



SETAC – Brazil

Toxicidade Aguda do Mercúrio, Associado ao Selênio, para Alevinos de Tilápia *Oreochromis niloticus*

J. G. DE FRANÇA,^{1*} J. V. LOMBARDI,² M. J. T. RANZANI-PAIVA² & S. DE CARVALHO¹

¹Programa de Pós-Graduação do Centro de Aqüicultura da UNESP,
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP

²Pesquisador Científico do Instituto de Pesca de São Paulo,
Avenida Francisco Matarazzo, 455, CEP 05001-900, São Paulo, SP

(Received June 6, 2007; Accept January 14, 2008)

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar se as duas formas de selênio (selenito de sódio – Se^{4+} e selenato de sódio – Se^{6+}) têm efeito antagonístico à ação tóxica aguda do cloreto de mercúrio (HgCl_2), através do teste de toxicidade aguda, utilizando alevinos de tilápia, *Oreochromis niloticus*, como organismos-teste. Os tratamentos consistiram na seguinte composição: I) grupo controle; II) somente Hg; III) somente Se^{4+} ; IV) somente Se^{6+} ; V) Se^{4+} + Hg; e VI) Se^{6+} + Hg. As concentrações testadas foram: 0,4 mg L⁻¹ de Hg (concentração letal para 50% dos organismos testados após 96h de exposição – CL_{50} - 96h) e 1,0 mg L⁻¹ de Se (concentração de efeito letal não observado – CELNO) para as duas formas de selênio. Após 24 horas de exposição aos tratamentos que continham mercúrio, os peixes apresentaram sinais clínicos de intoxicação, tais como: hiperatividade, escurecimento da pele, natação desordenada, dispnéia e morte. Não houve diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$) na mortalidade entre os tratamentos II-V e II-VI, indicando a ausência de efeito antagonístico entre estes elementos. Os resultados discutidos neste trabalho sugerem que a concentração de Se (CELNO) utilizada no presente estudo talvez tenha ultrapassado a proporção molecular de 2,5 : 1/(Hg : Se) considerada como supostamente apropriada para interagir antagonicamente ao efeito tóxico do mercúrio.

Palavras-chave: mercúrio, *Oreochromis niloticus*, selênio, toxicidade.

ABSTRACT

Acute toxicity of mercury associated to selenium, to minnows tilapia *Oreochromis niloticus*

The aim of this study was to evaluate if the two forms of selenium (sodium selenite – Se^{4+} and sodium selenate – Se^{6+}) have antagonistic effect on the acute action of mercury chloride (HgCl_2) by toxicity acute tests, using minnows of tilapia, *Oreochromis niloticus* as test-organisms. The treatments consisted of: I) control group; II) only Hg; III) only Se^{4+} ; IV) only Se^{6+} ; V) Se^{4+} + Hg; and VI) Se^{6+} + Hg. The following concentrations were used in the test: 0.4 mg L⁻¹ of Hg (considered as lethal median concentration – LC_{50}) and 1.0 mg L⁻¹ of Se (considered as non lethal effect concentration – NOEL) for two selenium forms. After 24 hours of exposition to the treatments that contained mercury, the fish presented clinical signals of poisoning, such as: hyperactivity, skin darkness, swimming disorder, difficulty for breathing, and death. There were no differences statistically significant ($p > 0.05$) in the mortality between the treatments II-V, and II-VI, indicating the absence of antagonistic effect between these elements. Results discussed in this paper suggest that the concentration of Se (NOEL) used in the present study perhaps has exceeded the molecular ratio of 2.5 : 1/(Hg : Se) supposedly considered as suitable for interacting antagonistically in the toxicity of mercury.

Key words: mercury, *Oreochromis niloticus*, selenium, toxicity.

*Corresponding author: Jakeline G. de França, e-mail: jkgalvao8@yahoo.com.br.

INTRODUÇÃO

A contaminação de águas por metais pesados vem recebendo grande atenção dos ambientalistas no que diz respeito a sua toxicidade em relação ao meio aquático e à vida humana (Torem & Casqueira, 2003). Devido ao crescimento populacional e à intensificação de atividades humanas que envolvem estes elementos, a concentração de metais pesados tem aumentado de forma generalizada nos corpos d'água em níveis que ameaçam não somente a biota aquática, mas também os organismos terrestres, incluindo o homem (Hunn *et al.*, 1987; Peález-Rodríguez *et al.*, 2002).

Dentre os diversos contaminantes presentes no ambiente pode-se mencionar o mercúrio. Este elemento apresenta elevada toxicidade em qualquer de suas formas de ocorrência na natureza: mercúrio elementar (vapor de mercúrio), sais orgânicos e sais inorgânicos. De acordo com Dietz *et al.* (2000), os resultados mais relevantes do envenenamento por mercúrio em animais são os efeitos adversos sobre a reprodução, dano neurológico, bem como em órgãos e tecidos. Em peixes, por exemplo, Oliveira-Ribeiro *et al.* (2002) observaram desorganização severa das células epiteliais das brânquias em *Salvelinus alpinus* após 12 horas de exposição a $15 \mu\text{g L}^{-1}$ de mercúrio inorgânico dissolvido na água. Low & Sin (1998) verificaram que o mercúrio clorídrico ($0,09 \text{ mg L}^{-1}$) apresentou potente efeito citotóxico, sendo capaz de induzir imunossupressão em *Trichogaster trichopterus*, devido à inibição da proliferação de linfócitos.

Por esta razão, a contaminação de águas por mercúrio evidencia a necessidade de estudos que possam contribuir para o manejo adequado dos impactos causados aos organismos por este metal. Uma das possibilidades mais discutidas está relacionada ao efeito protetor do selênio contra a ação tóxica do mercúrio. Esse efeito pode ser devido à interação entre o mercúrio e o selênio, que influi tanto no metabolismo quanto no efeito tóxico do mercúrio nos organismos (Cuvin-Aralar & Furness, 1991). Nos tecidos biológicos observa-se efeito antagônico do selênio influenciando a concentração de mercúrio, de forma que, quanto maior for a relação Hg/Se, menor será a concentração de mercúrio total presente nos organismos (Barbosa *et al.*, 1999). Assim, a possibilidade do uso do selênio no meio aquático para reduzir o efeito tóxico do mercúrio vem sendo pesquisada nas últimas décadas (Rudd *et al.*, 1980; Turner & Rudd, 1983; Cuvin & Furness, 1988; Pedersen *et al.*, 1998; Low & Sin, 1998; Southworth *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2004; Belzile *et al.*, 2006; Tran *et al.*, 2007).

Muitos estudos sobre interações entre contaminantes são baseados em experimentos de toxicidade aguda (Ribeyre *et al.*, 1995). De acordo com Rand & Petrocelli (1985), os testes de toxicidade com organismos aquáticos realizados em laboratórios permitem avaliar os efeitos de agentes tóxicos que podem provocar alterações na água e prejudicar os

organismos ali existentes, sendo os testes de toxicidade aguda um dos mais utilizados.

Portanto, este estudo teve por objetivo analisar por meio de teste de toxicidade aguda (96h) a capacidade do selênio em reduzir o efeito tóxico causado pelo mercúrio a alevinos de tilápia.

MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia para a condução do bioensaio foi padronizada de acordo com as recomendações expressas por Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater – APHA (1998).

O experimento foi realizado no laboratório de Toxicologia Aquática, do Instituto de Pesca, SP, em ambiente climatizado (fotoperíodo 10 horas claro : 14 horas escuro, e temperatura de 25°C).

Foram utilizados alevinos de tilápia, *Oreochromis niloticus*, provenientes de piscicultura comercial, com peso médio de $0,33 \pm 0,08 \text{ g}$ e comprimento total médio de $2,9 \pm 0,29 \text{ cm}$, aclimatados por um período de duas semanas, em tanque com água de clorada com capacidade de 250 L. Durante este período, os peixes foram alimentados com ração comercial floculada com 38% de proteína bruta e ficaram sob observação a fim de verificar possíveis sinais de doenças, estresse, presença de parasitas, danos físicos e mortalidade. Em seguida os mesmos foram transferidos para aquários de 40 L e aclimatados novamente por 48 horas, nas mesmas condições de bioensaio (local e densidade de estocagem).

Uma vez observada a perfeita aclimação dos organismos, os peixes foram transferidos para aquários dotados de aeração artificial, contendo 5 L de solução-teste. A densidade foi de 2 peixes por litro e o sistema utilizado foi o semi-estático, onde a solução era substituída a cada 24 horas. O período total de exposição foi de 96 horas, durante os quais os peixes não foram alimentados (APHA, 1998).

A água utilizada tanto no experimento quanto para a preparação e diluição das concentrações testadas era proveniente do abastecimento urbano. O cloro residual desta fonte foi eliminado por meio do processo de filtração (filtros tipo cunho em duas séries de substrato de carvão), seguido de forte aeração. A presença de cloro na água foi verificada através da utilização do kit Cloro Test da LABCON.

As substâncias químicas utilizadas foram: cloreto de mercúrio (HgCl_2), selenito de sódio ($\text{NaSe}^{4+}\text{O}_3$) e selenato de sódio ($\text{NaSe}^{6+}\text{O}_3$), todos do laboratório Synth®.

Soluções estoques das substâncias químicas utilizadas foram previamente preparadas. Estas soluções foram pipetadas e diluídas diretamente nos aquários, em quantidade suficiente para estabelecer as concentrações testadas. Logo após a adição da substância química, a água foi agitada para promover a homogeneização das soluções. Todas as diluições foram realizadas com base na concentração das soluções-estoque.

Portanto, as concentrações-teste foram consideradas como concentrações nominais, tanto para as duas formas de selênio quanto para o mercúrio.

Visando à escolha da concentração de mercúrio utilizada no teste definitivo, foi testada, através de ensaio preliminar, a CL_{50} -96h (0,196 mg L⁻¹) para alevinos de tilápia (*O. niloticus*) determinada por Ishikawa (2003), porém, esta concentração não repetiu o mesmo resultado no presente estudo, sendo necessário testar uma concentração mais alta de mercúrio.

Para a escolha da concentração de selênio foi realizado teste preliminar para as duas formas deste metal. Com base nos resultados de Gonçalves (2004), foi testada a concentração de 1,0 mg L⁻¹, considerada de efeito letal não observado (CELNO) em teste de toxicidade aguda em alevinos de tilápia (*O. niloticus*), os quais repetiram os mesmos resultados no presente estudo.

A concentração de mercúrio utilizada neste experimento foi de 0,4 mg L⁻¹ de Hg (referente à CL_{50} -96h determinada nos testes preliminares) e esta foi associada a 1,0 mg L⁻¹ de selenito de sódio (NaSe⁴⁺O₃) e de selenato de sódio (NaSe⁶⁺O₃).

Os tratamentos consistiram na seguinte composição: I) isento de Hg e Se (controle); II) água contendo somente Hg (CL_{50}); III) água contendo somente Se⁴⁺(CELNO); IV) água contendo somente Se⁶⁺(CELNO); V) água contendo Se⁴⁺(CELNO) + Hg (CL_{50}); e VI) água contendo Se⁶⁺(CELNO) + Hg (CL_{50}). Quatro réplicas foram conduzidas para cada tratamento, totalizando 24 aquários em utilização simultânea.

A ocorrência de mortalidade foi registrada nos períodos de 24, 48, 72 e 96 horas de exposição, com a retirada dos organismos mortos. Mudanças de comportamento dos peixes, possivelmente causadas pela toxicidade dos metais, também foram observadas e registradas. Este procedimento consistiu na observação de qualquer anormalidade relativa aos movimentos descoordenados de natação, alterações no movimento opercular, agressividade, etc.

As seguintes variáveis físicas e químicas da água foram monitoradas no início e a cada 24 horas, durante os experimentos: a temperatura (°C) e o oxigênio dissolvido (mg L⁻¹ e % de

saturação) foram aferidos em oxímetro YSI – Mod.55; os valores de pH foram obtidos com potenciômetro; e a condutividade elétrica (μScm⁻¹), por condutivímetro. A análise da dureza foi feita pelo método titulométrico com EDTA, alcalinidade (mg CaCO₃ L⁻¹) por titulometria e amônia total (mg NH₄ L⁻¹) pelo método colorimétrico do reagente de Nessler, sendo essas análises realizadas ao final dos experimentos.

Os dados de mortalidade obtidos ao final da experimentação foram submetidos à análise estatística através do método Trimmed Spearman Karber (Hamilton *et al.*, 1977), determinando-se a concentração letal para 50% dos organismos testados após 96h de exposição (CL_{50} -96h).

Os resultados foram avaliados através da aplicação da Análise de Variância e teste Tukey (p < 0,05) para verificar a existência de diferenças significativas entre os tratamentos (Zar, 1999).

A água utilizada nesta experimentação, com exceção dos controles, foi armazenada e tratada antes de ser desprezada para o sistema de esgoto urbano. Para isto, foi adicionado o hidróxido de sódio até a solução atingir pH entre 9 e 10. Posteriormente, foi adicionada uma solução contendo sulfeto de sódio, que resultou na cristalização do mercúrio e conseqüente sedimentação do produto químico. A água foi desprezada e o sedimento recolhido e encaminhado ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA-USP) de Piracicaba para a sua reciclagem final.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise estatística dos dados obtidos para as variáveis físicas e químicas da água não revelou diferença significativa (p > 0,05) entre os tratamentos testados, estando todas elas dentro dos níveis ideais recomendados por Boyd (1982) para a manutenção de peixes em sistemas de criação (Tabelas 1 e 2). Portanto, as alterações de comportamento e mortalidade observadas nos peixes podem ser fortemente atribuídas às substâncias químicas testadas no presente estudo.

Tabela 1 – Valores das variáveis físicas e químicas da água no teste de toxicidade aguda em *O. niloticus* exposta ao Hg e ao Se.

Tratamentos	Alcalinidade (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	Dureza total (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	Amônia não ionizada (mg L ⁻¹)
Controle	13,32	20,58	0,021
Hg	13,32	19,60	0,035
CELNO Se ⁴⁺	11,42	19,60	0,016
CELNO Se ⁶⁺	13,32	19,60	0,014
Hg + CELNO Se ⁴⁺	13,32	19,60	0,014
Hg + CELNO Se ⁶⁺	13,32	21,56	0,033

CELNO: concentração de efeito letal não observado.

Tabela 2 – Valores médios e desvio padrão das variáveis físicas e químicas da água no teste de toxicidade aguda em *O. niloticus* exposta ao Hg e ao Se.

Tratamentos	pH	Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Oxigênio dissolvido (mg L^{-1})	Oxigênio dissolvido (%)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
Controle	7,50 \pm 0,32	69,13 \pm 3,70	7,42 \pm 0,20	96,30 \pm 1,52	23,30 \pm 0,75
Hg	7,86 \pm 0,12	71,04 \pm 3,33	7,51 \pm 0,21	97,31 \pm 0,87	23,56 \pm 0,69
CELNO Se ⁴⁺	7,76 \pm 0,19	73,01 \pm 3,37	7,76 \pm 0,19	97,35 \pm 0,99	22,64 \pm 0,27
CELNO Se ⁶⁺	7,87 \pm 0,14	72,60 \pm 2,60	7,47 \pm 0,20	96,25 \pm 1,44	23,38 \pm 0,71
Hg + CELNO Se ⁴⁺	7,93 \pm 0,19	70,21 \pm 6,36	7,93 \pm 0,19	97,05 \pm 1,28	23,46 \pm 0,74
Hg + CELNO Se ⁶⁺	7,85 \pm 0,17	73,09 \pm 4,99	7,50 \pm 0,20	97,50 \pm 1,03	23,51 \pm 0,74

CELNO: concentração de efeito letal não observado.

Após 24 horas de exposição aos tratamentos que continham mercúrio, os peixes apresentaram sinais clínicos de intoxicação, tais como: hiperatividade, escurecimento da pele, natação desordenada, maior batimento das nadadeiras, aumento nos movimentos operculares, dispnéia e morte. O mesmo foi observado em testes de toxicidade aguda com cloreto de mercúrio realizados por Ishikawa (2003) em *O. niloticus*, nos quais foram observados sinais de intoxicação ao metal já nas primeiras horas de exposição, principalmente nas maiores concentrações de mercúrio (0,92; 0,74; e 0,37 mg L^{-1}).

A escolha da concentração de mercúrio a ser utilizada no presente estudo foi baseada na $\text{CL}_{50-96\text{h}}$ (0,196 mg L^{-1}) determinada por Ishikawa (2003), porém, durante ensaio preliminar esta concentração não apresentou o resultado esperado, causando somente 17% de mortalidade, sendo necessário testar uma concentração mais alta de mercúrio.

Assim, a concentração no presente trabalho determinada como CL_{50} foi de 0,4 mg L^{-1} de Hg (Tabela 3), sendo superior ao encontrado por Ishikawa (2003). De acordo com Boening (2000), a CL_{50} do mercúrio para peixes de água doce pode variar entre 0,033 e 0,40 mg L^{-1} , inclusive para uma mesma espécie.

Os peixes expostos às concentrações contendo somente selênio não apresentaram sinais clínicos de intoxicação, uma vez que a mortalidade nesses tratamentos foi de apenas 7,5% e 15% para selenito e selenato de sódio, respectivamente (Tabela 3). Além disso, esses tratamentos não diferiram significativamente do grupo controle, evidenciando que são concentrações de efeito letal não observado (CELNO). As concentrações testadas para as duas formas de selênio foram as mesmas usadas por Gonçalves (2004) para alevinos de *O. niloticus*, que resultaram nos mesmos efeitos no presente estudo.

Tabela 3 – Mortalidade média acumulativa (%) em tilápia, *O. niloticus* em função do tempo no teste de toxicidade aguda com Hg e Se.

Tratamentos	Tempo (horas)			
	24	48	72	96
Controle	0,0 ^a	5,0 ^a	5,0 ^a	5,0 ^a
Hg	7,5 ^a	15,0 ^a	32,5 ^b	50,0 ^b
CELNO Se ⁴⁺	2,5 ^a	5,0 ^a	5,0 ^a	7,5 ^a
CELNO Se ⁶⁺	0,0 ^a	0,0 ^a	2,5 ^a	15,0 ^a
Hg + CELNO Se ⁴⁺	2,5 ^a	5,0 ^a	25,0 ^b	32,5 ^b
Hg + CELNO Se ⁶⁺	15,0 ^a	25,0 ^b	37,5 ^b	55,0 ^b

Os valores na coluna com a mesma letra (a, b) não diferem estatisticamente entre si ($p > 0,05$).

CELNO – concentração de efeito letal não observado.

O mecanismo de proteção do selênio, segundo Naganuma & Imura (1980), envolve a formação de um complexo Hg e Se. Esses autores observaram que o selenito (SeO_3^{2-}) é reduzido em seleneto (Se^{2-}) e este se liga ao metilmercúrio (CH_3Hg^+) formando o complexo seleneto bis (metilmercúrico) (CH_3Hg)₂Se, neutralizando a ação tóxica do mercúrio. Cuvín & Furness (1988) também sugerem que o selenato pode ser reduzido em seleneto e que este se liga ao mercúrio inorgânico após sua metilação no organismo. Por outro lado, o selênio também pode interagir sinergicamente com o mercúrio. O primeiro estudo sobre a toxicidade da junção desses elementos foi registrado por Huckabee & Griffith (1974) em ovos de carpa (*Cyprinus carpio*), em que os autores observaram que as concentrações de Hg e de Se associadas interromperam a eclosão de 80% dos ovos, provavelmente pela formação de um complexo solúvel em água que facilitou o transporte do mercúrio através da membrana, levando a forte efeito sinérgico.

Entretanto, no presente trabalho, observou-se que o selênio não interagiu de forma antagônica nem sinérgica ao efeito tóxico do mercúrio, pois no final de 96 h de exposição as mortalidades registradas nos tratamentos de associação (Hg + CELNO Se^{4+} e Hg + CELNO Se^{6+}) não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparadas com o tratamento contendo somente mercúrio (Tabela 3). Em estudos realizados por Cuvín & Furness (1988) foi observado que alevinos de *Phoxinus phoxinus* expostos na proporção molecular de 2,5 : 1 de mercúrio e selênio apresentaram 85% de sobrevivência, enquanto nas proporções de 7,5 : 1 e 1,3 : 1 tiveram apenas 5% e 50% de sobrevivência, respectivamente, sugerindo a existência de uma proporção adequada na associação desses metais para que o efeito antagônico se manifeste.

Desta forma, tais resultados podem indicar que a proporção de 1,01 : 1, calculada para as concentrações associadas do presente estudo, provavelmente tenha sido um fator que contribuiu para a ausência do efeito antagônico, uma vez que a ação tóxica do mercúrio nesses tratamentos foi bastante alta, com mortalidades que variaram entre 32% e 55% (Tabela 3), os quais são similares aos resultados encontrados por Cuvín & Furness (1988), na proporção de 1,3 : 1.

Uma vez que a proporção de 1,01 : 1, utilizada no presente estudo, não resultou em efeito antagônico, provavelmente uma concentração menor de selênio, ou seja, na ordem de 0,4 mg L⁻¹, poderia ser mais eficaz na redução da toxicidade do mercúrio na mesma concentração de 0,4 mg L⁻¹, considerando a hipótese de que a proporção de 2,5 : 1, sugerida por Cuvín & Furness (1988), seja realmente a mais adequada. Todavia, esta observação deve ser considerada com cautela, a partir do fato de que as diferentes espécies de peixes, além das diferentes condições ambientais mantidas nos diferentes experimentos, podem gerar resultados que se aplicam somente a uma situação em particular.

CONCLUSÃO

A ausência do efeito antagônico no presente estudo mostrou que a concentração de selênio aqui utilizada (1,0 mg L⁻¹) não foi adequada para interagir antagonicamente à ação tóxica do mercúrio, mesmo sendo uma concentração que não causa efeito tóxico isolado. Além disso, estes resultados corroboram com de outros estudos, o que reforça a idéia da existência de uma proporção adequada na associação desses metais para que o efeito antagônico se manifeste.

Agradecimentos — À FAPESP pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), WPCF (Water Pollution Control Federation), 1998, *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20 ed., Washington, D.C.
- BARBOSA, A. C., DÓREA, J. G., MOREIRA, M. B. & EAST, G., 1999, Selenium and mercury concentration in fish species of Madeira river, Amazon Basin. In: *Mercury as a global pollutant*. 5TH International Conference, Transactions, Rio de Janeiro, Brazil, 202p.
- BELZILE, N., CHEN, Y. W., GUNN, J. M., TONG, J., ALARIE, Y., DELONCHAMP, T., & LANG, C. Y., 2006, The effect of selenium on mercury assimilation by freshwater organisms. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 63: 1-10.
- BOENING, D. W., 2000, Ecological effects, transports, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, 40: 1335-1351.
- BOYD, C. E., 1982, *Water quality management for pond fish culture*. Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 318p.
- CUVIN, M. L. A. & FURNESS, R. W., 1988, Uptake and elimination of inorganic mercury and selenium by minnows *Phoxinus phoxinus*. *Aquat. Toxicol.*, 13: 205-216.
- CUVIN-ARALAR, M. L. A. & FURNESS, R. W., 1991, Mercury and selenium interaction: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 21: 348-364.
- DIETZ, R., RIGET, F. & BORN, E. W., 2000, An assessment of selenium to mercury in Greenland marine animals. *Sci. Total Environ.*, 245: 15-24.
- GONÇALVES, A., 2004, *Concentração letal CL_{50-96h} e efeitos subletais do selenito de sódio (Na_2SeO_3) em tilápia do nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757): alterações hematológicas e histopatológicas*. Dissertação de mestrado, Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- HAMILTON, M. A., RUSSO, R. C. & THURSTON, R. V., 1977, Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.*, 11: 714-719.
- HUCKABEE, J. W. & GRIFFITH, N. A., 1974, Toxicity of mercury and selenium to the eggs of carp (*Cyprinus carpio*). *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 103: 822-825.
- HUNN, J. B., HAMILTON, S. J., & BUCKLER, D. R., 1987, Toxicity of sodium selenite to rainbow trout fry. *Wat. Res.*, 21: 233-238.
- ISHIKAWA, N. M., 2003, *Toxicidade aguda e crônica do mercúrio em tilápia "Tailandesa", *Oreochromis niloticus*. Determinação da CL_{50-96h} e alterações hematológicas*. Dissertação de mestrado, Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

- LOW, K. W. & SIN, Y. M., 1998, Effects of mercury chloride and sodium selenite on some immune responses of blue gourami, *Trichogaster trichopterus* (Pallus). *Sci. Total Environ.*, 214: 153-164.
- NAGANUMA, A. & IMURA, N., 1980, Bis (methyl mercuric) selenide as a reaction product from methyl mercury and selenite in rabbit blood. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 27: 163-173.
- OLIVEIRA-RIBEIRO, C. A., BELGER, L., PELLETIER, É. & ROULEAU, C., 2002, Histopathological evidence of inorganic mercury and methylmercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environ. Res.*, 90: 217-225.
- PEÁLEZ-RODRIGUEZ, M., PERET, A. M., MATSUMURA-TUNDISI, T. & ROCHA, O., 2002, Análise da qualidade da água e aplicação do índice de proteção da vida aquática (IVA) em duas sub-bacias da bacia hidrográfica do rio Jacaré-Guaçu. In: E. L. G. Espíndola, C. M. R. Botta-Paschoal, O. Rocha, M. B. C. Boher, A. L. Oliveira-Neto (ed.), *Ecotoxicologia: perspectivas para o século XXI*. RiMa Editora, São Carlos, SP.
- PEDERSEN, T. V., BLOCK, M. & PÄRT, P., 1998, Effect of the selenium on the uptake of methyl mercury across perfused gills of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquat. Toxicol.*, 40: 361-373.
- RAND, G. M. & PETROCELLI, S. R., 1985, *Fundamentals of aquatic toxicology*. Hemisphere Publishing, Washington, 665p.
- RIBEYRE, F., AMIARD-TRIQUET, C., BOUDOU, A. & AMIARD, J. C., 1995, Experimental study of interactions between five trace elements – Cu, Ag, Se, Zn, and Hg – toward their bioaccumulation by fish (*Brachydanio rerio*) from the direct route. *Ecotox. Environ. Safe.*, 32: 1-11.
- RUDD, J. W., TURNER, M. A., TOWNSEND, B. E., SWICK, A. & FURUTANI, A., 1980, Dynamics of selenium in mercury-contaminated experimental freshwater ecosystems. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37: 848-857.
- SOUTHWORTH, G. R., PETERSON, M. J. & RYON, M. G., 2000, Long-term increased bioaccumulation of mercury in largemouth bass follows reduction of waterborne selenium. *Chemosphere*, 41: 1101-1105.
- TOREM, M. L., & CASQUEIRA, R. G., 2003, *Flotação aplicada à remoção de metais pesados*. CETEM/MCT, Rio de Janeiro, 75p.
- TRAN, D, MOODY, A. J., FISHER, A. S., FOULKES, M. E. & JHA, A. N., 2007, Protective effects of selenium on mercury-induced DNA damage in mussel haemocytes. *Aquat. Toxicol.*, 84: 11-18.
- TURNER, M. A. & RUDD, J. W. M., 1983, The English-Wabigoon River system: III. Selenium in lake enclosures: its geochemistry, bioaccumulation, and ability to reduce mercury bioaccumulation. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 40: 2228-2240.
- WANG, W. X., WONG, R. S. K., WANG, J. & YEN, Y. F., 2004, Influences of different selenium species on the uptake and assimilation of Hg(II) and methylmercury by diatoms and green mussels. *Aquat. Toxicol.*, 68: 39-50.
- ZAR, J. H., 1999, *Biostatistical analysis*. 4th ed. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, USA, 663p.