

**Artículo Original**

**Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de cloruro de mercurio (HgCl<sub>2</sub>) sobre alevinos de “gamitana” *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) en ambientes controlados**

**MEDIAN LETHAL CONCENTRATION (LC<sub>50</sub>) OF MERCURY CHLORIDE (HgCl<sub>2</sub>) TO “GAMITANA” FINGERLINGS *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818) IN CONTROLLED ENVIRONMENTS**

JAVIER OSCAR ZA VALETA FLORES§, ROBERTO PEZO DÍAZ§

Recibido: 16 julio de 2019 / Aceptado: 26 julio de 2019

§ *Escuela Profesional de Biología. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP)*

**Resumen**

En el presente se registra la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) a 96 horas del mercurio en gamitana [*Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)]. Se calculó a través de una prueba estática de toxicidad aguda utilizando cloruro de mercurio (HgCl<sub>2</sub>) como agente letal. El experimento fue realizado el distrito de San Juan Bautista, Provincia de Maynas, Región Loreto (Perú), en condiciones controladas (28,85 ± 0,15 °C) y un fotoperiodo 12:12 (luz: oscuridad). Los alevinos (4 ± 1 g) fueron mantenidos en acuarios de vidrio con aireación constante, sin filtro y la alimentación fue suprimida 24 horas antes del inicio del experimento. Se emplearon 3 concentraciones de mercurio (Hg), con sus respectivas réplicas, incluyendo un grupo control. Las concentraciones fueron: 0,01, 0,1 y 1 mg Hg/L. Se realizó un análisis histopatológico con tres peces de cada tratamiento tomando muestras de branquias. Los especímenes expuestos a las concentraciones más bajas (0,01 y 0,1 mg Hg/L) mostraron hiperactividad, a diferencia de la concentración más alta (1 mg Hg/L) los cuales evidenciaron disminución de su actividad. El análisis histopatológico mostró anomalías en las branquias como hiperplasia interlamelar y vasculizaciones lipídicas respectivamente, en respuesta a procesos de detoxificación. El valor de la CL<sub>50</sub>-96 h fue estimado utilizando el programa TSK (Trimmed-Spearman-Karber) y presentó un valor de 0,23 mg HgCl<sub>2</sub>/L ± 0,15.

*Palabras clave:* cloruro de mercurio, mercurio, toxicología acuática, *Colossoma macropomum*

**Abstract**

In this study, the median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) of mercury exposure at 96 hours in [*Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)] was estimated through static acute toxicity test by using mercury chloride (HgCl<sub>2</sub>) as a lethal source. The experiment was carried out in a residence located in the district from San Juan Bautista, Province Maynas, Region Loreto (Peru), under controlled conditions (28.85 ± 0.15 °C) and a 12:12 (light: darkness) photoperiod. The gamitana fingerlings (4 ± 1 g) were housed in glass aquaria with constant aeration without filter and feeding was suppressed 24 hours before beginning the experiment. Three concentrations of mercury (Hg) were used with replicas including controls. The concentrations were: 0.01, 0.1 y 1 mg Hg/L. Histopathological analyses were conducted on 3 fish per treatment group on samples of gills tissues. Fish exposed to the lowest concentrations (0.01, 0.1 mg Hg/L) of HgCl<sub>2</sub> showed hyperactivity, whereas fish exposed to high concentration (1 mg Hg/L) showed decreased activity. Histopathological analysis showed gills lesions, like a lamellar hiperplasia and lipid vacuolization, respectively, in response to detoxification processes. The value of LC<sub>50</sub>-96 h was estimated by using the TSK software (Trimmed-Spearman-Karber) and produced a value of 0.23 mg HgCl<sub>2</sub>/L ± 0.15.

*Keywords:* Mercury chloride, mercury, aquatic toxicology, *Colossoma macropomum*.

\*Correspondencia de autor: Av. Universitaria, s/n – Shancayan, Huaraz, Ancash. Código Postal. 01.  
E-mail: jzavaletaflores@gmail.com

## INTRODUCCIÓN

Las pruebas ecotoxicológicas con peces son tradicionalmente empleadas en muchas partes del mundo, ya que éstos juegan un papel importante dentro de la cadena alimenticia<sup>(1)</sup>. Los peces son organismos acuáticos extremadamente sensibles a la perturbación ambiental, siendo afectados en su crecimiento y en sus funciones reproductivas<sup>(2)</sup>.

El mercurio (Hg) es un metal utilizado ampliamente en procesos industriales de fabricación de electrodomésticos, fármacos, cremas entre otros<sup>(3)</sup>, así como empleado en la minería artesanal para la extracción del oro, para amalgamar el mismo, proceso que ha ido en aumento en Latinoamérica durante las pasadas tres décadas<sup>(4)</sup>.

La gamitana (*Colossoma macropomum*) es una de las especies más grandes de los peces dulceacuícolas de Sudamérica. Su ecología está fuertemente ligada a los ciclos de inundación de la Amazonía. Es un pez de llanura, encontrado indiferentemente en las aguas blancas de origen andino o las aguas negras o claras de las pampas inundadas<sup>(5)</sup>.

Esta especie es propicia para las pruebas de toxicidad por diversos motivos, entre ellos que, no tolera las poluciones acuáticas, es muy sensible a la contaminación orgánica y que se tiene gran conocimiento de su biología, cría, alimentación y manejo. Actualmente se encuentra expuesta a condiciones de contaminación que puede repercutir en la capacidad de ésta y otras especies de responder frente a los desafíos del medio<sup>(6)(7)</sup>.

El objetivo del presente estudio fue determinar la toxicidad aguda del cloruro de mercurio y sus efectos histopatológicos a nivel branquial y morfológico en los alevinos de “gamitana” (*Colossoma macropomum*), un carácido endémico de la cuencas hidrográficas de la amazonía y del cual se conocen aspectos relacionados con su biología y respuesta como modelo experimental<sup>(8)</sup>.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### LUGAR DE ESTUDIO

Las pruebas de toxicidad se realizaron en una vivienda ubicada en el Asentamiento Humano “Las Colinas”, perteneciente al distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas, región Loreto. El indicado lugar cuenta con un amplio espacio, administrado con energía eléctrica artificial y energía solar, bajo la cual se aplicó el presente trabajo de investigación, la cual se dotó con todo lo necesario para hacer este tipo de investigaciones.

Se utilizaron estantes de madera de forma rectangular para la batería de ensayos que consistía en peceras de vidrio con medidas de 40 x 30 x 28 cm. y con capacidad de 14 litros para las pruebas de toxicidad.

En el laboratorio de Hidrología y Limnología del Centro de Investigaciones “Fernando Alcántara” del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, ubicado en el kilómetro 4,5 de la Carretera Iquitos – Nauta, se realizó, con ayuda de una balanza analítica, se pesaron diferentes concentraciones fijadas para la prueba de toxicidad, ya que el cloruro de mercurio es de consistencia sólida y se realizó directamente la disolución en las peceras de ensayo por tratamiento correspondiente.

## CONSIDERACIONES TÉCNICAS

### *Diseño experimental*

En esta investigación se utilizaron las siguientes variables: variable independiente (Diferentes concentraciones de las sustancias de prueba), variable dependiente (Efectos en los organismos) y constantes: organismos empleados en cada ensayo (10 alevinos de gamitana por pecera), tiempo de exposición (96 horas) y parámetros fisicoquímicos (Temperatura, pH y oxígeno disuelto).

El tipo de prueba toxicológica que se realizó es aguda debido a que se cuantifica la alteración causada por la respectiva sustancia, en este caso mortalidad y estática en la cual no existe renovación de las soluciones test o prueba a lo largo de todo el experimento de 96 horas de duración.

### *Fase de acondicionamiento*

#### *Implementación, aclimatación y mantenimiento de las peceras*

Las peceras se implementaron con el fin de garantizar las condiciones óptimas de vida de los alevinos de gamitana empleando los siguientes implementos: mangueras, aireadores, bomba de oxígeno, difusores, alimentación, un material de cubierta y agua utilizada de la red doméstica.

#### *Limpieza o sifoneo de las peceras*

El procedimiento de limpieza o sifoneo se realizó en tres momentos: Previo a la introducción de los alevinos al preparar las peceras, durante la permanencia de los alevinos en las peceras y al final de la prueba de toxicidad.

#### *Organismo de Prueba (adquisición y transporte)*

El organismo que se empleó en la prueba toxicológica fue el alevín de gamitana de 5 centímetros de longitud estándar como valor promedio, 4 gramos (peso promedio) y 45 días de nacido en promedio. Los peces fueron adquiridos de los estanques de crianza para investigación y comercialización del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – IIAP, ubicado en el kilómetro 4,5 de la carretera Iquitos –Nauta, los organismos que se utilizaron fueron transportados en una bolsa de polietileno de 70 x 35 cm, con capacidad aproximada de 200 alevinos de gamitana de 5 cm. Se le adiciona oxígeno a la bolsa para garantizar las condiciones de oxígeno disuelto en su transporte que podría tener una duración hasta de 24 horas.

#### *Aclimatación del organismo de Prueba*

La introducción consistió en sumergirlas en el agua y dejarlas flotando durante una hora sin destaparlas (garantizando el oxígeno en su interior), todo esto con el fin de homogenizar las temperaturas del agua de la bolsa con la de la pecera con el propósito de evitar el choque térmico. Los peces fueron introducidos en las peceras teniendo cuidado de no mezclar el agua de las bolsas con el agua de la pecera pues al momento de ser transportados, los niveles de amoníaco pueden aumentar por el estrés y en consecuencia excretan en mayor cantidad.

### *Alimentación*

Antes de la realización de las pruebas de toxicidad se les alimentó a los alevinos de gamitana con alimento extrusado inicio de Purigamitana, que se les suministró dos veces al día, por la mañanas y al final del día.

### *Pruebas toxicológicas*

Esta fase consistió en la realización de las pruebas toxicológicas para los cuales se emplearon balanza analítica y equipo Multiparámetro para medición de parámetros fisicoquímicos durante el bioensayo.

### *Sustancia Experimental*

El producto químico usado para este experimento fue Cloruro de mercurio (II) o cloruro mercúrico ( $\text{HgCl}_2$ ) con una pureza del 99% donado por el Departamento de Química Analítica de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

### *Prueba de Toxicidad Aguda*

Fueron aplicadas tres (03) concentraciones de Cloruro de Mercurio ( $\text{HgCl}_2$ ). Las concentraciones aplicadas fueron determinadas en base a los valores establecidos por los Estándares de Calidad Ambiental para Agua (ECA-Agua), Categoría 4: Conservación del ambiente acuático (0,0001 mg/L). Para obtener las concentraciones aplicadas para el bioensayo se realizaron distintas de pruebas numéricas que finalmente el valor referencial del ECA – Agua fue multiplicado por 100, a fin de obtener el peso mínimo calculado por la balanza analítica en miligramos (0,01 mg Hg), la segunda concentración se obtuvo de la multiplicación de la primera concentración (0,01 mg Hg) por 10 la cual se obtuvo 0,1 mg Hg, por último, la tercera concentración fue calculado por la operación de multiplicación de la segunda concentración obtenida (0,1 mg Hg) por 10, teniéndose como resultado 1 mg Hg como tercera concentración, utilizados para la prueba de toxicidad. Las concentraciones se realizaron por triplicado usando 10 individuos por cada réplica de los tratamientos. Además, se empleó una prueba estática sin renovación del agua de las peceras. La mortalidad de alevinos fue registrada a las 24, 48, 72 y 96 horas de exposición; los individuos experimentales fueron considerados como muertos al evidenciar ausencia de movimientos operculares por periodo mayor a un minuto, ausencia de respuesta a la presión del pedúnculo caudal y letargo al reflejo de huida; los organismos muertos fueron removidos de las unidades experimentales.

### *Pruebas de sensibilidad*

La sensibilidad de los alevinos fue evaluada, realizando pruebas en las cuales se utilizó el cloruro de mercurio ( $\text{HgCl}_2$ ) que es un tóxico de referencia. El propósito de esta prueba fue determinar la capacidad de respuesta de los organismos en el ensayo.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se realizó un análisis de varianza (ANVA) de una vía en la que se compararon las varianzas muestrales de la cantidad de organismos muertos por concentración a las 96 horas en la prueba toxicológica de sensibilidad y pruebas definitivas de Mercurio (Hg). El método tiene un 95% de confianza y un margen de error del 5%. Se usaron dos programas estadísticos para la realización de estos cálculos que fueron EXCEL 2013 y SPSS versión 19 que permite la realización de distintos análisis estadísticos. Para determinar la

Concentración Letal Media (CL50-96 h) se utilizó el software TSK (Trimmed-Spearman-Karber) versión 1,5. El método tiene un 95% de confianza y un margen de error del 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

Las alteraciones físicas presentadas por los alevinos de gamitana expuesta a mercurio fueron observados a partir de las dos horas de exposición. En la concentración más alta (1 mg Hg/l) se presentó hiperactividad inicial, posterior a esto los individuos se situaron en el tercio superior del acuario, con una disminución progresiva de la frecuencia opercular y posterior muerte. Por otro lado, en las concentraciones más bajas (0,01, 0,1 mg Hg/l) se encontraron disminución de su actividad; en ocasiones se presentaba nado rápido explosivo y algunos casos aislados de muerte.

Una característica común en las tres concentraciones era la presencia de mucus. Esta secreción de mucus puede deberse al posible efecto irritante del mercurio, siendo el mucus una respuesta adaptativa para la protección mecánica de la superficie del pez. Esta respuesta ha sido descrita en la exposición a otros contaminantes, así como parásitos y bacterias, sin embargo, el incremento o disminución también depende de cambios en la calidad de agua: amonio disuelto, alcalinidad registrados por Balasubramanian et al.<sup>(9)</sup> Esteban<sup>(10)</sup>, Ferguson<sup>(11)</sup> el cual el presente estudio, no muestra similitud de datos con los resultados de los autores mencionados.

Estos hallazgos son similares a los registrados por varios autores en otras especies como se observa en la tabla 1, mostrando así que el mercurio distintas concentraciones tiene efectos similares siendo más representativos en algunas especies que en otras.

Tabla 1. Informe de efectos a la exposición a cloruro de mercurio (HgCl<sub>2</sub>) en distintas especies [modificado de Naranjo-Gómez et al.<sup>(12)</sup>]

Especie	[mg Hg/l]	Efectos	Autores
<i>Colossoma macropomum</i> (G. Cuvier, 1818)	0,010;	Hiperactividad en las concentraciones más altas y	Presente estudio
	0,100;	disminución en las concentraciones más bajas.	
	1,000	Disminución de los movimientos operculares. Canibalismo y muerte.	
<i>Piaractus brachipomus</i> (G. Cuvier, 1818)	0,450;	Hiperactividad en las concentraciones más altas y	Naranjo-Gómez et al. <sup>(12)</sup>
	0,550;	disminución de la actividad en las	
	0,750;	concentraciones más bajas. Inhibición del reflejo	
	1,000	de huida, disminución de los movimientos operculares y muerte.	
<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758)	0,925;	Hiperactividad, oscurecimiento del cuerpo y	Ishikawa et al. <sup>(13)</sup>
	0,740;	agresividad. Disnea y muerte.	
	0,370		
<i>Aequidens portalegrensis</i> (Hensel, 1870)	0,640;	Similar a lo reportado por Ishikawa et al., 2007.	Hirt y Dimitrovic <sup>(14)</sup>
	1,120;		
	2,000		
<i>Heteropneustes fossilis</i> (Bloch, 1974)	0,200	Estrés respiratorio, tremores, ataxia y descoordinación de los movimientos.	Bano y Hasan <sup>(15)</sup>
<i>Liza parsia</i> (Hamilton, 1822)	0,200	Alteraciones en el hígado e intestino.	Pandey et al. <sup>(16)</sup>
<i>Salvelinus alpinus</i> (Linnaeus, 1758)	0,150	Injuría en las branquias y epitelio olfatorio.	Oliveira Ribeiro et al. <sup>(17)</sup>
<i>Oreochromis aureus</i>	0,500	Aumento del número de leucocitos y eritrocitos.	Allen <sup>(18)</sup>
<i>Barbus conchonus</i> (Hamilton, 1822)	0,180	Anomalías hematológicas	Gill & Pant <sup>(19)</sup>

La mortalidad acumulada en porcentaje y el número de individuos a las 96 horas de exposición se registran en la tabla 2. En donde se observa las mortalidades pasadas las 24, 48, 72 y 96 horas con un porcentaje acumulado de 6,6, 23,3 y 96,6 % en las concentraciones 0,010, 0,100 y 1,000 mg Hg/l, respectivamente.

Tabla 2. Mortalidad acumulada de alevinos de gamitana *Colossoma macropomum*, expresadas de acuerdo a las distintas concentraciones y tiempo de exposición al mercurio {[mg Hg/l] = concentración de Hg/l; número de individuos muertos/individuos totales y porcentaje

[mg Hg/L]	Tiempo de exposición (horas)				% acumulado 96 h
	24	48	72	96	
0,010	02/30 (6,6%)	00/30 (0%)	00/30 (0%)	00/30 (0%)	02/30 (6,6%)
0,100	03/30 (10%)	01/30 (3,3%)	01/30 (3,3%)	02/30 (6,6%)	07/30 (23,3%)
1,000	20/30 (66,6%)	04/30 (13,3%)	05/30 (16,6%)	00/30 (0%)	29/30 (96,6%)
Control	01/10 (10%)	00/10 (0%)	00/10 (0%)	00/10 (0%)	01/10 (10%)

El valor de la CL<sub>50</sub> hallado para *Colossoma macropomum* en el presente estudio se muestra en la tabla 3, en la cual se registran los valores de 0,59, 0,45, 0,28 y 0,23 de CL<sub>50</sub> para las 24, 48, 72 y 96 horas de exposición, respectivamente con un intervalo de confianza del 95%.

Tabla 3. Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de mercurio (Hg) para alevinos de gamitana [*Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)] (te = tiempo de exposición; ic = intervalo de confianza 95%)

Te	CL <sub>50</sub> (mg Hg/l)	ic 95%
24 horas	0,59	0,56 – 0,62
48 horas	0,45	0,42 – 0,48
72 horas	0,28	0,25 – 0,31
96 horas	0,23	0,20 – 0,26

Esta CL<sub>50</sub> indica, que la especie en estudio, presenta sensibilidad ante la acción del cloruro de mercurio (HgCl<sub>2</sub>), este valor indica cercanía con lo que registra Naranjo-Gómez *et al.* <sup>(12)</sup> en *Piaractus brachypomus* en donde se registra una CL<sub>50</sub>-96 h de 0,56 mg Hg/l. Sin embargo se muestran diferencias con el valor encontrado por Ramamurthi *et al.* <sup>(20)</sup> en *Oreochromis mossambicus* en donde registra una CL<sub>50</sub>-96 h de 0,739 mg Hg/l. Además, otros estudios registran concentraciones aún más cercanas como lo son Hirt y Dimitrovic <sup>(14)</sup> en *Cichlasoma dimerus* con un valor de CL<sub>50</sub>-96 h de 0,488 mg Hg/l. En comparación con otras especies más tolerantes al contaminante como lo registra Charuwan – Somsiri <sup>(21)</sup> en *Oreochromis niloticus* CL<sub>50</sub>-96 h de 3,710 g Hg/l y otras menos tolerantes <sup>(22)</sup> en *Xyrauchen taxanus* CL<sub>50</sub>-96 h de 0,090 mg Hg/l.

### Histopatología

Mediante el análisis histopatológico se evidenciaron lesiones en branquias (Figura 1). En ellas se observaron lesiones compatibles como el desprendimiento de las células epiteliales y aneurismas. Las lesiones evidenciadas tales como desprendimiento de células epiteliales y aneurismas, tuvieron un comportamiento de severidad dependiente de la concentración, siendo menor en concentraciones bajas y mayor en concentraciones altas.

La ruptura del epitelio branquial puede darse como resultado a la exposición de un

compuesto irritante <sup>(6)</sup>. Por otro lado, se ha registrado que el mercurio puede inducir cambios en el tamaño celular al interactuar con los radicales tiol de las membranas celulares, alterando su permeabilidad sin comprometer la viabilidad celular <sup>(23)</sup>.



Figura 1. Branquias de alevinos de gamitana [*Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)]: tratamiento 3 (1 mg HgCl<sub>2</sub>/l), se evidencia desprendimiento epitelial branquial (flecha).

El dato obtenido en este estudio demuestra que la especie *Colossoma macropomum* muestra sensibilidad frente a este polutante en comparación con otras especies ya registradas y sirve como bioindicador de toxicidad por contaminación por mercurio <sup>(24)</sup>. Además, asociado a las prácticas industriales así como la minería, el mercurio puede representar un alto riesgo para el medio ambiente debido a su alta toxicidad, reflejando así una posible causa de injuria o factor nocivo para las poblaciones de peces y otros animales acuáticos <sup>(23) (25) (26) (27) (28) (29)</sup>, además de perjudicar a comunidades adyacentes que tengan como fuente de alimento y de ingresos la actividad piscícola <sup>(30) (31) (32) (33) (34)</sup>.

### Agradecimientos

El autor agradece a la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, por haberme brindado los materiales necesarios para la ejecución de los Bioensayos y otras actividades que sin ser estrictamente de bioensayos fueron vitales para continuar durante la investigación.

### Referencias

1. Iannacone J, Alvariano L. Ecotoxicidad aguda del cinc sobre el "guppy" *Poecilia reticulata*. Wiñay Yachay. 1998; II(3): p. 67-74.
2. Iannacone J, Alvariano L, Gutierrez A. Cinco ensayos ecotoxicológicos para evaluar metales pesados en el agua dulce. In Bol. de la Sociedad Química del Perú.; 1999. p. 30-45.
3. Geier D, King P, Sykes L, Geier M. A comprehensive review of mercury provoked autism. The Indian Journal of Medical Research. 2008; IV(128): p. 383-411.
4. Appleton J, Williams T, ORBEA H, CARRASCO M. Fluvial contamination associated with artisanal gold mining in the Ponce Enríquez, Protovelo - Zaruma and Nambija areas, Ecuador. 2001; 131(1-4): p. 19-39.
5. Araujo-Lima C, GOULDING M. So fruitfull a fish (Ecology, Conservation and Aquaculture) of the Amazon's Tambaqui. In LOUBENS G PJ. Biologie de *Colossoma macropomum* (Teleostei: Serrasalmidade) dans le bassin du Mamoré (Amazonie bolivienne). Ichtyol. Explor. Freshwaters.; 1997. p. 96.
6. Ramírez-Duarte W, Rrondón I, Vidal H, Eslava-Mocha P. Toxicidad aguda y lesiones histopatológicas en cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) expuestas a la muestra de herbicida Roundup® mas el surfactante Cosmoflux® 411f. MZV Córdoba. 2009; 14(1): p. 1563-1575.
7. Álvarez S, Jessick A, Palacio J, KOLOK A. Methylmercury concentrations in six fish species from two Colombian rivers. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2012; 88(1): p. 65-68.
8. Serrano M, Álvarez G, Vela M, Nunes F, López A. Determinación de la toxicidad aguda (CL<sub>50</sub>-96 h) del insecticida fipronil en alevines de *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Porto de Galinhas - PE. Brasil. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Sociedade Brasileira de Ecotoxicologia (SBE); 2012.
9. Balasubramanian S, Baby S, Arul P, Prakash M, Senthilraja P, Gunasekaran G. Antimicrobial properties of skin mucus from four freshwater cultivable fish (*Catla catla*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Labeo rohita* and *Ctenopharyngodon idella*). African Journal of Microbiological Research. 2012; 6(24): p. 5110-5120.
10. Esteban M. An overview of the immunological defenses in fish skin. International Scholarly Research Network Immunology. 2012; 2012: p. 1-29.
11. Ferguson H. Systematic pathology of fish. Segunda ed. London: London: Scotian Press; 2012.
12. Naranjo-Gómez J, Vargas L, Rondón I. Toxicidad aguda de cloruro de mercurio (HgCl<sub>2</sub>) en cachama blanca *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818). Actualidad biológica. 2013; 35(98): p. 85-93.
13. Ishikawa N, Tavres M, Lombardi J. Acute toxicity of mercury (HgCl<sub>2</sub>) to Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Boletim do Instituto de Pesca. 2007; 33(1): p. 99-104.
14. Hirt L, Dimitrovic H. Toxicidad y respuesta histopatológica en *Cichlasoma dimerus* (Pisces, Cichlidae) expuestos a bicloruro de mercurio. Ictiología. 2002; 10(1/2): p. 37-52.
15. Bano Y, Hasan M. Histopathological lesions in the body organs of cat-fish (*Heteropneustes fossilis*) following mercury intoxication. J Environ Sci Health B. 1990 February; 25(1): p. 67-85.
16. Pandey A, Mohamed M, George K. Histopathological alterations in liver and intestine of *Liza parsia* (Hamilton-Buchanan) in response to mercury toxicity. J. Adv. Zool. 1994; 15: p. 18-24.
17. Oliveira C, Berger L, Pelletier E, Rouleau C. Histopathological evidence of inorganic mercury and methyl mercury toxicity in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Environmental research. 2002 July; 90(2012): p. 217-225.
18. Allen P. Changes in the haematological profile of the cichlid *Oreochromis aureus* (Steindachner) during acute inorganic mercury intoxication. Comp. Biochem. Physiol. 1994;

- 108(1): p. 117-121.
19. Gill T, Pant J. Mercury-induced blood anomalies in the freshwater teleost *Barbus conchoniuis* Ham. *Water Air Soil Pollut.* 1985; 24(2): p. 165-171.
  20. Ramamurthi R, Naidu K, Subbiah M, Balaji N, Rao M. Toxicity of mercury to some freshwater organisms. *Geobios (Jodhpur Journal)*. 1982; 9: p. 89-90.
  21. Charuwan-SOMSIRI L. Acute toxicity of mercury, copper and zinc to the Nile tilapia (*Tilapia nilotica*, Linnaeus, 1757). *Thai Fish Gazette*. 2008; 35(3): p. 313-318.
  22. Buhl K. Relative sensitivity of three endangered fishes, Colorado squawfish, bonytail, and razorback sucker, to selected metal pollutants. *Ecotoxicology Environmental and Safety*. 1997; 37(2).
  23. Aduayom I, Denizeau F, Jumaire C. Multiple effects of mercury on cell volume regulation, plasma membrane permeability, and thiol content in the human intestinal cell line Caco-2. *Cell Biology and Toxicology*. 2005; 21(3-4): p. 163-179.
  24. Zelikoff J, Raymond A, Carlson E, Li Y, Beaman J, Anderson M. Biomarkers of immunotoxicity in fish: from the lab to the ocean. *Toxicology letters*. 2000; 112-113(325-331).
  25. Das K, Siebert U, Gillet A, Dupont A, Di-Poi C, Fonfara S, Mazzucchelli G, De Pauw E, De Pauw-Gillet M. Mercury immune toxicity in harbour seals: links to in vitro toxicity. *Environmental health*. 2008; 7(52): p. 1-17.
  26. Day R, Segars A, Arendt M, Lee A, Peden-Adams M. Relationship of blood mercury levels to health parameters in the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *Environmental Health Perspectives*. 2007; 115(10): p. 1421-1428.
  27. Monteiro D, Rantin F, Kalinin A. Inorganic mercury exposure: toxicological effects, oxidative stress biomarkers and bioaccumulation in the tropical freshwater fish matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829). *Ecotoxicology*. 2010; 19(1): p. 105-123.
  28. Pelissó S, Muñoz, M, Carballo, Sanchez-Vizcaíno J. Determination of the immunotoxic potential of heavy metals on the functional activity of bottlenose dolphin leukocytes in vitro. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. ; 121(3-4): p. 189-198.
  29. Sheir S, Handy R, Galloway T. Tissue injury and cellular immune responses to mercuric chloride exposure in the common mussel *Mytilus edulis*: modulation by lipopolysaccharide. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2010; 73(6): p. 1338-1344.
  30. Dorea J, Moreira B, East G, Barbosa A. Selenium and mercury concentrations in some fish species of the Madeira River, Amazon Basin, Brazil. *Biological Trace Element Research*. 1998; 65: p. 211-220.
  31. Fillion M, Mergler D, Passos C, Larribe F, Lemire M, Guimaraes J. A preliminary study of mercury exposure and blood pressure in the Brazilian Amazon. *Environmental Health*. 2006; 5(29).
  32. Kempuraj D, Asadi S, Zhang B, Manola A, Hogan J, Peterson E, Theoharides T. Mercury induces inflammatory mediator release from human mast cells. *Journal of Neuroinflammation*. 2010; 7(20).
  33. Schober S, Sinks T, Jones R, Bolger P, McDowell M, Osterloh J, Garret E, Canady R, Dillon C, Sun Y, Joseph C, Mahaffey K. Blood mercury levels in US children and women of childbearing age, 1999-2000. *The Journal of the American Medical Association*. 20003; 289(13): p. 1667-1674.
  34. Schwenk M, Klein R, Templeton D. Immunological effects of mercury (IUPAC Technical Report). *International Union of Pure and Applied Chemistry*. 2009; 81(1): p. 153-167.