ± 1,3	7,2 ± 0,37	90,4 ± 2,73	7,6 ± 0,26	104,4 ± 14,69
SSHg	21,5 ± 1,33	7,0 ± 0,41	88,5 ± 2,76	7,5 ± 0,29	103,1 ± 30,63
SHgCL₅₀	21,5 ± 1,38	7,1 ± 0,46	89,5 ± 3,51	7,6 ± 0,23	103,4 ± 35,38
HgCL₅₀	21,2 ± 1,41	7,4 ± 0,36	92,8 ± 2,22	7,6 ± 0,34	115,9 ± 24,95
<i>Oreochromis niloticus</i>					
C	21,6 ± 1,40	6,8 ± 0,90	85,3 ± 9,72	7,8 ± 0,37	218,8 ± 12,75
SC	21,4 ± 1,56	6,9 ± 0,68	86,1 ± 5,82	7,8 ± 0,51	190,8 ± 30,94
SBB	21,7 ± 1,52	6,8 ± 0,52	86,8 ± 3,73	7,8 ± 0,33	195,7 ± 30,67
SBI	21,7 ± 1,46	6,6 ± 0,88	83,0 ± 9,14	7,9 ± 0,22	199,2 ± 15,77
SSHg	21,9 ± 1,44	6,9 ± 0,47	87,0 ± 4,45	7,8 ± 0,43	156,5 ± 37,71
SHgCL₅₀	21,9 ± 1,57	7,0 ± 0,50	87,7 ± 5,15	7,8 ± 0,38	143,7 ± 22,17
HgCL₅₀	21,3 ± 1,60	7,0 ± 0,75	87,2 ± 6,27	7,8 ± 0,33	160,0 ± 20,64

C = Controle, **SC** = sedimento controle, **SBB** = sedimento da represa de Barra Bonita, **SBI** = sedimento da represa de Bariri, **SSHg** = sedimento controle, contaminado com 1,0 mg/L de Hg, **SHgCL₅₀** = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2mg/L, **HgCL₅₀** = somente água de diluição, com mercúrio na concentração letal média 0,2mg/L

Tabela 5- Média das variáveis físicas e químicas da água do EXPERIMENTO 2 com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg, utilizando *Danio rerio* e *Oreochromis niloticus* como organismos-teste. Alcalinidade, dureza e amônia total referem-se aos valores do sétimo dia de experimento

Tratamento	Alcalinidade	Dureza (mg CaCO ₃ /L)	Amônia não ionizada (mg NH ₃ /L)
<i>Danio rerio</i>			
C	20,0	22,2	0,02
SC	22,2	23,2	0,02
SBB	21,4	23,2	0,02
SBI	20,0	21,1	0,02
SSHg	18,3	19,8	0,02
SHgCL₅₀	18,2	21,9	0,01
HgCL₅₀	19,7	19,6	0,02
<i>Oreochromis niloticus</i>			
C	21,6	19,6	0,02
SC	19,8	19,6	0,02
SBB	19,7	19,8	0,02
SBI	19,7	19,6	0,06
SSHg	20,2	23,2	0,02
SHgCL₅₀	18,2	19,6	0,01
HgCL₅₀	21,6	19,6	0,01

C = Controle, SC = sedimento controle, SBB = sedimento da represa de Barra Bonita, SBI = sedimento da represa de Bariri, SSHg = sedimento controle, contaminado com 1,0mg/L de Hg, SHgCL₅₀ = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2mg/L, HgCL₅₀ = somente água de diluição, com mercúrio na concentração letal média 0,2mg/L

De acordo com ALABASTER e LLOYD (1982), a maioria dos estudos a respeito da toxicidade da amônia não ionizada em peixes revelou concentrações letais médias entre 0,5 a 2,0 mgNH₃/L, valores acima dos registrados no presente trabalho.

5.2 Mortalidade

De acordo com o teste de Tukey (p<0,05) não houve diferença significativa na mortalidade entre os tratamentos, tanto no experimento 1 quanto no experimento 2. A mortalidade acumulativa nos experimentos é apresentada nas tabelas 6, 7 e 8.

Tabela 6- Mortalidade acumulativa (%) de *Danio rerio*, em função do tempo no EXPERIMENTO 1, com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg

Tratamentos	Mortalidade Acumulativa (%) / Tempo (dias)						
	1	2	3	4	5	6	7
Controle	0	0	0	0	0	0	3,33
SC	0	0	0	3,33	3,33	3,33	6,66
SBB	0	0	0	0	0	0	0
SBI	0	0	0	0	0	0	3,33
SSHg	0	0	0	0	0	3,33	10,00
SHgCL₅₀	0	0	0	0	0	3,33	3,33
HgCL₅₀	3,33	6,66	6,66	13,33	13,33	16,66	16,66

C = Controle, **SC** = sedimento controle, **SBB** = sedimento da represa de Barra Bonita, **SBI** = sedimento da represa de Bariri, **SSHg** = sedimento controle, contaminado com 1,0mg/L de Hg, **SHgCL₅₀** = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2mg/L, **HgCL₅₀** = somente água de diluição, com mercúrio na concentração letal média 0,2mg/L

Tabela 7- Mortalidade acumulativa (%) de *Oreochromis niloticus*, em função do tempo, no EXPERIMENTO1, com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg

Tratamentos	Mortalidade Acumulativa (%) / Tempo (dias)						
	1	2	3	4	5	6	7
Controle	0	0	0	3,33	13,33	13,33	13,33
SC	0	0	3,33	3,33	3,33	3,33	3,33
SBB	0	0	0	0	0	0	3,33
SBI	0	0	0	0	0	0	3,33
SSHg	3,33	3,33	6,66	6,66	10,00	10,00	10,00
SHgCL₅₀	0	3,33	6,66	10,00	13,33	13,33	13,33
HgCL₅₀	3,33	10,00	16,66	20,00	23,33	23,33	23,33

C = Controle, SC = sedimento controle, SBB = sedimento da represa de Barra Bonita, SBI = sedimento da represa de Bariri, SSHg = sedimento controle, contaminado com 1,0mg/L de Hg SHgCL₅₀ = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2mg/L, HgCL₅₀ = somente água de diluição, com mercúrio na concentração letal média 0,2mg/L

Tabela 8- Mortalidade acumulativa (%) de *Danio rerio*, em função do tempo, no EXPERIMENTO 2, com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg

Tratamentos	Mortalidade Acumulativa (%) / Tempo (dias)						
	1	2	3	4	5	6	7
Controle	0	0	3,33	3,33	3,33	3,33	3,33
SC	0	0	0	0	0	0	0
SBB	0	0	0	0	0	0	3,33
SBI	0	0	0	0	0	0	0
SSHg	0	0	0	0	0	0	0
SHgCL₅₀	0	0	0	0	0	0	0
HgCL₅₀	0	0	0	0	0	0	0

C = Controle, SC = sedimento controle, SBB = sedimento da represa de Barra Bonita, SBI = sedimento da represa de Bariri, SSHg = sedimento controle, contaminado com 1,0mg/L de Hg, SHgCL₅₀ = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2mg/L, HgCL₅₀ = somente água de diluição, com mercúrio na concentração letal média 0,2mg/L

A maior porcentagem de mortalidade registrada foi no tratamento HgCL₅₀ (0,2 mg/L) para a tilápia no experimento 1 (23,33%). Já para paulistinha, o mesmo tratamento causou a mortalidade de 16,66% dos peixes no experimento 1 e no experimento 2 nenhuma mortalidade

foi observada. A concentração de Hg utilizada nesse tratamento é a CL₅₀ determinada para *O. niloticus* por ISHIKAWA (2003). Mas como observado no presente trabalho, essa concentração não repetiu os mesmos efeitos. Segundo BOENING (2000) a CL₅₀ do mercúrio para peixes de água doce pode variar de 0,033 a 0,40 mg/L, inclusive para uma mesma espécie. Para a tilápia, *O. niloticus*, por exemplo, a CL₅₀ determinada por CHARUAN-SOMSIRI (1982) foi de 3,7 mg/L, bem acima da utilizada no presente trabalho.

No tratamento SSHg, ocorreu 10% de mortalidade para as tilápias e paulistinhas no experimento 1. Entretanto, isso não pode ser creditado à presença do Hg no sedimento, já que não houve diferença com o grupo controle. Essa mortalidade pode estar mais relacionada ao manuseio durante o experimento, causando estresse aos peixes.

No experimento 2 observou-se, para *D. rerio*, diferença entre os tratamentos com concentração 0,2 mgHg/L na ausência e presença de sedimento. O tratamento SHgCL₅₀ teve mortalidade menor que a do tratamento sem sedimento. JAHANBAKHT *et al.* (2002), quando expôs peixes à concentração de 0,095 mg/L de metilmercúrio na presença e ausência de sedimento, verificaram que os peixes permaneceram trinta e cinco horas vivos quando havia sedimento e na ausência dele apenas nove horas. Assim foi possível observar que o sedimento agiu como depósito para o Hg, o que diminuiu a sua toxicidade, aumentou o tempo de vida dos organismos.

Como o sedimento é considerado depósito de diversos contaminantes, ele pode minimizar a toxicidade através da adsorção do poluente. No presente trabalho o Hg pode ter sido incorporado ao sedimento, o que refletiu na menor mortalidade nos tratamento SHgCL₅₀, quando comparado ao HgCL₅₀. No entanto, essa diferença não foi comprovada estatisticamente.

Nos tratamentos SBB do experimento 1 nenhuma mortalidade foi registrada para *D. rerio*, e somente 3,33% de mortalidade para *O. niloticus*. Já no tratamento SBI, para as duas

espécies, a mortalidade registrada foi 3,33%. No experimento 2 a mortalidade registrada foi de 3,33% para *D. rerio*. Esses índices de mortalidade indicam baixa toxicidade do sedimento dessas duas represas.

FRACÁCIO *et al.* (2003), em testes de toxicidade com sedimento usando larvas de *D. rerio*, registraram mortalidade de 93,33% dos peixes expostos ao sedimento de Barra Bonita e 33,33% para os expostos ao sedimento de Bariri. A diferença na mortalidade registrada no presente trabalho e pelos autores acima mencionados, pode ser atribuída à idade dos organismos, já que as larvas tendem a ser mais sensíveis aos contaminantes do que peixes adultos ou mesmos jovens. Os organismos aquáticos em geral apresentam maior resistência aos produtos tóxicos com o avanço da idade e aumento do tamanho corporal (BOENING, 2000; BUHL, 1997; ALAN e MAUGHAN, 1995).

Além da diferença de sensibilidade dos organismos-teste, a toxicidade de um sedimento dificilmente pode ser atribuída a um fator isolado de contaminação. O sinergismo entre metais, pH, temperatura, carga de matéria orgânica são fatores que podem potencializar a toxicidade de um determinado sedimento, e estes fatores podem variar muito de acordo com o ponto e a época de coleta. Por esse motivo, o sedimento de uma mesma localidade pode apresentar resultados diferentes de mortalidade para o mesmo organismo teste.

Isso demonstra a importância de uma análise completa no estudo da qualidade do sedimento. Além de testes ecotoxicológicos, devem ser realizadas análises químicas, como, por exemplo, verificar a presença de metais e analisar parâmetros ambientais, realizar estudos ecológicos principalmente sobre a comunidade bentônica, comparando a composição das espécies e a abundância relativa com uma comunidade de um local limpo. Somente com todos esses dados reunidos é possível determinar se um sedimento está contaminado ou não (ABESSA *et al.*, 1998).

5.3 Análise do Sedimento quanto à presença de Hg

Os dados da análise química do sedimento com relação ao Hg estão registrados na Tabela 9. Não foi detectada a presença de Hg no sedimento controle, o que demonstra a boa condição de qualidade deste sedimento, com relação à ausência desse poluente.

Tabela 9- Média da concentração de Hg ($\mu\text{g/g}$ de peso seco) nos sedimentos dos experimentos com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg

	Experimento 1	Experimento 2
SC	ND	ND
SBB	ND	ND
SBI	ND	0,02
SSHg A	0,06	0,23
SSHg D	0,02	0,22
SHgCL50	0,01	0,10

SC = sedimento controle, **SBB** = sedimento da represa de Barra Bonita, **SBI** = sedimento da represa de Bariri, **SSHgA** = sedimento controle, contaminado com 1,0mg/L de Hg (antes do experimento), **SSHgD** = sedimento controle, contaminado com 1,0mg/L de Hg (depois do experimento), **SHgCL₅₀** = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2 mg/L, **ND** = não detectado

Verifica-se na Tabela 9 que nos sedimentos de Barra Bonita e Bariri, não foi detectado Hg na maior parte das amostras desses locais. Somente em Bariri, no experimento 2, registrou-se uma pequena quantidade de Hg, muito abaixo do limite estabelecido pela EPA (1976) como seguro para este compartimento (1,0 $\mu\text{g/g}$). Níveis acima do estabelecido já foram registrados algumas vezes no Rio Piracicaba (FALOTICO *et al.*, 1999) e Rio Tietê (CETESB, 1985-a), formadores das represas de Barra Bonita e Bariri. Porém, MARCONDES (2004), analisando água, sedimento e ictiofauna desses reservatórios, registrou níveis abaixo do estabelecido pela legislação na maior parte das amostras, ou seja, ficaram abaixo de 0,5 $\mu\text{g/L}$ para água (CONAMA 1986), 0,5 $\mu\text{g Hg/g}$ para peixe (OMS, 1978) e 1,0 $\mu\text{g Hg/g}$ para sedimento (EPA 1976). EYSINK (1995) estudando o sedimento de Barra Bonita e dos rios Piracicaba e Tietê considerou esses sedimentos não poluídos com mercúrio. O valor médio determinado por este autor foi de 0,15, 0,11, e 0,13 $\mu\text{g/g}$ de Hg,

para Barra Bonita, rio Piracicaba e Tietê, respectivamente. MARCONDES (2004), analisando o sedimento do mesmo ponto de coleta do presente trabalho, na represa de Bariri determinou valores de mercúrio entre 120,3 -202,5 $\mu\text{g/L}$ nos meses de seca e 48,5 a 654 $\mu\text{g/L}$ nos meses de chuva e para a represa de Barra Bonita 82,1 a 370,6 $\mu\text{g/L}$ nos meses de seca e 69,5 a 203 $\mu\text{g/L}$ nos meses de chuva. Embora a amplitude seja alta, nenhum desses valores ficou acima dos estabelecidos como seguro pela EPA (1976) (1,0 $\mu\text{g/g}$). FRAGOSO *et al.* (2004) também determinaram valores que variaram de 0,04 a 0,6 $\mu\text{g/g}$ de Hg no sedimento dessas mesmas represas, nos mesmos pontos de coleta e épocas do ano do presente trabalho.

A problemática da contaminação desses ambientes começou a surgir nos anos 80, quando o Hg foi detectado em altos valores em peixes carnívoros do reservatório de Barra Bonita (CETESB, 1985; EYSINK *et al.* 1988). Segundo SHANKER *et al.* (1996) rios que recebem uma grande carga de poluentes, por estarem localizados próximos a grandes centros urbanos e áreas com atividades agrícolas e industriais, podem ser considerados como fontes potenciais de mercúrio. Esta é a situação dos rios Piracicaba e Tietê. Entretanto, nos resultados determinados no presente trabalho na análise do sedimento e os dados recentes da literatura quanto à água, sedimento e peixes dessas represas, verifica-se que esses sistemas possuem baixa contaminação com mercúrio.

Analisando o sedimento do tratamento SSHg antes do experimento, é possível observar que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na adsorção do Hg nos dois experimentos realizados. No experimento 1, o sedimento adsorveu em média 0,06 $\mu\text{g/g}$, enquanto no experimento 2, 0,23 $\mu\text{g/g}$. A mesma metodologia e a mesma concentração (1mgHg/L) foi utilizada na contaminação dos sedimentos nos dois ensaios. Essa diferença observada na adsorção pode ter ocorrido devido às características particulares do próprio sedimento, que diferem de amostra para amostra. Segundo NELSON *et al.* (1977), existe uma

correlação entre o diâmetro médio dos grãos de sedimento e a concentração de mercúrio. Os níveis são inferiores em sedimento arenoso. No presente trabalho, o sedimento utilizado no experimento 2 possuía maior quantidade de areia do que o do experimento 1, e ao contrário do esperado, o sedimento do experimento 2 foi o que mais adsorveu mercúrio.

Apesar dessas diferenças observadas, em nenhum dos experimentos a concentração de Hg foi letal. Nos experimentos 1 e 2, o Hg parece ter sido pouco disponibilizado para os peixes, pelo menos no tempo experimental aqui utilizado (Figura 13), já que não houve diferença estatisticamente significativa na concentração de Hg antes e após o experimento. A baixa mortalidade nesse tratamento, nos dois experimentos, fortalece a idéia de que pouco Hg foi disponibilizado para a coluna d'água.

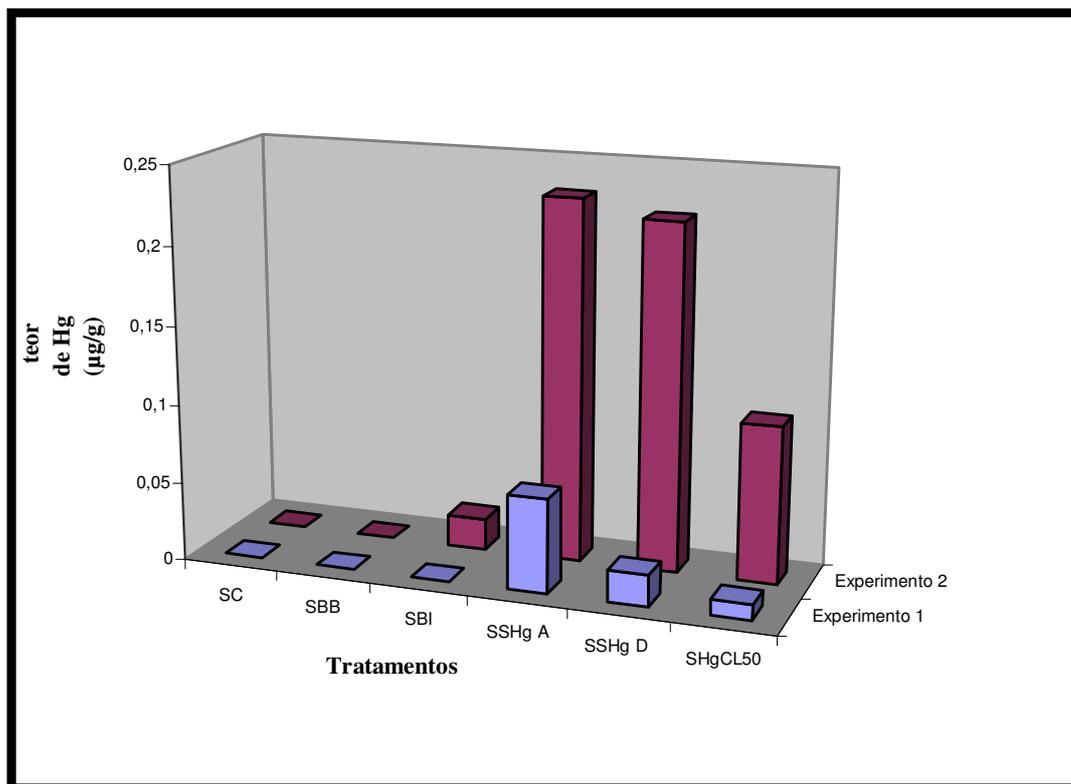


Figura 13-Análise dos sedimentos quanto à presença de Hg (peso seco), nos experimentos com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg. **SC** = sedimento controle, **SBB** = sedimento da represa de Barra Bonita, **SBI** = sedimento da represa de Bariri, **SSHgA** = sedimento controle, contaminado com 1,0 mg/L de Hg, antes do experimento, **SSHgD** = sedimento controle, contaminado com 1,0 mg/L de Hg, depois do experimento. **SHgCL₅₀** = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2 mg/L.

Vários fatores podem influenciar na reliberação do mercúrio para a coluna d'água, entre eles a quantidade de enxofre (EYSINK *et al.*, 1988) uma vez que o mercúrio tem afinidade por esse elemento. Sendo assim, em sedimentos com muito enxofre o mercúrio tende a ficar preso no sedimento. Análises dos sedimentos utilizados no presente trabalho não detectaram a presença de enxofre, o que teoricamente poderia facilitar a disponibilização do metal do sedimento para a coluna d'água. No entanto, a ausência de enxofre no sedimento parece não ter influenciado na disponibilização do mercúrio.

Baixos níveis de oxigênio já foram associados com maior liberação de Hg do sedimento (BOTHNER *et al.*, 1980; KUDO *et al.*, 1975). No presente trabalho, para manutenção dos organismos, os béqueres foram providos de aeração constante, isso pode ter contribuído para a não liberação do Hg do sedimento para a coluna d'água. Baixos valores de pH também favorecem a mobilização e liberação do mercúrio do sedimento. No presente trabalho, a média de pH foi 7,55 e 7,71 no experimento 1 e 2, respectivamente, não favorecendo a liberação de mercúrio. Os parâmetros como pH e temperatura exercem influência maior na liberação do mercúrio para a coluna d'água em ambientes naturais. Em condições de laboratório, onde todas as variáveis são controladas, essa influência não é tão significativa. O tempo de duração do experimento parece influenciar de maneira mais significativa esse processo.

Na análise do sedimento do tratamento SHgCL₅₀ verifica-se que parte do Hg que estava na água foi incorporada ao sedimento (Figura 13). No experimento 2, a concentração encontrada no sedimento no final do experimento foi de 0,1 µg/g e no experimento 1, 0,01µg/g, reforçando o papel desse compartimento como depósito de contaminantes. Assim como no tratamento SSHg a maior adsorção aconteceu no experimento 2, o que mostra que mesmo sendo mais arenoso, esse sedimento coletado em agosto, por alguma característica desconhecida, ou não analisada nesse trabalho, esteve mais propenso a adsorver o mercúrio.

A adsorção do Hg no sedimento também foi estudada por JAHANBAKHT *et al.* (2002) usando metilmercúrio. Esses autores verificaram que o sedimento na água com a concentração de 0,050 mg/L adsorveu 0,6 µg/g em 30 dias e mais de 96% de todo o Hg dissolvido inicialmente na água no final do experimento. Este fenômeno também foi observado com mercúrio inorgânico (Jahanbakht *et al.* 1998 apud JAHANBAKHT *et al.* 2002). Como verifica-se na Tabela 9, o sedimento controle não possuía nenhuma contaminação por Hg, portanto fica claro que a concentração determinada no sedimento do tratamento SHgCL₅₀ após sete dias em contato com 0,2mg/g de Hg foi proporcionada porque o sedimento adsorveu o metal da coluna d'água.

Esses resultados indicam a eficiência do sedimento como depósito de poluentes. Entretanto, num segundo momento o Hg que é incorporado ao sedimento, através de fatores físicos, químicos e biológicos pode ser disponibilizado outra vez para a coluna d'água, tornando-se, dessa forma, fonte de liberação de contaminante (REYNOLDSON e DAY, 1993).

No presente trabalho a adsorção do Hg pelo sedimento pode justificar a menor mortalidade registrada nesse tratamento quando comparado ao tratamento HgCL₅₀, tanto para paulistinhas quanto para a tilápia.

5.4 Análise de Hg na água

As análises da água não detectaram mercúrio nas amostras. Isto pode ter ocorrido, provavelmente, devido a um problema na estocagem feita em frascos inadequados, ocorrendo evaporação do metal.

5.5 Bioacumulação dos peixes

Os paulistinhas da pré-exposição, tanto do experimento 1 quanto do 2, não apresentaram nenhuma contaminação inicial por Hg. Já as tilápias utilizadas nos dois

experimentos, apresentaram contaminação. No experimento 1, a média foi de 0,02 $\mu\text{g/g}$ e no experimento 2, foi de 0,01 $\mu\text{g/g}$ de Hg. Esta contaminação inicial foi atribuída ao local de origem destes peixes. Portanto, essa média foi subtraída da concentração de Hg encontrada nas tilápias de todos os tratamentos, para que os valores finais reproduzissem apenas a acumulação de Hg ocorrida durante os experimentos.

Na Tabela 10 pode-se observar os valores médios da bioacumulação do Hg dos experimentos 1 e 2 para paulistinha e tilápia. Não foram determinados resíduos de Hg nos peixes do controle e do sedimento controle. Não foi detectado Hg nos peixes expostos ao sedimento de Barra Bonita em ambos os experimentos. Já os peixes expostos ao sedimento de Bariri nos dois experimentos apresentaram uma pequena quantidade de Hg (0,01 $\mu\text{g/g}$). Esses resultados corroboram os dados da análise do sedimento dessas duas represas, onde nenhum Hg foi detectado em Barra Bonita e somente 0,01 $\mu\text{g/g}$ de Hg em Bariri. A concentração de Hg acumulada pelos peixes expostos ao sedimento de Bariri ficou bem abaixo do limite permitido pelo OMS (1978) para pescado destinado ao consumo humano (0,5 $\mu\text{g/g}$).

Tabela 10. Bioacumulação de Hg ($\mu\text{g/g}$) em *D. rerio* e *O. niloticus* após sete dias de experimento (peso úmido), com os sedimentos das represas de Barra Bonita e Bariri, SP, e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg

	Experimento 1	Experimento 2
<i>Danio rerio</i>		
C	ND	ND
SC	ND	ND
SBB	ND	ND
SBI	0,01	0,01
SSHg	ND	ND
SHgCL50	0,01	0,01
HgCL50	0,07	0,09
<i>Oreochromis niloticus</i>		
C	ND	ND
SC	ND	ND
SBB	ND	ND
SBI	0,01	0,01
SSHg	0,02	0,02
SHgCL50	0,04	0,01
HgCL50	0,18	0,09

C = Controle, SC = sedimento controle, SBB = sedimento da represa de Barra Bonita, SBI = sedimento da represa de Bariri, SSHg = sedimento controle, contaminado com 1,0 mg/L de Hg; SHgCL₅₀ = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2 mg/L, HgCL₅₀ = somente água de diluição, com mercúrio na concentração letal média 0,2 mg/L

MARCONDES (2004) encontrou, em peixes carnívoros das represas de Barra Bonita e Bariri, concentrações de Hg abaixo do limite estabelecido pelo OMS (1978) para pescado com destino ao consumo humano, como este metal é capaz de biomagnificar ao longo da cadeia trófica (RAND e PETROCELLI, 1985), peixes carnívoros tendem a ter maior concentração desse metal. O baixo teor de Hg determinado em peixes carnívoros dessas represas reforça a idéia de que elas não apresentam toxicidade com relação ao Hg, o que foi demonstrado também por EYSINK (1995), analisando o sedimento dessas represas.

Como já foi mencionado o sedimento do tratamento SSHg do experimento 2, adsorveu maior quantidade de Hg no processo de contaminação experimental. Entretanto, essa diferença não afetou a acumulação do metal nos peixes, isso porque, aparentemente, pouco desse Hg foi disponibilizado para a coluna d'água. Dos peixes expostos ao sedimento saturado com a concentração 1,0mg/L de Hg (SSHg) somente a tilápia, nos dois experimentos

acumulou 0,02 μ g/g de Hg. Essa diferença entre as duas espécies testadas pode ser devido ao comportamento, uma vez que a tilápia revolve o sedimento e o paulistinha não possui esse hábito. Esse comportamento coloca a tilápia mais em contato com o sedimento, absorvendo dessa forma o mercúrio. WEIS (1986) determinou que a absorção de Hg por peixes expostos a sedimento contaminado foi maior quando o aquário era desprovido de aeração, situação que favorece a liberação de Hg do sedimento. Como já foi discutido anteriormente, no presente trabalho as condições do experimento e as características do sedimento, não favoreceram a liberação do Hg do sedimento, e isso refletiu na baixa acumulação do metal pelos peixes, uma vez que o mercúrio foi pouco disponibilizado para a coluna d'água.

GILLESPE (1972), contaminou sedimento com 50mg/Kg de cloreto de mercúrio, e expôs peixes a esse sedimento, durante 97 dias. Verificou-se após esse período bioacumulação de 1,0 μ g/g de Hg pelos peixes. O tempo utilizado pelo autor mencionado é muito maior que o utilizado no presente trabalho. Sendo assim a não liberação do mercúrio presente no sedimento pode ser devido ao tempo de exposição, curto para que isso acontecesse.

De acordo com BURTON (1992) a armazenagem do sedimento a 4°C não cessa a atividade microbiológica. Portanto, teoricamente, as bactérias poderiam metilar o mercúrio presente no sedimento. CALLISTER e WINFREY (1986) em estudo com mercúrio radioativo demonstrou que quando adicionado no sedimento, 98% do metal foi rapidamente incorporado e 3% metilado em 10 dias. Mesmo as bactérias estando em condições para metilar o mercúrio, talvez sete dias não sejam suficientes para que isso aconteça com grande intensidade, não disponibilizando, portanto o mercúrio para o peixe.

Houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos HgCL₅₀ e SHgCl₅₀ nos experimentos 1 e 2 para as duas espécies de peixes (Figuras 14 e 15). Em todos os experimentos os peixes expostos à concentração 0,2mg/g de Hg sem sedimento acumularam mais

Hg quando comparados com os peixes submetidos ao tratamento contendo sedimento. JAHANBAKHT *et al.* (2002) quando expuseram peixes na concentração de 0,095 mg/L de Hg na presença e ausência de sedimento, verificaram que os peixes permaneceram trinta e cinco horas vivos na presença de sedimento, enquanto na ausência apenas nove horas. No entanto, por ter ficado mais tempo vivo e, portanto mais tempo exposto ao Hg, mesmo quando havia sedimento, a bioacumulação acabou sendo maior nessa condição, o que não causa surpresa já que o tempo de exposição é determinante na bioacumulação.

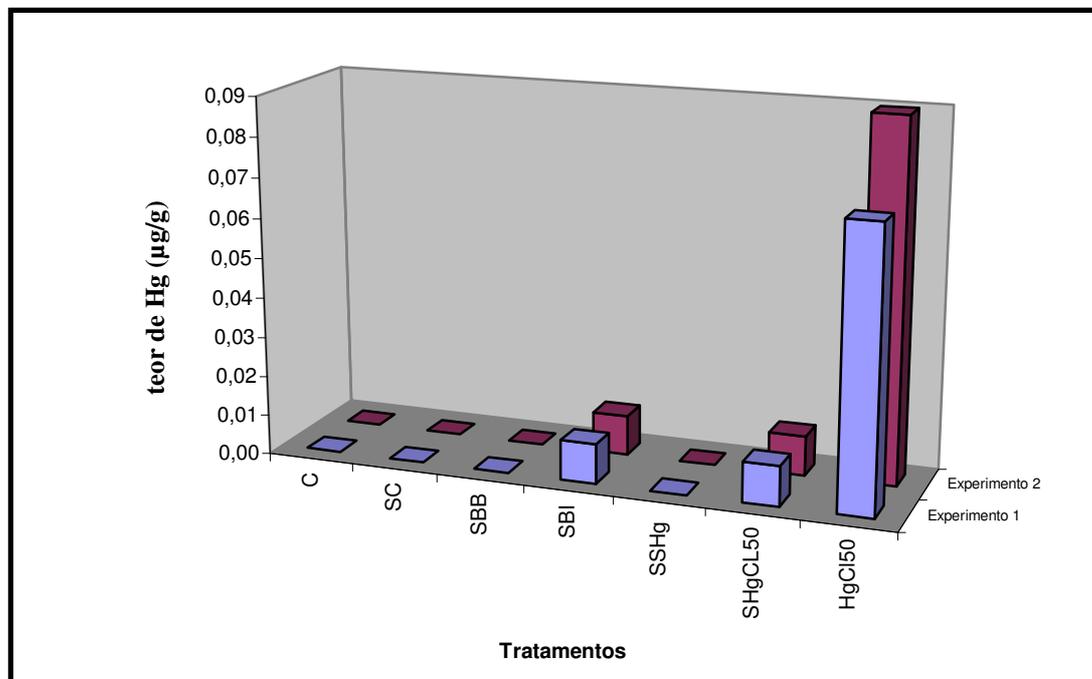


Figura 14-Bioacumulação de Hg (peso úmido) em paulistinha (*D. rerio*) durante o bioensaio realizado com sedimento das represas de Barra Bonita e Bariri e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg
C = Controle, **SC** = sedimento controle, **SBB** = sedimento da represa de Barra Bonita, **SBI** = sedimento da represa de Bariri, **SSHg** = sedimento controle, contaminado com 1,0 mg/L de HG, **SHgCL₅₀** = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2 mg/L, **HgCL₅₀** = somente água de diluição, com mercúrio na concentração letal média 0,2 mg/L

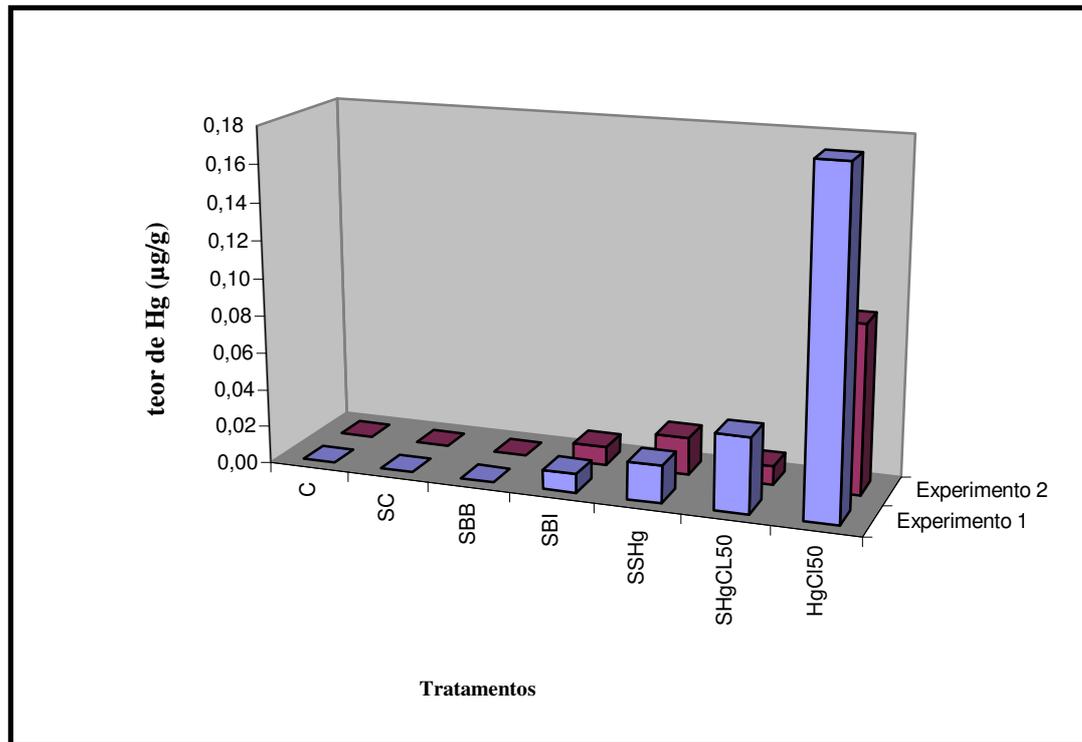


Figura 15-Bioacumulação de Hg (peso úmido) em tilápia (*O. niloticus*) durante o bioensaio realizado com sedimento das represas de Barra Bonita e Bariri e sedimentos experimentalmente contaminados com Hg. **C** = Controle, **SC** = sedimento controle, **SBB** = sedimento da represa de Barra Bonita, **SBI** = sedimento da represa de Bariri, **SSHg** = sedimento controle, contaminado com 1,0 mg/L de Hg; **SHgCL₅₀** = sedimento controle, mantido em contato constante com água contaminada com mercúrio, na concentração letal média (CL₅₀) 0,2 mg/L, **HgCL₅₀** = somente água de diluição, com mercúrio na concentração letal média 0,2 mg/L

Pela diferença na bioacumulação na presença e ausência de sedimento verificou-se que este compartimento tem um papel muito importante e eficaz como depósito para poluentes. O que foi comprovado também na análise do sedimento do tratamento SHgCL₅₀ que, no final do experimento, havia incorporado parte do Hg existente na coluna d'água. No ambiente natural, essa característica do sedimento faz com que a concentração de um poluente seja maior no sedimento do que na coluna d'água (BURTON e SCOTT, 1992). Se as condições físicas e químicas desse compartimento não favorecerem a metilação do Hg, o metal fica pouco disponível para a biota, armazenado no sedimento até que fatores físicos, químicos e biológicos tornem o mercúrio biodisponível.

SPRY e WIENER (1991) sugerem que a intoxicação pode ser esperada quando a concentração no corpo do peixe, ficar em torno de 10 a 30µg/g. Pela bioacumulação registrada no

final do experimento verifica-se, que as tilápias expostas à concentração 0,2mg/L de Hg na ausência de sedimento, acumularam 0,18µg/g e 0,09µg/g de Hg, respectivamente no experimento 1 e 2. Os paulistinhas acumularam em média 0,07 e 0,09µg/g de Hg no experimento 1 e 2, respectivamente. Nenhum desses valores ficou acima dos considerados tóxicos, segundo os autores citados anteriormente. BOUDOU e RIBEYRE (1983) determinaram que alevinos de *Salmo gairdneri* acumulam 0,57µg/g de Hg em 30 dias quando expostos a 0,001 mg/L HgCl₂ dissolvidos na água. Trutas arco íris (*Salmo trutta*) de 30 g acumularam 5,0 µg/g de Hg quando expostas a 0,150 mg/L de Hg por cinco dias (SKAK e BAATRUP, 1993). Larvas de *Pimephales promelas* quando expostas por 60 dias a 0,00369mg/L HgCl₂ dissolvidos na água acumularam 18,80 µg/g de Hg (SNASRKI e OLSON, 1982).

A distribuição e a concentração em tecidos específicos de peixe dependem da forma do mercúrio, concentração na água, tempo de exposição, taxa de metabolismo, eliminação do mercúrio dos tecido e da temperatura (OLSSON *et al.* 1978, BOUDOU *et al.*, 1979). Comparando os dados obtidos no presente trabalho, com os dados disponíveis na literatura, pode-se observar que quanto maior o tempo de exposição maior a concentração de Hg no peixe, mesmo quando expostos a concentrações inferiores à utilizada nesse trabalho. BOUDOU e RIBEYRE (1983) realizaram vários experimentos sobre a bioacumulação de Hg, e o que se nota é um aumento de Hg no corpo dos peixes em função do aumento do tempo exposição a esse metal.

As trutas expostas durante cinco dias ao HgCl₂ por SKAK e BAATRUP (1993) acumularam mais mercúrio que os peixes utilizados no presente trabalho, que foram expostos por sete dias ao metal. No entanto os peixes do trabalho anteriormente referido possuíam peso médio de 30 g, enquanto que, nesse trabalho, a maior média de peso foi 0,74 g. Sendo assim, essa diferença pode ser devido ao tamanho dos organismos, uma vez que grande parte do mercúrio

dissolvido na água pode ser absorvido pela pele. Portanto, peixes maiores, por possuírem maior superfície de absorção acumulam mais mercúrio.

Estudos realizados no ambiente natural têm revelado correlação positiva entre a concentração de mercúrio no peixe e o peso e a idade dos organismos (SCOTT, 1974; WALTER *et al.*, 1974; OLSSON, 1976; STOEPLER *et al.*, 1979; Moore e Sutherland, 1980 apud BOUDOU e RIBEYRE, 1983). No entanto, BOUDOU e RIBEYRE (1983) registraram correlação negativa entre a concentração de Hg no peixe e o peso do organismo.

Com relação à temperatura (BOUDOU *et al.*, 1979) registram maior acúmulo de Hg por *Gambusia affinis* a temperatura de 18°C do que à 10°C. No presente trabalho, no experimento 1 a temperatura foi, em média, dois graus mais alta que no experimento 2, mas essa diferença não influenciou nos resultados, já que não houve diferença entre os peixes com relação a bioacumulação.

A influência desses diferentes fatores na absorção e bioacumulação do mercúrio mostra a dificuldade para interpretar os resultados (BOUDOU *et al.*, 1979).

Os peixes podem absorver tanto mercúrio orgânico quanto inorgânico, mas a maior parte do Hg (cerca de 85 %) acumulado nos tecidos dos peixes encontra-se como metilmercúrio (SPRY e WIENER, 1991). No entanto, de acordo com SOUTHWORTH *et al.* (1994), o mercúrio inorgânico quando é acumulado por contaminação direta (dissolvido na água) não é convertido para metilmercúrio dentro do peixe. No presente trabalho, o mercúrio encontrava-se dissolvido na água e, portanto, é provável que a concentração deste determinada nos peixes esteja na forma inorgânica.

No presente trabalho o Hg foi analisado no corpo todo do peixe. Em vários trabalhos na literatura verificou-se a bioacumulação do Hg em diferentes tecidos (DOKHOLIAN *et al.*, 1982, BOUDOU e RIBEYRE, 1983, OLIVEIRA RIBEIRO *et al.*, 1996, 2000). O Hg acumula-se principalmente nas brânquias, nos rins, no fígado e na pele. Mesmo não analisando a

acumulação nos diferentes órgãos é possível supor que o padrão de acumulação para *D. rerio* e *O. niloticus* expostos a mercúrio clorídrico dissolvido na água siga o de outras espécies de peixes, com rim, fígado, brânquias e pele como principais órgãos alvos.

5.6 Análise histopatológicas

Pelas análises histopatológicas dos peixes dos experimentos 1 e 2 verificou-se que não há diferença nos tecidos entre os diferentes tratamentos e os grupos controles. Os principais órgãos analisados foram brânquias, fígado e rim, devido à importância desses órgãos na absorção e distribuição do mercúrio nos peixes.

Alguns trabalhos na literatura correlacionam lesões histopatológicas em peixes como resposta à exposição ao mercúrio, principalmente no fígado, rim e brânquias (Banerjee e Bhattacharia, 1995, Skak e Baatrup, 1993, Filenko *et al.*, 1989 apud OLIVEIRA-RIBEIRO *et al.* 2002 e PANDEY *et al.* 1994). BANO e HASAN (1990), por exemplo, verificaram degeneração das células do fígado, desorganização de cordões hepáticos, e no rim, desintegração do epitélio renal de peixes expostos por trinta dias a 0,2 mg/L de HgCL₂ dissolvidos na água. A concentração utilizada pelos autores anteriormente mencionados foi igual à utilizada no presente trabalho, porém com tempo de exposição bem maior. Talvez o período de exposição de sete dias tenha sido insuficiente para promover lesões em resposta à intoxicação por mercúrio.

Os peixes expostos aos sedimentos de Barra Bonita e Bariri, também não apresentaram danos nos seus tecidos. FRACÁCIO *et al.* (2003) relatam alterações branquiais, principalmente junção lamelar e excesso de células mucosas, em larvas de *Danio rerio* expostos ao sedimento de Barra Bonita por sete dias.

6. Conclusões

Os testes de toxicidade com os sedimentos de Barra Bonita e Bariri mostraram baixa toxicidade desses sedimentos para os dois organismos testados.

A análise dos sedimentos das represas, com relação ao mercúrio, mostrou níveis abaixo do permitido pela legislação, corroborando com os dados recentes da literatura, indicando que o mercúrio pode ter sido carregado para fora desses ambientes. Entretanto, o monitoramento desses ambientes deve continuar ainda por algum tempo.

Embora a metodologia padrão para testes de toxicidade recomende sete dias de exposição, para sedimento e especificamente em testes com mercúrio recomenda-se aumentar o tempo de exposição para melhorar as condições analíticas das transferências do Hg entre os compartimentos (sedimento, água, peixe).

O sedimento pode ser considerado um filtro muito eficiente para o mercúrio, diminuindo a mortalidade e a bioacumulação do metal por peixes. No entanto, esse aspecto deve ser observado com cautela e associado somente a um primeiro momento em que o Hg entra em contato com a água+sedimento (aspecto observado no presente trabalho). Deve-se levar em consideração que, em um segundo momento, este contaminante pode ser reliberado para a coluna d'água (aspecto não estudado no presente trabalho).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABESSA, D.M.S.; SOUSA, E.C.P.M.; TOMMASI, L.R. Considerações sobre o emprego da tríade de qualidade de sedimento no estudo da contaminação marinha. *Relat. Téc. Inst. Oceanogr.*, v. 44, p.1-12,1998.
- ALABASTER, J.S.; LOYD, R. *Water quality criteria for freshwater fish*. 2.ed. London: FAO, Butterworths, 1982
- ALAN, J.K.; MAUGHAN, O. E. Acute toxicity of heavy metals to common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal Environmental Science Health Part A: Environmental Science Eng. Toxic. Hazard subst. Control.*, v. 30, n. 8, p. 1807-1816, 1995
- ALLEN, P. Distribution of mercury in the soft tissues of the blue tilapia *Oreochromis aureus* (Steindachner) after acute exposure to mercury (II) chloride. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 53, p. 675-683, 1994.
- AMEND, D.F. Retention of mercury by salmon. *Prog. Fish. Cult.*, v. 32, p. 192-194. 1970.
- APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION); AWWA (AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION); WPCF (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION). *Standart Methods for the water and wastewater*, 17 ed. Washington D. C.1989.
- AU, D.W.T.; WU, R.S.S.; ZHOU, B.S.; LAM, P.K.S. Relationship between ultrastructural changes and EROD activities in liver of fish exposed to benzo[a] pyrene. *Environmental pollution*, v. 104, p. 235-247, 1999.
- BANO, Y.; HASAN, M. Histopathological lesions in the body organs of catfish, *Heteropneustes fossilis* following mercury intoxication. *J. Environ. Sci. Health*, part B, v. B25, n. 1, p. 67-85, 1990.
- BERMAN, M.; BARTHA, R. Control of the methylation process in a mercury polluted aquatic sediments. *Environment pollution*, Series B, v. 11, p. 41-53, 1986.
- BOENING, D.W. Ecological effects, transports, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*. v. 40, p. 1335-1351, 2000.
- BOLDRINI, C.V.; PÁDUA, H.B. Contaminação por mercúrio nos rios Mogi-Guaçu e Pardo (SP). *Revista DAE*, São Paulo. SABESP, v. 43, n. 135, p. 106-117, 1983.

- BOTHNER, M.; JAHNKE, R.A.; PETERSON, M.; CARPENTER, R. Rate of mercury loss from contaminated estuarine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, v. 44, p. 273-85, 1980.
- BOUDOU, A.; RIBEYRE, F. Contamination of aquatic biocenoses by mercury compounds: an experimental ecotoxicological approach. In: NRIAGU, J. O. *Aquatic toxicology*, John Wiley & Sons, 1983. v. 13, p 72-116.
- BOUDOU, A.; DELARCHE, A.; RIBEYRE, F.; MARTY, R. Bioaccumulation and bioamplification of mercury compounds in a second level consumer, *Gambusia affinis*-temperature effects. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, v. 22, p. 813-818, 1979.
- BOYD, C.E. *Water quality management for pond fish cultura*. Amsterdam: Elsevier Publishing Company, 1982. 318 p.
- BUHL, K.J. Relative sensivity of three endangered fishes, Colorado Squafish, Bonytail, and Razorback Suckher, to selected pollutants. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 37, p.186-192, 1997.
- BURTON Jr., G.A. Plancton, macrophyte, fish and amphibian toxicity testing of freshwater sediments. In: BURTON, A. G. *Sediment toxicity assessment*. Londres: Lewis Publishers, 1992. p. 167-182.
- BURTON Jr., G.A.; SCOTT, K.J. Sediment toxicity evaluations: their niche in ecological assessments. *Environ. Sci. Technol.*, v. 26, p. 2068-2075, 1992.
- BURTON Jr., G.A.; MACPHERSON, C. Sediment Toxicity Testing Issue and Methods. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON Jr., G.A.; CAIRNS Jr., J. Ed. *Handbook of ecotoxicology*. Londres:Lewis Publishers, 1995. p. 70-103.
- CALLISTER, S.M.; WINFREY, M.R. Microbial methilation of mercury in Upper Wisconsin River Sedments. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 29, n. 4. p. 361-71, 1986.
- CAMARGO, J.A. Contribution of spanish-Amewrican silver mines (1570-1820) to the presenthigh mercury concentrations in the global environment: a review. *Chemosphere*, v. 48, p. 51-57, 2002.
- CETESB. *Estudo de mercúrio nas águas e estuários do rio Botafogo. Pernambuco. Fase 1 – Estudo preliminar*. São Paulo. 1981. 32 p.

- CETESB. *Metodologia analítica para quantificação do mercúrio em sangue e urina: Relatório 055/GAQ*. São Paulo. 1983. 29 p.
- CETESB. Mercúrio. In: *Avaliação toxicológica da exposição da população infantil de Cubatão a poluentes químicos do meio ambiente*. São Paulo, v. 1, p. 63-94, 1984.
- CETESB. *Avaliação dos níveis de contaminação por mercúrio na água sedimento e peixes na Represa de Barra Bonita e seus rios formadores: Piracicaba e Tiête*. São Paulo. 1985a. 115 p.
- CETESB. *Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 1984/CETESB*. São Paulo. 1985b. 134 p.
- CETESB. *Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 1990/CETESB*. São Paulo. 1991a. 155 p.
- CETESB. *Avaliação da qualidade ambiental do rio Ribeira de Iguape: considerações preliminares*. São Paulo. 1991b. 54 p.
- CETESB. *Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2000-CETESB*. São Paulo. 2001a.
- CETESB. *Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2000/CETESB*. São Paulo. 2001b
- CHAPMAN, G.; CAIRNS, M.; KRAWCZYK, D.; MALUEG, K.; NEBEKER, A.; SCHUYTEMA, G. Report on the toxicity and chemistry of sediment from Toronto and Toledo harbours. In: *Evaluation of sediment bioassessment techniques*. Report of the dredging subcommittee to the Great Lakes Water Quality Board. International Joint Commission, Windsor, Ontário, 1986.123 p.
- CHARMICHAEAL, W.W. Freshwater blue green algae, (cyanobacteria) toxins- A review. In: CHARMICHAEAL, W.W. *The Water Environmental: Algal toxins and health*. New York: Ed. Plenum Press, 1981. v.1.
- CHARUWAN-SOMSIRI. Acute toxicity of mercury, copper and zinc to the Nile Tilápia (*Tilapia nilotica*, Linnaeus, 1757). *Thailand Fisheries Gazette*, v. 355, n. 3, p. 313-318, 1982.
- CIHACEK, L.J.; ANDERSON, W.L.; BARAK, P.W. *Linkages between soil quality and plant, animal and human health. Methods for assessing soil*. Quality SSSA, USA. 1996 .49 p. (Special Publication).

- CONAMA. Resolução nº 20, de 18 de junho de 1986. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. D.O.U. Executivo: 11.356. 1986.
- DOKHOLYAN, V.K.; AKHMRDOV, A.M.; AKHMRDOV, T.P.; SHLEYFER, G.S. The influence of mercury accumulation on fish.. *Journal of Ichthyology*, v. 21, n. 3, p. 103-112, 1981.
- EPA *Water Quality Criteria*. Washington. 1972. 594 p.
- EWALD, G. Chronic measures of toxicant-induced effects on fish. *Ann Zool. Fenici*, v. 32, p. 311-316, 1995.
- EYSINK, G.G.J. *Subsídios para o manejo de ecossistemas aquáticos contaminados por mercúrio*. 1995. 177f. Dissertação de mestrado-Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.
- EYSINK, G.G. J.; PÁDUA, H.B.; MARTINS, M. C. Presença do mercúrio no ambiente, *Ambiente*, v.2, n.1, p 43-50. 1988.
- FALÓTICO, M.H.B.; FOSTIER, A.H.; MATINELLI, L.A.; CASEIRO, A.C.; CYRINO, J.E.P. Mercury accumulation in fish from the human impacted Piracicaba river basin (São Paulo State, Brazil): comparasion between a lotic and lentic system. In: MERCURY AS A GLOBAL POLLUTANT -5TH INTERNATIONAL CONFERENCE. Rio de Janeiro-Brasil. Transactions. 1999. p. 338.
- FRACÁCIO, R.; VERANI, N.F.; ESPÍNDOLA, E.L.G.; ROCHA, O.; RIGOLIN-SÁ, O.; ANDRADE, C.A. Alterations on growth and gill morphology on *Danio rerio* (Pisces, Ciprinidae) exposed to the toxic sediments. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.46, n. 4, p 685-695, 2003.
- FRAGOSO, D.D.; STOLF, F.P.B.; MOURA, M.A.M.; SOUZA, S.S.; MORTATTI, J.; FERREIRA, J.R. Hg and Se contents in sediment of the Barra Bonita and Bariri reservoirs (Médium Tietê River, SP- Brazil), and it availability. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON MERCURY AS A GLOBAL POLLUTANT. Ljubljana-Eslovenia. 2004. p. 980.
- GILLESPIE, D.C. Mobilization of mercury from sediments into guppies (*Poecilia reticulata*). *J. Fish. Res. Bd Can.*, v. 29, p. 1035-1041, 1972.

- GRAY, J.E.; THEODORAKOS, P.M.; BAILEY, E.A.; TURNER, R.R. Distribution, speciation, and transport of mercury in stream-sediment, stream-water, and fish collected near abandoned mercury mines in southwestern Alaska, USA. *The Science of the Total Environment*, v. 260, p. 21-33. 2000.
- HYLANDER, L.D.; PINTO, F.N.; GUIMARÃES, J.R.D.; MEILI, M.; OLIVEIRA, L.J.; SILVA, E.C. Fish mercury concentration in the Alto Pantanal, Brazil: influence of season and waters parameters. *The Science of the Total Environment*, v. 261, p. 9-20, 2000.
- HOLSBEEK, L.; DAS, H.K.; JOIRIS, C.R. Mercury speciation and accumulation in Bangladesh freshwater and anadromous fish. *The Science of the Total Environment*, v. 198, p. 201–210. 1997.
- ISHIKAWA, N.M. *Toxicidades aguda e crônica do mercúrio em tilápias "tailandesa" Oreochromis niloticus: Determinação da CL_{50-96h} e alterações hematológicas*. 2003. 52 p. Dissertação de mestrado. Centro de Aqüicultura da Unesp (CAUNESP). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.
- JAHANBAKTH, S.; LIVARDJANI, F.; JAEGER, A. An experimental ecotoxicological study and its application to the behavioural study of organic mercury (CH₃HgCl) in the environment: influence of temperature and pH. *Chemosphere*, v. 49, p. 1399-1405, 2002.
- KARLSSON-NORRGREN, L.; RUNN, P. Cadmium dynamics in fishes: pulse studies with ¹⁰⁹Cd in female zebrafish *Brachydanio rerio*. *J. Fish Biol.*, v. 27, p. 571-581. 1985.
- KARLSSON-NORRGREN, L.; RUNN, P.; HAUX, C.; FORLIN, L. Cadmium-induced changes in gill morphology of zebrafish *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan), and rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, v. 27, p. 81-89. 1985.
- KUDO, A.; MORTIMER, D.C.; HART, J.S. Factors influencing desorption of mercury from bed sediments. *Can. J. Earth Sci.*, v. 12, p. 1036-1040. 1975.
- KRAMER, H.J.; NEIDHART, B. 1975. The behaviour of mercury in the system water-fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 14, p. 699-704.
- LINDQVIST, O.; JOHANSSON, K.; AASTUP, A.; BRINGMARK, L.; HOVSENIUS, G.; HANKANSON, L.; IVERFELDT, A.; MEILI, M.; TIMM, B. Mercury in the Swedish environment: recent research on causes, consequences and corrective methods. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 55, p. 1-261. 1991.

- MARCONDES, M.A. *Níveis de ocorrência de Hg total em peixes carnívoros das Represas de Barra Bonita e Bariri, em função da variação de parâmetros biológicos e da presença de selênio*. 2004. 144 p. Tese de doutorado. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.
- MENEZES, J.R.R.; YANCEY, D.R. *Manual de criação de peixes*. Campinas, Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, São Paulo. 1991, 117 p.
- MIKRYAKOV, V.R.; LAPIROVA, T.B. Influence of salts of some heavy metals on the differential blood count in juvenile *Acipenser baeri*. *Journal of Ichthyology*, v. 37, n. 6, p. 458–462. 1996.
- NELSON, H.; BRANDLY, R.D.; EVERET, A.J.; DENNIS, H.S. Mercury dispersal from lode sources in the Kuskokwin River drainage, Alaska. *Science*, v. 198, p. 820-824. 1977.
- NRIAGU, J.O. A global assessment of the natural sources of atmospheric trace metal. *Nature*, v. 338, p. 47-49. 1989.
- NRIAGU, J.O. Mechanistic steps in the photoreduction of mercury in natural waters. *The Science of the total environment*, v. 154, p. 1-8. 1994.
- OLIVEIRA RIBEIRO, C.A.; GUIMARÃES, J.R.D.; PFEIFFER, W.C. Accumulation and distribution of inorganic mercury in a tropical fish (*Trichomycterus zonatus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 34, p. 190-195. 1996.
- OLIVEIRA RIBEIRO, C.A.; PELLETIER E.; PFEIFFER, W.C.; ROULEAU, C. Comparative uptake, bioaccumulation, and gill damages of inorganic mercury in tropical and nordic freshwater fish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 34, p. 190-195, 2000.
- OLIVEIRA RIBEIRO, C.A.; BELGER, L.; PELLETIER E.; ROULEAU, C. Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environmental Research*, v. 90, p. 217-225, 2002.
- OLSON, K.K.; SQUIBB, K.S.; COUSINS, R.J. Tissue uptake, subcellular distribution, and metabolism of $^{14}\text{CH}_3\text{HgCl}$ and $\text{CH}_3^{203}\text{HgCl}$ by Rainbow trout, *Salmo gairdneri*, *J. Fish. Res. Board Can.*, v. 355, p. 381-390, 1978.
- OLSSON, M. Mercury level as a function of size and age in Northern Pike, one and five years after the mercury ban in Sweden. *Ambio*, v. 5, n. 2, p. 73-76, 1976.

- OMS. *El uso de mercurio y compuestos alternativos en el tratamiento de semillas*. Ginebra, FAO/OMS. (Série de Informe Técnico, 505). 1974.
- OMS. *Mercurio. Critérios de salud ambiental-1*. OMS. 148p.1978.
- PANDEY, A.K.; MOHAMED, M.P.; GEORGE, K.C. Histopathological alterations in liver and intestine of *Liza Parsia* (Hamilton-Buchanan) in response to mercury toxicity. *J. Adv. Zool.*, v. 15, n. 1, p. 18–24. 1994.
- PANDEY, A.K.; GEORGE, K.C.; MOHAMED, M.P. Histopathological changes induced in gill of an estuarine mullet, *Liza parsia*, by sublethal exposure to mercuric chloride. *Indian J. Fish.*, v. 43, n. 3, p. 285–291. 1996.
- POLEKSIC, V.; MITROVIC-TUTUNDIZIC, V. Fish gills monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: MULLER, R and LLOYD, R. *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fishes*. United Nation, Fishing News Books. p. 339-352. 1994.
- PORVARI, P. Mercury levels of fish in Tucuruí hydroelectric reservoir and in river Mojú in Amazonia, in the state of Pará, Brazil. *The Science of the Total Environment*, v. 175, p. 109-117, 1995.
- RADA, R.G.; FINDLEY, J.E.; WIENER, J.G. Environmental fate of mercury discharged into the upper Wisconsin wales. *Water, air and soil pollution*, v. 29, p. 57-76. 1986.
- RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. *Fundamentals of aquatic toxicology*. Washigton : Publinsing Hemisphere, 1985. 665 p.
- REYNOLDSON, T.B.; DAY, K.E. Freshwater sediments. In: COLLOW, P. *Handbook of Ecotoxicology*. Blackwell Scientific Publication, 1993. vol. 1, p.83-100.
- ROBERTS, R.J. *Fish Patology*. England : Baillière Tindall, 1989. 467 p..
- RODGERS, D.W.; BEAMISH, F.W.H. Effects of water hardness, inorganic mercury and zinc on uptake of waterborne methylmercury in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). In: ANNUAL AQUATIC TOXICITY WORKSHOP, Guelh, Ontário, Ottawa, Environment Canada, v. 8, p. 197-199. 1981
- SCOTT, D.P. Mercury concentration of white muscle in relation to age, growth, and condition in four species of fishes from Clay Lake, Ontario. *J. Fihs. Res. Bd. Can*, v. 31, p. 1723-1729, 1974.

- SHANKER, K.; MISHRA, S.; SRIVASTAVA, R.; DASS, S.; PRAKASH, S.; SRIVASTAVA, M.M. Study of mercury-selenium (Hg-Se) interactions and their impact on Hg uptake by the radish (*Raphanus sativus*) plant. *Food and Chemical Toxicology*, v. 34, p. 883-886. 1996.
- SKAK, C.; BAATRUP, E. Quantitative and histochemical demonstration of mercury in the inner ear of trout, *Salmo trutta*, exposed to dietary methylmercury and dissolved mercury chloride. *Aquatic toxicology*, v. 25, p. 55-70, 1993.
- SNARSKY, V.M.; OLSON, G.F. Chronic toxicity and bioaccumulation of mercury chloride in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Aquatic Toxicology*, v. 2, p. 143-156, 1982.
- SOUTHWORTH, G.R.; TURNER, R.R.; PETERSON, M.J.; BOGLE, M.A. Form on mercury in estream fish exposed to high concentrations of dissolved inorganic mercury. *Chemosphere*, v.30, n. 4, p. 779-787, 1994.
- SOUZA, J.R.; BARBOSA, A.C. *Contaminação por mercúrio e o caso da Amazônia*. Química nova na escola. n. 12, 2000.
- SPRY, D.J.; WIENER, J.G. Metal bioavailability and toxicity to fish in low-alkalinity lakes: a critical review. *Environ. Pollut*, v. 71, p. 243-304. 1991.
- TUNDISI, J.G. *Tipologia das Represas do Estado de São Paulo*. 1980. v.1. 72p.
- VALENTI, W.C.; POLI, C.R.; PEREIRA, J.A.; BORGHETTI, J.R. *Aqüicultura no Brasil. Bases para um desenvolvimento sustentável*. Brasília:CNPq / Ministério da Ciência e Tecnologia. 2000. 399 p.
- WALDOCK, M. Organometallic compounds in the aquatic environments. In: COLLOW, P. *Handbook of Ecotoxicology*. Blackwell Scientific Publication 1994. vol. 2.
- WALTER, C.M.; BROWN, H.G.; HENSLEY, C.P. Distribution of total mercury in the fishes of lake Oahe. *Water Res.*, v. 8, p. 423-418, 1974.
- WATRAS, C.J.; BACK, R.C.; HALVORSEN, S.; HUDSON, R.J.M.; MORRISON, K.A.; WENTE, S.P. Bioaccumulation of mercury in pelagic freshwater food webs. *The Science of the Total Environment*, v. 219, p. 183-208, 1998.

- WEIS, P. Effects of environmental factors on release of mercury from Berry's Creek (New Jersey) sediments on its uptake by killifish *Fundulus heteroclitus*. *Environmental Pollution*, Series A, v. 40, p. 303-315, 1986.
- WESTER, P.W.; ROGHAI, C.J. Monitoring of sublethal chronic effects in fish: the pathomorphological approach. In: MULLER, R; LLOYD, R. *Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fishes*. United Nation, Fishing News Books, 1994. p. 339-352.
- WHO. *Environmental Health Criteria 86. Mercury-Environmental aspects*. World Health Organization, Geneva Switzerland, 1989.
- WREN, C.D.; HARRIS, S.; HARTTRUP, N. Ecotoxicology of Mercury and Cadmium. In: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON, G.A.; CAIRNS, J. (Eds). *Handbook of Ecotoxicology*. Lewis publishers. 1955. 755p.
- WREN, C.D.; MACCRIMMON, H.R. Mercury levels in the sunfish, *Lepomis gibbosus*, relative to pH and other environmental variables of precambrian Shield Lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, v. 40, p. 1737-1745, 1983.
- ZAR, J. H. *Biostatistical Analysis*. 3rd. Edition, Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, New Jersey, USA, 662 p. 1996.

