

MERCÚRIO EM SISTEMAS AQUÁTICOS: FATORES AMBIENTAIS QUE AFETAM A METILAÇÃO

Marcio Rodrigues Miranda*, Sergio Augusto Coelho-Souza, Jean Remy Daveé Guimarães, Raquel R.S. Correia & Diana Oliveira

Laboratório de Traçadores Wolfgang Christian Pfeiffer, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho - Bloco G, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Ilha do Fundão, CEP 21941-902, Rio de Janeiro - Brasil

*E-mail: topo@biof.ufrj.br

RESUMO

O metilmercúrio é um poluente altamente neurotóxico que se acumula nos organismos e biomagnifica ao longo da cadeia trófica. O metilmercúrio é formado através de uma reação de transferência de um grupamento metil para o mercúrio inorgânico. Essa transformação, denominada metilação, é mediada principalmente por microrganismos que habitam ambientes anóxicos. A metilação pode ser abiótica como resultado de uma reação não-enzimática na transferência do grupamento metil por via fotoquímica ou interação com substâncias húmicas presentes nos corpos d'água, porém com uma taxa de metilação menor do que pela mediada por microrganismos. As taxas de metilação de mercúrio em sistemas aquáticos são influenciadas tanto pela especiação do mercúrio quanto por sua biodisponibilidade. Diversas variáveis ambientais, que se interrelacionam, tais como a atividade biológica dos microrganismos metiladores, disponibilidade de nutrientes, pH, temperatura, potencial redox, e a presença de complexos orgânicos e inorgânicos podem afetar as taxas de metilação. A importância de cada um desses fatores na produção de metilmercúrio pode variar em diferentes ecossistemas.

Palavras-chave: metilmercúrio, microrganismos, ciclo global, metilcobalamina, mercúrio inorgânico, especiação.

ABSTRACT

MERCURY IN AQUATIC SYSTEMS: ENVIRONMENTAL FACTORS AFFECTING MERCURY METHYLATION. Methylmercury is a highly neurotoxic contaminant that accumulates in organisms and biomagnifies along the food chain. Methylmercury is formed through the transfer of a methyl group to the inorganic mercury (Hg^{2+}). This reaction is mainly mediated by microorganisms living in anoxic environments like bottom sediments and macrophytes rhizosphere. Abiotic methylation can also occur, however in most cases with lower rates than biological methylation. Mercury methylation rates in aquatic systems are influenced by both the speciation and bioavailability of mercury. Many interrelated environmental variables such as biological activity, nutrient availability, pH, temperature, redox potential, and the presence of inorganic and organic complexing agents can also affect the net rate of methylmercury production. Which factors dominate methylmercury production is likely to differ from one ecosystem to other.

Key-words: methylmercury, microorganisms, global cycle, methylcobalamin, inorganic mercury, speciation.

BREVE HISTÓRICO DO MERCÚRIO

O mercúrio é conhecido e utilizado pelo homem por mais de 3.500 anos. Provavelmente a aplicação mais antiga seja como pigmento vermelho em pinturas rupestres na forma de sulfeto de mercúrio (HgS). Pouco se sabe sobre quando o mercúrio foi isolado pela primeira vez ou a tecnologia utilizada neste processo na antiguidade. A primeira referência escrita deste metal foi feita por Aristóteles no quarto século

AC que o chamou de prata líquida (*hydrargyrum*) dando origem ao símbolo Hg. Aristóteles e outros autores gregos como Plínio e Dioscorides descreveram aplicações medicinais como o tratamento de doenças de pele e fizeram também referências ao uso de mercúrio na recuperação de metais nobres por meio de amálgamas.

Descrições históricas do uso de mercúrio por civilizações orientais são escassas, porém sabe-se que o mercúrio era usado como medicamento e

afrodisíaco na China e Índia antes dos tempos de Buda por volta de 500 AC.

Os romanos herdaram grande parte do conhecimento grego sobre o mercúrio e expandiram significativamente as aplicações comerciais deste metal. A extração de ouro por amalgamação já era prática comum e a maior parte do mercúrio consumido pelos romanos destinava-se à produção do pigmento *vermilion* altamente valorizado. As aplicações medicinais incluíam drogas mercuriais para o tratamento de doenças de pele, dos olhos, sífilis e cura de queimaduras. Com a queda do Império Romano, o consumo de mercúrio declinou drasticamente e tornou-se basicamente restrito ao uso medicinal e farmacêutico.

A invenção do barômetro em 1643 por Torricelli e do termômetro de mercúrio em 1720 por Fahrenheit anunciaram a introdução do elemento na pesquisa científica. Outras descobertas importantes que levaram à crescente demanda por mercúrio incluem a introdução de células eletrolíticas à base de mercúrio na indústria de cloro-soda em 1894 por H.Y. Castner e o desenvolvimento de baterias de mercúrio durante a Segunda Guerra Mundial. O uso de fulminato de mercúrio como detonador de explosivos significa que o mercúrio (como o deus de quem seu nome é derivado) teve uma participação importante tanto em tempos de guerra como de paz na história das nações (Nriagu 1979).

A exposição aguda ao mercúrio inorgânico pode levar a danos nos pulmões. O envenenamento crônico é caracterizado por sintomas neurológicos e fisiológicos como tremor, alterações na personalidade, inquietação, ansiedade, distúrbios de sono e depressão. Os sintomas são reversíveis depois de terminada a exposição. Já o mercúrio metálico pode causar danos reversíveis aos rins caso a exposição seja interrompida (Järup 2003).

O metilmercúrio é a forma mais tóxica, pois sua alta estabilidade combinada a sua lipossolubilidade e propriedades iônicas levam a uma alta penetração de membranas de organismos vivos sendo inclusive capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e a placenta (Andren & Nriagu 1979, Zahir *et al.* 2005).

A ação do metilmercúrio em adultos é caracterizada por um período de latência entre a exposição e o aparecimento dos sintomas. Este período pode ser de

várias semanas ou até meses dependendo da dose e do período de exposição (Clarkson 2002).

Ao contrário das formas inorgânicas, a orgânica causa efeitos irreversíveis. Os sintomas decorrentes da exposição ao metilmercúrio são de origem neurológica e consistem em distúrbios como escotomas (visão turva), redução do campo visual, ataxia (baixa coordenação para andar), parestesia (insensibilidade na pele), neurestenia (dor nos nervos), perda de audição, disartria (dificuldade na articulação de palavras), deterioração mental, tremor muscular, distúrbio da motilidade e, nos casos de exposição grave, paralisia e morte (Bisinoti & Jardim 2004). Exames neuropatológicos revelam uma destruição regional de neurônios no córtex visual e na camada granulosa do cerebelo gerando os sintomas relatados anteriormente. O metilmercúrio é particularmente prejudicial ao desenvolvimento de embriões inibindo a divisão e migração de células neuronais além de romper a citoarquitetura do cérebro em desenvolvimento (Clarkson *et al.* 2003).

Um dos casos mais famosos de contaminação por metilmercúrio ocorreu na Baía de Minamata, Japão, na década de 50. A companhia Chisso Fertilizer descartava metilmercúrio, um subproduto do processo de produção de acetaldeído, nas águas da baía levando à contaminação de peixes posteriormente pescados e consumidos pela população local. As concentrações de metilmercúrio no pescado eram elevadas o suficiente para causar envenenamento pelo mesmo (Watanabe & Satoh 1996).

Na década de 70, no Iraque, Paquistão, Gana e Guatemala ocorreram vários casos de contaminação de agricultores e familiares que utilizavam grãos tratados com fungicidas à base de metil e etilmercúrio na confecção de pão caseiro. Particularmente no Iraque, 6.530 pessoas foram hospitalizadas e 459 mortes foram registradas nos hospitais do país (Watanabe & Satoh 1996).

INTRODUÇÃO

Assubstâncias tóxicas presentes no ambiente podem ser classificadas como (i) provenientes de elementos e compostos naturais e (ii) compostos tóxicos que são sintetizados pela indústria (Wood 1974). Os elementos tóxicos deslocam-se no ambiente sob condições naturais através dos ciclos biogeoquímicos, nos quais

estes elementos tornam-se disponíveis para a biota. As atividades humanas providenciam novas fontes de elementos que influenciam os ciclos biogeoquímicos e consequentemente a disponibilidade desses elementos para a biota (Wood 1974).

O mercúrio é um metal traço e apresenta-se sob diversas formas químicas e físicas nos ambientes aquáticos naturais. O ciclo biogeoquímico do mercúrio (Figura 1) é muito complexo e envolve a inter-relação entre os sistemas atmosféricos, aquáticos e terrestres (Morel *et al.* 1998). Existem dois ciclos que afetam o transporte e a distribuição do mercúrio: (i) global, que envolve a circulação atmosférica do mercúrio elementar (Hg^0) provenientes de fontes na crosta terrestre para os oceanos e (ii) local, que depende da metilação do mercúrio inorgânico (Hg^{2+}) proveniente principalmente de fontes antrópicas.

Dentre as diversas espécies químicas existentes do mercúrio, podemos destacar como as mais importantes: o mercúrio elementar, também denominado mercúrio metálico (Hg^0); o mercúrio iônico em suas duas formas oxidadas: íon mercurioso (Hg_2^{2+}) e íon mercúrico (Hg^{2+}); e as espécies metiladas; o metilmercúrio (CH_3Hg^+) e o dimetilmercúrio [$(CH_3)_2Hg$]. A especiação do mercúrio em ambientes aquáticos é influenciada pela interação com a biota e complexos orgânicos e inorgânicos presentes na coluna d'água e sedimentos.

A matéria orgânica interage com o mercúrio de diversas formas, afetando o transporte, especiação e biodisponibilidade do mercúrio nos ambientes aquáticos. Uma das reações mais importantes é a formação de ligações iônicas extremamente fortes entre o mercúrio e os grupos funcionais que contêm enxofre reduzido presentes no solo e na matéria orgânica (Ravichandran 2004).

Dentre as espécies citadas, o metilmercúrio desperta maior interesse do ponto de vista ecotoxicológico, uma vez que é uma neurotoxina e tem a tendência de bioacumular e biomagnificar, tornando-o um risco à saúde humana. Essa tendência é devido à sua maior lipossolubilidade quando comparada às outras espécies químicas de mercúrio. Além disso, o metilmercúrio possui uma alta afinidade com os grupamentos sulfidrila das proteínas.

A principal via de contaminação por metilmercúrio nos seres humanos é através da ingestão de alimentos, principalmente peixe. Nos peixes adultos entre 90 - 100% do mercúrio está presente na forma de metilmercúrio (EPA 2001).

TRANSFORMAÇÕES DO MERCÚRIO EM AMBIENTES AQUÁTICOS

Os compostos mercuriais podem ser divididos em: (a) voláteis, Hg^0 e $(CH_3)_2Hg$; (b) espécies

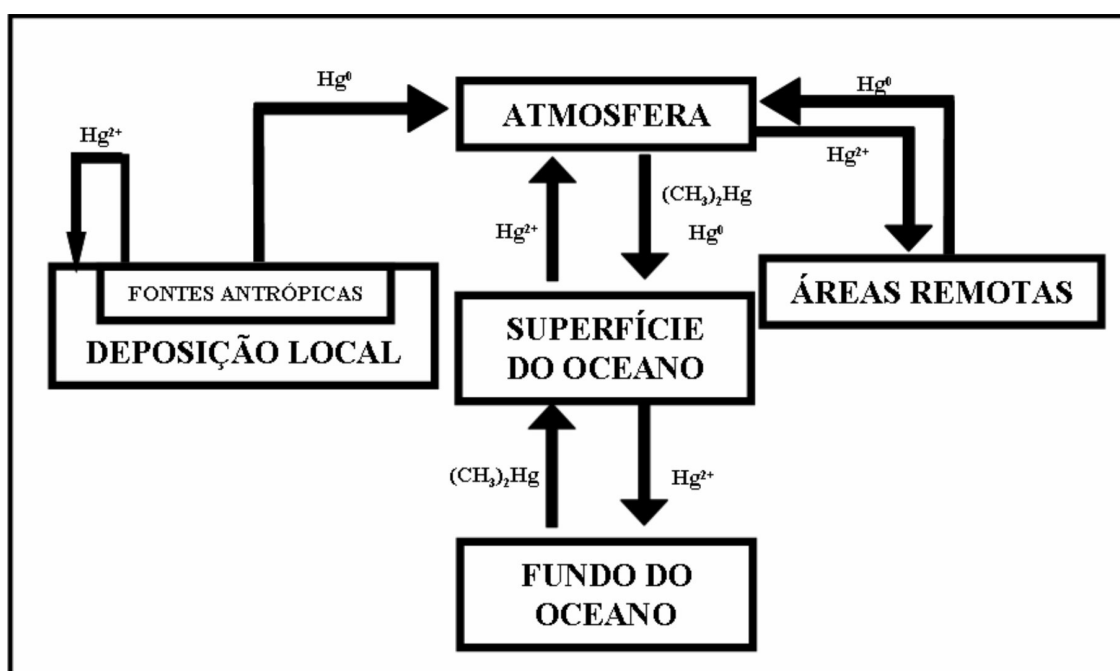


Figura 1. Ciclo biogeoquímico do mercúrio (adaptado de Morel *et al.* 1998).

reativas solúveis em água, Hg^{2+} , HgX_2 , HgX_3^- , HgX_4^{2-} ($X = \text{OH}^-$, Cl^- ou Br^-), HgO em aerossóis e complexos de Hg^{2+} com ácidos orgânicos; (c) espécies não reativas, CH_3Hg^+ , CH_3HgCl , CH_3HgOH e outros compostos organomercuriais, $\text{Hg}(\text{CN})_2$, HgS e Hg^{2+} ligado ao enxofre em fragmentos de matéria húmica (Azevedo 2003). A Figura 2 apresenta a distribuição das diferentes espécies de mercúrio no ambiente aquático com ênfase no seu processo de biomagnificação. A natureza e as reações dessas espécies determinam a solubilidade, mobilidade e toxicidade do Hg nos sistemas aquáticos, assim como o potencial de metilação (Ulrich *et al.* 2001).

Dentre as espécies de compostos mercuriais, as que possuem maior importância do ponto de vista ecotoxicológico devido às transformações que sofrem são: (a) as espécies de mercúrio inorgânico Hg^0 , Hg^{2+} e Hg_2^{2+} ; (b) as espécies de mercúrio orgânico metilmercúrio e dimetilmercúrio.

FORMAÇÃO DO MERCÚRIO ELEMENTAR

A redução do Hg^{2+} para Hg^0 pode ocorrer como resultado de um processo físico-químico quando o potencial redox for favorável para essa

transformação. Essa redução do Hg^{2+} também pode ocorrer por via biótica através da ação de microrganismos. Tem sido demonstrado que os compostos organomercuriais podem ser convertidos em Hg^0 por processos físico-químicos ou biológicos. Por exemplo, o dimetilmercúrio pode ser convertido a Hg^0 quando em contato com luz UV ou em um meio com pH ácido. O Hg^0 formado pode se acumular no sedimento, permanecendo inerte, ou se difundir para a atmosfera.

FORMAÇÃO DE METILMERCÚRIO - CH_3Hg^+

A metilação do mercúrio tem recebido atenção desde a descoberta de que o metilmercúrio presente em altos níveis em organismos aquáticos não provinha de nenhuma entrada de compostos organomercuriais nos ecossistemas aquáticos (Robinson & Tuovinen 1984). Jensen & Jernelov (1969) e Wood (1974) concluíram que a presença de metilmercúrio nos peixes era devido à metilação biótica do mercúrio inorgânico. A metilação do mercúrio ocorre pela transferência de um ou dois metilcarbânions (CH_3^-) ao mercúrio inorgânico. Três coenzimas eram reconhecidas como possíveis doadoras do grupamento metil: (i) *S*-adenosilmetionina,

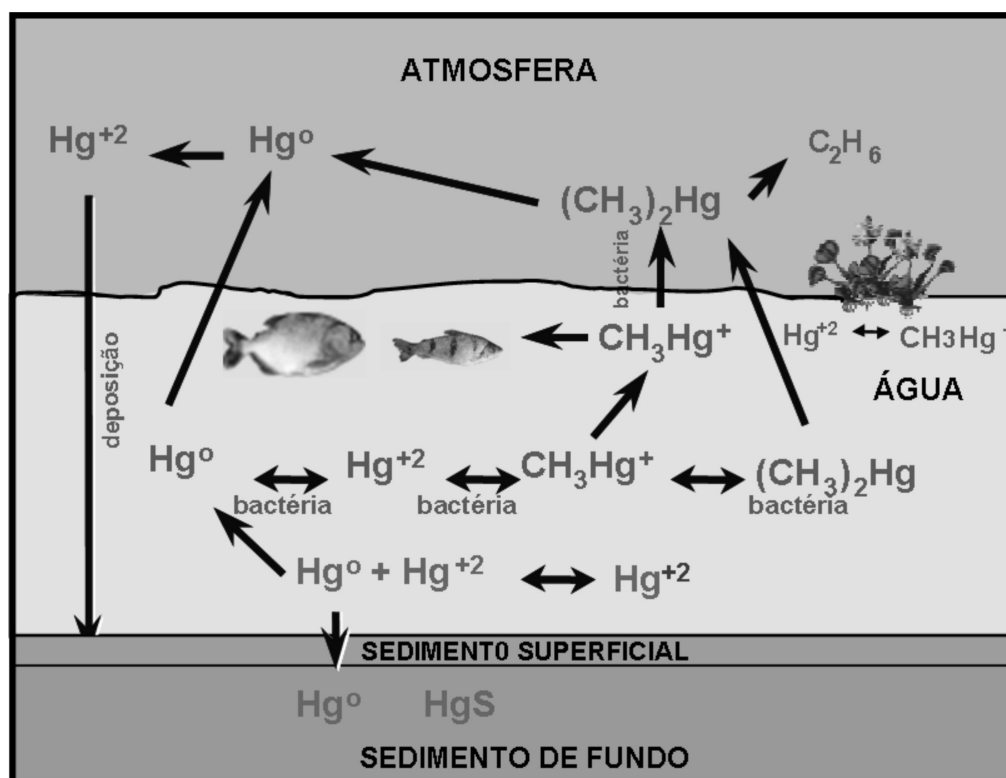


Figura 2. Especiação do mercúrio em ambientes aquáticos.

(ii) derivados do N^5 -metiltetrahidrofolato, e (iii) derivados do metilcorrinóide (Wood 1974). Entretanto, a S-adenosilmetionina e os derivados do N^5 -metiltetrahidrofolato doam o seu grupamento metil sob a forma de carbocátion (CH_3^+), sendo a vitamina B_{12} (metilcobalamina), um derivado do metilcorrinóide, a única coenzima capaz de transferir o grupamento metil sob a forma de carbânion (CH_3^-) para o Hg^{2+} (Wood 1974). Acreditava-se que esse processo era mediado pelas bactérias metanogênicas (Wood *et al.* 1968), uma vez que esses microrganismos eram capazes de produzir metilcobalamina (Blaylock & Stadtman 1964). Posteriormente foi visto que outros microrganismos eram capazes de metilar o mercúrio em laboratório (Furutani & Rudd 1980, Rudd *et al.* 1980, Robinson & Tuovinen 1984), inclusive microrganismos eucariotos como o fungo *Neurospora crassa* (Landner 1971).

Compeau & Bartha (1985), utilizando-se de um experimento com amostras ambientais e inibidores específicos do metabolismo das bactérias, notaram que ao se inibir a sulfato redução, as taxas de metilação de mercúrio baixavam drasticamente. Ao inibir a metanogênese, não havia alteração nas taxas de metilação no sedimento. Desde então, muitos estudos foram realizados enfocando as bactérias sulfato redutoras como os principais agentes metiladores no ambiente (e.g., Berman *et al.* 1990, Gilmour *et al.* 1992, Choi & Bartha 1993, King *et al.* 2001).

A eficiência da metilação biótica do mercúrio depende da atividade microbiana e da concentração de mercúrio biodisponível, mais do que a quantidade total de mercúrio existente no ambiente. Diversos fatores ambientais influenciam a forma e a disponibilidade do mercúrio para os microrganismos tais como a interação química com complexos orgânicos e inorgânicos, pH, potencial redox e temperatura (Compeau & Bartha 1984).

A via biológica para a metilação do mercúrio necessita de uma quantidade significativa de mercúrio dentro da célula que não esteja complexado (Choi *et al.* 1994a). Desse modo a metilcobalamina intracelular pode catalisar a transferência do grupamento metil ao mercúrio “livre” (Choi & Bartha 1993, Choi *et al.* 1994a). Apesar de a metilcobalamina ser vista como a única

possível doadora do grupamento metil (Wood 1974), acredita-se que o grupamento metil transferido pode ser proveniente de outros compostos químicos como o aminoácido serina (Berman *et al.* 1990), o metiltetrahidrofolato, através da via da acetilcoenzima A (Choi *et al.* 1994a, b) ou através da via metiltransferase, uma via similar a de síntese da metionina pela homocisteína (Siciliano & Lean 2002). Devido à grande distribuição e diversidade de microrganismos envolvidos na transformação das diversas formas de mercúrio, é evidente que eles exercem um papel importante no ciclo do mercúrio no ambiente (Robinson & Tuovinen 1984).

A metilação abiótica do mercúrio pode ser química ou fotoquímica. A metilação química pode ocorrer através de via não-enzimática ao reagir com a metilcobalamina excretada pelas bactérias cultivadas em laboratório (Wood *et al.* 1968) ou adicionada *in vitro* (Bertilsson & Neujahr 1971; Nobumasa *et al.* 1971; DeSimone *et al.* 1973). Essa reação ocorre numa velocidade muito inferior que pela via enzimática. Uma outra maneira de ocorrer a metilação abiótica é através da doação de grupos metil provenientes de material húmico (ácidos fúlvico e húmico) ao Hg^{2+} (Nagase *et al.* 1982).

A metilação fotoquímica ocorre quando o metilmercúrio é formado quimicamente através da reação de transalquilação (transferência de um grupamento metil) quando na presença de radiação ultravioleta (Siciliano *et al.* 2005). A concentração de metilmercúrio presente num ambiente é regulada pelo balanço entre os processos de metilação e demetilação do mercúrio.

FORMAÇÃO DO DIMETILMERCÚRIO – $(CH_3)_2Hg$

O dimetilmercúrio pode ser formado a partir do mercúrio inorgânico ou metilmercúrio como resultado da atividade microbiológica (Wood *et al.* 1968). Entretanto, nem sempre e necessário a ação de microrganismos para que o segundo grupamento metil seja transferido ao metilmercúrio de modo a formar o dimetilmercúrio. Esse pode ser formado através da disproporção do metilmercúrio onde os microrganismos afetam o processo ao formar ligantes para o Hg^{2+} disponível (Fagerstrom & Jernelov 1972).

FATORES AMBIENTAIS QUE INFLUENCIAM A METILAÇÃO DO MERCÚRIO

O ciclo biogeoquímico dos metais nos ambientes aquáticos envolve uma complexa relação entre os processos biológicos, principalmente os mediados por microrganismos, e os processos geoquímicos, que ocorrem em ambas as escalas microscópicas e macroscópicas (Warren & Haack 2001).

A metilação do mercúrio em sistemas aquáticos é influenciada por diversos fatores ambientais que formam um complexo sistema com efeitos sinérgicos e antagonísticos (Figura 3). Alguns dos fatores mais estudados são a composição e a atividade dos microrganismos metiladores, concentração de Hg biodisponível, pH, temperatura, potencial redox e a presença de agentes complexantes orgânicos e inorgânicos presentes nos sistemas aquáticos. Aparentemente, as maiores taxas de metilação de mercúrio estão relacionadas com pH ácido, baixa salinidade e a presença de matéria orgânica em decomposição em condições redutoras (Ulrich *et al.* 2001).

Os microrganismos possuem um importante papel na ciclagem aquática do Hg e podem catalisar

muitas das transformações entre as diferentes formas do Hg. Algumas das principais transformações são as conversões do Hg^{2+} para CH_3Hg^+ e $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ e a redução do Hg^{2+} para Hg^0 (Summers & Silver 1978, Robinson & Tuovinen 1984). Apesar da alta toxicidade do Hg, muitos microrganismos desenvolveram mecanismos de resistência a esse metal (Robinson & Tuovinen 1984, Barkay 1987, Bogdanova *et al.* 1988). Foram encontradas correlações positivas entre a concentração de Hg e a presença de microrganismos resistentes ao Hg (Osborn *et al.* 1997, Muller *et al.* 2001).

Uma grande variedade de microrganismos é capaz de metilar o mercúrio *in vitro* (Landner 1971, Furutani & Rudd 1980, Rudd *et al.* 1980, Robinson & Tuovinen 1984). Entretanto, as bactérias sulfato redutoras se mostraram os principais agentes metiladores em amostras de sedimento anóxico (Compeau & Bartha 1985). Geralmente, a eficiência da produção de metilmercúrio pelas bactérias está relacionada com a disponibilidade de mercúrio e nutrientes, abundância de aceptores de elétrons, taxas de sulfato redução (King *et al.* 2000, 2001), composição da comunidade microbiana (Macalady *et al.* 2000, King *et al.* 2001, Acha *et al.* 2005, Desrosiers *et al.* 2006, Guimarães *et*

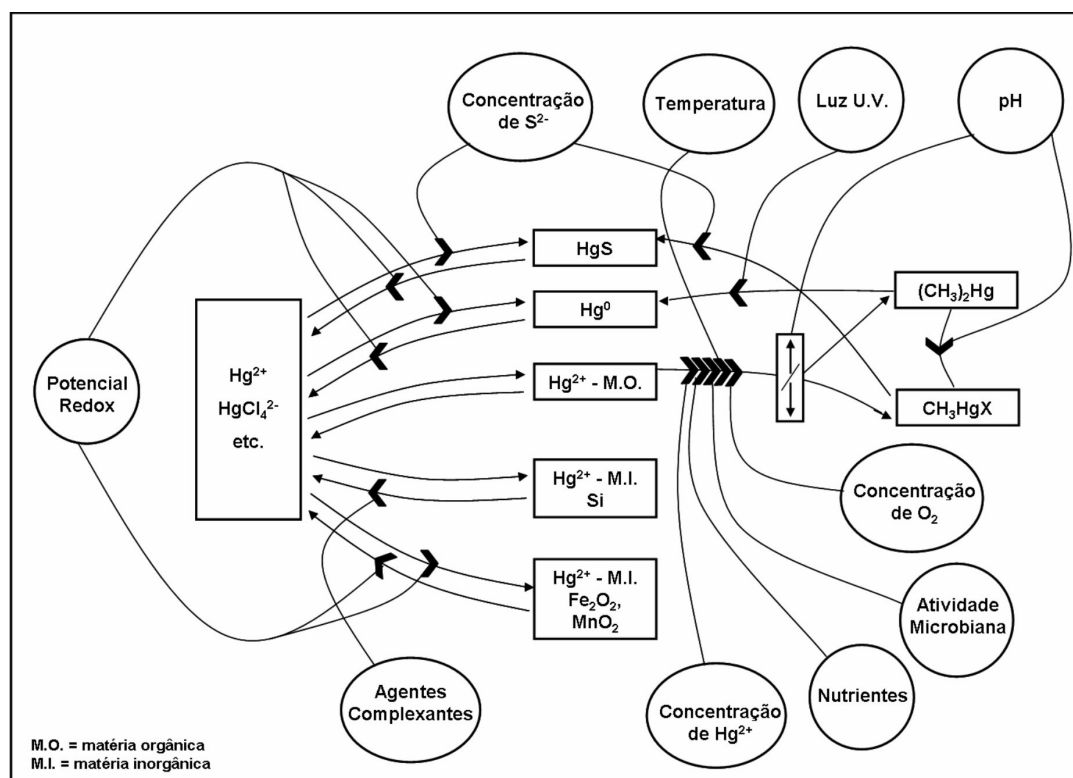


Figura 3. Fatores ambientais que afetam a metilação do Hg (Fagerstrom & Jernelov 1972).

al. 2006b), distribuição das populações de bactérias sulfato redutoras (Devereux *et al.* 1996) e atividade bacteriana (Guimarães *et al.* 2006a). Entretanto, nem todas as espécies de bactérias sulfato redutoras são capazes de metilar o Hg. O gênero *Desulfovibrio*, pertencente ao grupo das bactérias sulfato redutoras, tem sido mais utilizado para os estudos com metilação (Choi & Bartha 1993, Choi *et al.* 1994a, 1994b). Mais recentemente foi notado que outros componentes desse grupo têm a capacidade de metilar Hg, tais como os pertencentes à família Desulfobacteriaceae, que apresentaram uma maior eficiência para metilar o Hg que os indivíduos do gênero *Desulfovibrio* (King *et al.* 2001), e os indivíduos do gênero *Desulfobacter*, que possuem uma maior abundância nos sedimentos que os do gênero *Desulfovibrio* (Macalady *et al.* 2000). Recentemente, Flemming *et al.* (2006) evidenciaram as bactérias ferro-redutoras seriam capazes de metilar o Hg em condições ambientais com uma eficiência de metilação semelhante à das bactérias sulfato redutoras. Outros microrganismos podem atuar de maneira antagônica no processo de metilação, competindo por nutrientes ou por aceptores de elétrons (Compeau & Bartha 1985), ou de maneira sinérgica, onde as bactérias metiladoras fariam uso dos metabólitos excretados por outros microrganismos (Coelho-Souza *et al.* 2006, Guimarães *et al.* 2006b).

A produção de metilmercúrio é maior nos primeiros dias ou semanas após a entrada do Hg (dependendo da concentração do Hg adicionado e do tipo de experimento). Após essa fase inicial de equilíbrio a produção pode decrescer ou apresentar um padrão cíclico (Spangler *et al.* 1973, Furutani & Rudd 1980). A disponibilidade de Hg para os microrganismos metiladores é determinada pela concentração de íons Hg^{2+} livres (Ulrich *et al.* 2001). A entrada do Hg na célula bacteriana envolve o transporte do Hg através das membranas celulares por difusão. Entretanto, as membranas celulares possuem uma maior permeabilidade para moléculas sem carga do que para moléculas com carga (Moat *et al.* 2002). Desse modo, o $HgCl_2$ sem carga se difunde rapidamente através da bicamada lipídica enquanto que os complexos carregados, tais como o $HgOHCl$ e o $Hg(OH)_2$, não atravessam as membranas em uma taxa significativa (Gutknecht 1981). O $HgCl_2$ pode ser a espécie chave que determinaria a absorção celular do Hg inorgânico em sistemas aquáticos aeróbicos (Morel *et al.* 1998),

enquanto que as espécies sem carga HgS^0 , $Hg(SH)_2^0$ ou os complexos polissulfídicos (HgS_n^0) podem ser importantes para a absorção de Hg em sistemas aquáticos anóxicos (Benoit *et al.* 1999, Jay *et al.* 2000). Berman & Bartha (1986) encontraram uma correlação negativa entre as taxas de metilação e a presença de sulfetos no sedimento de fundo.

A maioria dos estudos em sistemas aquáticos tem negligenciado a contribuição das bactérias perifíticas associadas às macrófitas aquáticas e dispensado mais atenção à metilação no sedimento de fundo e coluna d'água (Guimarães *et al.* 2006a). As comunidades microbianas associadas às raízes de macrófitas aquáticas apresentam uma alta taxa de metilação do mercúrio que pode em média uma ordem de magnitude maior do que as taxas encontradas nos sedimentos (Guimarães *et al.* 1998, 2000a, 2000b, Brito & Guimarães 1999, Mauro *et al.* 2001, 2002).

A maioria das bactérias no ambiente se desenvolve em biofilmes que funcionam como microhabitats (Costerton *et al.*, 1995), apresentando-se em condições diferentes das do ambiente à sua volta, possibilitando às células microbianas exercerem funções que não poderiam ser realizadas fora do biofilme (Morris & Monier 2003). A matriz polissacarídica fornece diversas vantagens para os microrganismos agindo como proteção contra o estresse ambiental (Morris & Monier 2003), sistema de captura e retenção de carbono orgânico dissolvido, como via para o transporte intercelular e como um meio em que as exoenzimas ficariam mais próximas às células microbianas facilitando a degradação de moléculas de alto peso molecular e sua absorção (Freeman & Lock 1993).

As macrófitas aquáticas são colonizadas por uma comunidade perifítica composta de grande diversidade de microrganismos, algas, consumidores e detrito (Wetzel 1975, Carpenter & Lodge 1986, Klumpp *et al.* 1992). O carbono orgânico liberado pelas macrófitas aquáticas é o principal substrato para as bactérias perifíticas (Sondergaard 1983). As bactérias perifíticas possuem acesso direto aos nutrientes e compostos orgânicos lábeis liberados pelas plantas conferindo-lhes uma alta atividade metabólica (Sondergaard 1983, Thomaz & Estevez 1997).

A rizosfera, região que compreende a superfície da raiz e a região à sua volta, constitui um nicho ecológico onde os nutrientes estão mais prontamente disponíveis

devido à rizodeposição, que é a liberação de material orgânico pela raiz durante o seu desenvolvimento (Davey & O'Toole 2000). A rizodeposição, composta principalmente por aminoácidos, açúcares simples, ácidos orgânicos, carboidratos, enzimas e gases como o dióxido de carbono e etileno, aumenta o crescimento microbiano e influencia diretamente a estrutura das comunidades microbianas na rizosfera (Davey & O'Toole 2000). Em um lago densamente colonizado por macrófitas aquáticas, a produção bacteriana perifítica pode exceder a produção bacteriana pelágica (Fischer & Pusch 2001).

A temperatura possui grande influência na metilação uma vez que afeta diretamente a atividade microbiana. Em alguns casos, as maiores taxas de metilação são observadas durante o verão (Korthals & Winfrey 1987, Winfrey & Rudd 1990, Matilainen & Verta 1995), em detrimento de menores taxas durante as estações com baixa temperatura. Entretanto, outras variáveis ambientais relacionadas à estação do ano, como por exemplo, uma maior entrada de matéria orgânica nos sistemas aquáticos durante essa época como resultado de um aumento da produtividade primária.

A metilação do mercúrio ocorre tanto em condições óxicas quanto em condições anóxicas, entretanto as maiores taxas de metilação ocorrem em condições anóxicas (Olson & Cooper 1975). Aparentemente, quando o potencial redox está negativo favorece a metilação do Hg^{2+} em função da seleção das comunidades microbianas com relação à disponibilidade de receptores de elétrons (Compeau & Bartha 1984). A microbiota associada a ambientes redutores e com baixa concentração de sulfetos parece ser mais apta a converter o mercúrio inorgânico em metilmercúrio (Compeau & Bartha 1984). Em um experimento com sedimento de fundo Olson & Cooper (1975) notaram que as taxas de metilação em condições anóxicas foram maiores do que em condições aeróbicas. Uma possível explicação fornecida pelos autores seria de que os microrganismos demetiladores possuiriam uma maior atividade em condições aeróbicas de modo que a degradação do metilmercúrio ocorreria mais rapidamente do que em condições anaeróbicas.

Quanto maior a concentração de matéria orgânica na coluna d'água, menores são as taxas de metilação. Isso se deve à associação do mercúrio aos complexos orgânicos presentes no material particulado. Após

a associação o mercúrio complexado se precipita depositando no sedimento (Winfrey & Rudd 1990). O oposto ocorre nos sedimentos onde as taxas de metilação no sedimento aumentam com a entrada da matéria orgânica, principalmente na interface sedimento-água. Essa interface apresenta um carbono mais lábil de modo a ser mais facilmente assimilado pela microbiota metiladora (Furutani & Rudd 1980).

Os componentes aniônicos dos sais marinhos possuem um efeito na especiação do mercúrio nos sistemas aquáticos, influenciando a transferência dos grupamentos metil provenientes da metilcobalamina, além de afetar a composição da comunidade microbiana responsável pela metilação, sendo que o metilmercúrio formado é menos estável sob condições de alta salinidade do que em condições de baixa salinidade (Compeau & Bartha 1984). Uma possível explicação para esse fato é a da maior presença de sulfetos originados da redução de sulfatos presentes em maior quantidade no ambiente marinho. Ao interagir com o mercúrio, os sulfetos formam o composto HgS , uma espécie mais inerte e menos suscetível à metilação (Compeau & Bartha 1983).

Não há um consenso acerca da influência do pH na metilação. Algumas hipóteses foram levantadas tais como aumentar a biodisponibilidade do mercúrio para a microbiota, alteração da estrutura das comunidades microbianas e conseqüentemente a sua atividade, o que poderia levar tanto a um aumento da metilação quanto ao seu decréscimo (Winfrey & Rudd 1990, Gilmour & Henry 1991). Miller & Akagi (1979) notaram que as alterações no pH não afetaram o processo de metilação do mercúrio no sedimento, e sim a distribuição do metilmercúrio entre o sedimento e a coluna d'água.

O LABORATÓRIO DE TRAÇADORES E A METILAÇÃO DO MERCÚRIO

O estudo da metilação de mercúrio pelo Laboratório de Traçadores Wolfgang Christian Pfeiffer iniciou-se com o empenho do Prof. Jean R.D. Guimarães em simplificar a técnica radioquímica comumente empregada na avaliação da metilação em estudos de sistemas aquáticos desenvolvida por Furutani & Rudd (1980) a fim de torná-la mais simplificada e adequada a experimentos realizados em áreas distantes dos centros de pesquisa, minimizando o atraso entre as

etapas de incubação, extração e quantificação do metilmercúrio formado.

Após a publicação do método simplificado em 1995, o laboratório buscou compará-lo a outros métodos (Brito & Guimarães 1999) e entender melhor os fatores biológicos e físico-químicos que controlam a produção e distribuição do metilmercúrio principalmente em sedimentos, água e macrófitas aquáticas de regiões do Brasil e Bolívia.

Medidas de metilação de mercúrio foram extraídas de variadas partes do Brasil como rios e lagos do Pantanal, Região Amazônica (rio Tapajós, Negro e Amazonas), Rio de Janeiro, São Paulo, além de regiões da Bolívia e levaram em consideração a presença de fontes de origem natural e antropológica de mercúrio. Os principais sítios de metilação analisados foram solos, sedimentos, água e raízes de macrófitas aquáticas de diversas espécies (Guimarães *et al.* 2000a, Miranda *et al.* 2004).

As análises que visavam o entendimento de fatores físico-químicos avaliaram variações de pH, salinidade, condutividade elétrica e temperatura (Mauro *et al.* 1999) além de variações sazonais e verticais (Guimarães *et al.* 2000b).

Recentemente o principal foco do laboratório é entender a participação de determinados grupos de organismos associados às raízes de macrófitas aquáticas, como bactérias, fungos e algas, na formação de metilmercúrio nessa matriz (Acha *et al.* 2005, Guimarães *et al.* 2006).

REFERÊNCIAS

- ACHA, D.; IÑIGUEZ, V.; ROULET, M.; GUIMARÃES, J.R.D.; LUNA, R.; ALANOCA, L & SANCHEZ, S. 2005. Sulfate-reducing bacteria in floating macrophyte rhizospheres from an Amazonian Floodplain lake in Bolivia and their association with Hg methylation. *Applied Environmental Microbiology*, 71: 7531-7535.
- ANDREN, A.W. & NRIAGU, J.O. 1979. Methylation of Mercury in Aquatic Environments. Pp. 203-207. In: J.O. Nriagu, (ed), The Biogeochemistry of Mercury in the Environment, NY Elsevier/North – Holland Biomedical Press.
- AZEVEDO, F.A. 2003. *Toxicologia do mercúrio*. Sao Carlos, Sao Paulo, Brasil, Editora Rima.
- BARKAY, T. 1987. Adaptation of aquatic microbial communities to Hg²⁺ stress. *Applied Environmental Microbiology*, 53: 2725-2732.
- BENOIT, J.M.; GILMOUR, C.C.; MASON, R.P. & HEYES, A. 1999. Sulfide controls on mercury speciation and bioavailability to methylating bacteria in sediment pore waters. *Environmental Science & Technology*, 33: 951-957.
- BISINOTI, M.C. & JARDIM, W.F. 2004. O comportamento do metilmercúrio (METILHg) no Ambiente. *Química Nova*, 27: 593-600.
- BOGDANOVA, E.S.; MINDLIN, S.Z.; KALYAEVA, E.S. & NIKIFOROV, V.G. 1988. The diversity of mercury reductases among mercury-resistant bacteria. *FEBS Letters*, 234: 280-282.
- BRITO, E. M.S. & GUIMARÃES, J.R.D. 1999. Comparative tests on the efficiency of three methods of methylmercury extraction in environmental samples. *Applied Organometallic Chemistry*, 13: 487-493.
- BERMAN, M. & BARTHA, R. 1986. Control of the methylation process in a mercury-polluted aquatic sediment. *Environmental Pollution*, 11: 41-53.
- BERMAN, M.; CHASE, T.J. & BARTHA, R. 1990. Carbon flow in mercury biomethylation by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Applied Environmental Microbiology*, 56: 298-300.
- BERTILSSON, L. & NEUJAHN, H.Y. 1971. Methylation of mercury compounds by methylcobalamin. *Biochemistry*, 10: 2805-2808.
- BLAYLOCK B.A. & STADTMAN T.C. 1964. Enzymic formation of methylcobalamin in *Methanosarcina barkerii* extracts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 17: 475-480.
- CARPENTER, S.R. & LODGE, D.M. (1986). Effects of submersed macrophytes on ecosystem processes. *Aquatic Botany*, 26: 341-370.
- CHOI, S.C. & BARTHA, R. 1993. Cobalamin-mediated mercury methylation by *Desulfovibrio desulfuricans* LS. *Applied Environmental Microbiology*, 59: 290-295.
- CHOI, S.C.; CHASE, T.J. & BARTHA, R. 1994a. Enzymatic catalysis of mercury methylation by *Desulfovibrio desulfuricans* LS. *Applied Environmental Microbiology*, 60: 1342-1346.
- CHOI, S.C.; CHASE, T.J. & BARTHA, R. 1994b. Metabolic pathways leading to mercury methylation in *Desulfovibrio desulfuricans* LS. *Applied Environmental Microbiology*, 60: 4072-4077.
- CLARKSON, W.T. 2002. The three modern faces of mercury. *Environmental Health Perspectives*, 110:11-23.
- CLARKSON, W.T.; MAGOS, L. & MYERS, G.J. 2003. The Toxicology of Mercury – Current Exposures and Clinical Manifestations. *The New England Journal of Medicine*, 349: 1731-1737.

- COELHO-SOUZA, S.A.; GUIMARÃES, J.R.D.; MAURO J.B.N.; MIRANDA, M.R. & AZEVEDO, S.M.F.O. 2006. Mercury methylation and bacterial activity associated to tropical phytoplankton. *Science of the Total Environment*, 364: 188–199.
- COMPEAU, G. & BARTHA, R. 1983. Effects of sea salts anions on the formation and stability of methylmercury. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 31: 486-493.
- COMPEAU, G. & BARTHA, R. 1984. Methylation and demethylation of mercury under controlled redox, pH, and salinity Conditions. *Applied Environmental Microbiology*, 48: 1203-1207.
- COMPEAU, G. & BARTHA, R. 1985. Sulfate-reducing bacteria: principal methylators of mercury in anoxic estuarine sediment. *Applied Environmental Microbiology*, 50: 498-502.
- COSTERTON, J.W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D.E.; KORBER, D.R. & LAPPINSCOTT, H.M. 1995. Microbial biofilms. *Annual Review of Microbiology*, 49: 711–45.
- DAVEY M.E. & O'TOOLE, G.A. 2000. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64: 847-867.
- DeSIMONE, R.E.; PENLEY, M.W.; CHARBONNEAU, L.; SMITH, S.G.; WOOD, J.M.; HILL, H.A.O.; PRATT, J.M.; RIDSDALE, S. & WILLIAMS, J.P. 1973. The kinetics and mechanism of cobalamin-dependent methyl and ethyl transfer to mercury. *Biochimica et Biophysica Acta*, 304: 851-863.
- DEVEREUX, R.; WINFREY, M.R.; WINFREY, J. & STAHL, D.A. 1996. Depth profile of sulfate reducing bacterial ribosomal RNA and mercury methylation in an estuarine sediment. *FEMS microbiology ecology*, 20: 23-31.
- DESROSIERS, M.; PLANAS, D. & MUCCI, A. 2006. Mercury methylation in the epilithon of boreal shield aquatic ecosystems. *Environmental Science and Technology*, 40: 1540–1546.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. (EPA), 2001. Mercury update: impact on fish advisories.
- FAGERSTROM, T. & JERNELOV, A. 1972. Some aspects of the quantitative ecology of mercury. *Water Research*, 6: 1193-1202.
- FISCHER, H. & PUSCH, M. 2001. Comparison of bacterial production in sediments, epiphyton and the pelagic zone of a lowland river. *Freshwater Biology*, 46: 1335-1348.
- FLEMING, E.J.; MACK, E.E.; GREEN, P.G. & NELSON, D.C. 2006. Mercury methylation from unexpected sources: molybdate-inhibited freshwater sediments and an iron-reducing bacterium. *Applied Environmental Microbiology*, 72: 457-464.
- FREEMAN, C. & LOCK, M.A. 1993. [³H]Thymidine incorporation as a measure of bacterial growth within intact river biofilms. *Science of the Total Environment*, 138:161-167.
- FURUTANI, A. & RUDD, J.W.M. 1980. Measurement of mercury methylation in lake water and sediment samples. *Applied Environmental Microbiology*, 40: 770-776.
- GILMOUR, C.C. & HENRY, E.A. 1991. Mercury methylation in aquatic systems affected by acid deposition. *Environmental Pollution*, 71:131-169.
- GILMOUR, C.C.; HENRY, E.A. & MITCHELL, R. 1992. Sulfate stimulation of mercury methylation in freshwater sediments. *Environmental Science & Technology*, 26: 2281–2287.
- JAY, J.A.; MOREL, F.M.M., & HEMOND, H.F. 2000. Mercury speciation in the presence of polysulfides. *Environmental Science & Technology*, 34: 2196-2200.
- KLUMPP, D.W. ; SALITA-ESPINOSA, J.S. & FORTES, M.D. 1992. The role of epiphytic periphyton and macroinvertebrate grazers in the trophic flux of a tropical seagrass community. *Aquatic Botany*, 43: 327-349.
- GUIMARÃES, J.R.D.; MALM, O. & PFEIFFER, W.C. 1995. A simplified radiochemical technique for measurements of net mercury methylation rates in aquatic systems near gold mining areas, Amazon, Brazil. *The Science of the Total Environment*, 175: 151-162.
- GUIMARÃES, J.R.D.; MEILL, M.; MALM, O. & BRITO, E.M.S. 1998. Hg methylation in sediments and floating meadows of a tropical lake in the Pantanal floodplain, Brazil. *The Science of the Total Environment*, 213: 165-175.
- GUIMARÃES, J.R.D.; MEIL, I. M.; HYLANDER, L.D.; SILVA, E.C.; ROULET, M., MAURO, J.B.N. & LEMOS, R.A. 2000a. Mercury net methylation in five tropical floodplain regions of Brazil: high in the root zone of floating macrophyte mats but low in surface sediments and flooded soils. *The Science of the Total Environment*, 261: 99-107.
- GUIMARÃES, J.R.D. ; ROULET, M.; LUCOTTE, M. & MERGLER, D. 2000b. Mercury methylation potentials along a lake-forest transect in the Tapajós river floodplain, Brazilian Amazon: seasonal and vertical variations. *The Science of the Total Environment*, 261: 91-98.
- GUIMARÃES, J.R.D.; MAURO, J.B.N.; MEILL, M.; SUNDBOM, M.; HAGLUND, A.L.; COELHO-SOUZA, S.A. & HYLANDER, L.D. 2006a. Simultaneous radioassays of bacterial production and mercury methylation in the periphyton of a tropical and a temperate wetland. *Journal of Environmental Management*, 81: 95–100.
- GUIMARÃES, J.R.D.; ROULET, M.; IÑIGUEZ, V.; MIRANDA, M.R.; EVANGELISTA, F.S.B. & CORREIA, R.R.S. *et al.* 2006b. Hg methylation and the microbial consortium in

- sediment and in periphyton of tropical macrophytes: effect of different inhibitors. *In: Proceedings 8th International Conference Mercury as a Global Pollutant*. Wisconsin, EUA.
- GUTKNECHT, J. 1981. Inorganic mercury (Hg²⁺) transport through lipid bilayer membranes, *Journal of Membrane Biology*, 61: 61-66.
- JENSEN, S. & JERNELOV, A. 1969. Biological methylation of mercury in aquatic organisms. *Nature*, 223: 753-754.
- JÄRUP, L. 2003. Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68: 167-182.
- KING, J.K.; KOSTKA, J.E.; FRISCHER, M.E. & SAUNDERS, F.M. 2000. Sulfate-reducing bacteria methylate mercury at variable rates in pure culture and in marine sediments. *Applied Environmental Microbiology*, 66: 2430-2437.
- KING, J.K.; KOSTKA, J.E.; FRISCHER, M.E.; SAUNDERS, F.M. & JAHNKE, R.A. 2001. A quantitative relationship that demonstrates mercury methylation rates in marine sediments are based on the community composition and activity of sulfate-reducing bacteria. *Environmental Science and Technology*, 35: 2491-2496.
- KORTHALS, E.T. & WINFREY, M.R. 1987. Seasonal and spatial variations in mercury methylation and demethylation in an oligotrophic lake. *Applied Environmental Microbiology*, 53: 2397-2404.
- LANDNER, L. 1971. Biochemical model for the biological methylation of mercury suggested from methylation studies in vivo with *Neurospora crassa*. *Nature*, 230:452-454.
- MACALADY, J.L.; MACK, E.E.; NELSON, D.C. & SCOW, K.M. 2000. Sediment microbial community structure and mercury methylation in mercury-polluted Clear Lake, California. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 1479-1488.
- MATILAINEN, T. & VERTA, M. 1995. Mercury methylation and demethylation in aerobic surface waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52: 1597-1608.
- MAURO, J.B.N.; GUIMARÃES, J.R.D. & MELAMED, R. 1999. Mercury methylation in a tropical macrophyte: influence of abiotic parameters. *Applied Organometallic Chemistry*, 13: 631-636.
- MAURO, J.B.N.; GUIMARÃES, J.R.D. & MELAMED, R. 2001. Mercury methylation in macrophyte roots of a tropical lake. *Water, Air and Soil Pollution*, 127: 271-280.
- MAURO, J.B.N.; GUIMARÃES, J.R.D.; HINTELMANN, H.; WATRAS, C.J.; HAACK, E.A. & COELHO-SOUZA, S.A. 2002. Mercury methylation in macrophytes, periphyton, and water - comparative studies with stable and radio-mercury additions. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 374: 983-989.
- MILLER, D.M. & AKAGI, H. 1979. pH affects mercury distribution, not methylation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 3: 36-38.
- MIRANDA, R.M.; GUIMARÃES, J.R.D.; ROULET, M.; ACHA, D.; COELHO-SOUZA, S.; MAURO, J.B.N. & INIGUEZ, V. 2004. Mercury methylation and bacterial activity in macrophyte-associated periphyton in floodplain lakes of the Amazon basin. *RMZ Materials and Geoenvironment*, 51: 1218-1220.
- MOAT, A.; FOSTER, A. & SPECTOR, M.P. 2002. *Microbial physiology*. (4th ed.) John Wiley & Sons, New York.
- MOREL, F.M.M.; KRAEPIEL, A.M.L. & AMYOT, M. 1998. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 543-566.
- MORRIS, C.E. & MONIER, J. 2003. The ecological significance of biofilm formation by plant-associated bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 41: 429-453.
- MULLER, A.K.; WESTERGAARD, K.; CHRISTENSEN, S. & SORENSEN, S.J. 2001. The effect of long-term mercury pollution on the soil microbial community. *FEMS Microbiology Ecology*, 36: 11-19.
- NAGASE, H.; OSE, Y.; SATO, T. & ISHIKAWA, T. 1982. Methylation of mercury by humic substances in an aquatic environment. *The Science of the Total Environment*, 24: 133-142.
- NOBUMASA, I.; SUKEGAWA, E.; PAN S-K.; NAGAO, K.; KIM, J-Y.; KWAN, T. & UKITA, T. 1971. Chemical methylation for inorganic mercury with methylcobalamin, a vitamin B₁₂ analog. *Science*, 172: 1248-1249.
- NRIAGU, J.O. 1979. Production and Uses of Mercury. pp. 23-39. *In: J.O. Nriagu, (ed), The Biogeochemistry of Mercury in the Environment*, New York Elsevier/North - Holland Biomedical Press.
- OLSON, B.H. & COOPER, R.C. 1975. Comparison of aerobic and anaerobic methylation of mercuric chloride by San Francisco bay sediments. *Water Research*, 10: 113-116.
- OSBORN A.M.; BRUCE, K.D.; STRIKE, P. & RITCHIE, D.A. 1997. Distribution, diversity and evolution of the bacterial mercury resistance (mer) operon. *FEMS Microbiology Reviews*, 19: 239-262.
- RAVICHANDRAN, M. 2004. Interactions between mercury and dissolved organic matter - a review. *Chemosphere*, 55: 319-331.
- ROBINSON, J. & TUOVINEN, O.H. 1984. Mechanisms of microbial resistance and detoxification of mercury and organomercury compounds: physiological, biochemical, and genetic analyses. *Microbiological Reviews*, 48: 95-124.
- RUDD, J.W.M.; FURUTANI, A. & TURNER, M. A. 1980.

- Mercury methylation by fish intestinal contents. *Applied Environmental Microbiology*, 40: 777-782.
- SICILIANO, S.D. & LEAN, D.R.S. 2002. Methyltransferase: an enzyme assay for microbial methylmercury formation in acidic soils and sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21: 1184-1190
- SICILIANO, S.D.; O'DRISCOLL, N.J.; TORDON, R.; HILL, J.; BEAUCHAMP, S. & LEAN, D.R.S. 2005. Abiotic production of methylmercury by solar radiation. *Environmental Science Technology*, 39: 1071-1077.
- SONDERGAARD, M. 1983. Heterotrophic utilization and decomposition of extracellular carbon released by the aquatic angiosperm *Littorella uniflora* (L.) Aschers. *Aquatic Botany*, 16: 59-73.
- SPANGLER, W.J.; SPIGARELLI, J.M.; ROSE, J.M. & MILLER, H.H. 1973. Methylmercury: bacterial degradation in lake sediments. *Science*, 180: 192-193.
- SUMMERS, A.O. & SILVER, S. 1978. Microbial transformations of metals. *Annual Review Microbiology*, 32: 637-672
- THOMAZ, S.M. & ESTEVES, F.A. 1997. Secondary productivity (³H-Leucine and ³H-Thymidine incorporation), abundance and biomass of the epiphytic bacteria attached to detritus of *Typha domingensis* pers. in a tropical coastal lagoon. *Hydrobiologia*, 357: 17-26.
- ULRICH, S.M.; TANTON, T.W. & ABDRAHITOVA, S.A. 2001. Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 31: 241-293.
- WARREN, L.A. & HAACK, E.A. 2001. Biogeochemical controls on metal behavior in freshwater environments. *Earth-Science Reviews*, 54: 261-320
- WATANABE, C. & SATOH, H. 1996. Evolution of our understanding of methylmercury as a health threat. *Environmental Health Perspective*, 104: 367-379.
- WETZEL, R.G. 1975. *Limnology*. WB Saunders Company, Filadélfia, EUA. 743 pp.
- WINFREY, M.R. & RUDD, J.W.M. 1990. Environmental factors affecting the formation of methylmercury in low pH lakes. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 9: 853-869.
- WOOD, J.M.; KENNEDY, F.S. & ROSEN, C.G. 1968. Synthesis of methylmercury compounds by extracts of a methanogenic bacterium. *Nature*, 220: 173-174.
- WOOD, J.M. 1974. Biological cycles for toxic elements in the environment. *Science*, 183: 1049-1052.
- ZAHIR, F.; RIZWI, S. J.; HAQ, S. K. & KHAN, R. H. 2005. Low dose mercury toxicity and human health. *Environmental toxicology and pharmacology*, 20: 351-360.