

AValiação de Metais Pesados e da Atividade da Glutaciona Redutase (EC 1.8.1.7) em *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791)

Rafael Ribeiro Teixeira¹
Rafael da Conceição Simões²
Wilson Nascimento de Matos³
Vanice Maria Silva Fontes⁴
Luzimar Gonzaga Fernandez⁵

Resumo: *Ecosistemas costeiros vêm sofrendo grande impacto devido a atividades antropogênicas crescentes nas últimas décadas, como efluentes domésticos, industriais e escoamentos pluviais de pistas, mineração, construção de barragens e represas, entre outros. Todas estas alterações trazem conseqüências indesejadas ao ambiente e às comunidades do seu entorno. Entre estes poluentes, os metais pesados devem ser destacados, já que a sua concentração em excesso traz diversos problemas fisiológicos e desencadeiam processos oxidativos a nível celular, proporcionando a formação de espécies reativas de oxigênio. A regulação dos processos oxidativos celulares são mediados por compostos orgânicos com capacidades redutoras, dentre eles o peptídeo glutaciona, que serve como doador de prótons às enzimas antioxidantes, sendo oxidado e permanecendo desta forma até a ação da enzima glutaciona redutase, que reduz este substrato. Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade da enzima glutaciona redutase e a concentração dos metais pesados cobre (Cu), cádmio (Cd), ferro (Fe) e mangânes (Mn) em moluscos bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) provenientes de diferentes áreas de manguezal do Recôncavo Baiano. Foram coletados espécimes de *A. brasiliana* na Baía de Todos os Santos-Bahia, os quais foram analisados quanto à biometria, teor de proteínas, concentração dos metais e a atividade da enzima glutaciona redutase. Os resultados demonstram que a atividade da enzimática foi diretamente relacionada aos teores do metal Cu. Os espécimes analisados encontram-se com teores de Cd (duas estações) e de Cu (duas estações) acima dos valores considerados pela OMS (Brasil e Mercosul). *A. brasiliana* pode ser indicada como rica fonte de metais nutrientes como Fe e Mn, sendo recomendado seu consumo quando proveniente de áreas não contaminadas por metais traço.*

Palavras-chave: Metais pesados; Glutaciona redutase; Moluscos bivalves

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os ecossistemas aquáticos têm sido alterados de maneira significativa devido à ocorrência de múltiplos impactos ambientais advindos de atividades antrópicas, como mineração, construção de barragens e represas, retificação e desvio do curso natural de rios, lançamento de efluentes domésticos e industriais não tratados, desmatamento e

¹ Estudante do Curso de Ciências Biológicas e estagiário do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente – LEMA / Universidade Católica do Salvador – UCSal. rafaelteixeirabio@yahoo.com.br.

² Estudante do Curso de Ciências Biológicas e estagiário do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente – LEMA / Universidade Católica do Salvador – UCSal. rc.simoese@yahoo.com.br.

³ Técnico do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente – LEMA/UCSal. wilsonm@ucsal.br.

⁴ Técnica do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente – LEMA/UCSal. vsfontes@bol.com.br.

⁵ Professora do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Católica do Salvador – UCSal, Coordenadora do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente – LEMA/UCSal e Professora do Departamento de Biofunção do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia – ICS/UFBa. luzimar@ucsal.br. Orientadora.

uso inadequado do solo em regiões ripárias e planícies de inundação, superexploração de recursos pesqueiros, introdução de espécies exóticas, entre outros. Como consequência destas atividades, observa-se uma expressiva queda da qualidade da água e perda de biodiversidade aquática, em função da desestruturação do ambiente físico, químico e alteração da dinâmica natural das comunidades biológicas (GOULART, 2003).

Impacto ambiental pode ser definido como qualquer alteração das propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente resultante de atividades humanas, que direta ou indiretamente afetem a saúde, a segurança e o bem-estar da população, as atividades sociais e econômicas, a biota, as condições estéticas e sanitárias do meio ambiente e a qualidade dos recursos ambientais (Resolução CONAMA n.º01 de 23/01/86).

O uso de bioindicadores tem sido corrente na avaliação de impactos ambientais provocados pela má administração do ambiente, pois animais, plantas, microrganismos e suas complexas interações com o meio ambiente respondem de maneira diferenciada às modificações da paisagem, produzindo informações, que não só indicam a presença de poluentes, mas como estes interagem com a natureza, proporcionando uma melhor indicação de seus impactos na qualidade dos ecossistemas (SOUZA, 2001).

Os organismos aquáticos, principalmente invertebrados, são os que melhor respondem às mudanças das condições ambientais. Ambientes fortemente impactados mostram poucas espécies que, se estiverem bem adaptadas, podem exibir ótimo desenvolvimento e o monitoramento de estações a montante e a jusante da fonte poluidora, pode identificar as consequências ambientais para a qualidade de água e saúde do ecossistema aquático (MATSUMARA-TUNDISI, 1999).

Devido a essa capacidade de bioconcentrar metais traço e compostos orgânicos, certos organismos aquáticos vêm sendo utilizados nos últimos anos no monitoramento da poluição em ambientes costeiros. Concentrações de contaminantes em tecidos de moluscos depende certamente do nível de desenvolvimento do organismo, da salinidade e da temperatura do meio e do estágio de reprodução já alcançado. Constituem portanto bons indicadores de biodisponibilidade (DE GREGORI et Al, 1994; O'CONNOR, 1990).

Existem várias razões para utilização de moluscos como bioindicadores, como o fato desses macroinvertebrados bentônicos possuírem hábito sedentário, vivendo e se alimentando dentro, sobre, e próximo aos sedimentos, onde as toxinas tendem a se acumular, apresentarem ciclos de vida relativamente curtos refletindo portanto mais rapidamente as modificações do ambiente através de mudanças na estrutura das populações e comunidades. Por fim, as comunidades de macroinvertebrados bentônicos apresentam elevada diversidade biológica, o que significa uma maior variabilidade de respostas frente a diferentes tipos de impactos ambientais, sendo ainda que estes são importantes componentes dos ecossistemas aquáticos, formando um elo entre os produtores primários e servindo como alimento para muitos peixes, apresentando papel fundamental no processamento da matéria orgânica e ciclagem de nutrientes (ROSENBERG & RESH, 1993; WARD *ET AL.*, 1995; REECE & RICHARDSON, 1999; CALLISTO *ET AL.*, 2001).

Organismos aeróbios necessitam de mecanismos que auxiliem na prevenção de danos causados por espécies reativas de oxigênio (EROs). Para isso surgiram mecanismos de defesa independentes, presentes nas células, compostos por proteínas, enzimas antioxidantes, moléculas capazes de sequestrar íons de metais e enzimas responsáveis por reparar os danos causados por esses elementos (CAVALLETO *et al*, 2002).

A glutathione, um tripeptídeo existente nos organismos na forma reduzida (GSH) e na oxidada (GSSG) (ROVER-JÚNIOR *et al*, 2000), é encontrada nas mitocôndrias e no citosol (CAVALLETO *et al*, 2002) fundamental para a atividade de algumas enzimas antioxidantes. A glutathione está envolvida em diversas reações celulares, como biossíntese de macromoléculas,

proteção das células contra o efeito tóxico de uma variedade de componentes endógenos e exógenos, mecanismos enzimáticos, transporte (CANESI *et al*, 1996), incluindo espécies reativas de oxigênio e metais pesados (CANESI *et al*, 1998).

A GSH perfaz a maior parte dos grupos tiólicos livres da maioria das células vivas (COSTA, 2006), não agindo, diretamente, na remoção das espécies radicalares, todavia esta já é responsável pela regeneração da glutatona à sua forma reduzida na presença do NADPH + H⁺ (JÚNIOR *et al*, 2000). As evidências de que a GSH está envolvida na detoxificação de diferentes poluentes, incluindo os metais pesados, demonstram um mecanismo de defesa do organismo, prevenindo modificações nos transportes ativo e passivo ao nível das membranas celulares, o que resulta na conjugação deste biocomposto com os elementos tóxicos. Assim sendo, a alteração na atividade dessas enzimas e a presença de teores fisiológicos anormais de compostos como a glutatona (GSH) podem ser utilizados como indicadores correlacionados para situações de estresse oxidativo, como descrito por COSTA, 2006.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a concentração dos metais pesados Cu, Cd, Fe e Mn e a atividade da enzima glutatona redutase em moluscos bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* provenientes de diferentes áreas de manguezal da Baía de Todos os Santos - Recôncavo Baiano.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área em Estudo

O estudo foi desenvolvido utilizando espécimes de molusco de manguezais da região do Recôncavo Baiano, pois esta área vem nos últimos 50 anos sendo atingida por inúmeras atividades antropogênicas.

Foram selecionadas oito estações de amostragem como áreas consideradas impactadas diretamente por atividades antrópicas “tabela 01”. A estação Jeribatuba (E1) situa-se no Distrito de Jeribatuba – Ilha de Vera-Cruz, as estações Caípe (E3), Suape (E4) e Fábrica de Asfalto (E5) localizadas em Madre de Deus, as estações Ilha de Pati (E6), estação Ilha das Fontes (E7) e Ilha de Cajaíba (E8) pertencentes ao município de São Francisco do Conde, a estação Cabuçu (E9), pertencente ao distrito de Saúbara. Na escolha das estações levou-se em consideração a localização de áreas próximas a empresas petrolíferas, de refinamento e incineração de resíduos industriais e circulação de água, já que este último fator é de grande importância para a permanência de contaminantes no ambiente (FAGUNDES, 2005)

Tabela 1 – Nome das estações de coleta e suas coordenadas

Estações	Nome das Estações	Coordenada
E1	Jeribatuba	S 13°03'22'' W 38°47'48''
E3	Caípe	S 12°43'19'' W 38°34'40''
E4	Suape	S 12°44'02'' W 38°35'31''
E5	Fábrica de Asfalto	S 12°43'57'' W 38°37'21''
E6	Ilha do Pati	S 12°42'31'' W 38°37'20''
E7	Ilha das Fontes	S 12°40'16'' W 38°39'15''
E8	Ilha de Cajaíba	S 12°40'14'' W 38°41'04''
E9	Cabuçu	S 12°45'56'' W 38°45'10''

Coleta do material biológico

As amostras de *A. brasiliana* foram coletadas nos meses de agosto e setembro de 2004 em maré baixa e com auxílio de uma pá de plástico. Estas, depois de coletadas, foram lavadas com água corrente, embaladas, identificadas e mantidas no gelo, sendo em seguida encaminhadas ao LEMA – Laboratório de Estudos em Meio Ambiente da Universidade Católica do Salvador. No laboratório, as amostras tiveram sua biometria analisada, medindo sua concha a partir da base ao ápice. Em seguida as amostras foram armazenadas em freezer à -20°C até o momento das análises de metais ou foram retiradas da concha e preservadas em recipiente plástico a -85°C até o momento das análises moleculares.

Quantificação dos Metais

Os moluscos selecionados para análise de metais foram retirados da concha e sua parte mole posta para secar em estufa a 60°C até atingirem peso constante. Em seguida, foram macerados até obter a granulometria de 80 mesh e digeridos com ácido nítrico a 65%(HNO₃) em forno de microondas (Provecto Analítica DGT100 plus). As amostras digeridas foram avolumadas para 25 mL e analisadas por espectrometria de absorção atômica de chama.

Homogeneização dos tecidos

Os exemplares, depois de descongelados, foram macerados em cinco volumes de tampão Fosfato de Potássio 50mM pH 7,0 e EDTA 1mM. Este homogeneizado foi centrifugado a 4.000 rpm na temperatura de 4°C durante 30 minutos e do sobrenadante foram retiradas alíquotas que foram mantidas a -85°C até o momento das análises.

Determinação das proteínas totais

As proteínas totais foram quantificadas de acordo com metodologia descrita por Bradford (1976) modificada, usando o KIT da BioRad e como padrão a albumina bovina sérica.

Determinação da atividade da glutathiona redutase (GR)

A atividade da Glutathiona Redutase foi analisada de forma indireta a partir do consumo de NADPH + H⁺ em presença de glutathiona reduzida (GSSG) a 340nm por espectrofotometria fazendo uso do kit Glutathione Reductase Assay Kit produzido pela Calbiochem.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos dados biométricos dos 50 exemplares coletados (tabela 02) demonstra que a estação onde se encontram exemplares de maior tamanho e de maior tamanho médio foi a Ilha das Fontes - E7. A estação onde ocorreu a menor média de tamanho dos espécimes foi a E1. Ao avaliar a variação de tamanho, encontrou-se o maior coeficiente de variação nos exemplares da estação E5.

Tabela 2 – Dados biométricos de *A. brasiliiana*. Valores de média, máximo e mínimo estão descritos em centímetros e C/V (Coeficiente de Variação) em porcentagem.

	E1	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9
Media	2,07	2,25	2,23	2,17	2,44	2,52	2,41	2,47
Máximo	2,50	2,70	2,80	2,90	2,80	3,60	2,90	2,90
Mínimo	1,70	1,70	1,80	1,70	1,80	2,10	2,00	2,10
Desvio	0,20	0,20	0,24	0,52	0,21	0,26	0,16	0,22
C/V	9,51	9,04	10,72	23,81	8,60	10,51	6,82	8,79

Os resultados da análise dos metais estão descritos na tabela 3, com valores de média, mínimo, máximo e desvio padrão. Os teores mais elevados dos metais Cu e Mn foram encontrados nos espécimes coletados na estação E3 (59,143 e 39,392 $\mu\text{g.g}^{-1}$); já os maiores valores de Fe foram determinados em moluscos de E6 (578,067 $\mu\text{g.g}^{-1}$), enquanto que nas amostras de E1 obteve-se os maiores valores de Ni (4,997 $\mu\text{g.g}^{-1}$) e Cd nos exemplares da estação E8 (2,218 $\mu\text{g.g}^{-1}$).

Tabela 3 – Resultados da análise de metais pesados em tecido mole de *Anomalocardia brasiliiana*. Os valores estão expressos em $\mu\text{g.g}^{-1}$.

Estação	Metais Pesados ($\mu\text{g/g}$)			
	Cu	Mn	Fe	Cd
E1	22,821	24,273	361,240	0,497
E3	59,143	39,392	178,784	0,590
E4	13,899	28,902	172,652	0,819
E5	16,009	35,457	196,670	0,447
E6	38,594	28,840	578,067	0,744
E7	12,671	31,683	328,064	1,378
E8	21,768	33,112	359,396	2,218
E9	29,084	37,698	377,128	0,732
Máximo	59,143	39,392	578,067	2,218
Mínimo	12,671	24,273	172,652	0,447
Média	26,749	32,420	319,000	0,928
Desvio Padrão	15,648	5,047	136,296	0,595

Os resultados obtidos neste trabalho foram comparados com valores encontrados em moluscos bivalves da Baía de Suez –Egito (HAMED & EMARA, 2006), que sofre influência das atividades de refinarias de petróleo, indústria de fertilizantes, estação de energia; e moluscos bivalves encontrados no Mar Bohai - China (WAGN *et. al*, 2005), que é cercado por grandes cidades. Todos os valores mínimos dos metais determinados neste trabalho foram inferiores aos dos espécimes do Mar Bohai, já os valores máximos foram superiores aos encontrados neste trabalho para os metais Cd ($32,18 \mu\text{g.g}^{-1}$), Cu ($146,85 \mu\text{g.g}^{-1}$), Fe ($760,80 \mu\text{g.g}^{-1}$) e Mn ($58,51 \mu\text{g.g}^{-1}$), sendo os valores de Ni ($1,67 \mu\text{g.g}^{-1}$) superiores no presente estudo. Nos espécimes da Baía de Suez foram descritos valores máximos dos metais Cd ($0,69$ a $2,37 \mu\text{g.g}^{-1}$), Mn ($63,23$ a $110,33 \mu\text{g.g}^{-1}$) e Ni ($5,88$ a $14,57 \mu\text{g.g}^{-1}$) mais elevados que os determinados neste trabalho, sendo o valor máximo do metal Ni encontrado em espécimes da Baía de Todos os Santos inferior ao mínimo determinado nos da Baía de Suez. Os valores encontrados para os metais Fe ($0,88$ a $2,74 \mu\text{g.g}^{-1}$), e Cu ($3,69$ a $10,07 \mu\text{g.g}^{-1}$) foram inferiores aos determinados neste trabalho. Segundo CANESI (1999) estes resultados podem ser interpretados em relação às diferentes rotas de acumulação de metal, especiação com o ambiente celular e seqüestro em compartimentos subcelulares, resultando em um padrão diferente de interações de cátions de metais com compostos intracelulares.

As concentrações dos metais pesados determinados nos espécimes de *A. brasiliiana*, representadas na tabela 3, indicam diferenças de absorção e acúmulo entre as amostras das estações em estudo. De acordo com a legislação brasileira e o MERCOSUL, níveis de Cd (Figura 1) superiores a $1,0 \mu\text{g.g}^{-1}$ podem indicar contaminação local, pois os espécimes coletados em E7 e E8 apresentavam valores superiores ao máximo permitido pela legislação ($1,378 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $2,218 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente).

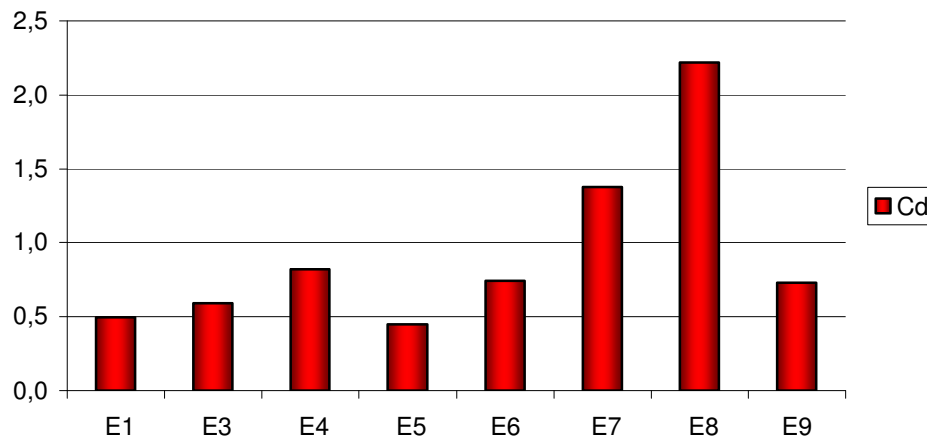


Figura 1 – Resultados da análise do metal pesado Cd em tecido mole de *Anomalocardia brasiliana* da Baía de Todos os Santos – Recôncavo Baiano, 2007.

Para o metal Cu (Figura 2), a legislação recomenda que os valores em alimentos provenientes do mar não excedam a $30\mu\text{g.g}^{-1}$. Baseando-se nesses valores pode-se indicar que as amostras provenientes das estações E3 e E6 apresentaram valores superiores ao máximo permitido ($59,143\mu\text{g.g}^{-1}$ e $38,594\mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente).

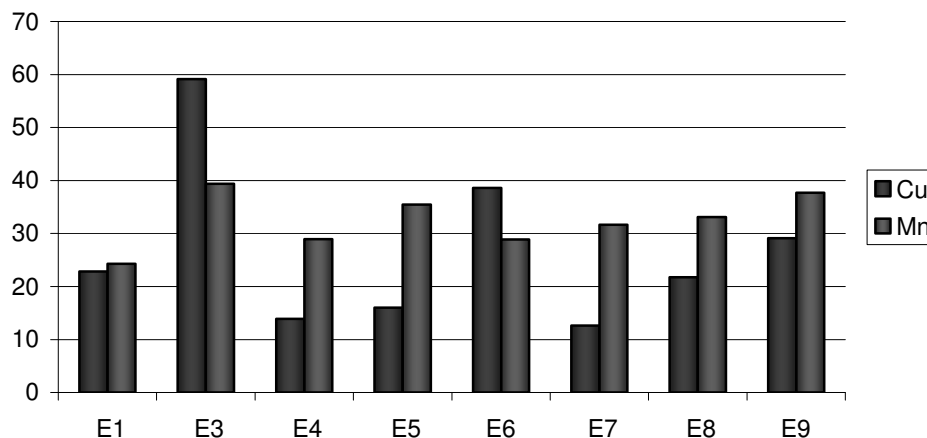


Figura 2 – Análise comparativa dos metais Cu e Mn em *Anomalocardia brasiliana* da Baía de Todos os Santos – Recôncavo Baiano, 2007.

Os metais Manganês (Figura 2) e Ferro (Figura 3) são importantes nutrientes e estão envolvidos em diversos processos fisiológicos humanos, sendo o ferro importante na formação da hemoglobina e nas trocas gasosas, além de, junto com o manganês, ser importante co-fator de diversas enzimas. Os resultados encontrados demonstram que este organismo é uma rica fonte nutricional dos metais Fe e Mn.

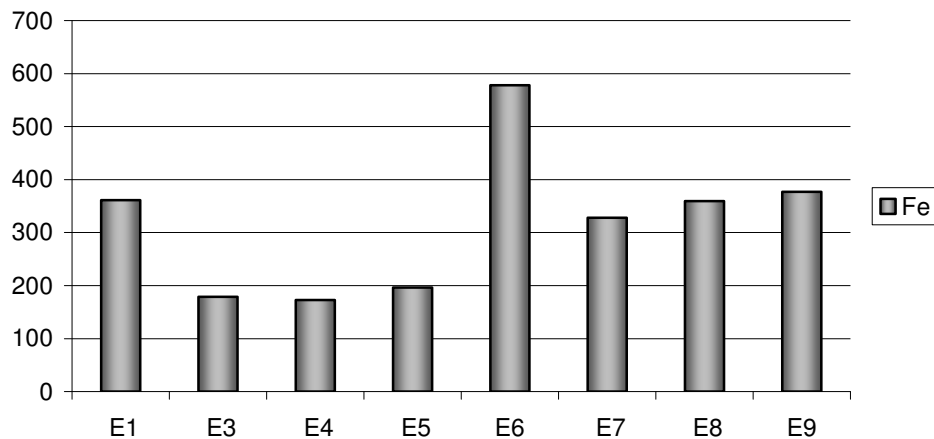


Figura 3 - Resultados da análise do metal pesado Fe em tecido mole de *Anomalocardia brasiliana* da Baía de Todos os Santos – Recôncavo Baiano, 2007.

A concentração de proteínas totais extraídas dos tecidos moles de *A. brasiliana* e a atividade da enzima glutatona redutase estão descritas na tabela 4. Nos espécimes da estação E1 foi determinada a maior concentração média de proteína (36,75 mg.g⁻¹), já a menor concentração média foi determinada nos exemplares da estação E5 (18,50 mg.g⁻¹).

Tabela 4 – Concentração de proteínas totais e atividade da enzima glutatona redutase em tecidos de *A. brasiliana*. Os resultados estão expressos em mg.g⁻¹ e mU/g de tecido úmido respectivamente.

Estação	Proteína	Enzima
E1	36,75	84,63
E3	24,50	101,63
E4	29,00	84,63
E5	18,50	78,25
E6	33,25	79,63
E7	20,75	49,88
E8	19,50	60,00
E9	25,50	98,75
Máximo	36,75	101,63
Mínimo	18,50	49,88
Média	25,97	79,67
Desvio	6,61	17,61

A maior atividade da glutatona redutase foi determinada em amostras da estação E3 (101,63 mU.g⁻¹) e a menor foi em amostras da estação E7 (49,88 mU.g⁻¹). Como pode ser verificado na figura 4, os dados deste trabalho corroboram com CANESI (1999), que descreveu que o aumento do acúmulo de Cu no molusco bivalve *Mytilus galloprovincialis* influenciou diretamente no aumento da oxidação da glutatona e na atividade da enzima glutatona redutase e da glutatona peroxidase.

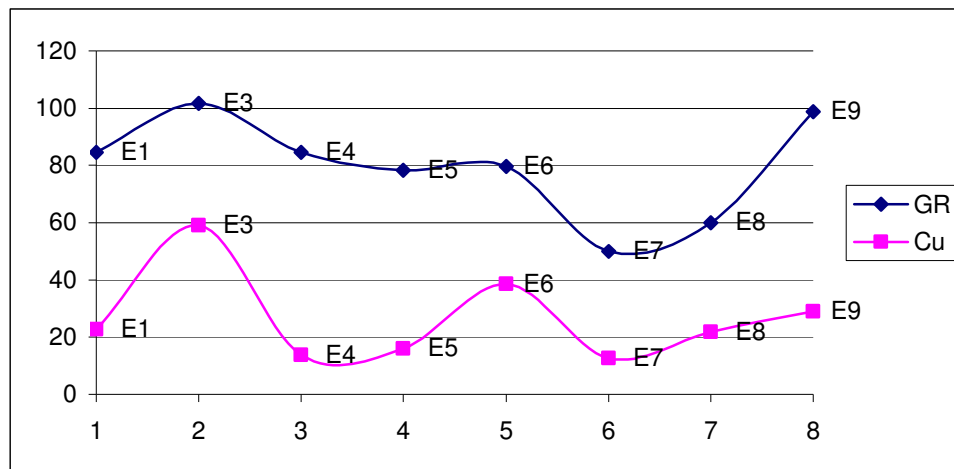


Figura 4 – Concentração do metal Cu e atividade da enzima glutatona redutase nos espécimes de *A. brasiliana* da Baía de Todos Santos – Recôncavo Baiano.

CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a atividade da enzima glutatona redutase está diretamente relacionada à concentração do metal cobre em *A. brasiliana* e pode ser usada como mais uma ferramenta para avaliação do nível de contaminação deste metal. Estudos utilizando outras enzimas antioxidantes são necessários para avaliar a influência dos metais na formação de espécies reativas de oxigênio e a resposta deste organismo a este estresse oxidativo, tornando possível a avaliação de impactos ambientais a partir dessas.

Quanto à avaliação dos resultados referentes à análise dos metais pesados, verificou-se que dentre as estações estudadas ocorreu uma variação na concentração dos metais em estudo, variando assim o nível de contaminação de cada região. Assim sendo, pode-se indicar que as estações E7 e E8 apresentam-se contaminadas pelo metal Cd, enquanto que as estações E3 e E6 encontram-se contaminadas pelo metal Cu, não sendo recomendado o consumo desta espécie de molusco oriundo desta região. Excetuando estas estações, que demonstram excessos de metais tóxicos, é recomendada a ingestão de *A. brasiliana* proveniente dos pontos de coleta que não apresentaram valores acima dos recomendados, porém faz-se necessária a avaliação de outros metais traços como chumbo, para avaliar a contaminação destes ambientes e o risco de consumo deste molusco.

REFERÊNCIAS

- BRASIL, Leis, Decretos, etc. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos – DINAL – Portaria no 685 de 27 de agosto de 1998 fixa limites máximos de tolerância de contaminantes químicos em alimentos. Diário Oficial de 24/09/98.
- CALLISTO, M.; MORETTI, M. & GOULART, M.. Macroinvertebrados bentônicos como ferramenta para avaliar a saúde de riachos. Revta. Bras. Rec. Hid. 6 (1): 71-82. 2001
- CANESI, L.; VIARENGO, A.. Age-related Differences in Glutathione Metabolism in Mussel Tissues (*Mytilus edulis* L.). Comp. Biochem. Physiol. Vol. 116B, No. 2, pp. 217–221, 1997

- CANESI, L.; VIARENGO, A.; LEONZIO, C.; FILIPPELLI, M.; GALLO, G. Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues. *Aquatic Toxicology* .46 67–76, (1999)
- CAVALETTO, M; GHEZZI, A.; BURLANDO, B.; EVANGELISTI, V.; CERATTO, N.; VIARENGO, A.. Effect of hydrogen peroxide on antioxidant enzymes and metallothionein level in the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 131 447–455. 2002.
- COSTA, J. R. M. A.. Padronização De Metodologias Para O Uso De Biomarcadores De Contaminação Ambiental Em Traíra (*Hoplias malabaricus*, ERYTHRINIDAE): CURITIBA 2006.
- DE GREGORI, I.; DELGADO, D.; PINOCHET, H.; *Sci. Total Environ.* 1994, 148, 1.
- FAGUNDES, A. L., Estudo da *Laguncularia Racemosa* L. Gaertn F. quanto à capacidade de bioacumulação de metais pesados e potencial uso em processos de fitorremediação em áreas de manguezal. Salvador, 2005. 35p. Monografia – Universidade Católica do Salvador.
- GOULART, M. & CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Revista da FAPAM*, ano 2, no 1. 2003.
- HAMED, MOHAMED, A.; EMARA, AHMED, M. Marine molluscs as biomonitors for heavy metal levels in the Gulf of Suez, Red Sea. *Journal of Marine Systems*, 60, 220-234, 2006.
- JÚNIOR, L. R.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T.. Sistema Antioxidante Envolvendo O Ciclo Metabólico Da Glutathione Associado A Métodos Eletroanalíticos Na Avaliação Do Estresse Oxidativo *Divulgação Quim. Nova*, Vol. 24, No. 1, 112-119, 2001.
- ATSUMURA-TUNDISI, T. Diversidade de zooplâncton em represas do Brasil. In: HENRY, R. *Ecologia de reservatórios*. São Paulo: FAPESP/FUNDIBIO, 1999. p.41-54.
- O' CONNOR, T. P.. Recent Trends in Coastal Environmental Quality: Results from the First Five Years of the NOAA Mussel Watch Project. *Oastal Monitoring Branch Coast Monitoring and Bioeffects Assessment Division*, 1 – 46, 1990.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS), 2006, Evaluation of certain food contaminants. WHO Technical Report Series Geneva 2006, No. 930, Genebra.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS), 2002. Air Quality Guidelines - Second Edition (Chapter 6.3 Cadmium). WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark,
- REECE, P.F. & RICHARDSON, J.S. Biomonitoring with the reference condition approach for the detection of aquatic ecosystems at risk. In: L. M. Darling (ed.) *Proc. Biology and Management of Species and Habitats at Risk*. vol. 2. pp. 15-19. 1999.
- ROSENBERG, D. M. & RESH, V.H. Introduction to freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. In: *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. (eds.) ROSENBERG, D.M. AND RESH, V.H. Chapman and Hall, New York, pp. 1-9. 1993.
- SOUZA, P.A.P. Importância do uso de bioindicadores de qualidade: o caso específico das águas. In: FELICIDADE, N. et al. *Uso e gestão dos recursos hídricos no Brasil*. São Carlos: Rima, 2001. p.55-66.
- WARD, D.; HOLMES, N. & JOSÉ, P. *The New Rivers & Wildlife Handbook*. RSPB, NRA e The Wildlife Trusts, Bedfordshire. 426p. . 1995.
- WANG, YAWEI; LIANG, LINA; SHI, JIANBO; JIANG, GUIBIN. Study on the contamination of heavy metals and their correlatios in mollusks collected from coastal sites along the Chinese Bohai Sea. *Environment International* 31, 1103-1113, 2005.