ISSN:2594-6153

Avaliação bioquímica e histológica em *Macrobrachium amazonicum* exposto ao mercúrio sob variações de pH e Carbono Orgânico Dissolvido do Rio Negro

Giulia M. De Prá[1], Thamiris S. Gomes[1], Ana Beatriz F. B. Santos[1], Wilton R.D.S. Santos[1], Bruna C.C. Batista[1], Gabriela P. Marinsek[1, 3], Renata de Britto Mari[3], Susana Braz-Mota[2], Adalberto Luis Val[2], Helen Sadauskas-Henrique[1]

[1.] Universidade Santa Cecília, Laboratório de Ecofisiologia e Bioquímica de Organismos Aquáticos. – Santos, SP
[2.] Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular. – Manaus, AM
[3.] Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Campus do Litoral Paulista – São Vicente, SP

E-mail: giu.maneira@gmail.com

Resumo: A contaminação por mercúrio em rios de águas pretas amazônicos, como o Rio Negro, é uma ameaça ambiental pela toxicidade e bioacumulação desse metal. Este estudo avaliou os efeitos da exposição de curto prazo (24 h) do camarão amazônico *Macrobrachium amazonicum* (n = 10; peso: 0,12 ± 0,002 g; comprimento: 5,4 ± 0,13 cm). ao $HgCl_2$ (220 ng L^{-1}, limite da legislação brasileira) em quatro condições experimentais (pH 7, pH 7 + COD, pH 4 e pH 4 + COD). A concentração do mercúrio total foi medida na água e no músculo dos camarões. Foram realizadas análises da histopatologia branquial, peroxidação lipídica (LPO) e atividades enzimáticas (Na^+/K^+ ATPase, H^+ ATPase tipo v e anidrase carbônica). A prença do COD aumentou a permanência do mercúrio na água (independente do pH), no entanto, sem efeitos bioacumulativos no músculo (0,0013 ± 0,000095 mg kg^{-1}). Apesar da curta exposição, o mercúrio causou lesões branquiais (hipertrofia, inflamação e extravasamento), sem alterar significativamente a peroxidação de lipídeos e a atividade das enzimas osmoregulatórias estudadas. Os resultados demonstram que o mercúrio, mesmo nas concentrações permitidas em lei e durante um curto período de exposição, podem provocar alterações histopatológicas, reforçando a necessidade de mais estudos para compreender os efeitos a médio e longo prazo.
Palavras-chave: Mercúrio; *Macrobrachium amazonicum*; pH; COD; Ecotoxicologia

Biochemical and Histological Assessment in *Macrobrachium amazonicum* Exposed to Mercury under pH and Dissolved Organic Carbon Variations from the Rio Negro

Abstract: Mercury contamination in Amazonian blackwater rivers, such as the Rio Negro, represents an environmental threat due to the toxicity and bioaccumulation potential of this metal. This study evaluated the short-term exposure (24 h) effects of the Amazonian shrimp *Macrobrachium amazonicum* (n = 10; weight: 0.12 ± 0.002 g; length: 5.4 ± 0.13 cm) to $HgCl_2$ (220 ng L^{-1}, the limit established by Brazilian legislation) under four experimental conditions (pH 7, pH 7 + DOC, pH 4, and pH 4 + DOC). Total mercury concentration was measured in water and shrimp muscle. Gill histopathology, lipid peroxidation (LPO), and enzymatic activities (Na^+/K^+-ATPase, V-type H^+-ATPase, and carbonic anhydrase) were analyzed. The presence of DOC increased mercury persistence in water (regardless of pH); however, no bioaccumulation effects were detected in muscle

tissue (0.0013 ± 0.000095 mg kg^{-1}). Despite the short exposure, mercury induced gill lesions (hypertrophy, inflammation, and hemorrhage), without significantly altering lipid peroxidation or the activity of the osmoregulatory enzymes studied. These results demonstrate that mercury, even at concentrations allowed by law and during short-term exposure, can cause histopathological alterations, reinforcing the need for further studies to understand its medium- and long-term effects.
Keywords: Mercury; *Macrobrachium amazonicum*; pH; DOC; Ecotoxicology

Introdução

A contaminação por metais pesados em ecossistemas aquáticos é um dos principais desafios ambientais atuais, afetando a biodiversidade e populações humanas dependentes desses recursos. Entre eles, o mercúrio (Hg) se destaca pela alta toxicidade, persistência e capacidade de bioacumulação e biomagnificação, sendo liberado principalmente por atividades antrópicas como mineração, queimadas e processos industriais. Sua transformação em metilmercúrio potencializa os efeitos nocivos ao atingir peixes, crustáceos e outros organismos, comprometendo a qualidade da água e a segurança alimentar de comunidades ribeirinhas.

A toxicidade do Hg depende da concentração e das condições ambientais. Em rios de águas pretas, como o Rio Negro, o pH naturalmente ácido (3,5–5,5) e os altos níveis de carbono orgânico dissolvido (COD) modulam sua biodisponibilidade: o pH baixo favorece mobilidade e absorção, enquanto o COD reduz a disponibilidade ao formar complexos químicos [3]. Nesse contexto, a interação entre pH, COD e Hg é particularmente relevante no Rio Negro, mas seus efeitos sobre espécies nativas ainda são pouco conhecidos. O camarão-da-Amazônia (*Macrobrachium amazonicum*), de ampla distribuição e importância ecológica e econômica [2], é um modelo útil para esses estudos. Embora a acumulação de Hg em músculo, fígado e brânquias já seja relatada [10], seus efeitos específicos em *M. amazonicum* permanecem pouco explorados. Compreender essas interações é essencial para avançar no conhecimento sobre a ecotoxicologia do Hg em ecossistemas amazônicos e subsidiar estratégias de monitoramento e mitigação da poluição.

Objetivos: Investigar os efeitos ecotoxicológicos do mercúrio para o *M. amazonicum* desafiados pelo pH ácido na presença de carbono orgânico dissolvido (COD) do Rio Negro. O estudo busca entender como esses fatores podem influenciar a toxicidade do mercúrio para a espécie em estudo, com ênfase nas alterações bioquímicas e histológicas.

Materiais e Métodos

Espécimes de *Macrobrachium amazonicum* foram obtidos na UNESP – Registro-SP e transportados para o LEBIO-Unisanta. No laboratório, foram aclimatados em tanque de 500 L com água reconstituída pobre ionicamente (Na^+ 30 µM, K^+ 20 µM, Ca^{2+} 10 µM, Mg^{2+} 8 µM e Cl^- 20 µM), simulando condições do Rio Negro, com substituição gradual e alimentação *ad libitum*. A água reconstituída foi preparada conforme USEPA (2002) em dois reservatórios (pH 7 e 4) onde os animais foram mantidos por 10 dias antes do início dos experimentos.

Os experimentos foram conduzidos em triplicata (n=3) a 25 °C, utilizando aquários de 7 L (n=20 camarões; 0,1 g/L). Foram testados oito grupos: controles em pH 7 e 4, com e sem COD, e os mesmos tratamentos com mercúrio (220 ng/L). A solução de COD (10 mg/L) foi preparada a partir de amostra concentrada do Rio Negro, e o $HgCl_2$ seguiu os limites da Resolução CONAMA 357/2005. As soluções foram deixadas em repouso por 24 h para dispersão e complexação. O pH foi monitorado e ajustado a cada 2 h. Após 24 h, coletaram-se amostras de água para análise de mercúrio total (DMA80), e os camarões foram medidos, pesados e tiveram músculo (análise do mercúrio total, DMA 80) e brânquias (peroxidação lipídica e atividade das enzimas Na^+/K^+ ATPase, H^+ ATPase tipo V, anidrase carbônica) coletados e armazenados a -80 °C até as análises.

Resultados: A concentração real de mercúrio total na água dos experimentos variou em função da presença e ausência do COD onde, na presença do COD, o mercúrio total ficou próximo ao valor nominal de 220 ng L^{-1} (i.e. 160, 7 ± 25,1 e 136,7 ± 13,8, para pH 7 e 4, respectivamente) (Figura 1A). Na ausência do COD, a concentração de mercúrio total foi de 57,1 ± 15,4 e 88,0 ± 21,4, representando uma diminuição de 2,8 e 1,5 vezes, respectivamente, em relação aos mesmos tratamentos na presença de COD (Figura 1A). De qualquer forma, aumento significativo na concentração do mercúrio total foi observada entre os diferentes tratamentos e seus respectivos controles, com exceção do pH 7 na ausência do COD (Figura 1A). Apesar disso, 24 h de exposição ao mercúrio não causou sua bioacumulação no músculo dos camarões tanto na presença quanto na ausência do COD, independente do pH (7 ou 4) (Figura 1B).

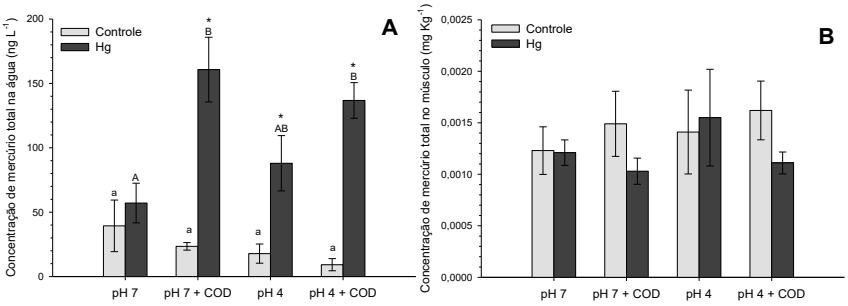


Figura 1. Mercúrio total (média ± desvio padrão) na água (A) e músculo (B) de Macrobrachium amazonicum expostos a mercúrio (220 ng L-1) na presença e ausência de carbono orgânico dissolvido (COD) isolado do Rio Negro em condições neutra (pH 7) e ácida (pH 4). Letras diferentes representam diferença estatística (P < 0,05) entre os diferentes tratamentos (minúscula para o controle e maiúsculo para o mercúrio (Hg)). Asterisco (*) indica diferença significativa (P < 0,05) entre os diferentes tratamentos e seus respectivos controles.

Embora tenham sido observadas variações numéricas nas médias das atividades enzimáticas (Figura 2) e na peroxidação lipídica (Figura 3), não foram detectadas diferenças significativas entre os grupos expostos ao mercúrio e os grupos controle para nenhuma das enzimas analisadas (Figura 2A, B e C).

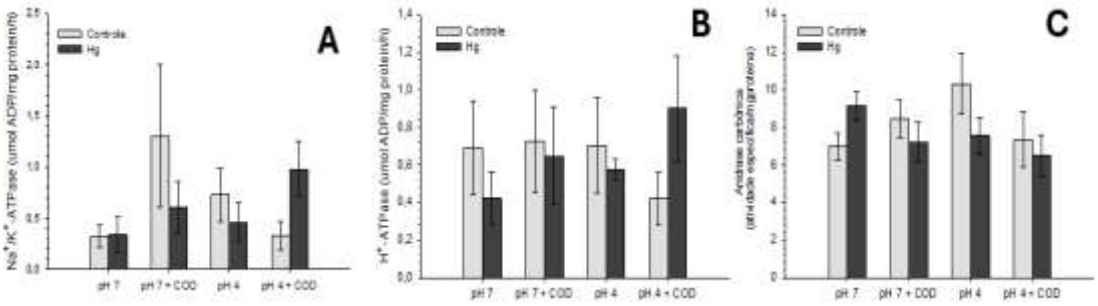


Figura 2. Média ± erro padrão da NKA (A), H+ ATPase (B) e anidrase carbônica (C) nas brânquias de Macrobrachium amazonicum expostos a mercúrio (220 ng L-1) na presença e ausência de carbono orgânico dissolvido (COD) isolado do Rio Negro em condições neutra (pH 7) e ácida (pH 4).

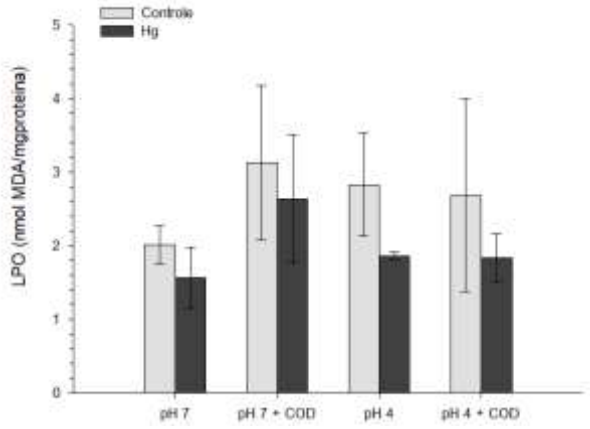


Figura 3. Peroxidação lipídica das brânquias de Macrobrachium amazonicum expostos a mercúrio (220 ng L^{-1}) na presença e ausência de carbono orgânico dissolvido (COD) isolado do

Rio Negro em condições neutra (pH 7) e ácida (pH 4). diferentes tratamentos e seus respectivos controles.

O índice histopatológico demonstrou que o pH ácido, na ausência e presença do COD, causou um aumento significativo nas lesões branquiais dos camarões em relação ao pH neutro no controle. Nos animais expostos ao mercúrio, somente o pH ácido causou aumento significativo das lesões em relação ao pH7+COD (Figura 4). Aumento significativo das lesões ocorreu somente nos animais expostos ao mercúrio em pH 7 (com e sem COD) (Figura 4). As lesões histopatológicas mais frequentes foram tumefação celular, hipertrofia celular, hemorragia e necrose. [GP1]Análises qualitativas das brânquias indicam alterações teciduais nos grupos expostos (Figura 5).

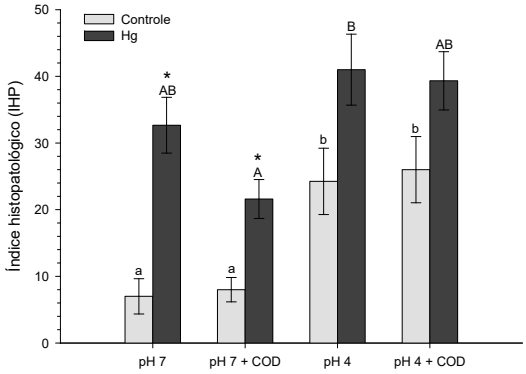
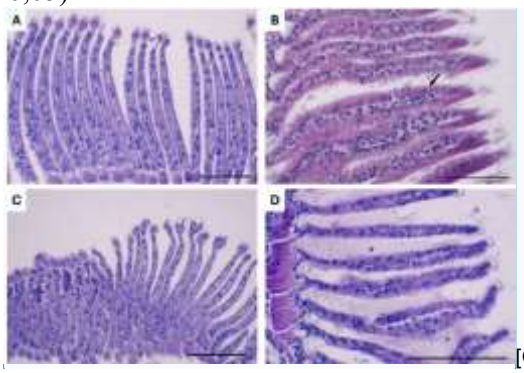


Figura 4. Média ± erro padrão do índice histopatológico (IH) nas brânquias de *Macrobrachium amazonicum* expostos a mercúrio (220 ng L^{-1}) na presença e ausência de carbono orgânico dissolvido (COD) isolado do Rio Negro em condições neutra (pH 7) e ácida (pH 4). Letras diferentes representam diferença estatística ($P < 0,05$) entre os diferentes tratamentos (minúscula para o controle e maiúsculo para o mercúrio (Hg)). Asterisco (*) indica diferença significativa ($P < 0,05$) entre os diferentes tratamentos e seus respectivos controles.



[GP2]

Figura 5. Fotomicrografia das brânquias do camarão *Macrobrachium amazonicum* expostos a mercúrio (220 ng L^{-1}) na presença e ausência de carbono orgânico dissolvido (COD) isolado do Rio Negro em condições neutra (pH 7) e ácida (pH 4). A) sem alterações, B) tumefação e hipertrofia epitelial, C) infiltrados hemocíticos e D) necrose. Coloração – hematoxilina – eosina. Barra = 100µm.

Discussão

Os resultados mostraram que a concentração de mercúrio na água variou com a presença de carbono orgânico dissolvido (COD), mantendo-se próxima ao esperado (220 ng L^{-1}) quando o COD estava presente, enquanto sem COD houve redução significativa, sugerindo que ele pode estabilizar o mercúrio na coluna d'água [5;13]. Apesar disso, não houve bioacumulação no músculo de *Macrobrachium amazonicum* após 24h, possivelmente devido ao curto tempo de exposição ou à menor afinidade do músculo em relação a órgãos metabolicamente mais ativos [8].

A análise histológica das brânquias revelou alterações teciduais nos camarões expostos ao mercúrio, como tumefação celular, hipertrofia celular, hemorragia e necrose. Essas alterações são comuns em organismos submetidos a estressores ambientais e podem comprometer funções essenciais, como a troca gasosa e a osmorregulação [1]. Apesar disso, a atividade das enzimas osmoregulatórias e o indicador de dano lipídico (LPO) estudados no presente estudo não foram afetados.

Conclusão

O COD estabilizou o mercúrio na água, mas não houve bioacumulação no músculo de *Macrobrachium amazonicum* após 24 h. Ainda assim, foram observadas alterações histológicas nas brânquias, indicando efeitos iniciais do metal em tecidos sensíveis, enquanto os biomarcadores bioquímicos avaliados permaneceram inalterados. Esses resultados sugerem que o mercúrio pode causar danos teciduais precoces antes que efeitos sistêmicos sejam detectados.

Agradecimentos: Os autores agradecem FAPEAM/CNPq-INCT ADAPTA.

Referências

1. Cerqueira, C. C. C.; Fernandes, M. N. Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa***.** *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 52, n. 2, p. 83-91, 2002.
2. Coelho, P. A.; Ramos-Porto, M. R. Camarões de água doce do Brasil: distribuição geográfica**.** *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 2, n. 6, p. 405-410, 1985.
3. De Schamphelaere, K. A. C.; Janssen, C. R. Effects of dissolved organic carbon concentration and source, pH, and water hardness on chronic toxicity of copper to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 23, n. 5, p. 1115–22, 2004. doi: 10.1897/02-593
4. Funes, V.; Alhama, J.; Navas, J. I.; López-Barea, J.; Peinado, J. Ecotoxicological effects of metal pollution in two mollusc species from the Spanish South Atlantic littoral**.** *Environmental Pollution*, v. 139, n. 2, p. 214-223, 2006.
5. Guéguen, C.; Dominik, J. Partitioning of trace metals between dissolved and particulate phases in a contaminated river: temporal variations and the role of DOC. *Applied Geochemistry*, v. 18, n. 4, p. 571-581, 2003.

6. Hacon, S. S. et al. Mercury exposure through fish consumption in traditional communities in the Brazilian Amazon. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 17, n. 14, p. 5263, 2020.
7. Lacerda, L. D.; Salomons, W. *Mercury from gold and silver mining: A chemical time bomb?* Springer Science & Business Media, 1998.
8. Lailson-Brito, J.; Dornelles, P. R.; Azevedo, A. F.; Malm, O. Mercury accumulation in marine organisms from Rio de Janeiro State, southeastern Brazil. *Química Nova*, v. 34, n. 3, p. 377-384, 2011.
9. Malm, O. Gold mining as a source of mercury exposure in the Brazilian Amazon. *Environmental Research*, v. 77, n. 2, p. 73-78, 1998.
10. New, M. B.; Valenti, W. C.; Tidwell, J. H.; D'abramo, L. R.; Kutty, M. N. *Freshwater prawns: Biology and farming*. John Wiley & Sons, 2010.
11. Nordberg, G. F.; Fowler, B. A.; Nordberg, M.; Friberg, L. *Handbook on the Toxicology of Metals*. 3. ed. Academic Press, 2007.
12. Passos, C. J. S.; Mergler, D. Human mercury exposure and adverse health effects in the Amazon: A review. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 24, supl. 4, p. s503-s520, 2008.
13. Ravichandran, M. Interactions between mercury and dissolved organic matter – a review. *Chemosphere*, v. 55, n. 3, p. 319-331, 2004.