

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO  
PÓS GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS  
LABORATÓRIO DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS**

**WENDEL DIAS CONSTANTINO**

**CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO EM *Didelphis aurita* DE UMA PAISAGEM  
FLORESTAL IMPACTADA POR DUTOS NA MATA ATLÂNTICA  
BRASILEIRA**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES**

**2024**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO  
PÓS GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS  
LABORATÓRIO DE CIÊNCIAS AMBIENTAIS**

**WENDEL DIAS CONSTANTINO**

**CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO EM *Didelphis aurita* DE UMA PAISAGEM  
FLORESTAL IMPACTADA POR DUTOS NA MATA ATLÂNTICA  
BRASILEIRA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro como requisito para obtenção do título de Mestre em Ecologia.

Orientadora: Dra. Caryne Aparecida de Carvalho Braga

Coorientador: Dr. Leandro de Oliveira Drummond

**CAMPOS DOS GOYTACAZES**

**2024**


**CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO EM *Didelphis aurita* DE UMA  
PAISAGEM FLORESTAL IMPACTADA POR DUTOS NA MATA ATLÂNTICA  
BRASILEIRA**

**WENDEL DIAS CONSTANTINO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro como requisito para obtenção do título de Mestre em Ecologia.


Aprovada em: 07/02/2024

**Banca examinadora:**

Documento assinado digitalmente  
 **CLAUDIO EDUARDO DE AZEVEDO E SILVA**  
Data: 02/05/2024 15:47:05-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

**Dr. Cláudio Eduardo de Azevedo e Silva – UFRJ**

Documento assinado digitalmente  
 **INACIO ABREU PESTANA**  
Data: 29/04/2024 15:21:26-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

**Dr. Inácio Abreu Pestana - UFF**

Documento assinado digitalmente  
 **MARIANA SILVA FERREIRA**  
Data: 01/05/2024 13:06:49-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

**Dr<sup>a</sup>. – Mariana Silva Ferreira - UESC**

Documento assinado digitalmente  
 **CARYNE APARECIDA DE CARVALHO BRAGA**  
Data: 29/04/2024 15:15:01-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Dr<sup>a</sup>. Caryne Braga – UENF (Orientadora)**

Documento assinado digitalmente  
 **LEANDRO DE OLIVEIRA DRUMMOND**  
Data: 02/05/2024 17:46:19-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Dr<sup>o</sup>. Leandro de Oliveira Drummond – UENF (Coorientador)**

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém  
ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

– *Arthur Schopenhauer*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, pela vida, por todas as oportunidades dadas, por nunca ter me desamparado e por sempre guiar o meu caminho mesmo nos momentos mais difíceis.

Agradeço aos meus pais, Ceila Maria Dias Constantino e Aronildo Constantino, que confiaram no meu futuro e me deram todo o tipo de apoio que eu precisaria, sem hesitar, para que eu pudesse concluir mais essa etapa. Obrigado pelos valores que me passaram, por sempre aceitarem minhas escolhas e estarem do meu lado e por nunca me deixarem faltar nada.

Agradeço aos meus irmãos, Anna Caroline Dias Constantino e Wilgner Dias Constantino, pelo suporte, amor, pelas afilhadas que são os maiores presentes da minha vida e por servir como fonte de inspiração para que eu pudesse aprender e repassar esse conhecimento.

Agradeço a todo o corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais por ter me proporcionado horas de conhecimento imprescindíveis.

Agradeço a minha orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Caryne Braga, pela oportunidade de entrar no seu grupo de estudos e fazer parte da equipe. Agradeço por me ajudar a compreender os aspectos da ecologia sob um ponto de vista mais crítico, pela disposição e paciência para discutir os mais diversos tópicos do trabalho. Agradeço também por acreditar no meu potencial e no projeto, por toda a paciência e pela amizade.

Agradeço ao meu coorientador, Dr. Leandro de Oliveira Drummond por todas as ideias desde o início do projeto, orientações, conversas e conhecimentos compartilhados no projeto. Agradeço a você pela paciência, disponibilidade e por me ensinar aspectos valiosos sobre a geoquímica.

Agradeço a minha madrinha, Adriane Santos Dias Gonçalves, por estar presente na minha vida desde que eu me entendo por gente, por todo carinho e amor empregado na minha criação, por sempre estar do meu lado nas minhas

vi escolhas, por todos os conselhos e por toda ajuda durante a minha vida acadêmica.

Agradeço aos demais familiares por sempre estarem presente, sempre se preocuparem e incentivarem a realização desse sonho.

Agradeço aos meus amigos de infância e da vida por todo o suporte, incentivo, conselhos e todos os momentos compartilhados ao longo da vida.

Agradeço a todos os colegas e amigos do grupo de pesquisa e do laboratório, principalmente ao Guilherme, ao Ian e ao Juan, por todo o apoio e ajuda durante essa etapa, por sempre estarem por perto para ajudar em qual fosse a situação e por todo o conhecimento compartilhado.

Agradeço a FAPERJ e ao Prof. Carlos Eduardo de Rezende pela colaboração e fomento durante todo o mestrado e a todas as instituições que viabilizaram a realização desse projeto.

A todos, muito obrigado!

## SUMÁRIO

<b>Lista de tabelas.....</b>	<b>X</b>
<b>Lista de figuras .....</b>	<b>XI</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>XIII</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>XIV</b>
<b>Este estudo .....</b>	<b>XV</b>
<b>1. Introdução geral.....</b>	<b>16</b>
<b>Artigo .....</b>	<b>32</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>32</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>33</b>
<b>2. Métodos.....</b>	<b>37</b>
2.1 Área de estudo .....	37
2.2 Amostragem .....	38
2.3 Solubilização das amostras de pelos .....	40
2.4 Determinação de mercúrio total (THg) em amostras de pelos.....	41
2.5 Análise de isótopos estáveis de nitrogênio.....	42
2.6 Análises estatísticas .....	42
<b>3. Resultados .....</b>	<b>43</b>
3.1 Concentração de THg em pelos de <i>Didelphis aurita</i> .....	43
3.2 Influência da massa corporal, nível trófico, sexo e local sobre a concentração de THg.....	46
<b>4. Discussão.....</b>	<b>48</b>
4.1 Concentração de THg em pelos de <i>Didelphis aurita</i> .....	48
4.2 Influência das variáveis biológicas e ecológicas.....	51
<b>5. Conclusões .....</b>	<b>56</b>
<b>6. Agradecimentos.....</b>	<b>57</b>
<b>7. Referências .....</b>	<b>57</b>
<b>8. Material Suplementar .....</b>	<b>70</b>
<b>2. Considerações finais.....</b>	<b>78</b>
<b>3. Referências bibliográficas .....</b>	<b>79</b>

## LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

**Cu** – Cobre

**Mn** – Manganês

**Se** – Selênio

**Zn** – Zinco

**As** – Arsênio

**Pb** – Chumbo

**Cd** – Cádmio

**Hg** – Mercúrio

**HgS** – Sulfeto de mercúrio

**Hg<sup>+1</sup>** – Mercúrio monovalente

**Hg<sup>0</sup>** – Mercúrio elementar

**Hg<sup>2+</sup>** – Mercúrio divalente

**MeHg** – Metilmercúrio

**Cl** – Cloro

**COD** – Carbono orgânico dissolvido

**LGN** – Líquido de gás natural

**Ni** – Níquel

**Cr** – Cromo

**S** – Enxofre

**H** – Hidrogênio

**O** – Oxigênio

**N** – Nitrogênio

**$\delta^{15}\text{N}$**  – Resultado de  $(^{15}\text{N} / ^{14}\text{N amostra} / ^{15}\text{N} / ^{14}\text{N Pee Dee}^{-1}) * 100$



**THg** – Mercúrio total

**UCs** – Unidades de Conservação

**REBIO União** – Reserva Biológica União

**DI** – Dois Irmãos

**FL** – Flandria

**IG** – Iguapê

**UA** – União A

**UB** – União B

**UC** – União C

**UD** – União D

**APA** – Área de Proteção Ambiental

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** – Peróxido de hidrogênio

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** – Ácido sulfúrico

**HNO<sub>3</sub>** – Ácido nítrico

**KMnO<sub>4</sub>** – Permanganato de potássio

**NH<sub>2</sub>OH** – Hidroxilamina

**BrCl** – Cloreto de bromo

**SnCl<sub>2</sub>** – Cloreto estanhoso

**USEPA** – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

**LCA** – Laboratório de Ciências Ambientais

**UENF** – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

**FAPERJ** – Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

## LISTA DE TABELAS

### Artigo

- Tabela 1** - Amostras divididas por sexo e classe etária em cada área de 40 amostragem.
- Tabela 2** - Média  $\pm$  desvio padrão e intervalos mínimo e máximo das concentrações de THg e dos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  em amostras de pelo 44 de *Didelphis aurita*. Letras minúsculas diferenciam estatisticamente as médias entre as classes etárias, considerando 95% de certeza.
- Tabela 3** - Resumo dos resultados da seleção de modelos de acordo com o 46 critério de informação de Akaike de segunda ordem (AICc) utilizado para selecionar os modelos mais parcimoniosos. (A) análise realizada utilizando todos os animais e (B) utilizando apenas subadultos e adultos.

### Material Suplementar

- Tabela 1** - Coordenadas geográficas das áreas de amostragem em cada 70 Unidade de Conservação.
- Tabela 2** - Parâmetros fisiológicos e concentrações de  $\delta^{15}\text{N}$  (‰) e THg 70 ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  [peso seco]) de todos os indivíduos amostrados.
- Tabela 3** - Matriz da ANOVA e do teste post-hoc de Tukey para a relação 74 entre a classe etária e o sexo com as concentrações de THg nos pelos de gambás do presente estudo.
- Tabela 4** - Matriz da ANOVA e do teste post-hoc de Tukey para a relação 74 entre a classe etária e o sexo com os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  nos pelos de gambás do presente estudo.
- Tabela 5** - Concentrações de Hg (média  $\pm$  desvio padrão [intervalo mínimo e 77 máximo]) relatadas para amostras de pelos em diversas espécies de mamíferos terrestres de pequeno e médio porte pelo mundo.

## LISTA DE FIGURAS

### *Introdução geral*

- Figura 1** - Esquematização da ciclagem biogeoquímica do mercúrio (Hg). 18  
Fonte:  
Retirado de Engstrom (2007).
- Figura 2** - Área impactada pela presença de uma faixa de dutos na Reserva 23 Biológica União, Rio de Janeiro. Os dutos estão enterrados e há a remoção periódica da vegetação nesta faixa. Fonte: Juan David Rojas Arias.
- Figura 3** - Indivíduos jovens de *Didelphis aurita*. Fonte: Juan David Rojas Arias. 28

### *Artigo*

- Figura 1** - Localização geográfica da região de estudo. A linha em preto e 37 amarelo representa uma faixa de dutos; o verde-claro, as florestas e, os pontos em vermelho, as áreas de amostragem: Rebio União A (UA); Rebio União B (UB); Rebio União C (UC); Rebio União D (UD); Fazenda Dois Irmãos (DI); Fazenda Iguape (IG) e Flandria (FL).
- Figura 2** - Ilustração do desenho amostral. A caixa em cinza representa a faixa 39 em dutos; a linha sólida em preto os transectos de armadilha e os círculos em laranja as estações de captura. Do lado esquerdo: (A) armadilha do tipo *Tomahawk*, (B) armadilha do tipo *Sherman* e (C) linha de *pitfall trap*.
- Figura 3** - (A) Concentração média de THg e (B) valores médios de  $\delta^{15}\text{N}$  para as 45 diferentes classes etárias.

**Figura 4 -** Regressão múltipla das concentrações de THg nos pelos apenas de 47 subadultos e adultos utilizando como preditores a massa corporal e o nível trófico. A explicação total do modelo ( $R^2_{\text{modelo}}$ ) resulta da soma das explicações parciais ( $R^2_{\text{parcial}}$ ) de cada variável. As linhas tracejadas indicam o plano de regressão múltipla entre as variáveis preditoras.

**Figura 5 -** (A) Correlação entre o nível trófico e as concentrações de THg nos 48 pelos de todos os indivíduos analisados e (B) apenas em indivíduos subadultos e adultos. Os modelos de regressão são indicados pelas linhas sólidas em preto e as áreas sombreadas em azul claro indicam os intervalos de confiança de 95% do modelo. Os pontos em vermelho claro indicam indivíduos jovens, os verdes indivíduos subadultos e os pretos os adultos.

#### *Material suplementar*

**Figura 1 -** Correlação entre o nível trófico e as concentrações de THg nos 76 pelos de todos os indivíduos analisados com os modelos de regressão representando em (A) apenas jovens, (B) apenas subadultos e (C) apenas adultos. Os modelos de regressão são indicados pelas linhas sólidas e as áreas sombreadas indicam os intervalos de confiança de 95% do modelo. Os pontos em vermelho claro indicam indivíduos jovens, os verdes indivíduos subadultos e os pretos os adultos.

## RESUMO

O gambá-de-orelha-preta (*Didelphis aurita*) é um marsupial didelfídeo que pode ocorrer em ambientes prístinos, mas também se adapta facilmente a ambientes antrópicos na Mata Atlântica. Esse bioma é considerado um *hotspot* de biodiversidade, com extensas áreas alteradas devido à urbanização, agricultura e, em menor escala, por estruturas lineares, como a implantação de dutos de petróleo. Em ambientes com tais dutos, os animais podem estar expostos a contaminantes, como o mercúrio (Hg), proveniente do petróleo. Apesar da sua alta toxicidade e potencial de bioacumular e biomagnificar nos organismos, a compreensão dos impactos do Hg sobre a fauna silvestre, especialmente no Brasil, ainda é limitada. Portanto, o principal objetivo desse trabalho é investigar a contaminação ambiental por Hg em florestas impactadas por dutos na Mata Atlântica brasileira, assim como avaliar a influência de variáveis biológicas e ecológicas (massa corporal, sexo, nível trófico) sobre as concentrações totais de mercúrio (THg) em *D. aurita*. Para tanto, determinamos as concentrações de THg em amostras de pelo de 88 indivíduos coletados em duas Unidades de Conservação impactadas por dutos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. As concentrações de THg variaram de 0,11 a 17,43 mg·kg<sup>-1</sup> e foram influenciadas principalmente pela massa corporal ( $R^2_{\text{parcial}} = 0,143$ ) e nível trófico ( $R^2_{\text{parcial}} = 0,064$ ) dos indivíduos. Indivíduos maiores e mais pesados exibiram as concentrações mais elevadas de THg, atribuídas à exposição a longo prazo e à bioacumulação. Foi detectada uma correlação positiva e altamente significativa entre o nível trófico ( $\delta^{15}\text{N}$ ) e as concentrações de THg, excluindo jovens ( $R^2 = 0,207$ ;  $p < 0,001$ ). No entanto, essa relação ficou mascarada quando os jovens foram incluídos ( $R^2 < 0,001$ ;  $p = 0,973$ ), uma vez que os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  destes é resultado do consumo do leite materno e, portanto, reflete o nível trófico das mães, embora a concentração de THg no pelo continue baixa, indicando que a transferência materna de Hg é insignificante para os gambás. Contrariamente às expectativas, o sexo não foi um preditor importante das concentrações de THg nestes animais (ANOVA Fatorial:  $F = 0,038$ ;  $p = 0,846$ ).

## ABSTRACT

The black-eared opossum (*Didelphis aurita*) is a didelphid marsupial that can occur in pristine environments, but also readily adapts to anthropic environments in the Atlantic Forest. This biome is considered a biodiversity hotspot, with extensive areas altered due to urbanization, agriculture, and, to a lesser extent, linear structures such as the installation of oil pipelines. In environments with such pipelines, animals may be exposed to contaminants such as mercury (Hg), originating from petroleum. Despite its high toxicity and potential for bioaccumulation and biomagnification in organisms, understanding the impacts of Hg on wildlife, especially in Brazil, is still limited. Therefore, the main objective of this study is to investigate environmental contamination by Hg in forests impacted by pipelines in the Brazilian Atlantic Forest, as well as to evaluate the influence of biological and ecological variables (body mass, sex, trophic level) on total mercury concentrations (THg) in *D. aurita*. To this end, we determined THg concentrations in hair samples from 88 individuals collected in two Conservation Units impacted by pipelines in the state of Rio de Janeiro, Brazil. THg concentrations ranged from 0.11 to 17.43 mg·kg<sup>-1</sup> and were mainly influenced by body mass ( $\text{partial}R^2 = 0.143$ ) and trophic level ( $\text{partial}R^2 = 0.064$ ) of the individuals. Larger and heavier individuals exhibited higher THg concentrations, attributed to long-term exposure and bioaccumulation. A positive and highly significant correlation was detected between trophic level ( $\delta^{15}\text{N}$ ) and THg concentrations, excluding juveniles ( $R^2 = 0.207$ ;  $p < 0.001$ ). However, this relationship was masked when juveniles were included ( $R^2 < 0.001$ ;  $p = 0.973$ ), as their  $\delta^{15}\text{N}$  values result from maternal milk consumption and therefore reflect the trophic level of the mothers, although the THg concentration in the hair remains low, indicating that maternal transfer of Hg is insignificant for opossums. Contrary to expectations, sex was not a significant predictor of THg concentrations in these animals (Factorial ANOVA:  $F = 0.038$ ;  $p = 0.846$ ).

## ESTE ESTUDO

O objetivo deste estudo foi investigar a contaminação ambiental por mercúrio em fragmentos florestais impactados por dutos na Mata Atlântica brasileira, utilizando *Didelphis aurita* como modelo de estudo. Ainda, avaliamos a influência de variáveis biológicas e ecológicas (massa corporal, sexo e nível trófico) sobre as concentrações de mercúrio em amostras de pelos desses animais.

Esta dissertação está estruturada em duas partes principais: (1) uma introdução abrangente que aborda a contaminação global por mercúrio, seu ciclo biogeoquímico e os impactos gerais em mamíferos, bem como os aspectos ecológicos da espécie utilizada como modelo de estudo, e (2) um artigo científico que apresenta os resultados desta pesquisa.

## 1. Introdução Geral

O conceito “elementos traço” refere-se a elementos presentes em concentrações traço nos compartimentos ambientais (Sparks, 1995). Certos elementos desempenham papéis essenciais em vários processos biológicos e, portanto, são de grande importância na química da vida. Dentre estes, o cobre (Cu), manganês (Mn), selênio (Se) e zinco (Zn) têm funções metabólicas essenciais nos organismos e são necessários em pequenas concentrações, porém, podem apresentar toxicidade quando em excesso (Semedo, 2014). Por outro lado, elementos traço como o arsênio (As), chumbo (Pb), cádmio (Cd) e o mercúrio (Hg) não possuem funções metabólicas essenciais reconhecidas e são extremamente tóxicos, mesmo em baixas concentrações (Kang *et al.*, 2015).

Dentre os elementos traço de maior interesse ambiental, o Hg tem sido objeto de atenção especial em pesquisas relacionadas à ecotoxicologia e contaminação ambiental (Selin, 2009). Essa ênfase é dada pelo fato de o Hg ser considerado um elemento altamente tóxico tanto para a saúde humana quanto para a fauna silvestre, além de ser amplamente disseminado em escala global, principalmente pelo transporte atmosférico (Silva-Filho *et al.*, 2006). Esse elemento apresenta grande potencial de bioacumulação e biomagnificação nos organismos, incluindo humanos (Wolfe e Norman, 1998; Grigal, 2002; Witt *et al.*, 2020).

O Hg está presente em todos os compartimentos ambientais (atmosférico, terrestre, aquático e biótico) e ocorre naturalmente no ambiente. Apesar de ser um elemento raro na crosta terrestre e nos solos superficiais de áreas intocadas (com concentrações médias variando entre 0,06 a 0,07 mg·kg<sup>-1</sup>) (Wedepohl, 1995; Wang *et al.*, 2012), o Hg possui uma alta pressão de vapor e longo tempo de residência na atmosfera, sendo transportado por correntes de ar para regiões distantes de suas fontes pontuais de emissão. No entanto, em regiões próximas a fontes antrópicas pontuais, as concentrações de Hg nos solos superficiais podem exceder de duas até quatro ordens de magnitude a média global (Wang *et al.*, 2012; Li e Jia, 2018). Recentemente, a conscientização sobre a toxicidade do Hg levou a diminuição de suas emissões atmosféricas (Slemr *et al.*, 2011). No entanto, atividades antrópicas como a queima de carvão e fundição de minérios metálicos continuam a emitir grandes quantidades de Hg

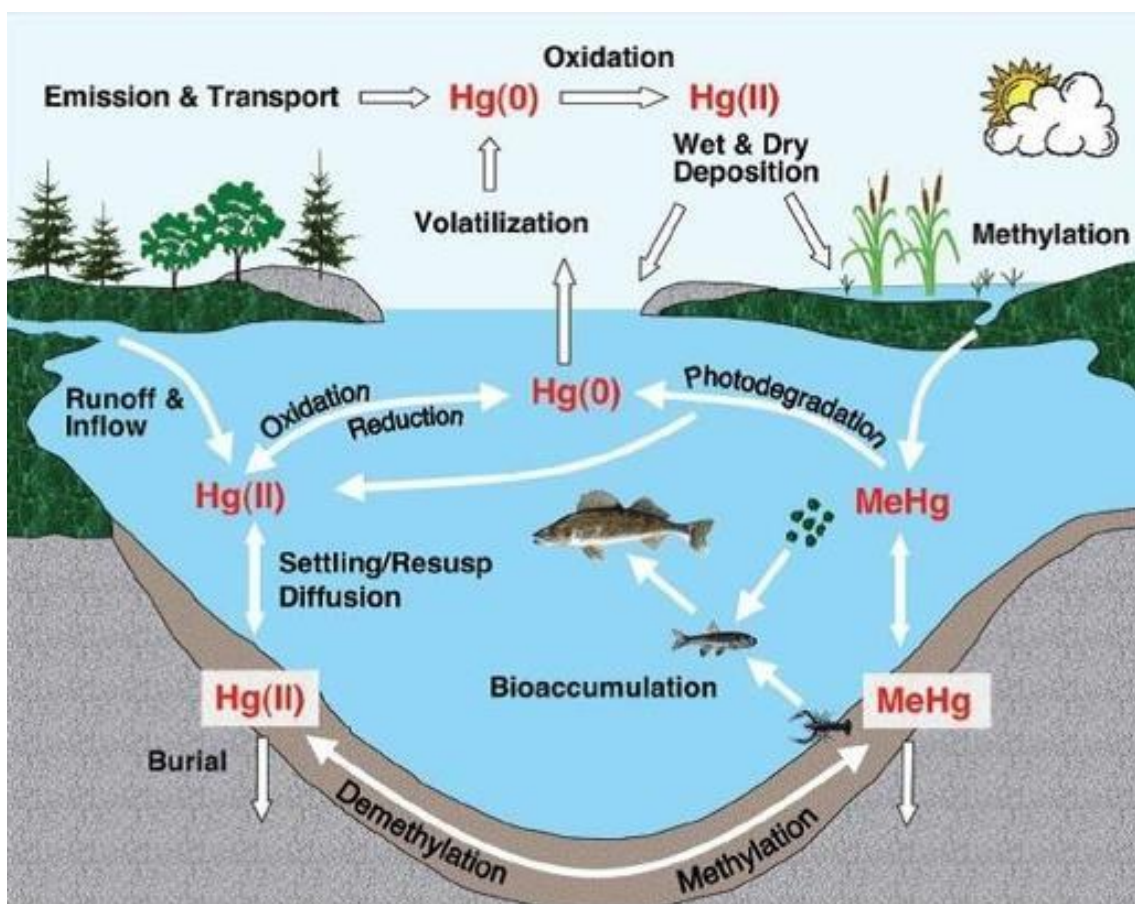


no ambiente (Becker e Rinklebe, 2017). De acordo com Streets *et al.*, (2017) a concentração de Hg no ambiente é muito maior quando comparada ao período pré-industrial, com um aumento de 3,2 ordens de magnitude em relação à 1850 (revolução industrial).

A utilização intencional do Hg em atividades antrópicas ao longo dos últimos séculos tem sido responsável pelas elevadas concentrações desse elemento em ambientes contaminados. Nesses ambientes, as concentrações elevadas de Hg estão associadas à sua utilização na fabricação de produtos (e.g. amálgamas dentários, baterias, lâmpadas, termômetros), a mineração artesanal de ouro de pequena escala e a queima de biomassa e combustíveis fósseis, sendo esta última a principal fonte antrópica de emissão de Hg no ambiente atualmente (Driscoll *et al.*, 2013; Kocman *et al.*, 2017; Streets *et al.*, 2017).

Em contraste, em ambientes prístinos, a concentração de Hg está associada à sua ocorrência natural no ambiente, sendo principalmente observado em minerais de interesse cultural, como o cinábrio ou sulfeto de mercúrio (HgS). Devido ao seu valor cultural histórico, a exploração do HgS foi amplamente utilizada por civilizações antigas, especialmente para a produção de pinturas corporais (Montanari, 2019) e de locais sagrados (e.g. capelas e igrejas) (Rúa *et al.*, 2017). Adicionalmente, a exploração do carvão mineral para fins econômicos também contém traços desse elemento, assim como outros combustíveis fósseis, considerados atualmente a principal matriz energética da civilização contemporânea. Ainda, outras fontes naturais de Hg incluem o intemperismo das rochas, atividades vulcânicas, a desgaseificação da crosta terrestre (UNEP, 2013; Behrooz e Poma, 2020) e a erosão dos solos, que representam o principal reservatório natural de Hg (Talmage e Walton, 1993; Boening, 2000; WHO, 2003).

O Hg, diferentemente de outros elementos traço, apresenta relativa estabilidade química tanto em seu estado líquido quanto em sua fase gasosa, o que o torna um contaminante ubíquo (Selin, 2009). Dessa forma, a ciclagem biogeoquímica desse elemento abrange processos que ocorrem em quatro compartimentos ambientais interligados: atmosférico, terrestre, aquático e biótico (**Figura 1**) (Steffen *et al.*, 2008).



**Figura 1** – Esquemática da ciclagem biogeoquímica do mercúrio (Hg). Fonte: Retirado de Engstrom (2007).

O Hg é encontrado em formas tanto orgânicas quanto inorgânicas e, em sua forma inorgânica, possui três estados de oxidação distintos: (i) o mercúrio monovalente [ $\text{Hg}^{1+}$ ]; (ii) o mercúrio elementar [ $\text{Hg}^0$ ] e, (iii) o mercúrio divalente [ $\text{Hg}^{2+}$ ]. O  $\text{Hg}^{1+}$  é uma espécie química de baixa estabilidade e tende a ser rara no ambiente. O  $\text{Hg}^0$  é emitido por fontes geológicas, superfícies terrestres e oceânicas, bem como por fontes antrópicas, como a combustão do carvão (Selin, 2009). O  $\text{Hg}^0$  é um metal brilhante que se apresenta no estado líquido em condições normais de temperatura e pressão, sendo altamente volátil. Essa é a espécie química prevalente do Hg na atmosfera e, devido a sua baixa reatividade na fase gasosa, possui uma meia vida prolongada nesse compartimento (seis meses a um ano), permitindo seu transporte por massas de ar em escala global e precipitação mesmo em ambientes distantes de suas fontes de emissão (Sonke *et al.*, 2013; Lyman *et al.*, 2020).

Na atmosfera, a oxidação do  $\text{Hg}^0$  para  $\text{Hg}^{2+}$  é o principal processo pelo

qual o  $\text{Hg}^0$  é removido desse compartimento, mas o agente responsável por essa oxidação ainda não é completamente conhecido (Selin, 2009). O  $\text{Hg}^{2+}$  é depositado nos ecossistemas terrestres e aquáticos por meio de vias secas (e.g. associado ao material particulado) e úmidas (e.g. através de chuvas, neve), e é a espécie química mais prevalente do Hg em solos e águas superficiais. Geralmente, essa espécie química é encontrada em combinação com outros elementos (e.g. cloro [Cl], enxofre [S] e oxigênio [O]), sendo apresentada, em sua maioria, na forma de cristais ou sais iônicos de Hg (Sousa, 2019).

Após ser depositado, a maior parte do  $\text{Hg}^{2+}$  é revolatilizada de volta para a atmosfera, em um processo conhecido como reciclagem imediata (Selin *et al.*, 2008). A fração do Hg que não é revolatilizada pode ser adsorvida pela vegetação ou pelo solo, onde o Hg apresenta uma alta afinidade pela matéria orgânica e se liga fortemente a grupos reduzidos de S (Skylberg *et al.*, 2003), permanecendo imobilizado nesse compartimento por períodos que variam de séculos a milênios (Selin, 2009). Ainda, parte do Hg remanescente nos solos pode estar em solução, podendo sofrer metilação ou lixiviação ao longo do tempo, adentrando em ecossistemas aquáticos.

Nos ecossistemas aquáticos, o  $\text{Hg}^{2+}$  pode passar por um processo de redução, sendo convertido em  $\text{Hg}^0$  que, posteriormente, pode volatilizar para a atmosfera (Engstrom, 2007). Por outro lado, uma pequena fração do  $\text{Hg}^{2+}$  pode ser convertida biologicamente para a forma mais tóxica do Hg, o metilmercúrio (MeHg) (Siqueira *et al.*, 2005) no compartimento sedimentar. Essa conversão é facilitada devido às condições anaeróbicas, aos baixos valores de pH e à elevada biodisponibilidade de carbono orgânico dissolvido (COD) presentes nesse compartimento (Helmrich *et al.*, 2022).

O MeHg é uma forma orgânica e o processo de metilação é geralmente facilitado por bactérias redutoras de ferro e sulfato e arqueias metanogênicas (Gilmour *et al.*, 1998; Helmrich *et al.*, 2022). Esta é a forma mais tóxica do Hg e, ainda, a mais nociva ao ser humano e animais selvagens, com taxa de eliminação mais lenta nos organismos e, conseqüentemente, maior potencial de bioacumulação e biomagnificação quando comparada as formas inorgânicas (Wren, 1986; Tomza-Marciniak *et al.*, 2023). Dessa forma, animais mais velhos e de níveis tróficos superiores tendem a apresentar maiores concentrações de

Hg e maior risco aos seus efeitos tóxicos (Scheuhammer *et al.*, 2007; Witt *et al.*, 2020; Kehrig *et al.*, 2022). Em resumo, a ciclagem do Hg envolve sua emissão, por fontes naturais e/ou antrópicas, para o compartimento atmosférico, onde é transportado pelas correntes de ar. Posteriormente, é depositado e imobilizado em ecossistemas aquáticos e terrestres, entrando assim nas teias alimentares.

O Hg tem sido elencado como o terceiro contaminante mais perigoso em termos de exposição, de acordo com a lista prioritária da Agência Americana para o Registro de Substâncias Tóxicas e de Doenças desde 1981 (ATSDR, 2019). Uma vez que ocorre a exposição a esse elemento, efeitos letais e subletais podem acometer tanto os seres humanos quanto os animais. No caso específico do Hg, a literatura descreve diversos efeitos tóxicos, tais como problemas neurológicos, problemas cardíacos (Guallar *et al.*, 2002), aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, causando estresse oxidativo (Tomza-Marciniak *et al.*, 2023) e até mesmo casos de óbitos de seres humanos relacionados à ingestão de organismos aquáticos contaminados (Barkay *et al.*, 2003). Já em animais, foram observados problemas relacionados à coordenação motora (Klenavic *et al.*, 2008), além de afetar a sobrevivência e os aspectos reprodutivos (Wren, 1986). Nos mamíferos, em especial, o aumento das concentrações de Hg pode ter impactos na função e no desenvolvimento do sistema nervoso central, levando a problemas comportamentais e redução do sucesso reprodutivo (Wren, 1986; Lanocha *et al.*, 2014; Borchert *et al.*, 2019; Kosik-Bogacka *et al.*, 2020; Soresini *et al.*, 2021), o que acaba fornecendo um alerta precoce da saúde ecossistêmica.

Uma ampla gama de efeitos tóxicos associados ao Hg tem sido documentada em vários organismos. Por exemplo, foram observados efeitos na função motora em espécies como o vison americano *Neovison vison* (Schreber, 1777), na lontra canadense *Lontra canadensis* (Schreber, 1777) e na raposa vermelha *Vulpes vulpes* (Linnaeus, 1758) (Wren *et al.*, 1980). Além disso, foi relatado um caso de envenenamento fatal para pantera-da-florida *Puma concolor coryi* (Bangs, 1899) (Roelke *et al.*, 1991). Apesar dessas informações, os estudos sobre a contaminação ambiental por Hg têm se concentrado principalmente em ambientes e organismos aquáticos (Lino *et al.*, 2019; Pestana *et al.*, 2019; Constantino *et al.*, 2023), enquanto há uma lacuna

de informações sobre a contaminação e valores de referência para a maioria dos mamíferos e ambientes terrestres.

As informações sobre a dinâmica, a exposição e os impactos causados pelo Hg em ambientes terrestres são escassas (Gnamuš *et al.*, 2000). No entanto, a maior parte do Hg (cerca de 60%) é encontrado nesses ambientes (Patiño Roperó *et al.*, 2016). Ainda, a conversão biológica do Hg ao MeHg também ocorre em ambientes terrestres, como em solos encharcados de florestas tropicais (Bishop *et al.*, 2020). Apesar disso, a compreensão dos mecanismos que regem a distribuição espaço-temporal, a dinâmica e o destino ecotoxicológico desse elemento no ambiente e na vida selvagem ainda é limitada, especialmente para ambientes e vertebrados terrestres. Portanto, é necessário entender os processos que influenciam a assimilação e o acúmulo de Hg nesses ambientes e animais, para a implementação de programas de biomonitoramento eficazes (Wren 1986).

Os padrões de variação na concentração de Hg nos diferentes compartimentos ambientais são particularmente pouco conhecidos no Brasil, em especial fora da região Amazônica. O Brasil detém aproximadamente 15 a 20% da biodiversidade global e é o país com o maior número de espécies endêmicas (Buch *et al.*, 2015). Além disso, o país abriga dois dos 19 *hotspots* prioritários para a conservação da biodiversidade mundial (o Cerrado e a Mata Atlântica) (Buch *et al.*, 2015; Myers *et al.*, 2000). O domínio de Mata Atlântica, que se estende por uma vasta extensão continental de cerca de 1.105.000 km<sup>2</sup>, coincide com uma das áreas mais densamente habitadas do Brasil, enfrentando considerável pressão das atividades antrópicas (Costa-Neto *et al.*, 2019). Esta região é classificada como a quinta área florestal mais ameaçada em âmbito global (Buch *et al.*, 2015).

Este domínio, originalmente abrangendo uma extensão de mais de 4.000 km ao longo de todo o litoral brasileiro, sofreu uma redução significativa ao longo dos séculos devido ao desmatamento, resultando em uma cobertura nativa remanescente estimada em apenas 28% de sua área original (Rezende *et al.*, 2018). A maior parte do que resta da Mata Atlântica encontra-se fragmentada em pequenas porções, enquanto o rápido crescimento populacional e a urbanização que ocorrem dentro de seus limites continuam representando uma

ameaça persistente (Morellato e Haddad, 2000; Ribeiro *et al.*, 2009).

Ao longo dos séculos, ocorreu uma drástica redução na cobertura vegetal nativa deste domínio, que se deve principalmente à expansão das áreas urbanas, ao desmatamento para fins agrícolas (Fonseca, 1985) e, em menor escala, à implementação de infraestruturas lineares, como estradas, linhas de transmissão, gasodutos e oleodutos (Van der Ree *et al.*, 2015). Essas últimas atividades, além de fragmentarem as paisagens naturais, também representam fontes potenciais de contaminação ambiental por elementos traço, como o Hg (Cardona, 2015; Pereira, 2019).

Áreas florestais impactadas por infraestruturas lineares são frequentes em regiões onde atividades petroquímicas desempenham um papel econômico importante, como é o caso da região Norte Fluminense, sudeste do Brasil, que possui uma grande densidade de dutos para o transporte de petróleo, gás natural e líquido de gás natural (LGN). A faixa de dutos atravessa tanto áreas urbanas como florestais na Mata Atlântica brasileira, e os impactos dessas infraestruturas lineares vão além do desmatamento e fragmentação das florestas. Embora essas estruturas sejam majoritariamente enterradas no solo (**Figura 2**), casos de tentativas de furtos de óleo e derivados são habitualmente documentadas, podendo causar derramamento de componentes químicos e até explosões nos dutos. Desde 2017, cerca de 900 casos de furto ou tentativas de furto em dutos foram registrados no Brasil (Transpetro, 2021).



**Figura 2** – Área impactada pela presença de uma faixa de dutos na Reserva Biológica União, Rio de Janeiro. Os dutos estão enterrados e há a remoção periódica da vegetação nesta faixa. Fonte: Juan David Rojas Arias.

Devido à elevada toxicidade para a biota, a presença desses componentes químicos pode ocasionar impactos significativos quando liberados no ambiente. Componentes químicos inorgânicos altamente tóxicos, como elementos traço (e.g. As, Cr, Hg, Mn, Ni, Pb) são integrantes comuns do petróleo (Gonzalez *et al.*, 1987; Fahim *et al.*, 2010; Brandão, 2012; Jesus, 2013; Mojammal *et al.*, 2019), apesar deste ser composto principalmente por hidrocarbonetos (cerca de 90%) (Brandão, 2012). Assim, as tentativas de furto, bem como a combustão dos produtos de refino e derramamentos acidentais, são importantes vias de entrada dos elementos traço presentes no petróleo para o meio ambiente (Brandão, 2012). Embora existam processos de remediação, os elementos traço podem permanecer imobilizados no ambiente por tempo indefinido (Fahim *et al.*, 2010).

O Hg e seus compostos, em particular, são encontrados no petróleo e em seus derivados (e.g. gasolina, óleo diesel, querosene) em concentrações

que variam entre  $1 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  e  $10000 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , dependendo principalmente da origem geológica de extração (Mojammal *et al.*, 2019). Assim, a exploração e o transporte do petróleo por meio de oleodutos podem funcionar como fontes pontuais de contaminação para o ambiente circundante, especialmente devido ao aumento significativo no número de casos de tentativas de furtos, resultando em derramamentos nos solos e rios adjacentes (Laigner *et al.*, 2020; Transpetro, 2021). No entanto, apesar do evidente risco que esses locais representam, ao nosso conhecimento, inexistem estudos que avaliem as concentrações e os efeitos tóxicos do Hg no ambiente e na biota em áreas com a presença de tais dutos.

O avanço tecnológico acelerado e o aumento do impacto antrópico exigem o desenvolvimento de procedimentos e técnicas adequadas para monitorar a contaminação ambiental por Hg (Sobańska, 2005). De fato, diversas técnicas têm sido empregadas para avaliar as concentrações desse elemento no ambiente. Uma dessas abordagens é o uso de espécies biomonitoras, bioindicadoras e/ou biossentinelas, que são utilizadas para mitigar os efeitos das atividades antrópicas e avaliar a saúde do ambiente em que estas estão inseridas (Carignan e Villard, 2002).

As espécies biossentinelas são capazes de refletir as alterações provocadas pelas atividades antrópicas no ambiente em que estão inseridas. No contexto da contaminação ambiental por Hg, essas espécies podem fornecer informações importantes sobre as concentrações desse contaminante no ambiente por meio de determinações em seus tecidos, revelando a extensão da transferência de Hg do ambiente para a fauna. Portanto, o uso de espécies biossentinelas pode desempenhar um papel importante como fonte de alerta de quando as concentrações desse contaminante se tornem preocupantes em determinado ambiente.

Diversas espécies de biossentinelas têm sido empregadas como indicadores de contaminação ambiental em ecossistemas aquáticos e terrestres, abrangendo desde organismos microscópicos (e.g. plâncton) e plantas aquáticas, até vertebrados de diferentes níveis tróficos (e.g. anfíbios, aves, peixes e mamíferos) (Wren, 1986; Burger e Gochfeld, 2004; Zamani-Ahmadmohammadi *et al.*, 2009; Thakur *et al.*, 2013; Ali *et al.*, 2020; Behrooz e



Poma, 2020; Dibbern *et al.*, 2021; Dietz *et al.*, 2022). Estes estudos têm contribuído com informações importantes sobre a presença e os efeitos do Hg, ressaltando a importância desses organismos como biossentinelas em estudos relacionados à contaminação ambiental. Apesar de ser mais complicada e custosa a utilização de biossentinelas em estudos ecotoxicológicos, é crucial para avaliar a transferência efetiva do Hg dos compartimentos abióticos para as teias alimentares e seus impactos na vida selvagem.

Para os mamíferos terrestres, em especial, as principais vias de exposição ao Hg incluem o contato direto com a derme, seja pela pele ou pelo (Gerstenberger *et al.*, 2006; Kosik-Bogacka *et al.*, 2020); a inalação direta do Hg pelo sistema respiratório (Costa, 2020); a transferência materna (no caso dos filhotes), ocorrendo através da placenta e/ou do leite (Frodello *et al.*, 2000; Gall *et al.*, 2015) e, principalmente, pela dieta, que é considerada a principal via de exposição a esse contaminante (Witt *et al.*, 2020; Kalisinska *et al.*, 2021).

Por ser um elemento não essencial, ou seja, sem função biológica reconhecida, o Hg é altamente tóxico para a biota mesmo em baixas concentrações e, com isso, tende a ser eliminado pelos organismos. Diversas vias de excreção do Hg são conhecidas para vertebrados, tais como a transferência materna pela placentação e/ou lactação, no caso das fêmeas (Frodello *et al.*, 2000; Sánchez-Chardi *et al.*, 2007; Noël *et al.*, 2016; Bridges e Zalups, 2017) e a deposição no crescimento de anexos dérmicos, como pelos e penas, que posteriormente são perdidos ou gastos (Burger *et al.*, 1994; Shore *et al.*, 2011; Chételat *et al.*, 2020).

A avaliação do risco de exposição ao Hg de uma espécie depende da compreensão do contexto ecológico no qual a espécie interage com seu ambiente, incluindo o uso do habitat e o comportamento alimentar (Ackerman *et al.*, 2019), assim como da identificação das fontes e dos processos de ciclagem de Hg no ambiente (Chételat *et al.*, 2020). Especificamente, as concentrações de Hg em mamíferos terrestres são influenciadas por fatores ecológicos e fisiológicos, como diferenças entre faixas etárias e sexos, o tipo de habitat onde forrageiam, a dieta e a posição trófica na cadeia alimentar (Gall *et al.*, 2015).

Devido ao elevado potencial de biomagnificação do Hg ao longo das

cadeias alimentares, é esperado que quaisquer diferenças nos níveis tróficos dos indivíduos resultem em alterações na suscetibilidade à contaminação por Hg nos mesmos. Efetivamente, indivíduos adultos, que presumivelmente são de maior porte, tendem a se alimentar de presas maiores em um nível trófico superior (Evers *et al.*, 2005), o que implica que a diversidade de tamanhos nesses indivíduos possa ocasionar variações intraespecíficas nos níveis tróficos e também na concentração de Hg.

Nesse contexto, a aplicação de isótopos estáveis tem sido crescente em pesquisas ambientais e ecológicas, permitindo a exploração de aspectos como a dieta, movimentação e interações tróficas entre os organismos (Ben-David e Flaherty, 2012; Zhou *et al.*, 2020). Os isótopos são átomos de um mesmo elemento que se diferenciam no número de nêutrons e, portanto, possuem massas atômicas distintas. A notável relevância dessa abordagem em estudos ecológicos se dá pela variação previsível na composição isotópica, conforme a transferência dos elementos entre os compartimentos ambientais (Martinelli *et al.*, 2009). Entre os isótopos estáveis, aqueles cujos núcleos permanecem com características únicas e imutáveis, os mais frequentemente empregados em pesquisas ecológicas incluem enxofre (S), hidrogênio (H), oxigênio (O), carbono (C) e nitrogênio (N).

Especificamente, os isótopos estáveis de nitrogênio ( $^{15}\text{N} / ^{14}\text{N}$ , expressos como  $\delta^{15}\text{N}$ ) podem servir como indicadores ecológicos da dieta dos animais, fornecendo *insights* cruciais sobre a transferência de energia e nutrientes nas teias tróficas, além de poderem estar associados à exposição e transferência de contaminantes (Kehrig *et al.*, 2013; Chételat *et al.*, 2020). Ao longo das cadeias alimentares, os isótopos de N passam por um forte fracionamento devido aos processos metabólicos dos organismos (*e.g.* digestão e assimilação) (O'Connell, 2017), o que os torna indicativos da posição trófica dos indivíduos em relação aos consumidores (Cherel e Hobson, 2007). Esse fracionamento resulta em um gradual enriquecimento nos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  por nível trófico (cerca de 3 a 4 ‰). Consequentemente, organismos com valores mais elevados de  $\delta^{15}\text{N}$  ocupam níveis tróficos superiores (Chételat *et al.*, 2020). Considerando que o Hg é biomagnificado ao longo das teias tróficas, animais em níveis tróficos superiores tendem a acumular concentrações mais altas desse elemento em

seus tecidos. Dentre os animais utilizados em estudos ecotoxicológicos, os pequenos mamíferos terrestres são modelos de estudo promissores para investigar a contaminação ambiental causada pelo Hg e têm recebido destaque devido a sua eficácia como indicadores da exposição biológica a esse elemento. Espécies de pequenos mamíferos terrestres têm sido utilizados como biossentinelas em programas de monitoramento da contaminação ambiental por Hg em diversos países, como evidenciado por Wren, (1986); Gizejewska *et al.*, (2014); UN Environment, (2016); Soresini *et al.*, (2021). Esse destaque é dado, em parte, às características desses animais consideradas importantes para a seleção de espécies biossentinelas adequadas, como uma fácil capturabilidade, hábitos não migratórios, alta densidade populacional local e ecologia bem documentada (Wren, 1986; Behrooz e Poma, 2020), entre outras características relevantes encontradas na espécie alvo desse estudo.

O presente estudo visa utilizar o gambá-de-orelha-preta, *Didelphis aurita* Wied-Neuwied, 1826, como biossentinela, para entendermos os padrões de concentração de Hg nas regiões de baixada do estado do Rio de Janeiro. Essa espécie é um dos marsupiais mais comuns das regiões neotropicais e sugerido como espécie-chave para estruturação de comunidades de pequenos mamíferos. Endêmica da Mata Atlântica, possui ampla distribuição no sul, sudeste e nordeste do Brasil, ocupando ainda partes do sudeste do Paraguai e do Norte da Argentina (Cerqueira e Lemos, 2000), sendo encontrada principalmente em florestas de baixas altitudes próximas à cursos d'água (Emmons e Feer, 1990). *Didelphis aurita* é considerado um marsupial solitário, noturno e de pequeno/médio porte, com comprimento cabeça-corpo variando entre 275 e 498 mm e da cauda entre 315 e 477 mm (Faria *et al.*, 2019) (**Figura 3**).



**Figura 3** – Indivíduos jovens de *Didelphis aurita*. Fonte: Juan David Rojas Arias.

Estudos de ecologia alimentar tem caracterizado *D. aurita* como uma espécie principalmente onívora (Santori *et al.*, 1995; Freitas *et al.*, 1997; Cáceres e Monteiro-Filho, 2001). No entanto, ocasionalmente, a espécie é caracterizada como sendo predominantemente frugívora (Stallings, 1989; Leite *et al.*, 1994; Carvalho *et al.*, 2005), desempenhando papel fundamental na dispersão de sementes. De fato, *D. aurita* é uma espécie generalista e oportunista em sua dieta, se alimentando de acordo com a disponibilidade de recursos em sua área de vida (Cáceres, 2003; Ferreira *et al.*, 2007; Bezerra-Santos *et al.*, 2021). Indivíduos dessa espécie consomem uma ampla variedade de recursos alimentares, desde sementes, frutos, artrópodes e ovos até mesmo pequenos vertebrados, como aves e pequenos mamíferos terrestres (Cáceres e Monteiro-Filho, 2001; Vieira e Camargo, 2006; Ceotto *et al.*, 2009). Além disso, a presença de pupas de dípteros em suas fezes sugere um comportamento de necrofagia

(Lee e Cockburn, 1987).

Por outro lado, esses animais possuem uma ampla gama de predadores potenciais, como a onça pintada (Weckel *et al.*, 2006) e a onça parda (Rueda *et al.*, 2013), a jiboia (Cabral *et al.*, 2019), o lobo-guará (Bueno e Motta-Junior, 2009) e a jaguatirica (Huck *et al.*, 2017) que, associado à sua alta densidade populacional e biomassa corporal, indica que estes atuam como um importante elo na transferência do Hg nas teias tróficas.

*Didelphis aurita* possui ampla distribuição geográfica e grande plasticidade ecológica. Além de ser encontrada em ambientes com vegetação bem conservada, se adapta a ambientes modificados por atividades antrópicas (Bonvicino *et al.*, 2002; Olifiers *et al.*, 2005), o que confere possibilidade de comparação da contaminação por Hg em diferentes condições ambientais. Além disso, *D. aurita* apresenta alta densidade populacional local, hábitos não migratórios, fácil capturabilidade e ecologia bem documentada, critérios importantes para usá-la como espécie biossentinela, uma vez que permite aquisição e comparação ampla de dados (Wren, 1986; Costa, 2020). *Didelphis aurita* também apresenta área de vida limitada (variando de 0,2 a 3 hectares), o que permite sua utilização como indicadora de contaminação ambiental em áreas relativamente pequenas. Este aspecto é sugerido por Shooshtari *et al.*, (2023) como uma característica importante para a seleção do chacal dourado (*Canis aureus*) como biossentinela apropriado.

Ainda, por ter maior porte, *D. aurita* apresenta maior quantidade de pelos, principalmente quando comparada a outras espécies de marsupiais e de pequenos mamíferos (e.g. *Marmosops incanus*, *Metachirus myosurus*, *Nectomys squamipes*, *Philander quica*). Nesses animais, o pelo é considerado um mecanismo de excreção de contaminantes (Burger *et al.*, 1994; Chételat *et al.*, 2020). O cabelo/pelo de mamíferos é composto majoritariamente por queratina, uma proteína rica em aminoácidos contendo o grupamento sulfidril, que possui elevada afinidade de ligação por vários elementos traço (Rashed e Soltan, 2005; McLean *et al.*, 2009; Kosik- Bogacka *et al.*, 2020).

Esse tecido incorpora oligoelementos que circulam no sangue durante seu crescimento, tendo papel importante na regulação de elementos essenciais

(e.g. cobre, ferro, zinco). Adicionalmente, para elementos não essenciais, ou seja, sem funções biológicas reconhecidas, o pelo age como um tecido de depósito/acúmulo e tende a apresentar altas concentrações de Hg (Crewther *et al.*, 1965; Burger *et al.*, 1994). Portanto, a utilização desse tecido contribui como indicador menos invasivo de concentrações internas e da exposição ambiental de pequenos mamíferos, sugerindo seu uso para o biomonitoramento da contaminação ambiental por Hg na fauna. Além disso, por não levar os animais a óbito, esse método de amostragem pode ser utilizado em espécies ameaçadas ou em risco de extinção (Behrooz *et al.*, 2022).

A maioria dos estudos que avaliaram as concentrações de Hg em pequenos mamíferos terrestres se concentraram em análises de tecidos internos (e.g. baço, cérebro, coração, fígado, músculo, rim) (Gamberg *et al.*, 2005; Gizejewska *et al.*, 2014; Souza *et al.*, 2013; Borchert *et al.*, 2019; Kalisinska *et al.*, 2021), levando os animais a óbito. No entanto, estudos recentes têm demonstrado a viabilidade do uso amostras de pelos de mamíferos como indicadores fidedignos da contaminação ambiental e da carga corporal de Hg (Burger *et al.*, 1994; Evans *et al.*, 1998; McLean *et al.*, 2009; Hernout *et al.*, 2016; Soresini *et al.*, 2021).

Apesar de ser uma espécie bastante estudada e conhecida em seus aspectos ecológicos (e.g. Cáceres e Monteiro-Filho, 2001; Cáceres, 2003; Ferreira *et al.*, 2016; Brum *et al.*, 2022), nenhum estudo utilizou a espécie como biossentinela de qualquer tipo de contaminante ambiental. De maneira geral, existem apenas dois estudos que avaliaram as concentrações de Hg em pelos de marsupiais (*Didelphis virginiana*: Burger *et al.*, 1994; Cumbie e Jenkins, 1974), ambos no hemisfério norte, demonstrando uma escassez geral de dados deste tipo para o grupo.

Em contraste com o hemisfério Norte, não há estudos e dados sobre as concentrações de Hg em populações de marsupiais no hemisfério Sul. Nesse contexto, a presente dissertação tem como principal objetivo investigar a contaminação ambiental por Hg em fragmentos florestais impactados pela presença de dutos na Mata Atlântica brasileira utilizando os pelos de *Didelphis aurita* como indicadores. Ainda, avaliar a influência de variáveis biológicas e ecológicas sobre as concentrações de Hg nos pelos desses animais.

**TÍTULO:**

Concentração de mercúrio em *Didelphis aurita* de uma paisagem florestal impactada por dutos na Mata Atlântica brasileira

## Concentração de mercúrio em *Didelphis aurita* de uma paisagem florestal impactada por dutos de petróleo na Mata Atlântica brasileira

Wendel Dias Constantino<sup>1\*</sup>, Ian Moreira Souza<sup>1</sup>, Juan David Rojas Arias<sup>1</sup>, Leandro de Oliveira Drummond<sup>1</sup>, Carlos Eduardo de Rezende<sup>1</sup>, Caryne Braga<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Ciências Ambientais, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Avenida Alberto Lamego – 2000 – Parque Califórnia – CEP: 28013-602, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil.

\*Autor correspondente: wendeldiasc@gmail.com

### Resumo

O gambá-de-orelha-preta *Didelphis aurita* é um marsupial que ocorre em ambientes prístinos, mas se adapta a ambientes antrópicos na Mata Atlântica. Esse bioma é considerado um *hotspot* de biodiversidade, com extensas áreas alteradas devido à urbanização, agricultura e por estruturas lineares, como a implantação de dutos de petróleo. Em ambientes com tais dutos, os animais podem estar expostos a contaminantes, como o mercúrio (Hg), proveniente do petróleo. Apesar da sua alta toxicidade e potencial de bioacumulação e biomagnificação, a compreensão dos impactos do Hg sobre a fauna silvestre, especialmente no Brasil, ainda é limitada. Portanto, o principal objetivo desse trabalho é investigar a contaminação ambiental por Hg em florestas impactadas por dutos na Mata Atlântica brasileira, assim como avaliar a influência de variáveis biológicas e ecológicas (massa corporal, sexo, nível trófico) sobre as concentrações totais de mercúrio (THg) em *D. aurita*. Para tanto, determinamos as concentrações de THg em amostras de pelo de 88 indivíduos coletados em duas Unidades de Conservação impactadas por dutos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. As concentrações de THg variaram de 0,11 a 17,43 mg·kg<sup>-1</sup> e foram influenciadas principalmente pela massa corporal ( $R^2_{\text{parcial}} = 0,143$ ) e nível trófico ( $R^2_{\text{parcial}} = 0,064$ ) dos indivíduos. Indivíduos maiores e mais



pesados exibiram as concentrações mais elevadas de THg, atribuídas à exposição a longo prazo e à bioacumulação. Foi detectada uma correlação positiva e altamente significativa entre o nível trófico ( $\delta^{15}\text{N}$ ) e as concentrações de THg, excluindo jovens ( $R^2 = 0,207$ ;  $p < 0,001$ ). No entanto, essa relação ficou mascarada quando os jovens foram incluídos ( $R^2 < 0,001$ ;  $p = 0,973$ ), uma vez que os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  destes é resultado do consumo do leite materno e, portanto, reflete o nível trófico das mães, embora a concentração de THg no pelo continue baixa, indicando que a transferência materna de Hg é insignificante para os gambás. Contrariamente às expectativas, o sexo não foi um preditor importante das concentrações de THg nestes animais (ANOVA Fatorial:  $F = 0,038$ ;  $p = 0,846$ ).

**Palavras-chave:** Área de Proteção Ambiental; Contaminação ambiental; Isótopos; Marsupial; Petróleo.

## 1. Introdução

O mercúrio (Hg) é um contaminante ambiental originado de fontes antrópicas e naturais, amplamente disseminado em escala global (Silva-Filho *et al.*, 2006; Selin, 2009). Este elemento é considerado não essencial e altamente tóxico para os seres humanos e a vida selvagem, mesmo em baixas concentrações. Resumidamente, seu ciclo biogeoquímico é caracterizado pela volatilização na forma elementar ( $\text{Hg}^0$ ), seguida pelo transporte de longo alcance por massas de ar na atmosfera e, posteriormente, pela deposição e mobilização em diferentes compartimentos ambientais de ecossistemas terrestres e aquáticos (Bisinoti e Jardim, 2004; Selin, 2009; Tinôco *et al.*, 2010), entrando assim nas teias tróficas.

Compreender a dinâmica do Hg nos ecossistemas é de suma importância para avaliar a influência das características regionais sobre a ciclagem desse elemento e seus efeitos sobre a biodiversidade local. Embora estudos acerca da contaminação ambiental por Hg tenham, em sua maioria, focado em ecossistemas aquáticos e organismos a eles associados (Lino *et al.*, 2019; Pestana *et al.*, 2019; Constantino *et al.*, 2023), é importante destacar que cerca de 60% do Hg é encontrado em ecossistemas terrestres (Patiño Roperro *et al.*, 2016). No entanto, há uma lacuna de informações sobre a dinâmica e valores de referência de Hg para os ecossistemas terrestres.

Estudos prévios com mamíferos terrestres carnívoros detectaram concentrações de Hg superiores aos valores considerados normais em seus tecidos (1 a 5 mg·kg<sup>-1</sup>) (*Mustela vison* e *Procyon lotor*: Wolfe e Norman, 1998; Klenavic *et al.*, 2008; Peterson *et al.*, 2021). Um exemplo importante é o estudo de Peterson *et al.*, (2021), que relatou uma média geral de 28,50 ± 3,05 mg·kg<sup>-1</sup> de Hg no pelo de guaxinins (*Procyon lotor*) em uma localidade historicamente contaminada na Califórnia, próximo ao identificado como a menor dose na qual se observa efeitos adversos (LOAEL – 30,00 mg·kg<sup>-1</sup>) (Sheffy e Amant, 1982). Isso destaca a necessidade de compreender a exposição de animais silvestres às concentrações de Hg.

A dieta é a principal via de entrada do Hg nas teias tróficas (Witt *et al.*, 2020; Kalisinska *et al.*, 2021). No entanto, os animais podem se contaminar de diversas maneiras, incluindo o contato direto com a derme e a inalação (Costa, 2020; Kosik-Bogacka *et al.*, 2020), além da transferência placentária e/ou lactacional (Frodello *et al.*, 2000; Gall *et al.*, 2015), que é considerado um mecanismo de excreção de contaminantes nas fêmeas. A exposição através das teias tróficas eleva a suscetibilidade de animais em níveis tróficos superiores aos efeitos tóxicos do Hg, devido ao elevado potencial de bioacumulação e biomagnificação deste elemento (Rice *et al.*, 2014; Witt *et al.*, 2020; Kehrig *et al.*, 2022).

Diversas técnicas têm sido empregadas para avaliar a exposição da fauna as concentrações do Hg no ambiente. Uma dessas abordagens é o uso de espécies biossentinelas. As espécies biossentinelas são capazes de refletir as alterações provocadas pelas atividades antrópicas no ambiente em que estão inseridas e são utilizadas para mitigar os efeitos das atividades antrópicas e avaliar a saúde do ambiente (Carignan e Villard, 2002). No contexto da contaminação ambiental por Hg, essas espécies podem fornecer informações importantes sobre as concentrações desse contaminante no ambiente por meio de determinações em seus tecidos, revelando a extensão da transferência de Hg do ambiente para a fauna. Portanto, o uso de espécies biossentinelas pode desempenhar um papel importante como fonte de alerta para concentrações preocupantes desse contaminante em determinado ecossistema.

Os pequenos mamíferos terrestres (roedores e marsupiais) compreendem um

grupo promissor para estudos ecotoxicológicos, uma vez que seus hábitos alimentares envolvem presas de diferentes níveis tróficos (Galetti *et al.*, 2016) e estes atuam como importantes conectores das redes tróficas terrestres, constituindo presas importantes para aves e mamíferos (Wijnhoven *et al.*, 2008). Além disso, esses animais são fáceis de capturar, apresentam alta abundância e de maneira geral tendem a ser filopátricos (Wren, 1986; Behrooz e Poma, 2020). Dessa forma, podem representar de forma mais fiel as concentrações locais de Hg que estão sendo transferidas para as teias tróficas. Entre as espécies da Mata Atlântica, os gambás-de-orelha-preta *Didelphis aurita* Wied-Neuwied, 1826, destacam-se como possíveis biossentinelas úteis devido à presença dessas características, além de ter ecologia bem documentada, características importantes para a seleção de biossentinelas adequados (Wren, 1986).

Alguns estudos tem determinado as concentrações de Hg em ecossistemas terrestres e pequenos mamíferos a eles associados (Ma *et al.*, 2021; Behrooz *et al.*, 2022; Ageeva *et al.*, 2023). Assim, até o momento, os estudos relacionados à contaminação ambiental por Hg, que empregam esse grupo como modelo de estudo, têm sido realizados principalmente em regiões temperadas e subtropicais. Os pequenos mamíferos de regiões tropicais são frequentemente negligenciados em estudos ecotoxicológicos envolvendo o Hg. No entanto, nestas regiões, vêm concentrando-se inúmeras intervenções que possibilitam maior contato destes animais com este contaminante. Um tipo de alteração no ambiente natural que merece particular atenção e esforço de biomonitoramento é a construção de dutos de petróleo, uma vez que, além de fragmentarem a paisagem natural, também caracterizam fontes pontuais de contaminação por Hg, um elemento comum no petróleo e em seus subprodutos (Cardona, 2015; Mojammal *et al.*, 2019).

Áreas florestais na Mata Atlântica impactadas por dutos são frequentes em regiões onde atividades petroquímicas desempenham um papel econômico importante, como é o caso da região Norte Fluminense, sudeste do Brasil, que possui uma grande densidade de dutos para o transporte de petróleo, gás natural e líquido de gás natural. Embora essas estruturas sejam majoritariamente enterradas no solo, casos de tentativas de furtos de óleo e

derivados são frequentemente documentadas, podendo causar derramamento de componentes químicos e até explosões nos dutos. Surpreendentemente, mesmo frente ao aumento no número de casos de tentativas de furto e derramamentos associados a esses locais (Transpetro, 2021), ao nosso conhecimento, inexistem estudos que avaliaram a dinâmica do Hg no ambiente e na fauna em áreas com a presença de tais dutos.

No entanto, é importante ressaltar que as concentrações de Hg na fauna não refletem somente a contaminação do ambiente e podem variar em função de fatores biológicos (e.g. idade, peso e sexo) e ecológicos (e.g. dieta e nível trófico) (Chételat *et al.*, 2020). Uma forma interessante de levar em conta o nível trófico das espécies e dos indivíduos para avaliar sua influência sobre a concentração de Hg é a utilização de isótopos estáveis de nitrogênio (N), uma vez que esses são bons indicadores da dieta dos animais (Kehrig *et al.*, 2013; Chételat *et al.*, 2020). A proporção de ( $^{15}\text{N}$ ) e ( $^{14}\text{N}$ ), que resulta nos valores de  $\delta^{15}\text{N}$ , tem relação positiva com o nível trófico do animal. Dessa forma, considerando que o Hg é biomagnificado ao longo das cadeias alimentares, animais com valores altos de  $\delta^{15}\text{N}$  estarão em níveis tróficos superiores e tendem a acumular concentrações mais altas de Hg em seus tecidos.

Uma vez que as proteínas incorporadas em tecidos inertes de mamíferos, como pelos, são biologicamente inalteradas ao longo do tempo (Hobson *et al.*, 1996), esse tecido fornece dados de longo prazo sobre as concentrações de Hg e a razão isotópica de  $\delta^{15}\text{N}$ . Portanto, esse método contribui como indicador menos invasivo de concentrações internas e da exposição ambiental de mamíferos terrestres, sugerindo seu uso para o biomonitoramento da contaminação ambiental por Hg nestes animais (Kosik-Bogacka *et al.*, 2020; Squadrone *et al.*, 2022).

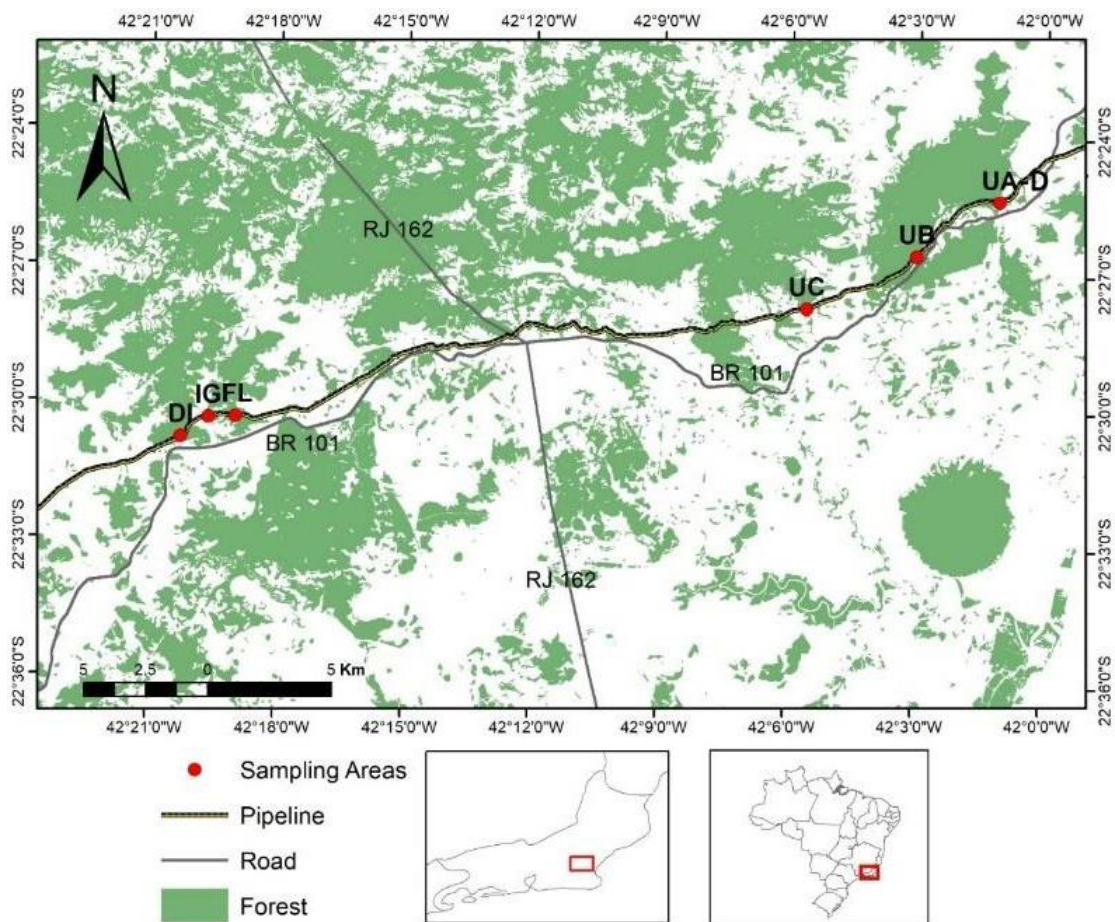
O objetivo deste estudo foi investigar a contaminação ambiental e a influência de variáveis biológicas e ecológicas sobre as concentrações de Hg em indivíduos de *Didelphis aurita* de fragmentos florestais impactados pela presença de dutos de petróleo na Mata Atlântica brasileira. Previmos que as maiores concentrações seriam encontradas em indivíduos maiores e mais pesados (adultos) e em níveis tróficos superiores, devido ao acúmulo progressivo pela exposição prolongada e

a biomagnificação do Hg. Testamos se haveria diferenças entre sexos, uma vez que as fêmeas tenderiam a possuir menores concentrações de Hg que machos de mesmo tamanho devido à perda de Hg pela transferência materna.

## 2. Métodos

### 2.1 Área de Estudo

A região de estudo é composta por seis áreas dentro de duas Unidades de Conservação (UCs) localizadas no domínio de Mata Atlântica, no Rio de Janeiro, sudeste do Brasil (**Fig. 1, Material Suplementar S1**): a Área de Proteção Ambiental (APA) da Bacia do rio São João, uma UC de Uso Sustentável, com extensão de aproximadamente 150.000 ha e a Reserva Biológica (REBIO) União, uma UC de Proteção Integral, com 7.756 ha de extensão. Na região, o clima é do tipo As (tropical úmido com inverno seco) (Köppen, 1948), com uma temperatura média anual de cerca de 24,6 °C e precipitação anual média variando entre 1100 e 2121 mm (ICMBIO, 2008a; ICMBIO, 2008b).

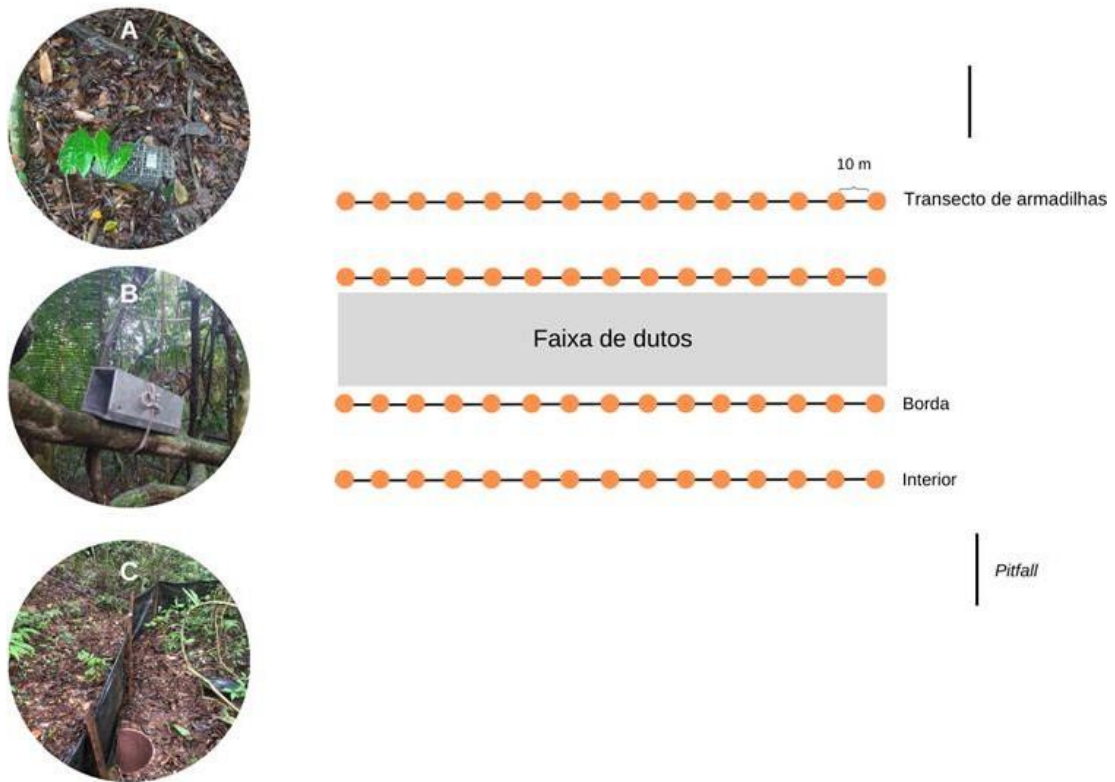


**Fig. 1** - Localização geográfica da região de estudo. A linha em preto e amarelo representa uma faixa de dutos; o verde-claro, as florestas e, os pontos em vermelho, as áreas de amostragem: Rebio União A e D (UA-D); Rebio União B (UB); Rebio União C (UC); Fazenda Dois Irmãos (DI); Fazenda Iguape (IG) e Flandria (FL).

Os fragmentos florestais selecionados para amostragem, em ambas as UCs, são cortados por uma faixa de dutos para o transporte de gás natural, petróleo e o Líquido de Gás Natural (LGN). A faixa de dutos pertence a empresa Petrobrás Transporte S.A. – Transpetro e contém dois gasodutos (GASDUC II e GASDUC III) e três oleodutos (OSDUC I, OSDUC II e OSDUC IV), implementados na década de 80 (ICMBIO, 2008; PETROBRAS, 2022b), que ligam a cidade de Macaé, onde está presente o terminal de Cabiúnas, à Duque de Caxias, onde há a refinaria (PETROBRAS, 2022a; PETROBRAS, 2022b).

## 2.2 Amostragem

Foram realizadas 16 campanhas de campo (oito em cada UC) entre outubro de 2018 e janeiro de 2023. Entre 2019 e 2021 as campanhas de campo foram paralisadas devido a pandemia de COVID-19. A amostragem foi realizada em blocos, com as áreas da APA e as áreas da REBIO sendo amostradas trimestralmente e em meses separados. O desenho amostral foi composto por quatro transectos de armadilhas em cada uma das seis áreas: dois destes dispostos nas bordas imediatas dos dutos e dois dispostos nos interiores florestais, um de cada lado da faixa de dutos, distanciados por aproximadamente 20 m. Cada transecto foi composto por 15 estações de captura, distanciados entre si por aproximadamente 10 m, onde foram instaladas duas *live traps*: uma do tipo *Sherman* (30 cm x 8 cm x 9 cm) e uma do tipo *Tomahawk* (45 cm x 16 cm x 16 cm), sendo uma instalada no solo e a outra no sub-bosque, intercalando os tipos de armadilhas entre esses estratos vegetais em cada estação subsequente (**Fig. 2**).



**Fig. 2** – Ilustração do desenho amostral. A caixa em cinza representa a faixa em dutos; a linha sólida em preto os transectos de armadilha e os círculos em laranja as estações de captura. Do lado esquerdo: (A) armadilha do tipo *Tomahawk*, (B) armadilha do tipo *Sherman* e (C) linha de *pitfall trap*.

Além disso, foram instaladas duas linhas de *pitfall trap* no interior florestal de cada uma das áreas de amostragem (**Fig. 2**). Cada linha desse tipo de armadilha foi composta por cinco baldes de 60 L enterrados no solo, distanciados entre si por 10 m e conectados por uma cerca guia de lona plástica com cerca de 50 cm de altura, com o intuito de agir como uma barreira a passagem dos animais e, conseqüentemente, direcioná-los para dentro dos baldes. As amostras coletadas para este trabalho foram obtidas sob licença ICMBIO nº89707-1.

Todos os espécimes capturados foram marcados com brincos numerados (number 1, National Band and Tag Company, Newport, Estados Unidos), pesados com pesola digital (três casas decimais, WeiHeng, Guangdong, China), sexados, as medidas corporais relevantes foram tomadas (e.g. comprimento da cabeça-corpo, comprimento da cauda), alocados em classes etárias conforme a ordem de oclusão dos dentes, segundo Macedo *et al.*, (2006). Os espécimes foram alocados em três classes etárias seguindo a

ordem de oclusão dos dentes: (i) jovens (indivíduos com dentição dP3M1), (ii) subadultos (indivíduos com dentição dP3M2 e dP3M3) e (iii) adultos (indivíduos com dentição P3M3 e P3M4). Após a triagem, os mesmos foram liberados na própria estação de captura. Amostras de pelos foram coletadas da região dorsal posterior com auxílio de tesoura e pinça cirúrgicas, armazenadas em sacos *zip lock* devidamente identificados e transportadas para o laboratório. Foram obtidas amostras de pelos de 88 indivíduos de *D. aurita*, sendo 28 da APA e 60 da REBIO União. O número de indivíduos por área variou de 4 a 33. Mais detalhes sobre o número de amostras por sexo e classe etária podem ser visualizados na **Tabela 1**.

**Tabela 1** – Amostras divididas por sexo e classe etária em cada área de amostragem. DI – Fazenda Dois Irmãos; FL – Fazenda Flandria; IG – Fazenda Iguape; A-D - Rebio União A e D; B - Rebio União B; C – Rebio União C.

Sexo	Idade	APA			REBIO			Total
		DI	FL	IG	A-D	B	C	
Fêmea	Jovem	1	0	0	3	3	0	7
	Subadulto	1	3	0	5	4	0	13
	Adulto	1	2	3	12	2	3	23
Macho	Jovem	1	3	0	6	2	1	13
	Subadulto	1	5	0	2	2	1	11
	Adulto	4	2	1	6	7	0	20
<b>Total</b>		9	15	4	34	21	5	88

No laboratório, as amostras de pelos foram lavadas duas vezes com Extran 2% e água deionizada, seguidas de enxágue com água ultrapura (Millipore Milli-Q, Modelo Integral A-10, Molsheim, França). Essa etapa do processo foi realizada para remover possíveis impurezas externas que poderiam vir a interferir nas determinações. Após esse procedimento, as amostras de pelos foram secas em liofilizador por 48 horas.

### 2.3 Solubilização das amostras de pelos

Alíquotas de 0,01 a 0,02 g das amostras de pelo (peso seco) foram aferidas em balança digital de precisão com quatro casas decimais dentro de tubos de digestão previamente lavados e identificados. Cerca de 1 mL de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (concentrado 30%) foi adicionado em cada um dos tubos em



banho de gelo. Posteriormente, foram adicionados 3 mL de uma solução de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) e ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) (1:1) em três etapas de 1 mL e as amostras foram digeridas em bloco digestor por aproximadamente quatro horas à 60°C. Passadas as quatro horas, foram adicionados 5 mL de permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ) (5%) e as amostras foram deixadas em descanso *overnight* no bloco digestor em temperatura ambiente. No dia seguinte, as amostras foram digeridas por mais 30 minutos. Após completa digestão, as amostras foram tituladas com hidroxilamina ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) até o ponto de virada.

Os extratos finais foram filtrados em papel de filtro quantitativo Whatman<sup>®</sup> e aferidos a 25 mL com água ultrapura. Em seguida, 1 mL dos extratos finais foi retirado e colocado em frascos de boro silicato de 40 mL com tampa de rosca e septo de teflon, previamente lavados em banho de HCl 10% e depois enxaguados três vezes com água ultrapura. Os frascos contendo as amostras foram aferidos a 30 mL com água ultrapura e, em seguida, foram adicionados 150  $\mu\text{L}$  de cloreto de bromo ( $\text{BrCl}$ ) em todos os frascos e deixados em descanso *overnight* pré-digerindo. No dia seguinte, foram adicionados 60  $\mu\text{L}$  de  $\text{NH}_2\text{OH}$  e 150  $\mu\text{L}$  de cloreto estanhoso ( $\text{SnCl}_2$ ) em cada um dos frascos. Após a adição dos reagentes, os frascos foram rapidamente fechados para evitar a perda de Hg e levados para análise.

#### 2.4 Determinação de mercúrio total (THg) em amostras de pelos

A determinação do THg foi realizada em um analisador de Hg (Tekran<sup>®</sup>, Modelo 2600 CV-AFS Mercury Analysis System, com duplo trap de ouro, Canadá) com limites de detecção e quantificação de 0,02  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  e 0,5  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  e uma curva de calibração de 5 pontos entre 0,5 a 32,0  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ , com base na USEPA 1631 (USEPA, 2002).

O controle de qualidade foi verificado por meio de brancos analíticos e a reprodutibilidade foi avaliada por triplicatas analíticas a cada bateria de 15 amostras. Além disso, um material certificado de referência (SRM 2976, tecido de moluscos bivalves marinhos e matrizes similares) foi utilizado para avaliar a precisão do método analítico, e a recuperação foi de 91,4%  $\pm$  0,06 (n = 3). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico (Merck) e com resíduos

ultrabaixos de Hg.

## 2.5 Análise de isótopos estáveis de nitrogênio

Alíquotas de 0,4 a 0,5 mg das amostras (peso seco) foram aferidas em balança analítica (0,001 mg) dentro de cápsulas de estanho. As amostras foram analisadas usando um Analisador Elementar (Flash 2000) com uma interface CONFLO IV, acoplada a um espectrômetro de massa de razão isotópica Delta V Advantage (Thermo Scientific, Alemanha), que determina a razão entre os isótopos pesados e leves de cada elemento. Os resultados são expressos na notação delta ( $\delta$ ) e relatados como desvios em partes por mil (‰) em relação aos padrões internacionais ( $N_2$  atmosférico para o nitrogênio). A fórmula usada para representar a discriminação isotópica é:

$$\delta^{15}N = (R_{amostra} / R_{padrão}) - 1$$

$R_{amostra}$  e  $R_{padrão}$  é a razão  $^{15}N / ^{14}N$  de amostra e do padrão internacional (ar atmosférico), respectivamente.

## 2.6 Análises estatísticas

Os efeitos da idade e do sexo sobre as concentrações de THg e do nível trófico (representado pelos valores de  $\delta^{15}N$ ) foram avaliados por análise fatorial de variância (ANOVA), seguido por um teste de comparações múltiplas de Tukey, assumindo um nível de confiança de 95%.

Um modelo linear generalizado misto (GLMM, distribuição normal) foi utilizado para avaliar quais variáveis independentes (massa corporal, nível trófico e sexo) melhor explicam as concentrações de THg nos pelos dos gambás (variável dependente). As variáveis foram testadas em conjunto de forma aditiva e a interação não foi avaliada. Visto que jovens de marsupiais podem ter valores de  $\delta^{15}N$  mais enriquecidos no começo da vida devido a amamentação (Souza, 2022) e baixas concentrações de THg, um GLMM foi utilizado excluindo os jovens da análise. Os modelos foram comparados utilizando o critério de informação de Akaike de segunda ordem corrigido para um tamanho amostral pequeno (AICc). O suporte para cada modelo foi avaliado usando o peso de Akaike (Weight), que representa a probabilidade relativa do modelo,

dados os dados, em relação a todos os outros modelos no conjunto de candidatos.

Um modelo de regressão múltipla foi utilizado para explicar as associações do THg nos pelos dos gambás com as variáveis selecionadas na análise de seleção de modelos sem os jovens (função *lm*, pacote base; R Core Team, 2023). Este modelo foi plotado utilizando um gráfico 3D (função *scatterplot3D*, pacote *scatterplot3D*; Ligges e Macher, 2003) e a decomposição da soma dos quadrados de cada variável independente ( $R^2_{\text{parcial}}$ ) foi realizada através de uma tabela ANOVA (função *summary.aov*, pacote base; R Core Team, 2023).

Análises de regressão linear simples (função *lm*, pacote base; R Core Team, 2023) foram utilizadas para avaliar a influência do nível trófico sobre as concentrações de THg nos pelos. Uma vez que o nível trófico dos jovens reflete o nível trófico das mães, as regressões foram realizadas de três formas: (i) com todos os indivíduos, (ii) apenas com subadultos e adultos e (iii) separadamente para cada classe etária.

Para atender aos pressupostos da ANOVA e da regressão (linearidade, homocedasticidade, homogeneidade e normalidade dos resíduos), os dados foram transformados em raiz quadrada, conforme sugerido por uma função de máxima verossimilhança (função *boxcox*; Pacote MASS; Venables e Ripley, 2002). Os testes foram validados usando gráficos de diagnóstico (Altman e Krzywinski, 2016). Em todos os casos, foi assumido um erro tipo I *a priori* de 5% ( $\alpha = 0,05$ ).

As análises estatísticas foram realizadas com o software R (R Core Team, 2023) e Statistica 12.0 (StatSoft Inc., Dell Software, Tulsa, Oklahoma). As concentrações de THg são dadas como microgramas por quilograma ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) em peso seco e apresentadas como média  $\pm$  desvio padrão.

### 3. Resultados

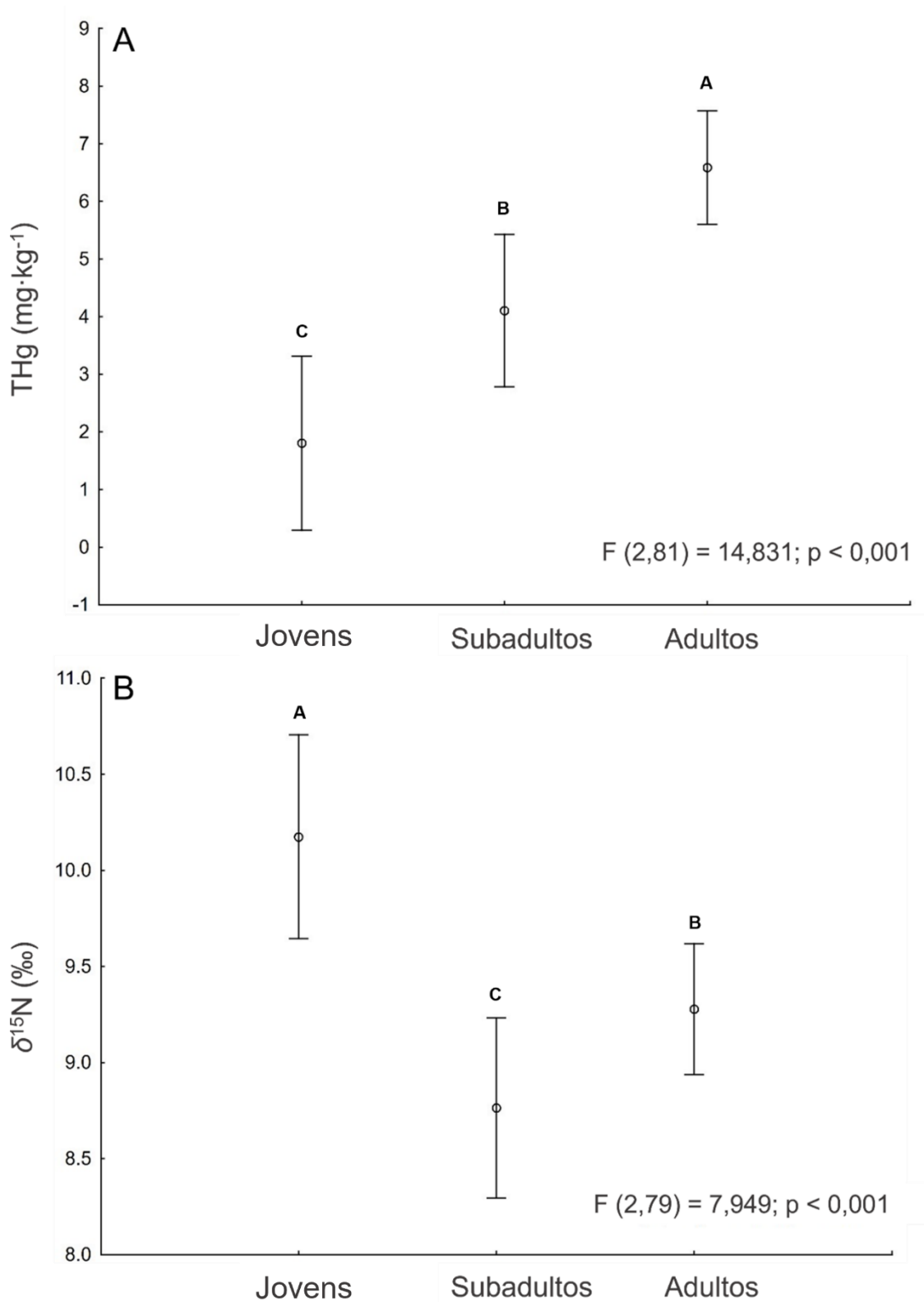
#### 3.1 Padrões de posição trófica e concentração de THg entre classes etárias

Registramos uma considerável variação nas concentrações de THg em amostras de pelos dos gambás, com uma média geral de  $4,84 \pm 3,71$  ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Média  $\pm$  desvio padrão e intervalos mínimo e máximo das concentrações de THg e dos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  em amostras de pelo de *Didelphis aurita*. Letras minúsculas diferenciam estatisticamente as médias entre as classes etárias, considerando 95% de certeza.

Espécie	Nº	Classe etária	THg (mg·kg <sup>-1</sup> )	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
<i>Didelphis aurita</i>	20	Jovem	1,83 $\pm$ 1,41 (0,11 - 5,66) <sup>c</sup>	10,08 $\pm$ 1,25 (7,80 - 11,30) <sup>a</sup>
	24	Subadulto	4,17 $\pm$ 1,96 (0,57 - 8,68) <sup>b</sup>	8,78 $\pm$ 0,72 (7,40 - 10,20) <sup>c</sup>
	44	Adulto	6,57 $\pm$ 4,17 (0,45 - 17,43) <sup>a</sup>	9,32 $\pm$ 1,26 (6,30 - 12,30) <sup>b</sup>
<b>Total</b>	88		4,84 $\pm$ 3,71 (0,11 - 17,43)	9,30 $\pm$ 1,22 (6,30 - 12,30)

A menor concentração do elemento (0,11 mg·kg<sup>-1</sup>) foi encontrada em uma fêmea jovem pesando apenas 60 gramas, enquanto a concentração mais elevada (17,43 mg·kg<sup>-1</sup>) foi registrada em um macho adulto com 1585 gramas (**Material Suplementar S2**). As concentrações médias de THg diferiram significativamente entre classes etárias (ANOVA Fatorial:  $F(2,81) = 14,831$ ;  $p < 0,001$ ), com um padrão de aumento da concentração de THg ao longo do desenvolvimento ontogenético (**Tabela 2, Fig. 3A**). No entanto, não houve influência do sexo (ANOVA Fatorial:  $F = 0,038$ ;  $p = 0,846$ ) e nem interação significativa entre classes etárias e sexo (ANOVA Fatorial:  $F = 1,177$ ;  $p = 0,313$ ) sobre a concentração de THg (**Material Suplementar S3**).



**Fig. 3 –** (A) Concentração média de THg e (B) valores médios de  $\delta^{15}\text{N}$  para as diferentes classes etárias. As barras indicam os valores mínimos e máximos encontrados para cada classe etária e as letras diferenciam as médias entre elas, considerando 95% de certeza.

Os valores médios de  $\delta^{15}\text{N}$  diferiram significativamente entre as classes etárias (ANOVA Fatorial:  $F(2,79) = 7,949$ ;  $p < 0,001$ ) com os jovens apresentando a maior concentração média (**Tabela 2, Fig. 3B**). No entanto, não houve interação significativa entre classes etárias e sexo (ANOVA Fatorial:  $F = 0,387$ ;  $p = 0,680$ ) sobre a concentração de THg (**Material Suplementar S4**).

Parâmetros morfométricos e informações detalhadas sobre as concentrações de THg e valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de todos os indivíduos podem ser visualizadas no **Material Suplementar S2**.

### 3.2 Influência da massa corporal, nível trófico e sexo sobre a concentração de THg

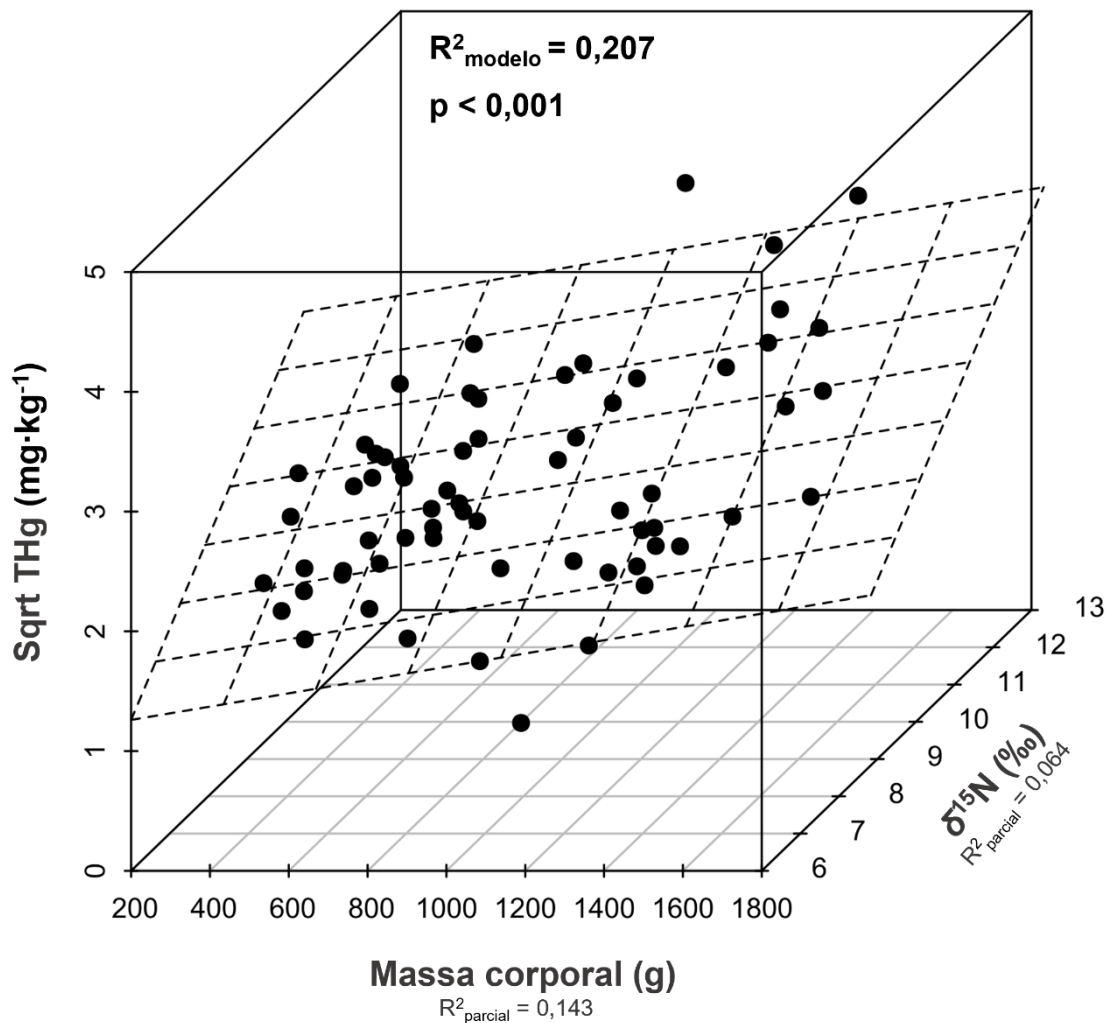
Três modelos foram selecionados e todos apresentaram a massa corporal como uma variável preditora importante das concentrações de THg nos pelos dos gambás. O sexo e  $\delta^{15}\text{N}$  foram selecionadas apenas em um modelo cada (**Tabela 3A**).

**Tabela 3.** Resumo dos resultados da seleção de modelos de acordo com o critério de informação de Akaike de segunda ordem (AICc) utilizado para selecionar os modelos mais parcimoniosos. (A) análise realizada utilizando todos os animais e (B) utilizando apenas subadultos e adultos. Para o modelo: logLik - modelo de loglikelihood; AIC - critério de informação de Akaike;  $\Delta$  - diferença entre o valor do AICc do modelo e o AIC mínimo para todo o conjunto de modelos concorrentes; Weight - peso de Akaike para o modelo.

	df	R <sup>2</sup>	logLik	AICc	$\Delta$	Weight
<b>A) Todos os indivíduos</b>						
Massa Corporal	3	0,343	-80,045	166,400	0,000	0,419
Massa corporal + Sexo	4	0,353	-79,362	167,200	0,840	0,275
Massa corporal + $\delta^{15}\text{N}$	4	0,348	-79,691	167,900	1,500	0,198
<b>B) Apenas subadultos e adultos</b>						
Massa corporal + $\delta^{15}\text{N}$	4	0,207	-63,690	136,000	0,000	0,570

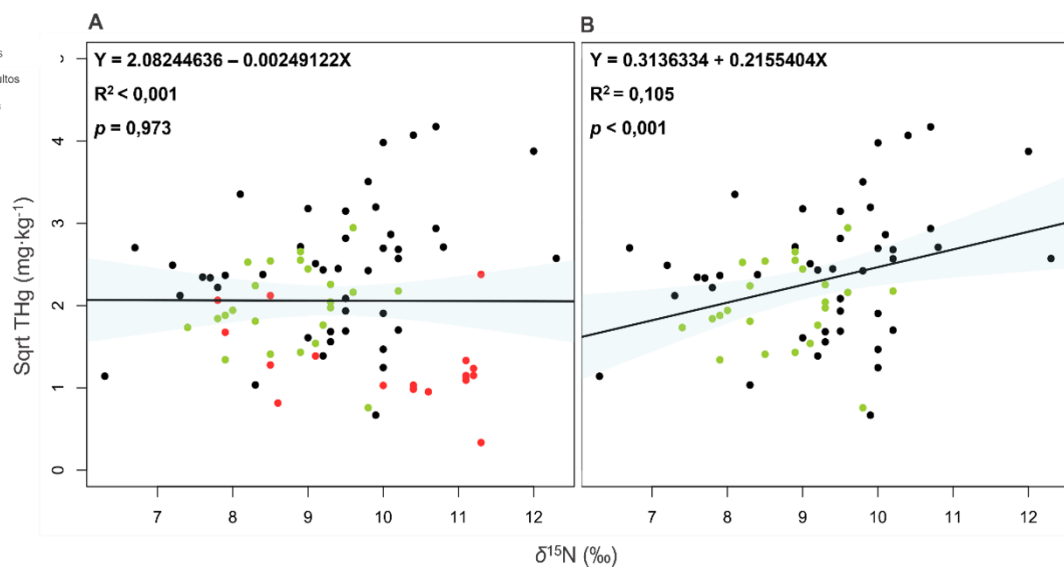
Uma vez que os jovens apresentaram baixas concentrações de THg e valores de  $\delta^{15}\text{N}$  particularmente altos, por refletirem uma dieta exclusivamente do leite materno, foi realizada uma análise removendo os jovens. Ao excluí-los, apenas um modelo foi selecionado, apresentando a massa corporal e o nível trófico ( $\delta^{15}\text{N}$ ) como variáveis preditoras importantes (**Tabela 3B**).

Um modelo multivariado foi utilizado para explicar a influência das variáveis selecionadas no modelo sem os jovens (massa corporal e nível trófico) e a relação destas com a concentração de THg é altamente significativa ( $p < 0,001$ ; **Fig. 4**). Este indica uma forte influência da massa corporal dos indivíduos nas concentrações de THg em seus pelos ( $R^2_{\text{parcial}} = 0,143$ ; **Fig. 4**). Por outro lado, apesar de também ser um importante preditor das concentrações de THg nos pelos dos gambás, o nível trófico ( $R^2_{\text{parcial}} = 0,064$ ; **Fig. 4**) teve menor influência quando comparado a massa corporal.



**Fig. 4** – Regressão múltipla das concentrações de THg nos pelos apenas de subadultos e adultos utilizando como preditores a massa corporal e o nível trófico. A explicação total do modelo ( $R^2_{\text{modelo}}$ ) resulta da soma das explicações parciais ( $R^2_{\text{parcial}}$ ) de cada variável. As linhas tracejadas indicam o plano de regressão múltipla entre as variáveis preditoras.

Ao considerar todos os indivíduos amostrados, a regressão entre o nível trófico e as concentrações de THg nos pelos não é estatisticamente significativa ( $R^2 < 0,001$ ;  $p = 0,973$ ; **Fig. 5A**). No entanto, os resultados foram claramente influenciados pelos jovens, que apresentaram altos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  e baixas concentrações de THg (**Tabela 2, Material Suplementar S2**). Ao considerar apenas indivíduos subadultos e adultos, a correlação entre o nível trófico e as concentrações de THg nos pelos torna-se positiva e altamente significativa ( $R^2 = 0,105$ ;  $p < 0,001$ ; **Fig. 5B**). As regressões entre nível trófico e as concentrações de THg para cada classe etária separadamente podem ser visualizadas no **Material Suplementar S5**.



**Fig. 5** – (A) Regressão entre o nível trófico e as concentrações de THg nos pelos de todos os indivíduos analisados e (B) apenas em indivíduos subadultos e adultos. Os modelos de regressão são indicados pelas linhas sólidas em preto e as áreas sombreadas em azul claro indicam os intervalos de confiança de 95% do modelo. Os pontos em vermelho claro indicam indivíduos jovens, os verdes indivíduos subadultos e os pretos os adultos.

## 4. Discussão

### 4.1 Concentração de THg em pelos de *Didelphis aurita*

No presente estudo, avaliamos as concentrações de THg em amostras de pelos de 88 indivíduos de *Didelphis aurita* de duas UCs do estado do Rio de Janeiro. Ao nosso conhecimento, não há registros de estudos que tenham abordado as concentrações de Hg utilizando pelos de pequenos mamíferos terrestres em



ecossistemas neotropicais. Em termos gerais, apenas dois estudos com Hg foram encontrados para pelos de marsupiais, ambos conduzidos no hemisfério norte. A concentração média de THg registrada neste estudo ( $4,84 \pm 3,71 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) foi consistente com os registrados por Cumbie e Jenkins (1974), que relataram uma média de  $4,44 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  em pelos de indivíduos de gambá-da-Virginia (*Didelphis virginiana*) em uma região exposta à poluição por Hg. Por outro lado, nosso estudo revelou uma média de uma ordem de magnitude superior à média obtida por Burger *et al.*, (1994) ( $0,26 \pm 0,04 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  [peso seco]) para o mesmo tecido em gambás-da-Virginia em uma região agrícola. Essa discrepância ressalta a necessidade e a relevância de futuras pesquisas para esclarecer as concentrações naturais de Hg em diferentes espécies de marsupiais. Uma vez que as espécies de marsupiais aqui citadas possuem aspectos ecológicos similares, as concentrações de Hg relatadas devem estar ligadas principalmente ao contexto regional em que o estudo foi realizado, como a presença e os tipos de atividades antrópicas, padrões de deposição e de compartimentalização do Hg, composição e complexidade da cobertura vegetal (Zhou *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022).

A concentração média de THg relatada aqui é semelhante à relatada para amostras de pelos em um estudo com mamífero carnívoro de médio porte do hemisfério norte (*Mustela vison*: Wolfe e Norman, 1998), com contaminação por Hg relacionada a mineração do cinábrio. Dentre outros animais carnívoros e de médio porte, os guaxinins (*Procyon lotor*) têm sido amplamente empregados como biossentinelas. Wolfe e Norman (1998), por exemplo, encontraram concentrações médias duas vezes superiores às encontradas aqui nos gambás em pelos de guaxinins de uma área afetada pela mineração e processamento de HgS na Califórnia (EUA). Contrariamente, a concentração média em nosso estudo foi três vezes superior àquela encontrada em pelos de guaxinins de áreas conservadas na Alemanha, EUA e Luxemburgo (Lord *et al.*, 2002; Souza *et al.*, 2013; Kosik-Bogacka *et al.*, 2020; **Material Suplementar S6**). É notável a semelhança e até mesmo concentrações mais elevadas encontradas nos gambás, uma vez que os animais utilizados na comparação são de maior porte e tem dieta predominantemente carnívora. Portanto, esses animais tendem a estar em níveis tróficos superiores, que estaria associada a concentrações mais

altas de Hg devido a sua biomagnificação (Wada *et al.*, 2010; Peterson *et al.*, 2021). Isso ressalta a influência significativa de fontes pontuais, como a presença de dutos de petróleo, sobre as concentrações de Hg em mamíferos terrestres.

Dentre os animais utilizados em estudos ecotoxicológicos com Hg, os roedores têm recebido destaque. A concentração média de Hg observada nos gambás deste estudo foi de duas ordens de magnitude superior àquelas encontradas em pelos de roedores das famílias Heteromyidae (*Chaetodypus penicillatus* e *Dipodomys merriami*) e Cricetidae (*Alticola stoliczkanus*, *Clethrionomys gapperi*, *Microtus montanus*, *Microtus pennsylvanicus*, *Neotoma lepida* e *Peromyscus eremicus*) (Huckabee *et al.*, 1973; Gerstenberger *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2021). Quando comparada à média encontrada em pelos de roedores da família Muridae (*Apodemus latronum*, *Apodemus sylvaticus*, *Apodemus uralensis*, *Niniventer confucianus*, *Niniventer eha*) a concentração média foi superior em uma ordem de magnitude (Bull *et al.*, 1977; Ma *et al.*, 2021; Ageeva *et al.*, 2023; Ma *et al.*, 2023; **Material Suplementar S6**). As concentrações de Hg nos gambás mostraram-se superiores em relação às encontradas nos roedores, possivelmente devido ao seu maior porte, que viabiliza a alimentação de organismos maiores, como pequenos vertebrados. Além disso, o hábito alimentar generalista dos gambás, em contraste com a preferência dos roedores por folhas, sementes, insetos e frutos, pode contribuir para tais diferenças nas concentrações de Hg entre esses dois grupos de animais (Gorman *et al.*, 1993; Kasparian e Millar, 2004).

A falta de dados específicos sobre as concentrações naturais e os limites de Hg em ecossistemas e mamíferos terrestres torna complexa a avaliação de risco (Wren, 1986; Lord *et al.*, 2002). As concentrações de Hg que causam envenenamento variam entre as espécies de mamíferos terrestres devido às suas características intrínsecas, que influenciam a absorção e retenção (García-Muñoz *et al.*, 2023). Portanto, estabelecer um limite tóxico preciso para o Hg representa um grande desafio e, até o momento, os limites críticos de concentração de Hg para gambás, bem como para a maioria das espécies de mamíferos terrestres, ainda não foram determinados.

Poucos estudos foram capazes de detectar casos de efeitos relacionados ao Hg

em mamíferos de vida livre. Burton *et al.*, (1977) observaram efeitos comportamentais em ratos-veadeiros (*Peromyscus maniculatus*), como a diminuição na habilidade de nado e na movimentação em resposta a estímulos luminosos e acústicos quando as concentrações de Hg em sua pele eram próximas de  $10,00 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Em nosso estudo, nove indivíduos (cerca de 10% do total de indivíduos analisados; **Material Suplementar S2**) apresentaram concentrações de Hg entre 9,92 e  $17,43 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , denotando grande risco de efeitos adversos a saúde desses animais.

Através da literatura disponível, foram encontrados alguns limites estabelecidos para mamíferos terrestres no geral. No presente estudo, constatou-se que nenhum dos gambás amostrados ultrapassou o menor nível de efeito adverso observável (LOAEL) estabelecido para pelos de mamíferos terrestres ( $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) (Sheffy e Amant, 1982). No entanto, deve-se salientar que a *United States Fish and Wildlife Service* (USFWS) propôs um limite de  $5,50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (peso seco) para os ecossistemas como um indicativo de problema ambiental relacionado ao Hg. Nossos resultados mostram que 34 indivíduos (cerca de 39% do total de indivíduos analisados; **Material Suplementar S2**) apresentaram concentrações de Hg superiores ao limite mais rigoroso proposto pela USFWS, indicando um alto risco para a saúde desses animais.

#### 4.2 Influência das variáveis biológicas e ecológicas

Os resultados do presente trabalho demonstram que existe relação entre a concentração de THg de indivíduos de *D. aurita* e sua massa corporal e dieta (nível trófico). Ao mesmo tempo, os resultados sugerem que o sexo dos indivíduos não foi determinante para a concentração de THg.

A massa corporal foi, dentre as variáveis analisadas no presente estudo, o principal fator determinante da concentração de THg nos pelos de *D. aurita*. Esse resultado foi consistente seja quando avaliamos a massa corporal como variável contínua, seja quando avaliamos as diferenças entre indivíduos de diferentes classes etárias (jovens, subadultos e adultos), uma vez que indivíduos de classes etárias superiores tendem a ser maiores e mais pesados. A associação positiva entre a concentração de THg e essas variáveis é indicativa de exposição à longo prazo e bioacumulação desse elemento ao longo da vida dos animais

(Durkalec *et al.*, 2019; Ecke *et al.*, 2020; García-Muñoz *et al.*, 2023). Em animais, as concentrações de Hg tendem a aumentar com a massa corporal e com a idade (Noël *et al.*, 2016; Ackerman *et al.*, 2019; Koch *et al.*, 2021), devido à sua alta afinidade com as proteínas musculares e à reduzida capacidade de excreção de contaminantes por parte de animais mais velhos (Eisler, 1984; Chételat *et al.*, 2020).

No caso de mamíferos terrestres de pequeno e médio porte, os resultados dos estudos que avaliaram a relação entre as concentrações de Hg com essas variáveis têm variado consideravelmente. Alguns desses estudos identificaram uma relação positiva, indicando que animais adultos e maiores (mais pesados) apresentam concentrações de Hg mais elevadas (*Procyon lotor*: Lanocha *et al.*, 2014; *Martes americana*: Witt *et al.*, 2020; *Felis catus*: Skibniewska e Skibniewski, 2023). Em contraste, Klenavic *et al.*, (2008) identificaram uma relação negativa em relação à idade em pelos de *Mustela vison*, com indivíduos mais jovens apresentando elevadas concentrações de Hg e declínio subsequente nas classes de anos mais velhas. No entanto, os autores acreditam que esse padrão possa ter sido encontrado devido ao pequeno tamanho amostral de indivíduos mais velhos, o que pode não representar com precisão as concentrações de Hg que ocorre nessas idades.

Nossos resultados evidenciam concentrações mais elevadas de THg em indivíduos adultos e de maior peso (**Fig. 3 e 4**). A concentração média de THg ( $1,83 \pm 1,41 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) em jovens (indivíduos com menor peso corporal, até 320 gramas) foi a menor registrada, possivelmente atribuível ao fenômeno conhecido como “diluição do crescimento” ou “diluição em massa”, previamente observado em espécies de peixes e aves (Ward *et al.*, 2010; Ackerman *et al.*, 2011; Keva *et al.*, 2017). Outro indício de que existe uma diluição de crescimento na concentração de Hg dos jovens analisados é o de que, quando os jovens são analisados separadamente (**Material Suplementar S5**), existe uma tendência de diminuição na concentração de Hg com aumento do tamanho do indivíduo, embora essa tendência não tenha sido estatisticamente significativa. Em muitos grupos taxonômicos, os animais na fase inicial da vida passam por um período de crescimento acelerado, resultando em um rápido aumento de biomassa, o que, por sua vez, leva a uma diluição proporcional das

concentrações de Hg, mesmo com esses animais permanecendo expostos a esse elemento, principalmente através da dieta (Ackerman *et al.*, 2011). No entanto, após essa fase inicial de crescimento, a taxa de produção de biomassa nos indivíduos jovens diminui, levando a um aumento nas concentrações de Hg, uma vez que esses animais continuam a adquirir Hg de suas fontes de exposição, enquanto a diluição associada ao crescimento já não ocorre (Ackerman *et al.*, 2011).

Outro fator que pode estar ligado ao aumento da concentração de THg em indivíduos maiores e mais velhos é a mudança ontogenética na dieta das espécies. No caso de espécies generalistas, como *D. aurita*, o aumento do tamanho e da massa corporal dos indivíduos pode estar positivamente relacionada ao tamanho das presas que estes consomem, como evidenciado em marsupiais australianos (Fisher e Dickman, 1993). Portanto, indivíduos adultos, que presumivelmente são de maior porte, tendem a se alimentar de presas maiores e de nível trófico superior (Evers *et al.*, 2005). Isso também se reflete em concentrações mais elevadas de Hg em seus tecidos, resultando da biomagnificação desse elemento ao longo das teias tróficas. Assim, as diferenças observadas podem ser atribuídas as variações no consumo de presas entre indivíduos de *D. aurita* pertencentes a diferentes classes etárias, os quais, em teoria, apresentam concentrações mais elevadas de Hg.

Os jovens, por exemplo, tendem a ter uma capacidade reduzida nesse aspecto. No caso dos marsupiais didelfídeos, os pré-molares e molares formam a principal superfície mastigatória desses animais. Portanto, é plausível que os jovens não sejam capazes de capturar presas vertebradas devido à sua menor área mastigatória, conforme sugerido para a cuíca-de-quatro-olhos (*Philander frenatus*) (Ceotto *et al.*, 2009) e por não ter força suficiente para subjugar uma presa maior. Por outro lado, os adultos têm a capacidade de se alimentar de presas maiores (e.g. aves e pequenos roedores) e, portanto, estão sujeitos a maiores concentrações de Hg devido à sua biomagnificação.

Associações positivas e estatisticamente significativas são comumente observadas entre o nível trófico e as concentrações de Hg em diversos táxons, mas essa abordagem é utilizada predominantemente em estudos que utilizam

organismos aquáticos (Tadiso *et al.*, 2011; Onsanit *et al.*, 2012; Mills *et al.*, 2019; Mussy *et al.*, 2023). Em uma revisão abrangente sobre Hg, Jeđruch *et al.*, (2021) destacaram em comparações interespecíficas que as concentrações desse elemento em diferentes tecidos de mamíferos terrestres estão fortemente associadas ao nível trófico. No entanto, existem exceções a esta regra, e esta relação não é encontrada em alguns estudos (*e.g.* Cumchal *et al.*, 2011 – *Myocastor coypus*; Witt *et al.*, 2020 – *Martes americana*).

De fato, no presente estudo, registramos diferenças nos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  entre as diferentes classes etárias de *D. aurita* (**Fig. 3B, Material Suplementar S4**). No entanto, de maneira surpreendente, os indivíduos jovens exibiram os maiores valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (**Tabela 2**). Isso pode ser atribuído ao fato de que os pelos dos jovens amostrados provavelmente refletem os nutrientes absorvidos em um momento onde os indivíduos se alimentavam exclusivamente ou majoritariamente de leite materno. Assim, a assinatura isotópica dos jovens seria o correspondente a um nível trófico acima, neste caso, os de suas mães.

De forma semelhante, a transferência materna de Hg para a prole é considerada um mecanismo de excreção em mamíferos terrestres (Gall *et al.*, 2015; Noël *et al.*, 2016; Bridges e Zalups, 2017). Contudo, as concentrações de THg encontradas nos jovens de gambás neste estudo foram baixas (**Tabela 2, Fig. 3A**), indicando que, para os gambás, a transferência materna de Hg para a prole parece ser de menor importância ou pode estar sendo mascarada pelo efeito da diluição do crescimento.

A associação não significativa entre nível trófico e THg encontrada quando todos os indivíduos foram analisados em conjunto (**Fig. 5A**) é claramente influenciada pelos altos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  e baixas concentrações de THg nos pelos dos jovens.

Ao remover os jovens da análise e levar em consideração apenas os indivíduos subadultos e adultos, a associação entre o nível trófico e as concentrações de THg nos pelos torna-se positiva e altamente significativa (**Fig. 5B**), mostrando que indivíduos em níveis tróficos superiores tendem a apresentar maiores concentrações de THg, devido a biomagnificação desse elemento (Peterson *et al.*, 2021; Grottoli *et al.*, 2023).

Um segundo indício de que a transferência materna de Hg das mães para os jovens através do leite é de menor importância para *D. aurita* é a ausência de diferenças na concentração de Hg entre machos e fêmeas da espécie. Essa variável não se mostrou importante mesmo quando consideramos a massa corporal e a classe etária como covariáveis (**Material Suplementar S3**).

Uma vez que a transferência materna placentária e/ou através do leite é considerada uma via de eliminação do Hg nas fêmeas (Bridges e Zalups, 2017; Chételat *et al.*, 2020), era de se esperar que estas apresentassem concentrações significativamente menores de Hg quando comparado aos machos. Este padrão já foi registrado para algumas espécies como *Paraechinus hipomelas* (Behrooz *et al.*, 2022) e *Felis catus* (Skibniewska e Skibniewski, 2023). No entanto, as variações nas concentrações de Hg entre fêmeas e machos tendem a ser altamente específicas para cada espécie e outros estudos relataram maiores concentrações de Hg em fêmeas (*Didelphis virginiana*: Burger *et al.*, 1994; *Martes americana*: Witt *et al.*, 2020), sugerindo que as diferenças entre sexos podem resultar de outros fatores, como diferenças sexuais no padrão de alimentação e/ou na área de vida.

Apesar da considerável atenção atribuída a transferência materna como um potencial fator causador de diferenças nas concentrações de Hg entre sexos para os mamíferos, grande parte dos estudos não tem conseguido identificar diferenças significativas entre fêmeas e machos (*Ondatra zibethicus*: Stevens *et al.*, 1997; *Chaetidypus penicillatus*, *Dipodomys merriami*, *Peromyscus eremicus* e *Neotoma lepida*: Gerstenberger *et al.*, 2006; *Martes martes* e *Mustela putorius*: Lodenius *et al.*, 2014; *Procyon lotor* e *Félis s. Silvestris*: Kosik-Bogacka *et al.*, 2020). Esses autores sugerem que a transferência placentária e/ou lactacional pode ter um impacto insignificante na geração de padrões de diferenças nas concentrações de Hg entre fêmeas e machos.

No caso dos jovens, a ausência de diferenças significativas nas concentrações de THg entre os sexos pode estar associada à alimentação comum entre fêmeas e machos, nesse caso, o leite materno. Similarmente, em indivíduos subadultos e adultos de ambos os sexos de *D. aurita*, observa-se um padrão de consumo de recursos alimentares semelhante (Ceotto *et al.*, 2009). Portanto, a

homogeneidade na fonte de alimentos parece ser um fator que não contribui para gerar diferenças nas concentrações de THg entre fêmeas e machos.

Nos indivíduos adultos, a perda de Hg do corpo das fêmeas para a prole durante a placentação e/ou lactação parece ser mínima, especialmente devido às baixas concentrações de THg encontradas nos jovens (**Tabela 2, Fig. 3A**). Além disso, qualquer potencial perda de Hg resultante da transferência materna por parte das fêmeas adultas pode estar sendo compensada por outros fatores, como um aumento ou especificação no consumo de recursos alimentares para atender às necessidades energéticas durante os períodos de gestação e cuidados com a prole. De fato, o padrão de consumo de recursos alimentares por fêmeas adultas de *D. aurita* varia entre os períodos não reprodutivos e reprodutivos, com uma menor diversidade de frutos e uma maior ingestão de itens de origem animal durante a época de reprodução (Brum *et al.*, 2022).

## **5. Conclusões**

O presente estudo é o primeiro a avaliar a contaminação ambiental por Hg na Mata Atlântica utilizando uma espécie de marsupial sul-americana como modelo de estudo. As concentrações de THg aqui relatadas revelam que boa parte dos indivíduos amostrados se encontram próximos ou ultrapassam os limites críticos para pelos de mamíferos selvagens, indicando um risco associado à vida desses animais.

As concentrações de THg nos pelos dos gambás foram principalmente influenciadas pelo peso corporal e pela idade, evidenciando o acúmulo progressivo desse elemento devido à exposição prolongada. Além disso, o nível trófico também influenciou nas concentrações de THg, mas essa associação só pôde ser detectada ao considerarmos apenas animais subadultos e adultos, cuja composição química da pelagem reflete o consumo de alimentos da natureza, e não o consumo de leite materno. Indivíduos jovens apresentam elevado nível trófico, mas esse reflete a alimentação das mães, e como parece não haver transferência materna, estes apresentam baixas concentrações de THg. Adicionalmente, o sexo não influenciou significativamente as concentrações de THg nos gambás, reforçando a ideia de baixa ou nula transferência materna para os jovens.



O contexto regional em que as espécies estão inseridas e suas características biológicas e ecológicas são fatores importantes a serem considerados na análise de contaminação por Hg. Nesse contexto, estudos futuros devem ser realizados em outros ambientes e regiões para melhor compreender a relação dessas atividades com a concentração do Hg no ambiente. A análise de concentrações de Hg diferentes espécies de mamíferos provenientes de uma mesma região também pode apresentar pistas sobre outras características importante para a determinação de concentração de Hg a nível interespecífico no grupo. No presente estudo, encontramos animais com concentrações preocupantes desse contaminante. No entanto, informações sobre os limites críticos estão atualmente ausentes para a maioria das espécies de pequenos mamíferos terrestres. Assim, é recomendado que estudos futuros laboratoriais, de mesocosmos e *in situ* analisem os efeitos de diferentes concentrações de Hg em diferentes espécies de pequenos mamíferos terrestres. Ainda, recomenda-se que estudos de campo avaliem também as concentrações do Hg em compartimentos abióticos do ambiente, para entender o quanto desse contaminante está sendo efetivamente transferido para a fauna.

## **6. Agradecimentos**

Agradecemos ao Laboratório de Ciências Ambientais (LCA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) pela infraestrutura e pelas determinações de THg. Agradecemos ao professor Carlos Eduardo de Rezende pela parceria em por ter viabilizado as análises químicas deste trabalho. Este estudo também foi financiado em parte pela Fundação de Amparo à Pesquisa do estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior – Brasil (CAPES).

## **7. Referências**

- Ackerman, J.T., Eagles-Smith, C.A., Herzog, M.P. (2011). Bird mercury concentrations change rapidly as chicks age: Toxicological risk is highest at hatching and fledging. *Environmental Science & Technology*, 45(12):5418-5425. <https://doi.org/10.1021/es200647g>
- Ackerman, J.T., Hartman, C.A., Herzog, M.P. (2019). Mercury contamination in

- resident and migrant songbirds and potential effects on body condition. *Environmental Pollution*, 246:797–810. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.060>
- Ageeva, E., Poddubnaya, N., Shchukina, M. (2023). Total mercury in small mammals from forest ecosystems (nearby Cherepovets, Vologda region). *Environmental and Food Safety*, 407:04002. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202340704002>
- Altman, N., Krzywinski, M (2016). Points of significance: regression diagnostics. *Nat Methods*, 13(5):385–386. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3854>
- Behrooz, R.D., Poma, G. (2020). Evaluation of Mercury Contamination in Iranian Wild Cats Through Hair Analysis. *Biological Trace Element Research*, 199(1):166–172. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02148-1>
- Behrooz, R., Poma, G., Barghi, M. (2022). Non-destructive mercury exposure assessment in the Brandt's hedgehog (*Paraechinus hypomelas*): spines as indicators of endogenous concentrations. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(37):56502–56510. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19926-0>
- Bisinoti, M.C., Jardim, W.F. (2004). O comportamento do metilmercúrio (metilHg) no ambiente. *Química Nova*, 27:593-600. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000400014>
- Bridges, C.C., Zalups, R.K. (2017). Mechanisms involved in the transport of mercuric ions in target tissues. *Archives of Toxicology*, 91:63–81. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1803-y>
- Brum, M.D., Melo, G.L., Cáceres, N.C. (2022). Ecological evidence of hierarchy and competition in *Didelphis aurita* females. *Mammalian Biology*, 102:1709– 1721. <https://doi.org/10.1007/s42991-022-00269-9>
- Bull, K.R., Roberts, R.D., Inskip, M.J., Goodman, G.T. (1977). Mercury concentrations in soil, grass, earthworms and small mammals near an industrial emission source. *Environmental Pollution*, 12(2):135–140. [https://doi.org/10.1016/0013-9327\(77\)90016-7](https://doi.org/10.1016/0013-9327(77)90016-7)

- Burger, J., Marquez, M., Gochfeld, M. (1994). Heavy metals in the hair of opossum from Palo Verde, Costa Rica. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 27(4):472–476. <https://doi.org/10.1007/BF00214838>
- Burton, G.V., Alley, R.J., Rasmussen, G.L., Orton, P., Cox, V., Jones, P., Graff, D. (1977). Mercury and behavior in wild mouse populations. *Environmental Research*, 14(1):30-34. [https://doi.org/10.1016/0013-9351\(77\)90063-9](https://doi.org/10.1016/0013-9351(77)90063-9)
- Cardona, M.T. (2015). *Determinação in situ de metilmercúrio e mercúrio (II) em sistemas aquáticos aas proximidades de refinarias de petróleo, utilizando a técnica difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT)*. Dissertação (Mestrado em Geociência e Meio Ambiente), Rio Claro – SP, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 76p.
- Carignan, V., Villard, M.A. (2002). Selecting indicator species to monitor ecological integrity: A review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 78:45–61. <https://doi.org/10.1023/A:1016136723584>
- Ceotto, P., Finotti, R., Santori, R., Cerqueira, R. (2009). Diet variation of the marsupials *Didelphis aurita* and *Philander frenatus* (Didelphimorphia, Didelphidae) in a rural area of Rio De Janeiro State, Brazil. *Mastozoología Neotropical*, 16(1):49–58.
- Cherel, Y., Hobson, K.A. (2007). Geographical variation in carbon stable isotope signatures of marine predators: A tool to investigate their foraging areas in the Southern Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 329:281–287. <https://doi.org/10.3354/meps329281>
- Chételat, J., Ackerman, J.T., Eagles-Smith, C.A., Hebert, C.E. (2020). Methylmercury exposure in wildlife: A review of the ecological and physiological processes affecting contaminant concentrations and their interpretation. *Science of the Total Environment*, 711. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135117>
- Chumchal, M.M., Rainwater, T.R., Osborn, S.C., Roberts, A.P., Abel, M.T., Cobb, G.P., Smith, P.N., Bailey, F.C. (2011). Mercury speciation and biomagnification in the food web of Caddo Lake, Texas and Louisiana,

- USA, a subtropical freshwater ecosystem. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(5):1153- 1162. <https://doi.org/10.1002/etc.477>
- Constantino, W.D., Viana, L.M.S., Luze, F.H.R., Tostes, E.C.L., Pestana, I.A., Carvalho, C.E.V. (2023). Mercury levels in an environmentally protected estuarine area in Northeast Brazil: partitioning in the water column and transport to the ocean. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(11):31383– 31394. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-24400-y>
- Costa, L.S. (2020). *Bioacumulação de metais pesados em pequenos mamíferos em áreas de remanescentes de Mata Atlântica e monocultura de cana-de-açúcar na Paraíba, Brasil*. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas), João Pessoa – PB, Universidade Federal da Paraíba – UFP, 69p.
- Cumbie, P.M., Jenkins, J.H. (1974). Mercury accumulation in native mammals of the southeast. In *Ann Conf Southeast Assos Game Fish Comm*. Estados Unidos: Duke Power Co.
- Durkalec, M., Nawrocka, A., Żmudzki, J., Filipek, A., Niemcewicz, M., Posyniak, A. (2019). Concentration of mercury in the livers of small terrestrial rodents from rural areas in Poland. *Molecules*, 24(22):4108. <https://www.mdpi.com/14203049/24/22/4108#>
- Ecke, F., Benskin, J.P., Berglund, Å.M., de Wit, C.A., Engström, E., Plassmann, M.M., Rodushkin, I., Sorlin, D., Hörnfeldt, B. (2020). Spatio-temporal variation of metals and organic contaminants in bank voles (*Myodes glareolus*). *Science of the Total Environment*, 713:136353. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136353>
- Eisler, R. (1984). Trace metal changes associated with age of marine vertebrates. *Biological Trace Element Research*, 6:165-180. <https://doi.org/10.1007/BF02916933>
- Evers, D.C., Burgess, N.M., Champoux, L., Hoskins, B., Major, A., Goodale, W.M., Taylor, R.J., Poppenga, R., Daigle, T. (2005). Patterns and Interpretation of Mercury Exposure in Freshwater Avian Communities in Northeastern North America. *Ecotoxicology*, 14:193–221.

<https://doi.org/10.1007/s10646-004-6269-7>

- Ferreira, M.S., Kajin, M., Vieira, M.V, Cerqueira, R., D'andrea, P.S., Gentile, R. (2007). Análises de sensibilidade e elasticidade do marsupial *Didelphis aurita* (Didelphimorphia, Didelphidae) em Mata Atlântica: Comparação entre área florestada e rural. *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*. Caxambu. P. 1-2.
- Fisher, D.O., Dickman, C. R. (1993). Body size-prey relationships in insectivorous marsupials: Tests of three hypotheses. *Ecology*, 74(6):1871-1883.<https://doi.org/10.2307/1939944>
- Frodello, J.P., Roméo, M., Viale, D. (2000). Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. *Environmental Pollution*, 108:447–452. [www.elsevier.com/locate/envpol](http://www.elsevier.com/locate/envpol)
- Galetti, M., Rodarte, R.R., Neves, C.L., Moreira, M., Costa-Pereira, R. (2016). Trophic niche differentiation in rodents and marsupials revealed by stable isotopes. *PloS one*, 11(4):e0152494. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152494>
- Gall, J.E., Boyd, R.S., Rajakaruna, N. (2015). Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(4). <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4436-3>
- García-Muñoz, J., Pérez-López, M., Soler, F., Míguez-Santiyán, M.P., Martínez-Morcillo, S. (2023). Non-invasive samples for biomonitoring heavy metals in terrestrial ecosystems. 10.5772/intechopen.1001334
- Gerstenberger, S.L., Cross, C.L., Divine, D.D., Gulmatico, M.L., Rothweiler, A.M. (2006). Assessment of Mercury Concentrations in Small Mammals Collected Near Las Vegas, Nevada, USA. *Far Eastern Entomologist*, 165:583–589. <https://doi.org/10.1002/tox>
- Gorman, M.L., Akbarbin, Z., Ahmad, M. (1993). A comparative study of the ecology of woodmice *Apodemus sylvaticus* in two contrasting habitats: deciduous woodland and maritime sand-dunes. *Journal of Zoology*, 229(3):385-396. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1993.tb02643.x>

- Grottoli, A.D., Swanson, H.K., Broders, H. G. (2023). Mercury concentrations decline with age in the fur of females of an insectivorous terrestrial mammal (*Myotis lucifugus*). *Science of The Total Environment*, 885:163763. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163763>
- Hobson, K.A., Schell, D.M., Renouf, D., Noseworthy, E. (1996). Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissues of captive seals: implications for dietary reconstructions involving marine mammals. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53(3):528-533. <https://doi.org/10.1139/f95-209>
- Huckabee, J.W., Cartan, F.O., Kennington, G.S., Camenzind, F.J. (1973). Mercury concentration in the hair of coyotes and rodents in Jackson Hole, Wyoming. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 9(1). <https://doi.org/10.1007/BF01856769>
- ICMBIO (2008a). Plano de Manejo da Área de Proteção Ambiental da Bacia do Rio São João/Mico-leão-dourado. Ministério do Meio Ambiente, Brasil.
- ICMBIO (2008b). Plano de Manejo da Reserva Biológica União, Encarte 3 – Análise da Unidade de Conservação. Ministério do Meio Ambiente, Brasil.
- Jędruch, A., Falkowska, L., Saniewska, D., Durkalec, M., Nawrocka, A., Kalisinska, Kowalski, A., Pacyna, J.M. (2021) Status and trends of mercury pollution of the atmosphere and terrestrial ecosystems in Poland. *Ambio* 50:1698–1717. <https://doi.org/10.1007/s13280-021-01505-1>
- Kalisinska, E., Lanocha-Arendarczyk, N., Podlasinska, J. (2021). Current and historical nephric and hepatic mercury concentrations in terrestrial mammals in Poland and other European countries. *Science of the Total Environment*, 775. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145808>
- Kasparian, K., Millar, J.S. (2004). Diet selection by red-backed voles *Clethrionomys gapperi*. *Acta Theriologica*, 49:289-300. <https://doi.org/10.1007/BF03192529>
- Kehrig, H.A., Hauser-Davis, R.A., Muelbert, M.M.C., Almeida, M.G., Di Benedetto, A.P.M., Rezende, C.E. (2022). Mercury and stable carbon and nitrogen

isotopes in the natal Fur of two Antarctic pinniped species. *Chemosphere*, 288. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132500>

Kehrig, H.A., Seixas, T.G., Malm, O., Di Benedetto, A.P.M., Rezende, C.E. (2013). Mercury and selenium biomagnification in a Brazilian coastal food web using nitrogen stable isotope analysis: A case study in an area under the influence of the Paraíba do Sul River plume. *Marine Pollution Bulletin*, 75(1–2):283–290. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.06.046>

Keva, O., Hayden, B., Harrod, C., Kahilainen, K.K. (2017). Total mercury concentrations in liver and muscle of European whitefish (*Coregonus lavaretus* (L.)) in a subarctic lake-Assessing the factors driving year-round variation. *Environmental Pollution*, 231:1518-1528. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.012>

Klenavic, K., Champoux, L., Mike, O., Daoust, P.Y., Evans, R.D., Evans, H. E. (2008). Mercury concentrations in wild mink (*Mustela vison*) and river otters (*Lontra canadensis*) collected from eastern and Atlantic Canada: Relationship to age and parasitism. *Environmental Pollution*, 156(2):359–366. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.02.003>

Koch, I., Das, P., McPhedran, B.E., Casselman, J.M., Moniz, K.L., van Coeverden de Groot, P., Qitsualik, J., Muir, D., Schott, S., Walker, V.K. (2021). Correlation of mercury occurrence with age, elemental composition, and life history in sea-run food fish from the Canadian arctic archipelago's lower northwest passage. *Foods*, 10(11):2621. [10.3390/foods10112621](https://doi.org/10.3390/foods10112621)

Köppen, W. (1948) *Climatologia: Con un Estudio de los Climas de la Tierra*; Fondo de Cultura Economica: Pánuco, México, pág. 478.

Kosik-Bogacka, D., Osten-Sacken, N., Łanocha-Arendarczyk, N., Kot, K., Pilarczyk, B., Tomza-Marciniak, A., Podlasińska, J., Chmielarz, M., Heddergott, M., Frantz, A.C., Steinbach, P. (2020). Selenium and mercury in the hair of raccoons (*Procyon lotor*) and European wildcats (*Felis s. silvestris*) from Germany and Luxembourg. *Ecotoxicology*, 29(1):1–12. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02120-3>

Lanocha, N., Kalisinska, E., Kosik-Bogacka, D.I., Budis, H., Podlasinska, J.,

- Jedrzejewska, E. (2014). Mercury levels in raccoons (*Procyon lotor*) from the Warta Mouth National Park, northwestern Poland. *Biological trace element research*, 159:152-160. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-9962-2>
- Ligges, U., Mächler, M. (2002). *Scatterplot3d-an r package for visualizing multivariate data*. Technical report. <https://doi.org/10.18637/jss.v008.i11>
- Lino, A.S., Kasper, D., Guida, Y.S., Thomaz, J.R., Malm, O. (2019). Total and methyl mercury distribution in water, sediment, plankton and fish along the Tapajós River basin in the Brazilian Amazon. *Chemosphere*, 235:690–700. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.212>
- Lodenius, M., Skarén, U., Hellstedt, P., Tulisalo, E. (2014). Mercury in various tissues of three mustelid species and other trace metals in liver of European otter from Eastern Finland. *Environmental monitoring and assessment*, 186:325-333. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3376-z>
- Lord, C.G., Gaines, K.F., Boring, C.S., Brisbin, Jr, I.L., Gochfeld, M., Burger, J. (2002). Raccoon (*Procyon lotor*) as a bioindicator of mercury contamination at the US Department of Energy's Savannah River Site. *Archives of environmental contamination and Toxicology*, 43:0356-0363. <https://doi.org/10.1007/s00244-002-1227-y>
- Ma, Y., Shang, L., Hu, H., Zhang, W., Chen, L., Zhou, Z., Singh, P.B., Hu, Y. (2021). Mercury distribution in the East Himalayas: Elevational patterns in soils and non-volant small mammals. *Environmental Pollution*, 288:117752. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117752X>
- Ma, Y., Chen, S., Shang, L., Zhang, W., Yan, Y., Huang, Z., Hu, Y., Liang, J., Ji, S., Zhao, Z., Zhou, Z., Hu, H. (2023). Small mammals as a bioindicator of mercury in a biodiversity hotspot–The Hengduan Mountains, China. *Ecological Indicators*, 154:110892. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.110892>
- Macedo, J., Loretto, D., Vieira, M.V., Cerqueira, R. (2006). Classes de desenvolvimento em marsupiais: um método para animais vivos. *Mastozoología neotropical*, 13(1):133-136.



- Malvandi, H., Ghasempouri, S.M., Esmaili-Sari, A., Bahramifar, N. (2010). Evaluation of the suitability of application of golden jackal (*Canis aureus*) hair as a noninvasive technique for determination of body burden mercury. *Ecotoxicology*, 19:997-1002. <https://doi.org/10.1007/s10646-010-0504-1>
- Mills, N., Weber, M.J., Pierce, C.L., Cashatt, D. (2019). Factors influencing fish mercury concentrations in Iowa rivers. *Ecotoxicology*, 28:229-241. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02017-1>
- Mojammal, A.H.M., Back, S.K., Seo, Y.C., Kim, J. H. (2019). Mass balance and behavior of mercury in oil refinery facilities. *Atmospheric Pollution Research*, 10(1):145-151. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2018.07.002>
- Mussy, M.H., de Almeida, R., de Carvalho, D.P., Lauthartte, L.C., de Holanda, I.B.B., Almeida, M.G.D., Sousa-Filho, I.F.D., Rezende, C.E.D., Bastos, W. R. (2023). Evaluating total mercury and methylmercury biomagnification using stable isotopes of carbon and nitrogen in fish from the Madeira River basin, Brazilian Amazon. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(12):33543-33554. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-24235-7>
- Noël, M., Jeffries, S., Lambourn, D.M., Telmer, K., Macdonald, R., Ross, P.S. (2016). Mercury Accumulation in Harbour Seals from the Northeastern Pacific Ocean: The Role of Transplacental Transfer, Lactation, Age and Location. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 70(1):56–66. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0193-0>
- O'Connell, T.C. (2017). 'Trophic' and 'source' amino acids in trophic estimation: a likely metabolic explanation. *Oecologia*, 184(2):317-326 <https://doi.org/10.1007/s00442-017-3881-9>
- Onsanit, S., Chen, M., Ke, C., Wang, W.X. (2012). Mercury and stable isotope signatures in caged marine fish and fish feeds. *Journal of hazardous materials*, 203:13-21. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.11.021>
- Patiño Ropero, M.J., Rodríguez Fariñas, N., Mateo, R., Berzas-Nevado, J.J., Rodríguez Martín-Doimeadios, R.C. (2016). Mercury species accumulation

and trophic transfer in biological systems using the Almadén mining district (Ciudad Real, Spain) as a case of study. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(7):6074–6081. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4989->

Pestana, I.A., Almeida, M.G., Bastos, W.R., Souza, C.M.M. (2019). Total Hg and methylmercury dynamics in a river-floodplain system in the Western Amazon: Influence of seasonality, organic matter and physical and chemical parameters. *Science of the Total Environment*, 656:388–399. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.388>

Peterson, S.H., Ackerman, J.T., Hartman, C.A., Casazza, M.L., Feldheim, C.L., Herzog, M.P. (2021). Mercury exposure in mammalian mesopredators inhabiting a brackish marsh. *Environmental Pollution*, 273:115808. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115808>

R Core Team (2023). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

PETROBRAS (2022a). Nossas atividades > Principais operações > Gasodutos > Cabiúnas. Consultado em Janeiro de 2022. Disponível em: <https://petrobras.com.br/pt/nossas-atividades/principais-operacoes/gasodutos/cabiunas.htm>

PETROBRAS (2022b). Nossas atividades > Principais operações > Terminais e Oleodutos > Terminal Cabiúnas. Consultado em Janeiro de 2022. Disponível em: <https://petrobras.com.br/pt/nossas-atividades/principais-operacoes/terminais-e-oleodutos/terminal-cabiunas.htm>

Rice, K. M., Walker Jr, E. M., Wu, M., Gillette, C., Blough, E.R. (2014). Environmental mercury and its toxic effects. *Journal of preventive medicine and public health*, 47(2):74. <https://doi.org/10.3961%2Fjpmph.2014.47.2.74>

Sánchez-Chardi, A., López-Fuster, M.J., Nadal, J. (2007). Bioaccumulation of lead, mercury, and cadmium in the greater white-toothed shrew, *Crocidura russula*, from the Ebro Delta (NE Spain): Sex- and age-dependent variation. *Environmental Pollution*, 145(1):7–14. <sup>66</sup>

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.02.033>

Selin, N.E. (2009). Global biogeochemical cycling of mercury: A review. *Annual Review of Environment and Resources*, 34:43–63. <https://doi.org/10.1146/annurev.environ.051308.084314>

Sheffy, T.B., St. Amant, J.R. (1982). Mercury burdens in furbearers in Wisconsin. *The Journal of Wildlife Management*, 46(4):1117-1120. <https://doi.org/10.2307/3808255>

Silva-Filho, E.V., Machado, W., Oliveira, R.R., Sella, S.M., Lacerda, L.D. (2006). Mercury deposition through litterfall in an Atlantic Forest at Ilha Grande, Southeast Brazil. *Chemosphere*, 65(11):2477–2484. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.04.053>

Skibniewska, E.M., Skibniewski, M. (2023). Mercury contents in the liver, kidneys and hair of domestic cats from the Warsaw Metropolitan Area. *Applied Sciences*, 13(1):269. <https://www.mdpi.com/2076-3417/13/1/269#>

Souza, M.J., Ramsay, E.C., Donnell, R.L. (2013). Metal accumulation and health effects in raccoons (*Procyon lotor*) associated with coal fly ash exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 64(4):529–536. <https://doi.org/10.1007/s00244-012-9865-1>

Squadrone, S., Robetto, S., Orusa, R., Griglione, A., Falsetti, S., Paola, B., Abete, M.C. (2022). Wildlife hair as bioindicators of metal exposure. *Biological Trace Element Research*, 200(12):5073-5080. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-03074-6>

Stevens, R.T., Ashwood, T.L., Sleeman, J.M. (1997). Mercury in hair of muskrats (*Ondatra zibethicus*) and mink (*Mustela vison*) from the US Department of Energy Oak Ridge Reservation. *Bulletin of environmental contamination and Toxicology*, 58(5). <https://doi.org/10.1007/s001289900392>

Tadiso, T.M., Borgstrøm, R., Rosseland, B.O. (2011). Mercury concentrations are low in commercial fish species of Lake Ziway, Ethiopia, but stable isotope data indicated biomagnification. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(4):953- 959. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.01.005>

- Tinôco, A.A.P., de Azevedo, I.C.D.A.D., Marques, E.A.G., Mounter, A.H., Martins, C.P., Nascentes, R., Reis, E.L., Natalino, R. (2010). Avaliação de contaminação por mercúrio em Descoberto, MG. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 15(4):305–314. <https://doi.org/10.1590/s1413-41522010000400003>
- Transpetro. (2021). *Saiba o que estamos fazendo para prevenir o roubo de óleo e de derivados em nossas instalações.*
- USEPA. (2002). Method 1631, revision E: mercury in water by oxidation, purge and trap, and cold vapor atomic fluorescence spectrometry. Consulted in July 2023. Available at: [https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-08/documents/method\\_1631e\\_2002.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-08/documents/method_1631e_2002.pdf)
- Venables, W.N., Ripley, B.D. (2002). *Modern applied statistics with S.* Springer, New York. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-21706-2>
- Wada, H., Yates, D.E., Evers, D.C., Taylor, R.J., Hopkins, W.A. (2010). Tissue mercury concentrations and adrenocortical responses of female big brown bats (*Eptesicus fuscus*) near a contaminated river. *Ecotoxicology*, 19:1277-1284. <https://doi.org/10.1007/s10646-010-0513-0>
- Wang, X., Yuan, W., Lin, C.J., Feng, X. (2022). Mercury cycling and isotopic fractionation in global forests. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(21):3763-3786. <https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1961505>
- Ward, D.M., Nislow, K.H., Chen, C.Y., Folt, C.L. (2010). Rapid, efficient growth reduces mercury concentrations in stream-dwelling Atlantic salmon. *Transactions of the American Fisheries Society*, 139(1):1-10. <https://doi.org/10.1577/T09-032.1>
- Wijnhoven, S., Leuven, R. S., van der Velde, G., Eijsackers, H. J. (2008). Toxicological risks for small mammals in a diffusely and moderately polluted floodplain. *Science of the total environment*, 406(3):401-406. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.05.059>

- Witt, J.C., Spriggs, M.C., Veverica, T., Steffes, C., Bump, J. (2020). Bioaccumulation of mercury in a terrestrial carnivore, american marten (*Martes americana*). *Journal of Wildlife Diseases*, 56(2):388–396. <https://doi.org/10.7589/2019-05-138>
- Wolfe, M., Norman, D. (1998). Effects of waterborne mercury on terrestrial wildlife at clear lake: Evaluation and testing of a predictive model. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(2):214–227. <https://doi.org/10.1002/etc.5620170213>
- Wren, C.D. (1986). A review of metal accumulation and toxicity in wild mammals. *Environmental Research*, 40(1):210–244. [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(86\)80098-6](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(86)80098-6)
- Zhou, J., Obrist, D., Dastoor, A., Jiskra, M., Ryjkov, A. (2021). Vegetation uptake of mercury and impacts on global cycling. *Nature Reviews Earth & Environment*, 2:269–284 (2021). <https://doi.org/10.1038/s43017-021-00146-y>

## 8. Material Suplementar

**Material Suplementar S1** – Coordenadas geográficas das áreas de amostragem em cada Unidade de Conservação.

Unidade de Conservação	Área	Latitude	Longitude
Área de Proteção Ambiental da Bacia do Rio São João	Fazenda Flandria (FL)	-22.505250°	-42.316260°
	Fazenda Iguapé (IG)	-22.505720°	-42.326960°
	Fazenda Dois Irmãos (DI)	-22.512860°	-42.337680°
Reserva Biológica União	REBIO União A (UA)	-22.422637°	-42.018349°
	REBIO União B (UB)	-22.443004°	-42.050378°
	REBIO União C (UC)	-22.462706°	-42.093187°
	REBIO União D (UD)	-22.422576°	-42.025929°

**Material Suplementar S2** – Parâmetros morfométricos e concentrações de  $\delta^{15}\text{N}$  (‰) e THg ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  [peso seco]) de todos os indivíduos amostrados.

Região	Área	Sexo	Peso (g)	Comp. (cm)	Dentição	Idade	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	THg ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
APA	IG	Fêmea	980	372	P3M4	Adulto	9,9	0,45
APA	IG	Fêmea	860	357	P3M4	Adulto	8,3	1,07
APA	IG	Fêmea	625	365	P3M3	Adulto	9,5	2,86
APA	IG	Macho	1010	385	P3M4	Adulto	7,3	4,50
APA	DI	Macho	720	330	P0M3	Adulto	7,8	4,93
APA	FL	Fêmea	800	320	P3M4	Adulto	7,7	5,46
APA	DI	Macho	1340	420	P3M4	Adulto	7,6	5,50
APA	FL	Macho	1540	394	P3M4	Adulto	7,9	5,60

APA	DI	Macho	1690	410	P3M4	Adulto	8,4	5,65
APA	DI	Macho	1410	350	P3M4	Adulto	7,2	6,21
APA	FL	Fêmea	1010	345	P3M4	Adulto	6,7	7,31
APA	DI	Fêmea	1190	395	P3M4	Adulto	9,0	10,10
APA	FL	Macho	1750	366	P3M4	Adulto	8,1	11,25
APA	DI	Macho	130	167	dP3M1	Jovem	8,6	0,66
APA	DI	Fêmea	190	200	dP3M1	Jovem	8,5	1,63
APA	FL	Macho	300	237	dP3M1	Jovem	7,9	2,81
APA	FL	Macho	315	254	dP3M1	Jovem	7,8	4,26
APA	FL	Macho	310	248	dP3M1	Jovem	8,5	4,50
APA	FL	Macho	455	265	dP3M2	Subadulto	7,9	1,80
APA	FL	Macho	355	238	dP3M2	Subadulto	8,9	2,05
APA	FL	Macho	500	280	dP3M2	Subadulto	NA	2,48
APA	FL	Macho	445	265	P2M3	Subadulto	7,4	3,01
APA	FL	Fêmea	415	258	dP3M2	Subadulto	8,3	3,28
APA	FL	Fêmea	360	266	dP3M3	Subadulto	7,8	3,39
APA	DI	Macho	635	320	dP3M2	Subadulto	8,0	3,77
APA	FL	Macho	460	295	dP3M3	Subadulto	9,6	4,68
APA	FL	Fêmea	380	239	dP3M3	Subadulto	8,3	5,02
APA	DI	Fêmea	550	275	dP3M3	Subadulto	8,2	6,39
REBIO	B	Macho	1160	345	P3M4	Adulto	6,3	1,30
REBIO	D	Fêmea	1020	361	P3M4	Adulto	10,0	1,55
REBIO	A	Fêmea	1190	455	P3M4 desg	Adulto	9,2	1,93
REBIO	B	Fêmea	1140	362	P3M4	Adulto	10,0	2,16
REBIO	D	Macho	1000	323	P3M4	Adulto	9,3	2,43
REBIO	A	Macho	1190	356	P3M4	Adulto	9,0	2,59
REBIO	A	Macho	1270	381	P3M4	Adulto	9,3	2,83

REBIO	C	Fêmea	1030	332	P3M3	Adulto	10,2	2,90
REBIO	C	Fêmea	1130	329	P3M4 desg	Adulto	10,0	3,63
REBIO	A	Fêmea	620	332	P3M4	Adulto	9,5	3,74
REBIO	A	Fêmea	660	319	P3M4	Adulto	9,5	4,35
REBIO	D	Macho	710	341	P3M3	Adulto	9,8	5,88
REBIO	A	Fêmea	970	309	P3M4	Adulto	9,2	5,93
REBIO	A	Fêmea	710	318	P3M4	Adulto	9,4	6,00
REBIO	C	Fêmea	NA	370	P3M4	Adulto	9,1	6,30
REBIO	B	Macho	1450	384	P3M4	Adulto	10,2	6,61
REBIO	D	Fêmea	1330	397	P3M4 desg	Adulto	12,3	6,62
REBIO	B	Fêmea	650	340	P3M4	Adulto	10,2	7,20
REBIO	B	Macho	690	312	P3M4	Adulto	10,0	7,27
REBIO	A	Macho	1240	365	P3M3	Adulto	10,8	7,35
REBIO	A	Macho	1045	317	P3M4	Adulto	8,9	7,37
REBIO	B	Macho	1080	372	P3M4	Adulto	9,5	7,94
REBIO	A	Fêmea	900	379	P3M4	Adulto	10,1	8,21
REBIO	D	Fêmea	610	300	P3M3	Adulto	10,7	8,63
REBIO	A	Fêmea	1005	350	P3M4	Adulto	9,5	9,92
REBIO	A	Fêmea	1435	395	P3M4 desg	Adulto	9,9	10,22
REBIO	B	Macho	1475	427	P3M4	Adulto	9,8	12,30
REBIO	A	Fêmea	1020	425	P3M4	Adulto	12,0	15,03
REBIO	B	Fêmea	1440	402	P3M4	Adulto	10,0	15,85
REBIO	B	Macho	NA	370	P3M4 desg	Adulto	10,4	16,58
REBIO	B	Macho	1585	355	P3M3	Adulto	10,7	17,43
REBIO	A	Fêmea	60	148	dP3M1	Jovem	11,3	0,11
REBIO	B	Fêmea	75	164	dP3M1	Jovem	10,6	0,91
REBIO	B	Macho	65	154	dP3M1	Jovem	10,4	0,97



REBIO	B	Fêmea	90	172	dP3M1	Jovem	10,4	0,99
REBIO	B	Macho	65	146	dP3M1	Jovem	10,0	1,06
REBIO	B	Fêmea	70	158	dP3M1	Jovem	10,4	1,07
REBIO	D	Macho	215	204	dP3M1	Jovem	11,1	1,20
REBIO	D	Macho	230	185	dP3M2	Jovem	11,1	1,29
REBIO	D	Macho	215	209	dP3M1	Jovem	11,1	1,32
REBIO	D	Macho	240	205	dP3M1	Jovem	11,2	1,32
REBIO	D	Macho	205	183	dP3M1	Jovem	11,2	1,53
REBIO	D	Macho	225	210	dP3M1	Jovem	NA	1,53
REBIO	D	Fêmea	220	186	dP3M1	Jovem	11,1	1,78
REBIO	C	Macho	290	215	dP3M1	Jovem	9,1	1,92
REBIO	A	Fêmea	75	140	dP3M1	Jovem	11,3	5,66
REBIO	D	Macho	530	NA	dP3M2	Subadulto	9,8	0,57
REBIO	A	Fêmea	560	292	dP3M2	Subadulto	8,5	1,99
REBIO	D	Fêmea	435	245	dP3M2	Subadulto	9,1	2,37
REBIO	D	Macho	490	279	dP3M2	Subadulto	9,2	3,11
REBIO	B	Macho	550	290	dP3M2	Subadulto	7,9	3,54
REBIO	D	Fêmea	720	282	dP3M3	Subadulto	9,3	3,90
REBIO	B	Fêmea	710	309	dP3M2	Subadulto	9,3	4,17
REBIO	B	Fêmea	410	277	dP3M2	Subadulto	10,2	4,74
REBIO	B	Macho	570	264	dP3M2	Subadulto	9,3	5,09
REBIO	D	Fêmea	590	258	dP3M3	Subadulto	9,0	5,98
REBIO	C	Macho	380	269	dP3M2	Subadulto	8,5	6,46
REBIO	B	Fêmea	560	306	dP3M2	Subadulto	8,9	6,51
REBIO	D	Fêmea	510	314	dP3M3	Subadulto	8,9	7,06
REBIO	B	Fêmea	530	342	dP3M3	Subadulto	9,6	8,68

**Material Suplementar S3** – Tabela da ANOVA e do teste post-hoc de Tukey para a relação entre a classe etária e o sexo com as concentrações de THg nos pelos de gambás do presente estudo.

ANOVA					
Efeito	Df	Sum Sq	Mean Sq	F	p
Intercepto	1	1298,064	1298,064	123,745	< 0,001
Sexo	1	0,399	0,399	0,038	0,846
Idade	2	311,153	155,576	14,831	< 0,001
Sexo:Idade	2	24,695	12,348	1,177	0,313
Resíduos	81	849,679	10,490		

Teste post-hoc de Tukey			
Idade	Jovem	Subadulto	Adulto
Jovem		0,049	< 0,001
Subadulto			0,014

**Material Suplementar S4** - Tabela da ANOVA e do teste post-hoc de Tukey para a relação entre a classe etária e o sexo com os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  nos pelos de gambás do presente estudo.

ANOVA					
Efeito	Df	Sum Sq	Mean Sq	F	p
Intercepto	1	6412,097	6412,097	5105,194	< 0,001
Sexo	1	5,363	5,363	4,270	0,042
Idade	2	19,968	9,984	7,949	< 0,001
Sexo:Idade	2	0,972	0,486	0,387	0,680
Resíduos	79	99,224	1,256		

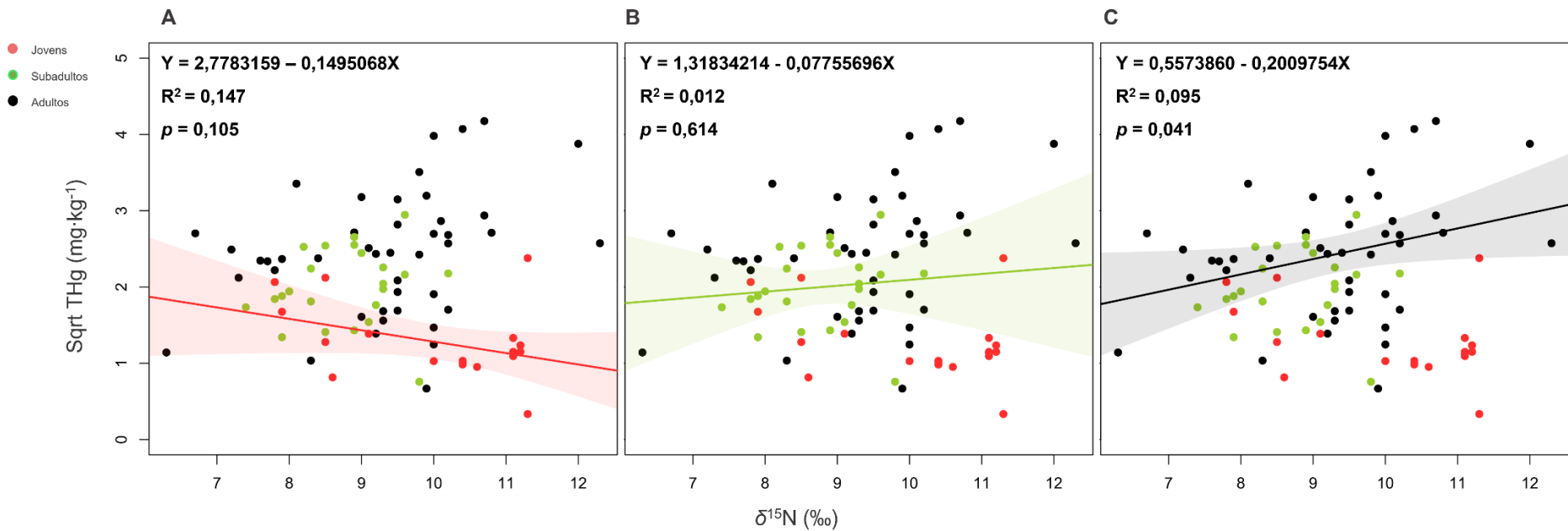
---

**Teste post-hoc de Tukey**

---

Idade	(Jovem) 10,084	(Subadulto) 8,778	(Adulto) 9,302
Jovem		0,001	0,035
Subadulto			0,173

---



**Material Suplementar S5** - Regressão entre o nível trófico e as concentrações de THg nos pelos de todos os indivíduos analisados com os modelos de regressão representando em (A) apenas jovens, (B) apenas subadultos e (C) apenas adultos. Os modelos de regressão são indicados pelas linhas sólidas e as áreas sombreadas indicam os intervalos de confiança de 95% do modelo. Os pontos em vermelho claro indicam indivíduos jovens, os verdes indivíduos subadultos e os pretos os adultos.

**Material Suplementar S6 – Concentrações de Hg (média ± desvio padrão [intervalo mínimo e máximo]) relatadas para amostras de pelos em diversas espécies de mamíferos terrestres de pequeno e médio porte pelo mundo.**

País	Espécie	Ordem	Hábito Alimentar	Tecido	N	Hg (mg·kg <sup>-1</sup> )	Referência
	<i>Clethrionomys gapperi</i>	Rodentia	Onívoro	Pelos	13	< 0,01	
Estados Unidos	<i>Microtus pennsylvanicus</i>	Rodentia	Herbívoro	Pelos	14	< 0,01	Huckabee <i>et al.</i> , 1973
	<i>Microtus montanus</i>	Rodentia	Herbívoro	Pelos	14	< 0,01	
–	<i>Apodemus silvaticus</i>	Rodentia	Onívoro	Pelos	6	0,78 ± 0,12 (0,50 - 1,36) (peso úmido)	Bull <i>et al.</i> , 1977
	<i>Chaetidypus penicillatus</i>	Rodentia	Herbívoro	Pelos	32	0,02 ± 0,01 (0,01 - 0,03)	
Estados Unidos	<i>Dipodomys merriami</i>	Rodentia	Herbívoro	Pelos	8	0,05 ± 0,04 (0,01 - 0,16)	Gerstenberger <i>et al.</i> , 2006
	<i>Peromyscus eremicus</i>	Rodentia	Onívoro	Pelos	46	0,03 ± 0,02 (0,01 - 0,12)	
	<i>Neotoma lepida</i>	Rodentia	Herbívoro	Pelos	16	0,01 ± 0,01 (0,01 - 0,03)	
China	<i>Alticola stoliczkanus</i>	Rodentia	–	Pelos	68	0,04 ± 0,04 (0,01 - 0,04)	Ma <i>et al.</i> , 2021
	<i>Niviventer eha</i>	Rodentia	–	Pelos	68	0,04 ± 0,04 (0,01 - 0,04)	
Rússia	<i>Apodemus uralensis</i>	Rodentia	Insetívoro	Pelos	20	0,07 (peso seco)	Ageeva <i>et al.</i> , 2023
	<i>Apodemus latronum</i>	Rodentia	Herbívoro	Pelos	7	0,12 ± 0,11 (peso úmido)	
China	<i>Niviventer confucianus</i>	Rodentia	Herbívoro	Pelos	3	0,11 ± 0,05 (peso úmido)	Ma <i>et al.</i> , 2023
Estados Unidos	<i>Didelphis marsupialis</i>	Didelphimorphia	Onívoro	Pelos	–	4,44	Cumbie e Jenkins, 1974
Costa Rica	<i>Didelphis marsupialis</i>	Didelphimorphia	Onívoro	Pelos	24	0,26 ± 0,04 (peso seco)	Burger <i>et al.</i> , 1994
	<i>Mustela vison</i>	Carnívora	Carnívoro	Pelos	8	7,42 (peso úmido)	
Estados Unidos	<i>Procyon lotor</i>	Carnívora	Onívoro	Pelos	–	10,98 (peso úmido)	voire e Norman, 1996
Estados Unidos	<i>Procyon lotor</i>	Carnívora	Onívoro	Pelos	68	1,26 (0,39 - 12,05) (peso seco)	Lord <i>et al.</i> , 2002
Estados Unidos	<i>Procyon lotor</i>	Carnívora	Onívoro	Pelos	10	0,38	Souza <i>et al.</i> , 2013
Finlândia	<i>Mustela putorius</i>	Carnívora	Carnívoro	Pelos	32	5,00 ± 2,10 (peso seco)	Lodenus <i>et al.</i> , 2014
Alemanha	<i>Procyon lotor</i>	Carnívora	Onívoro	Pelos	18	0,48 ± 0,70 (0,10 - 2,81) (peso seco)	
Luxemburgo	<i>Procyon lotor</i>	Carnívora	Onívoro	Pelos	10	2,36 ± 2,35 (0,39 - 7,46) (peso seco)	Kosik-Bonarka <i>et al.</i> 2020
<b>LIMITES</b>							
Evidência presuntiva de problema relacionado ao Hg	Mamíferos terrestres			Pelo		1,10	United States Fish and Wildlife Service

–\* Não amostrado ou não informado

## 2. Considerações finais

O estudo com amostras de pelos de *Didelphis aurita* reforça a importância de estudos ecotoxicológicos para criar linhas de base de concentrações de Hg no pelo de pequenos mamíferos terrestres, já que a ausência de dados específicos sobre concentrações naturais de Hg nestes animais impossibilita a avaliação de riscos. Aqui, identificamos que alguns indivíduos apresentam concentrações preocupantes que podem indicar efeitos adversos à saúde. Embora nenhum indivíduo ultrapasse o LOAEL estabelecido para mamíferos terrestres (Sheffy e Amant, 1982), mais de um terço dos indivíduos analisados apresentou concentrações que superam o limite proposto pela USFWS, indicando um alto risco ambiental relacionado ao Hg. Esses resultados reforçam a necessidade contínua de estudos sobre os impactos da contaminação por mercúrio em pequenos mamíferos terrestres e a importância da regulamentação ambiental para mitigar esses riscos.

Nossos resultados revelam que o peso corporal exerceu um papel fundamental na predição das concentrações de THg nos pelos dos gambás, com uma contribuição menor da classe etária. Isso reforça as conclusões de outros pesquisadores, que identificaram associações positivas entre as concentrações de THg, peso corporal e idade/classe etária (Lanocha *et al.*, 2014; Witt *et al.*, 2020; Skibniewska e Skibniewski, 2023), sugerindo exposição prolongada e bioacumulação desse elemento ao longo da vida dos animais (Durkalec *et al.*, 2019; Ecke *et al.*, 2020; García-Muñoz *et al.*, 2023).

Notavelmente, observamos concentrações mais baixas de THg em jovens, provavelmente devido ao fenômeno de “diluição do crescimento” (Ackerman *et al.*, 2011; Keva *et al.*, 2017), com um aumento gradual nas concentrações à medida que os indivíduos crescem e envelhecem. A análise das concentrações de Hg em diferentes classes etárias reflete as variações no consumo de presas, indicando que os adultos, com uma dieta mais diversificada e capacidade de predação de presas maiores, apresentam concentrações mais elevadas de Hg.

A contribuição do nível trófico proporcionou uma explicação limitada para as concentrações de THg observadas nesses indivíduos quando os jovens foram incluídos na análise. No entanto, ao restringir a análise apenas a subadultos e adultos, a associação entre o nível trófico e as concentrações de THg tornou-se positiva e estatisticamente significativa. Isso ressalta a influência significativa dos jovens na análise, uma vez que esses apresentam concentrações reduzidas de THg e elevados valores de  $\delta^{15}\text{N}$ , provavelmente devido à sua dieta à base do leite materno, que apresentaria assinatura isotópica similar ao dos tecidos da mãe.

O sexo é citado como uma variável preditora importante para as concentrações de Hg em mamíferos (Gall *et al.*, 2015; Chételat *et al.*, 2020; García-Muñoz *et al.*, 2023). Portanto, esperávamos que as fêmeas apresentassem as menores concentrações de THg quando comparadas aos machos de mesmo tamanho devido à perda de Hg pela transferência materna (Sánchez-Chardi *et al.*, 2007; Noël *et al.*, 2016; Bridges e Zalups, 2017). No entanto, nenhuma associação foi encontrada entre essas variáveis, indicando que esse não é um mecanismo importante de eliminação de Hg para a espécie.

Os gambás-de-orelha-preta, assim como outras espécies de pequenos mamíferos terrestres, são identificados como potenciais biossentinelas da contaminação ambiental por Hg devido às suas características para tal. Portanto, se explorados e comparados, sem dúvida contribuirão para o melhor entendimento da dinâmica do Hg em ecossistemas terrestres e para a avaliação de risco na vida selvagem.

### 3. Referências bibliográficas

Ackerman, J.T., Eagles-Smith, C.A., Herzog, M.P. (2011). Bird mercury concentrations change rapidly as chicks age: Toxicological risk is highest at hatching and fledging. *Environmental Science & Technology*, 45(12):5418-5425. <https://doi.org/10.1021/es200647g>

Ackerman, J.T., Hartman, C.A., Herzog, M.P. (2019). Mercury contamination in resident and migrant songbirds and potential effects on body condition. *Environmental Pollution*, 246:797–810. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.060>

- Ali, S., Abbas, Z., Rizwan, M., Zaheer, I.E., Yavas, I., Ünay, A., Abdel-Daim, M.M., Bin-Jumah, M., Hasanuzzaman, M., Kalderis, D. (2020). Application of floating aquatic plants in phytoremediation of heavy metals polluted water: A review. *Sustainability*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/su12051927>
- ATSDR. (2019). 2019 ATSDR Substance Priority List. In *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, Atlanta, GA. <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html>
- Barkay, T., Miller, S.M., Summers, A. O. (2003). Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews*, 27(2–3):355–384. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00046-9](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00046-9)
- Beckers, F., Rinklebe, J. (2017). Cycling of mercury in the environment: Sources, fate, and human health implications: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 47(9):693-794. <https://doi.org/10.1080/10643389.2017.1326277>
- Behrooz, R.D., Poma, G. (2020). Evaluation of Mercury Contamination in Iranian Wild Cats Through Hair Analysis. *Biological Trace Element Research*, 199(1):166–172. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02148-1>
- Behrooz, R., Poma, G., Barghi, M. (2022). Non-destructive mercury exposure assessment in the Brandt's hedgehog (*Paraechinus hypomelas*): spines as indicators of endogenous concentrations. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(37):56502–56510. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19926-0>
- Ben-David, M., Flaherty, E.A. (2012). Stable isotopes in mammalian research: A beginner's guide. *Journal of Mammalogy*, 93(2):312–328. <https://doi.org/10.1644/11-MAMM-S-166.1>
- Bezerra-Santos, M.A., Ramos, R.A.N., Campos, A.K., Dantas-Torres, F., Otranto, D. (2021). Didelphis spp. opossums and their parasites in the Americas: A One Health perspective. *Parasitology Research*, 120(12):4091–4111. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07072-4>
- Bishop, K., Shanley, J.B., Riscassi, A., de Wit, H.A., Eklöf, K., Meng, B.,



- Mitchel, C., Osterwalder, S., Schuster, P.F., Webster, J., Zhu, W. (2020). Recent advances in understanding and measurement of mercury in the environment: Terrestrial Hg cycling. *Science of the Total Environment*, , 721:137647. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137647>
- Boening, D.W. (2000). Ecological effects, transport, and fate of mercury: A general review. *Chemosphere*, 40(12):1335–1351. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00283-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00283-0)
- Bonvicino, C.R., Lindbergh, S.M., Maroja, L.S. (2002). Small non-flying mammals from conserved and altered areas of Atlantic Forest and Cerrado: Comments on their potential use for monitoring environment. *Brazilian Journal of Biology*, 62(4B):765–774. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842002000500005>
- Borchert, E.J., Leaphart, J.C., Bryan, A.L., Beasley, J.C. (2019). Ecotoxicoparasitology of mercury and trace elements in semi-aquatic mammals and their endoparasite communities. *Science of the Total Environment*, 679:307–316. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.326>
- Brandão, H.M.P. (2012). *Determinação de Elementos Traço em Petróleo em Águas de Produção por Espectrometria de Absorção Atômica* Dissertação (Mestrado em Química), Vitória - ES, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, 102p.
- Bridges, C.C., Zalups, R.K. (2017). Mechanisms involved in the transport of mercuric ions in target tissues. *Archives of Toxicology*, 91(1):63–81. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1803-y>
- Brum, M.D., Melo, G.L., Cáceres, N.C. (2022). Ecological evidence of hierarchy and competition in *Didelphis aurita* females. *Mammalian Biology*, 102:1709–1721. <https://doi.org/10.1007/s42991-022-00269-9>
- Buch, A.C., Correia, M.E.F., Teixeira, D.C., Silva-Filho, E.V. (2015). Characterization of soil fauna under the influence of mercury atmospheric deposition in Atlantic Forest, Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Environmental Sciences*, 32:217–227. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.01.009>

- Bueno, A.A., Motta-Junior, J.C. (2009). Feeding habits of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus* (Carnivora: Canidae), in Southeast Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 44(2):67–75. <https://doi.org/10.1080/01650520902891413>
- Bull, K.R., Roberts, R.D., Inskip, M.J., Goodman, G.T. (1977). Mercury concentrations in soil, grass, earthworms and small mammals near an industrial emission source. *Environmental Pollution*, 12(2):135–140. [https://doi.org/10.1016/0013-9327\(77\)90016-7](https://doi.org/10.1016/0013-9327(77)90016-7)
- Burger, J., Gochfeld, M. (2004). Marine Birds as Sentinels of Environmental Pollution. *EcoHealth*, 1(3). <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0096-4>
- Burger, J., Marquez, M., Gochfeld, M. (1994). Heavy metals in the hair of opossum from Palo Verde, Costa Rica. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 27(4):472–476. <https://doi.org/10.1007/BF00214838>
- Cabral, S.O., Freitas, I.S., Morlanes, V., Katzenberger, M., Calabuig, C. (2019). Potential seed dispersers: A new facet of the ecological role of *Boa constrictor* linnaeus 1758. *Biota Neotropica*, 19(4). <https://doi.org/10.1590/1676-0611-bn-2018-0626>
- Cáceres, N. (2003). Use of the space by the opossum *Didelphis aurita* Wied-Neuwied (Mammalia, Marsupialia) in a mixed forest fragment of southern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 20(2):315–322. <https://doi.org/10.1590/S0101-81752003000200023>
- Cáceres, N.C., Monteiro-Filho, E.L.A. (2001). Food habits, home range and activity of *Didelphis aurita* (Mammalia, Marsupialia) in a forest fragment of southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 36(2):85–92. <https://doi.org/10.1076/snfe.36.2.85.2138>
- Cardona, M.T. (2015). *Determinação in situ de metilmercúrio e mercúrio (II) em sistemas aquáticos aas proximidades de refinarias de petróleo, utilizando a técnica difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT)*. Dissertação (Mestrado em Geociência e Meio Ambiente), Rio Claro – SP, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 76p.

- Carignan, V., Villard, M.A. (2002). Selecting indicator species to monitor ecological integrity: A review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 78:45–61. <https://doi.org/10.1023/A:1016136723584>
- Carvalho, F.M.V., Fernandez, F.A.S., Nessimian, J.L. (2005). Food habits of sympatric opossums coexisting in small Atlantic Forest fragments in Brazil. *Mammalian Biology*, 70(6):366375. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2005.08.003>
- Ceotto, P., Finotti, R., Santori, R., Cerqueira, R. (2009). Diet variation of the marsupials *Didelphis aurita* and *Philander frenatus* (Didelphimorphia, Didelphidae) in a rural area of Rio De Janeiro State, Brazil. *Mastozoología Neotropical*, 16(1):49–58.
- Cerqueira, R., Lemos, B. (2000). Morphometric differentiation between Neotropical black-eared opossums, *Didelphis marsupialis* and *D. aurita* (Didelphimorphia, Didelphidae). *Mammalia*, 64(3):319–327. <https://doi.org/10.1515/mamm.2000.64.3.319>
- Cherel, Y., Hobson, K.A. (2007). Geographical variation in carbon stable isotope signatures of marine predators: A tool to investigate their foraging areas in the Southern Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 329:281–287. <https://doi.org/10.3354/meps329281>
- Chételat, J., Ackerman, J.T., Eagles-Smith, C.A., Hebert, C.E. (2020). Methylmercury exposure in wildlife: A review of the ecological and physiological processes affecting contaminant concentrations and their interpretation. *Science of the Total Environment*, 711. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135117>
- Constantino, W.D., Viana, L.M.S., Luze, F.H.R., Tostes, E.C.L., Pestana, I.A., Carvalho, C.E.V. (2023). Mercury levels in an environmentally protected estuarine area in Northeast Brazil: partitioning in the water column and transport to the ocean. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(11):31383–31394. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-24400-y>
- Costa, L.S. (2020). *Bioacumulação de metais pesados em pequenos mamíferos em áreas de remanescentes de Mata Atlântica e monocultura*

*de cana-de-açúcar na Paraíba, Brasil*. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas), João Pessoa – PB, Universidade Federal da Paraíba – UFP, 69p.

Costa-Neto, S.F., Cardoso, T.S., Boullosa, R.G., Maldonado, A., Gentile, R. (2019). Metacommunity structure of the helminths of the black-eared opossum *Didelphis aurita* in peri-urban, sylvatic and rural environments in south-eastern Brazil. *Journal of Helminthology*, 93(6):720–731. <https://doi.org/10.1017/S0022149X18000780>

Crewther, W.G., Fraser, R.D.B., Lennox, F.G., Lindley, H. (1965). The chemistry of keratins.

Cumbie, P.M., Jenkins, J.H. (1974). Mercury accumulation in native mammals of the southeast. In *Ann Conf Southeast Assos Game Fish Comm*. Estados Unidos: Duke Power Co.

Dibbern, M., Elmeros, M., Dietz, R., Søndergaard, J., Michelsen, A., Sonne, C. (2021). Mercury exposure and risk assessment for *Eurasian otters (Lutra lutra)* in Denmark. *Chemosphere*, 272:129608. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129608>

Dietz, R., Letcher, R.J., Aars, J., Andersen, M., Boltunov, A., Born, E.W., Ciesielski, T.M., Das, K., Dastnai, S., Derocher, A.E., Desforges, J.P., Eulaers, I., Ferguson, S., Hallanger, I.G., Heide-Jørgensen, M.P., Heimbürger-Boavida, L.E., Hoekstra, P.F., Jenssen, B.M., Kohler, S.G., Larsen, M.M., Sonne, C. (2022). A risk assessment review of mercury exposure in Arctic marine and terrestrial mammals. *Science of the Total Environment*, 829. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154445>

Driscoll, C.T., Mason, R.P., Chan, H.M., Jacob, D.J., Pirrone, N. (2013). Mercury as a Global Pollutant: Sources, Pathways, and Effects. *Environmental Science and Technology*, 47:4967–4983. <https://doi.org/dx.doi.org/10.1021/es305071>

Durkalec, M., Nawrocka, A., Żmudzki, J., Filipek, A., Niemcewicz, M., Posyniak, A. (2019). Concentration of mercury in the livers of small terrestrial rodents from rural areas in Poland. *Molecules*, 24(22):4108. 84

<https://www.mdpi.com/14203049/24/22/4108#>

- Ecke, F., Benskin, J.P., Berglund, Å.M., de Wit, C.A., Engström, E., Plassmann, M.M., Rodushkin, I., Sorlin, D., Hörnfeldt, B. (2020). Spatio-temporal variation of metals and organic contaminants in bank voles (*Myodes glareolus*). *Science of the Total Environment*, 713:136353. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136353>
- Emmons, L.H., Feer, F. (1990). *Neotropical rainforest mammals: a field guide*. Chicago. Engstrom, D.R. (2007). Fish respond when the mercury rises. *PNAS*, 104(42):16394:16395.
- Evans, R.D., Addison, E.M., Villeneuve, J.Y., MacDonald, K.S., Joachim, D.G. (1998). An examination of spatial variation in mercury concentrations in otter (*Lutra canadensis*) in south-central Ontario. *Science of the Total Environment*, 213(1–3):239–245. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(98\)00096-5](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(98)00096-5)
- Evers, D.C., Burgess, N.M., Champoux, L., Hoskins, B., Major, A., Goodale, W.M., Taylor, R.J., Poppenga, R., Daigle, T. (2005). Patterns and Interpretation of Mercury Exposure in Freshwater Avian Communities in Northeastern North America. *Ecotoxicology*, 14:193–221. <https://doi.org/10.1007/s10646-004-6269-7>
- Fahim, M.A., Alsahhaf, T.A., Elkilani, A. (2010). *Fundamentals of Petroleum Refining*. 1.ed. Kuwait: Elsevier Science, 495p.
- Faria, M. B., Lanes, R.O., Bonvicino, C.R. (2019). *Os marsupiais do Brasil: guia de identificação com base em caracteres morfológicos externos e cranianos*. 1. ed. Brasil: Amélie Editorial.
- Ferreira, M.S., Kajin, M., Cerqueira, R., Vieira, M.V. (2016). Marsupial population dynamics in a tropical rainforest: Intraspecific competition and nonlinear effect of rainfall. *Journal of Mammalogy*, 97(1):121–127. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyv161>
- Ferreira, M.S., Kajin, M., Vieira, M.V, Cerqueira, R., D'andrea, P.S., Gentile, R. (2007). Análises de sensibilidade e elasticidade do marsupial *Didelphis*

- aurita (Didelphimorphia, Didelphidae) em Mata Atlântica: Comparação entre área florestada e rural. *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*. Caxambu. P. 1-2.
- Fonseca, G.A.B. (1985). The vanishing Brazilian Atlantic Forest. *Biological Conservation*, 34(1):17–34. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(85\)90055-2](https://doi.org/10.1016/0006-3207(85)90055-2)
- Freitas, S.R., Astúa de Moraes, D., Santori, R.T., Cerqueira, R. (1997). Habitat preference and food use by *Metachirus nudicaudatus* and *Didelphis aurita* (Didelphimorphia, Didelphidae) in a resting forest at Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Biologia*, 57(1):93–98.
- Frodello, J.P., Roméo, M., Viale, D. (2000). Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. *Environmental Pollution*, 108:447–452. [www.elsevier.com/locate/envpol](http://www.elsevier.com/locate/envpol)
- Gall, J.E., Boyd, R.S., Rajakaruna, N. (2015). Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(4). <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4436-3>
- Gamberg, M., Boila, G., Stern, G., Roach, P. (2005). Cadmium, mercury and selenium concentrations in mink (*Mustela vison*) from Yukon, Canada. *Science of the Total Environment*, 351–352:523–529. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.07.035>
- García-Muñoz, J., Pérez-López, M., Soler, F., Míguez-Santiyán, M.P., Martínez-Morcillo, S. (2023). Non-invasive samples for biomonitoring heavy metals in terrestrial ecosystems. 10.5772/intechopen.1001334
- Gerstenberger, S.L., Cross, C.L., Divine, D.D., Gulmatico, M.L., Rothweiler, A.M. (2006). Assessment of Mercury Concentrations in Small Mammals Collected Near Las Vegas, Nevada, USA. *Far Eastern Entomologist*, 165:583–589. <https://doi.org/10.1002/tox>
- Gilmour, C.C., Riedel, G.S., Ederington, M.C., Bell, J.T., Benoit, J.M., Gill, G.A., Stordal, M.C. (1998). Methylmercury concentrations and production rates across a trophic gradient in the northern Everglades. *Biogeochemistry*, 40:327–345. <https://doi.org/10.1023/A:1005972708616>

- Gizejewska, A., Spodniewska, A., Barski, D. (2014). Concentration of lead, cadmium, and mercury in tissues of European beaver (Castor fiber) from the north-eastern Poland. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 58(1):77–80. <https://doi.org/10.2478/bvip-2014-0012>
- Gnamuš, A., Byrne, A.R., Horvat, M. (2000). Mercury in the soil-plant-deer-predator food chain of a temperate forest in Slovenia. *Environmental Science and Technology*, 34(16):3337–3345. <https://doi.org/10.1021/es991419w>
- Gonzalez, M.C., Rodriguez, A.R., Gonzalez, V. (1987). Determination of Vanadium, Nickel, Iron, Copper, and Lead in Petroleum Fractions by Atomic Absorption Spectrophotometry with a Graphite Furnace. *Microchemical Journal*, 35(1):94-106. [https://doi.org/10.1016/0026-265X\(87\)90203-7](https://doi.org/10.1016/0026-265X(87)90203-7)
- Grigal, D.F. (2002). Inputs and outputs of mercury from terrestrial watersheds: A review. In *Environmental Reviews*, 10(1):1–39. <https://doi.org/10.1139/a01-013>
- Guallar, E., Sanz-Gallardo, M.I., Van'T Veer, P., Bode, P., Aro, A., Gómez-Aracena, J., Kark, J.D., Riemersma, R.A., Martín-Moreno, J.M., Kok, F.J. (2002). Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. *New England Journal of Medicine*, 347(22):1747–1754. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa020157>
- Helmrich, S., Vlassopoulos, D., Alpers, C.N., O'Day, P. A. (2022). Critical review of mercury methylation and methylmercury demethylation rate constants in aquatic sediments for biogeochemical modeling. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(24):4353–4378. <https://doi.org/10.1080/10643389.2021.2013073>
- Hernout, B.V., McClean, C.J., Arnold, K.E., Walls, M., Baxter, M., Boxall, A.B.A. (2016). Fur: A non-invasive approach to monitor metal exposure in bats. *Chemosphere*, 147:376–381. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.104>

- Huck, M., Juárez, C.P., Fernández-Duque, E. (2017). Relationship between moonlight and nightly activity patterns of the ocelot (*Leopardus pardalis*) and some of its prey species in Formosa, Northern Argentina. *Mammalian Biology*, 82:57–64. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2016.10.005>
- INPE (2013). Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica. Fundação SOS Mata Atlântica, RJ-Brazil.
- Jesus, A. (2013). *Desenvolvimento de métodos para determinação de elementos-traço em amostras de petróleo e derivados por espectrometria de absorção atômica*. Tese (Doutorado em Química), Porto Alegre – RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, 106p.
- Kalisinska, E., Lanocha-Arendarczyk, N., Podlasinska, J. (2021). Current and historical nephric and hepatic mercury concentrations in terrestrial mammals in Poland and other European countries. *Science of the Total Environment*, 775. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145808>
- Kang, S., Kang, J.H., Kim, S., Lee, S.H., Lee, S., Yu, H.J., Oh, S.J., Park, J.D., Nam, K.H., Han, S.Y., Lim, J.D., Ryu, D.Y. (2015). Trace element analysis of three tissues from Eurasian otters (*Lutra lutra*) in South Korea. *Ecotoxicology*, 24(5):1064–1072. <https://doi.org/10.1007/s10646-015-1447-3>
- Kehrig, H.A., Hauser-Davis, R.A., Muelbert, M.M.C., Almeida, M.G., Di Benedetto, A.P.M., Rezende, C.E. (2022). Mercury and stable carbon and nitrogen isotopes in the natal Fur of two Antarctic pinniped species. *Chemosphere*, 28. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132500>
- Kehrig, H.A., Seixas, T.G., Malm, O., Di Benedetto, A.P.M., Rezende, C.E. (2013). Mercury and selenium biomagnification in a Brazilian coastal food web using nitrogen stable isotope analysis: A case study in an area under the influence of the Paraíba do Sul River plume. *Marine Pollution Bulletin*, 75(1–2):283–290. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.06.046>
- Keva, O., Hayden, B., Harrod, C., Kahilainen, K.K. (2017). Total mercury concentrations in liver and muscle of European whitefish (*Coregonus lavaretus* (L.)) in a subarctic lake-Assessing the factors driving year-



round variation. *Environmental Pollution*, 231:1518-1528.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.012>

Klenavic, K., Champoux, L., Mike, O., Daoust, P.Y., Evans, R.D., Evans, H. E. (2008). Mercury concentrations in wild mink (*Mustela vison*) and river otters (*Lontra canadensis*) collected from eastern and Atlantic Canada: Relationship to age and parasitism. *Environmental Pollution*, 156(2):359–366. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.02.003>

Kocman, D., Wilson, S.J., Amos, H.M., Telmer, K.H., Steenhuisen, F., Sunderland, E.M., Mason, R.P., Outridge, P., Horvat, M. (2017). Toward an assessment of the global inventory of present-day mercury releases to freshwater environments. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(2). <https://doi.org/10.3390/ijerph14020138>

Kosik-Bogacka, D., Osten-Sacken, N., Łanocha-Arendarczyk, N., Kot, K., Pilarczyk, B., Tomza-Marciniak, A., Podlasińska, J., Chmielarz, M., Heddergott, M., Frantz, A.C., Steinbach, P. (2020). Selenium and mercury in the hair of raccoons (*Procyon lotor*) and European wildcats (*Felis s. silvestris*) from Germany and Luxembourg. *Ecotoxicology*, 29(1):1–12. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02120-3>

Laigner, R.N., Barros, L., Cavaliere, M.L., Terzian, R.L., Lima, M.J.D., Azzam, S.M. (2020). CCPD: a reactive information system to prevent fuel theft in oil pipelines. *Rio Oil and Gas Expo and Conference*, 20:433–434. <https://doi.org/10.48072/2525-7579.rog.2020.433>

Lanocha, N., Kalisinska, E., Kosik-Bogacka, D.I., Budis, H., Podlasinska, J., Jedrzejewska, E. (2014). Mercury levels in raccoons (*Procyon lotor*) from the Warta Mouth National Park, northwestern Poland. *Biological trace element research*, 159:152-160. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-9962-2>

Lee, A.K., Cockburn, A. (1987). *Evolutionary Ecology of marsupials (Monographs on marsupial ecology)*. 2.ed. Cambridge University Press, Cambridge.

Leite, Y.R.L., Stallings, J.R., Costa, L.P. (1994). Partição de recursos entre

- espécies simpátricas de marsupiais na Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Biologia*, 54:525–536.
- Li, S., Jia, Z. (2018). Heavy metals in soils from a representative rapidly developing megacity (SW China): Levels, source identification and apportionment. *Catena*, 163:414–423. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2017.12.035>
- Lino, A.S., Kasper, D., Guida, Y.S., Thomaz, J.R., Malm, O. (2019). Total and methyl mercury distribution in water, sediment, plankton and fish along the Tapajós River basin in the Brazilian Amazon. *Chemosphere*, 235:690–700. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.212>
- Lyman, S.N., Cheng, I., Gratz, L.E., Weiss-Penzias, P., Zhang, L. (2020). An updated review of atmospheric mercury. *Science of the Total Environment*, 707:135575. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135575>
- Martinelli, L.A., Ometto, J.P.H.B., Ferraz, E.S., Victoria, R.L., Camargo, P.B., Moreira, M.Z. (2009). Desvendando Questões Ambientais com Isótopos Estáveis. São Paulo: Oficina de Textos. v. 1. 144p.
- McLean, C.M., Koller, C.E., Rodger, J.C., MacFarlane, G.R. (2009). Mammalian hair as an accumulative bioindicator of metal bioavailability in Australian terrestrial environments. *Science of the Total Environment*, 407(11):3588–3596. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.01.038>
- Mojammal, A.H.M., Back, S.K., Seo, Y.C., Kim, J.H. (2019). Mass balance and behavior of mercury in oil refinery facilities. *Atmospheric Pollution Research*, 10(1):145–151. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2018.07.002>
- Montanari, T.C. (2019). Vermelhão e Cinábrio: intercâmbios artísticos entre São Paulo e América hispânica (séculos XVI- XVIII). *Encontro da História da Arte*. São Paulo. 869–875. <https://doi.org/10.20396/eha.vi14.3439>
- Morellato, L., Haddad, C. (2000). Introduction: The Brazilian Atlantic Forest'. *Biotropica*, 32(4b):786–792. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2000.tb00618.x>
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A.B., Kent, J.

- (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853–858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- Noël, M., Jeffries, S., Lambourn, D.M., Telmer, K., Macdonald, R., Ross, P.S. (2016). Mercury Accumulation in Harbour Seals from the Northeastern Pacific Ocean: The Role of Transplacental Transfer, Lactation, Age and Location. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 70(1):56–66. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0193-0>
- O’Connell, T.C. (2017). ‘Trophic’ and ‘source’ amino acids in trophic estimation: a likely metabolic explanation. *Oecologia*, 184(2):317-326 <https://doi.org/10.1007/s00442-017-3881-9>
- Olifiers, N., Gentile, R., Fiszon, J.T. (2005). Relation between small-mammal species composition and anthropic variables in the Brazilian Atlantic Forest. *Brazilian Journal of Biology = Revista Brasileira de Biologia*, 65(3):495–501. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842005000300015>
- Patiño Ropero, M.J., Rodríguez Fariñas, N., Mateo, R., Berzas-Nevado, J.J., Rodríguez Martín-Doimeadios, R.C. (2016). Mercury species accumulation and trophic transfer in biological systems using the Almadén mining district (Ciudad Real, Spain) as a case of study. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(7):6074–6081. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4989-2>
- Pereira, L. (2019). *Desenvolvimento e avaliação de métodos para fracionamento e análise de especiação química de mercúrio em amostras de resíduos oleosos de petróleo*. Tese (Doutorado em Química), Florianópolis – SC, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, 176p.
- Pestana, I.A., Almeida, M.G., Bastos, W.R., Souza, C.M.M. (2019). Total Hg and methylmercury dynamics in a river-floodplain system in the Western Amazon: Influence of seasonality, organic matter and physical and chemical parameters. *Science of the Total Environment*, 656:388–399. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.388>
- Rashed, M.N., Soltan, M.E. (2005). Animal hair as biological indicator for heavy

- metal pollution in urban and rural areas. *Environmental Monitoring and Assessment*, 110(1–3):41–53. <https://doi.org/10.1007/s10661-005-6288-8>
- Rezende, C.L., Scarano, F.R., Assad, E.D., Joly, C.A., Metzger, J.P., Strassburg, B.B.N., Tabarelli, M., Fonseca, G.A., Mittermeier, R.A. (2018). From hotspot to hopespot: An opportunity for the Brazilian Atlantic Forest. *Perspectives in ecology and conservation*, 16(4):208-214. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2018.10.002>
- Ribeiro, M.C., Metzger, J.P., Martensen, A.C., Ponzoni, F.J., Hirota, M.M. (2009). The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation*, 142(6):1141–1153. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.021>
- Roelke, M.E. (1991). Mercury contamination in the free-ranging endangered Florida panther (*Felis concolor coryi*). In *Proc. Am Assoc Zoo Vet* (pp. 277-283).
- Rúa, C., Sepúlveda, M., Gutiérrez, S., Cárcamo-Vega, J.J., Surco-Luque, J., Campos-Vallette, M., Guzmán, F., Conti, P., Pereira Fundación, M., Arica, A. (2017). Raman identification of pigments in wall paintings of the colonial period from bolivian churches in the Ruta de La Plata. *Conservation Science in Cultural Heritage*, 17:117–137.
- Rueda, P., Mendoza, G.D., Martínez, D., Rosas-Rosas, O.C. (2013). Determination of the jaguar (*Panthera onca*) and puma (*Puma concolor*) diet in a tropical forest in San Luis Potosi, Mexico. *Journal of Applied Animal Research*, 41(4):484–489. <https://doi.org/10.1080/09712119.2013.787362>
- Sánchez-Chardi, A., López-Fuster, M.J., Nadal, J. (2007). Bioaccumulation of lead, mercury, and cadmium in the greater white-toothed shrew, *Crocidura russula*, from the Ebro Delta (NE Spain): Sex- and age- dependent variation. *Environmental Pollution*, 145(1):7–14. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.02.033>
- Santori, R.T., Astua, D., Moraes, D.E., Cerqueira, R. (1995). Diet composition of *Metachirus nudicaudatus* and *Didelphis aurita* (Marsupialia, Didelphoidea)

- in Southeastern Brazil. *Mammalia*, 59(4): 511-516.  
<https://doi.org/10.1515/mamm.1995.59.4.511>
- Scheuhammer, A.M., Meyer, M.W., Sandheinrich, M.B., Murray, M.W. (2007). Effects of environmental methylmercury on the health of wild birds, mammals, and fish. *Ambio*, 36(1):12–19. [https://doi.org/10.1579/0044-7447\(2007\)36 \[12: EOEMOT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1579/0044-7447(2007)36[12:EOEMOT]2.0.CO;2)
- Selin, N.E. (2009). Global biogeochemical cycling of mercury: A review. *Annual Review of Environment and Resources*, 34:43–63.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.enviro.051308.084314>
- Selin, N.E., Jacob, D.J., Yantosca, R.M., Strode, S., Jaeglé, L., Sunderland, E.M. (2008). Global 3-D land-ocean-atmosphere model for mercury: Present-day versus preindustrial cycles and anthropogenic enrichment factors for deposition. *Global Biogeochemical Cycles*, 22(2).  
<https://doi.org/10.1029/2007GB003040>
- Semedo, M.F.F.R. (2014). *Importância médico-legal dos metais essenciais: cobre e zinco*. Dissertação (Mestrado em Medicina Legal), Porto – PO, Universidade do Porto, 89p.
- Sheffy, T.B., St. Amant, J.R. (1982). Mercury burdens in furbearers in Wisconsin. *The Journal of Wildlife Management*, 46(4):1117-1120.  
<https://doi.org/10.2307/3808255>
- Shooshtari, S.J., Abdollahzadeh, E., Esmaili-Sari, A., Ghasempouri, S.M. (2023). A review of mercury contamination in representative flora and fauna of Iran: seafood consumption advisories. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 10:100291. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2023.100291>
- Shore, R.F., Pereira, M.G., Walker, L.A., Thompson, D.R. (2011). Mercury in Nonmarine Birds and Mammals. In *Environmental Contaminants in Biota*.  
<https://doi.org/10.1201/b10598-19>
- Silva-Filho, E.V., Machado, W., Oliveira, R.R., Sella, S.M., Lacerda, L.D. (2006). Mercury deposition through litterfall in an Atlantic Forest at Ilha Grande, Southeast Brazil. *Chemosphere*, 65(11):2477–2484.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.04.053>

- Siqueira, G.W., Braga, E.S., Pereira, S.F.P., Silva, E. (2005). Distribuição do mercúrio em sedimentos de fundo no Estuário de Santos SP/Brasil. *Revista Escola de Minas*, 58(4):309–316. <https://doi.org/10.1590/s0370-44672005000400004>
- Skyllberg, U., Qian, J., Frech, W., Xia, K., Bleam, W.F. (2003). Distribution of mercury, methyl mercury and organic sulphur species in soil, soil solution and stream of a boreal forest catchment. *Biogeochemistry*, 64:53-76. <https://doi.org/10.1023/A:1024904502633>
- Slemr, F., Brunke, E.G., Ebinghaus, R., Kuss, J. (2011). Worldwide trend of atmospheric mercury since 1995. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 11(10):4779-4787. <https://doi.org/10.5194/acp-11-4779-2011>
- Sobańska, M.A. (2005). Wild boar hair (*Sus scrofa*) as a non-invasive indicator of mercury pollution. *Science of the Total Environment*, 339(1– 3):81–88. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.07.018>
- Sonke, J.E., Heimbürger, L.E., Dommergue, A. (2013). Mercury biogeochemistry: Paradigm shifts, outstanding issues and research needs. *Comptes Rendus - Geoscience*, 345(5–6):213–224. <https://doi.org/10.1016/j.crte.2013.05.002>
- Soresini, G., Aguiar da Silva, F., Leuchtenberger, C., Mourão, G. (2021). Total mercury concentration in the fur of free-ranging giant otters in a large Neotropical floodplain. *Environmental Research*, 198:110483. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110483>
- Skibniewska, E.M., Skibniewski, M. (2023). Mercury contents in the liver, kidneys and hair of domestic cats from the Warsaw Metropolitan Area. *Applied Sciences*, 13(1):269. <https://www.mdpi.com/2076-3417/13/1/269#>
- Sousa, L.A. (2019). *Revisão de Escopo sobre Mercúrio*. Monografia (Graduação em Ciências da Saúde), Brasília – DF, Universidade de Brasília – UFB, 62p.
- Souza, M.J., Ramsay, E.C., Donnell, R.L. (2013). Metal accumulation and

- health effects in raccoons (*Procyon lotor*) associated with coal fly ash exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 64(4):529–536. <https://doi.org/10.1007/s00244-012-9865-1>
- Sparks, D.L. (1995). *Environmental Soil Chemistry*. San Diego: academic, 352p.
- Stallings, J. (1989). Small Mammal Inventories in an Eastern Brazilian Park. *Bulletin of the Florida State Museum Biological Sciences*, 34(4):153– 200.
- Steffen, A., Douglas, T., Amyot, M., Ariya, P., Aspino, K., Berg, T., Bottenheim, J., Brooks, S., Cobbett, F., Dastoor, A., Dommergue, A., Ebinghaus, R., Ferrari, C., Gardfeldt, K., Goodsite, M. E., Lean, D., Poulain, A. J., Scherz, C., Skov, H., Sommar, J., Temme, C. (2008). A synthesis of atmospheric mercury depletion event chemistry in the atmosphere and snow. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 8(6):1445– 1482. <https://doi.org/10.5194/acp-8-1445-2008>
- Streets, D.G., Horowitz, H.M., Jacob, D.J., Lu, Z., Levin, L., Ter Schure, A.F.H., Sunderland, E. M. (2017). Total Mercury Released to the Environment by Human Activities. *Environmental Science and Technology*, 51(11):5969– 5977. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00451>
- Talmage, S.S., Walton, B.T. (1993). Food chain transfer and potential renal toxicity of mercury to small mammals at a contaminated terrestrial field site. *Ecotoxicology*, 2:243–256. <https://doi.org/10.1007/BF00368533>
- Thakur, R.K., Jindal, R., Singh, U.B., Ahluwalia, A.S. (2013). Plankton diversity and water quality assessment of three freshwater lakes of Mandi (Himachal Pradesh, India) with special reference to planktonic indicators. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(10):8355– 8373. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3178-3>
- Tomza-Marciniak, A., Pilarczyk, B., Drozd, R., Pilarczyk, R., Juszcak-Czasnojć, M., Havryliak, V., Podlasińska, J., Udała, J. (2023). Selenium and mercury concentrations, Se: Hg molar ratios and their effect on the antioxidant system in wild mammals. *Environmental Pollution*, 322. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121234>

- Transpetro. (2021). *Saiba o que estamos fazendo para prevenir o roubo de óleo e de derivados em nossas instalações.*
- UN Environment. (2016). Global Review of Mercury Monitoring Networks. Switzerland, Geneva. <http://wedocs.unep.org/handle/20.500.11822/21059>.
- Van Der Ree R., Smith D., Grilo C. (2015). The ecological effects of linear infrastructure and traffic: challenges and opportunities of rapid global growth. In: Handbook of Road Ecology, John Wiley & Sons, Ltd. 1-9.
- Vieira, E.M., Camargo, N.F. (2006). Uso do espaço vertical por marsupiais brasileiros. In *Os marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e conservação*. 2ed.
- Wang, J., Feng, X., Anderson, C.W.N., Xing, Y., Shang, L. (2012). Remediation of mercury contaminated sites - A review. *Journal of Hazardous Materials*, 221–222:1–18. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.04.035>
- Weckel, M., Giuliano, W., Silver, S. (2006). Jaguar (*Panthera onca*) feeding ecology: Distribution of predator and prey through time and space. *Journal of Zoology*, 270(1):25–30. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2006.00106.x>
- Wedepohl, K.H. (1995). The composition of the continental crust. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59(7):1217–1232. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(95\)00038-2](https://doi.org/10.1016/0016-7037(95)00038-2)
- WHO. (2003). Concise International Chemical Assessment Document 50: Elemental mercury and inorganic mercury compounds: Human health aspects. In *IPCS Concise International Chemical Assessment Documents*.
- Witt, J.C., Spriggs, M.C., Veverica, T., Steffes, C., Bump, J. (2020). Bioaccumulation of mercury in a terrestrial carnivore, american marten (*Martes americana*). *Journal of Wildlife Diseases*, 56(2):388–396. <https://doi.org/10.7589/2019-05-138>
- Wolfe, M., Norman, D. (1998). Effects of waterborne mercury on terrestrial wildlife at clear lake: Evaluation and testing of a predictive model. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(2):214–227.



<https://doi.org/10.1002/etc.5620170213>

- Wren, C.D. (1986). A review of metal accumulation and toxicity in wild mammals. I. Mercury. *Environmental Research*, 40(1):210–244. [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(86\)80098-6](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(86)80098-6)
- Wren, C., MacCrimmon, H., Frank, R., Suda, P. (1980). Total and Methyl Mercury Levels in Wild Mammals from the PreCambrian Shield Area of South-Central Ontario, Canada. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*, 25:100–105. <https://doi.org/10.1007/BF01985495>
- Zamani-Ahmadmahmoodi, R., Esmaili-Sari, A., Ghasempouri, S.M., Savabieasfahani, M. (2009). Mercury levels in selected tissues of three kingfisher species; *Ceryle rudis*, *Alcedo atthis*, and *Halcyon smyrnensi*, from Shadegan Marshes of Iran. *Ecotoxicology*, 18(3):319–324. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0284-z>
- Zhou, X., Mammides, C., Zhou, X., Hobson, K.A., Zhu, H., Wen, Y., Jiang, A. (2020). Food web structure in exotic eucalyptus plantations in Southern China: Stable isotope ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) analyses reveal the importance of understory and landscape-level planning. *Global Ecology and Conservation*, 24. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e01259>