

RAYSSA LIMA DOS SANTOS

**ANÁLISE DE METAIS PESADOS DA HERPETOFAUNA AQUÁTICA
(CROCODYLIA E TESTUDINES) EM UM AMBIENTE LÊNTICO DE MATA
ATLÂNTICA, NORDESTE, BRASIL**

RECIFE

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

**ANÁLISE DE METAIS PESADOS DA HERPETOFAUNA AQUÁTICA
(CROCODILYA E TESTUDINES) EM UM AMBIENTE LÊNTICO DE MATA
ATLÂNTICA, NORDESTE DO BRASIL**

Rayssa Lima dos Santos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Biodiversidade e Conservação da Universidade
Federal Rural de Pernambuco como exigência para
obtenção do título de Mestre.

Linha de pesquisa: Ecologia de Anfíbios e Répteis

Profa. Dra. Ednilza Maranhão dos Santos

Orientadora

Profa. Dra. Jozélia Maria de Sousa Correia

Co-orientadora

RECIFE

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca da UAST, Serra Talhada - PE, Brasil.

S237a Santos, Rayssa Lima dos

Análise de metais pesados da herpetofauna aquática (crocodilya e testudines) em um ambiente lântico de mata atlântica, Nordeste do Brasil / Rayssa Lima dos Santos. – Serra Talhada, 2018.

93 f.: il.

Orientadora: Ednilza Maranhão dos Santos

Coorientadora: Jozélia Maria de Sousa Correia

Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Unidade Acadêmica de Serra Talhada, 2018.

Inclui referências e apêndices.

1. Metais pesados. 2. Jacarés. 3. Tartarugas. 4. Biodiversidade - Conservação. I. Santos, Ednilza Maranhão dos, orient. II. Correia, Jozélia Maria de Sousa, coorient. III. Título.

CDD 631

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

**ANÁLISE DE METAIS PESADOS DA HERPETOFAUNA AQUÁTICA
(CROCODYLIA E TESTUDINES) EM UM AMBIENTE LÊNTICO DE MATA
ATLÂNTICA, NORDESTE, BRASIL**

Rayssa Lima dos Santos

Dissertação julgada adequada para obtenção do título de mestre em Biodiversidade e Conservação. Defendida e aprovada em 24/08/2018 pela seguinte Banca Examinadora.

Profa. Dra. Ednilza Maranhão dos Santos - Orientador
Departamento de Biologia/ Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Dra. Jacqueline Santos Silva Cavalcanti
Departamento de Biologia/ Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dra. Ana Paula Silveira Paim
Departamento de Química/ Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Mauro de Melo Júnior
Departamento de Biologia/ Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Dra. Prof. Dra. Cristiane Maria Varela de Araújo de Castro
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal/ Universidade Federa Rural de Pernambuco

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Lília, Brunno, Joselito e Brunna, minha família.

AGRADECIMENTOS

Uma página não é suficiente para agradecer a todas as pessoas que fizeram parte de trabalho, mas de forma sucinta eu agradeço: Primeiramente (“Fora Temer!”) a minha família por todo apoio moral, suporte financeiro e paciência durante estes nada fáceis dois anos de mestrado. As incríveis orientadoras Ednilza, Jozélia e Lourinalda, que como verdadeiras mães na ciência me acolheram, me treinaram com seus ensinamentos e aprenderam junto comigo todos os desafios que foi realizar esta pesquisa. A toda equipe que administra a Estação Ecológica do Tapacurá pelo carinho e cuidado ao nos receber, sem eles esta pesquisa não teria sido realizada. A minha irmã do coração, Regina, por ter compartilhado além de uma graduação, um apartamento no início do nosso mestrado em Serra Talhada, foram meses difíceis, mas de muito aprendizado, obrigada por todo apoio. Thaístudine, minha amiga de campo que agora é amiga do peito: Obrigada pela companhia, risos, lágrimas, estresses por levar mordida de cágado, por todos os almoços e jantas pago quando eu não tinha nem o dinheiro de passagem e todo auxílio que me deu durante toda a realização desta pesquisa: Da etapa de campo ao laboratório. Este trabalho também é seu! Aos meninos da casa do amor (Emerson, Igor e Alesson) por todo suporte durante os meses finais, vocês conseguiram alegrar meus dias mais difíceis. Espero que possamos ser colegas de trabalho e montar nosso laboratório (ainda sem nome) no futuro assim como nossas orientadoras. A equipe do Laqaf, que com muita paciência me adotou e sofreu junto comigo para aprender a parte laboratorial, saibam que vocês são incríveis e que quero levá-los na minha vida! Obrigada de coração Louri e Antonio, com vocês aprendi em seis meses o que não aprendi em quatro anos! Devo muito a vocês. A equipe do projeto Jacarés: A dedicação de vocês é linda e inspira muitas pessoas, força! Obrigada por cada momento no campo, pelas cervejas e pelos ricos pontos de pauta que sempre debatemos, sou fã de vocês! Como não posso me estender muito, agradeço a todos os amigos e profissionais que me deram força de alguma forma todas as vezes que pensei em desistir. Não se sintam menos importantes por não serem mencionados. Por fim, não poderia deixar também de agradecer ao professor do Departamento de Química Agrícola Levy Paes pelos esclarecimentos iniciais acerca do mundo dos minerais, ao professor Gerônimo Ferreira, do Departamento de Tecnologia Rural de UFRPE por nos receber e disponibilizar seu tempo durante as leituras das amostras no EAA, a professora Ana Paula Silveira Paim por abrir as portas da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, a pesquisadora da FioCruz (RJ) Rachel Ann Hauser Davis, a FACEPE (APQ 0245-2, 04/15) pelo financiamento da pesquisa e a CAPES pelo fomento da bolsa de pós-graduação.

RESUMO

A poluição química têm sido uma problemática recorrente devido ao grande prejuízo que gera a saúde ambiental. Testudines e Crocodilianos são apontados como bons biomonitores, trazendo informações relevantes acerca dos níveis de contaminação em ambientes aquáticos. O principal objetivo deste estudo foi detectar os teores de metais pesados (Al, Cd, Cu, Cr, Pb, Mn, Zn, Fe e Ni) em sangue de Testudines e Crocodilianos capturados entre 2014-2018 em um reservatório do estado de Pernambuco e concomitantemente obter um diagnóstico atual sobre os procedimentos adotados nas análises de metais pesados que utilizam estes animais em um intervalo de dez anos. Os animais foram capturados e informações sobre tamanho e sexo foram coletados, bem como a retirada material biológico. O sangue foi digerido em HNO_3 , posteriormente a leitura das amostras foi realizada nos equipamentos ICP-OES e FAAS. Analisou-se 40 amostras de Testudines (*Kinosternon scorpioides*, *Phrynops geoffroanus*, *Mesoclemmys tuberculata*) e 40 de Crocodilianos (*Caiman latirostris*). Jacarés apresentaram os maiores teores em todos os elementos em relação aos Testudines. A relação entre tamanho e concentração foi significativa apenas para Testudines nos elementos Fe, Cu e Pb ($p < 0,05$), nos Crocodilianos esta relação foi identificada quando comparada duas das três classes etárias para o Al ($p = 0,0569$), sendo os demais elementos não significativos. O sexo não influenciou nas concentrações em ambos os táxons ($p > 0,05$). Diferenças significativas entre concentração e as três espécies de Testudines estudadas foram observadas apenas para Cu ($p = 0,0240$) e Fe ($p = 0,0196$), no qual o *M. tuberculata* apresentou concentrações mais elevadas (5,01 mg/L e 105,50 mg/L respectivamente). O teste de correlação de Pearson apontou correlações altas entre os elementos Cr e Ni ($R = 0,98$), Cd e Cr ($R = 0,95$), Pb e Ni ($R = 0,94$), Cd e Pb ($R = 0,93$), Pb e Cr ($R = 0,93$), Cd e Ni ($R = 0,92$). Referente ao segundo capítulo, 37 artigos foram analisados quanto a temática metais pesados na herpetofauna aquática. Os espécimes mais utilizados nestes estudos foram o *Alligator mississippiensis* (Crocodilílya) e Podocnemídeos (Testudines amazônicos). O Hg (12,5%) foi o elemento mais estudado em amostras biológicas como sangue (29%) e músculo (22,5%). A leitura das amostras são realizadas em sua maioria no FAAS (52%) por Vapor-Frio (CVASF) (54,5%). Conclui-se que apesar dos animais não exibirem sintomas clínicos de intoxicação, apresentam níveis preocupantes de metais pesados que podem refletir nas comunidades que fazem uso do manancial. Além disto, o sangue mostrou-se um bom preditor de contaminação aguda, devendo ser usado como modelo não-invasivo em estudos de monitoramento.

Palavras-chave: Caiman, cágados, contaminação, reservatório

ABSTRACT

Chemical pollution has been a recurring problem due to the great damage that generates environmental health. Testudines and Crocodilians are singled out as good biomonitors, bringing relevant information about levels of contamination in aquatic environments. The main objective of this study was to detect the levels of heavy metals (Al, Cd, Cu, Cr, Pb, Mn, Zn, Fe and Ni) in blood of Testudines and Crocodilians captured between 2014-2018 in a reservoir in the state of Pernambuco and concomitantly to obtain a current diagnosis on the procedures adopted in the analyzes of heavy metals that use these animals in an interval of ten years. The animals were captured and information on size and sex were collected as well as biological material. The blood was digested in HNO₃, after which the samples were read on the ICP-OES and FAAS equipment. 40 samples of Testudines (*Kinosternon scorpioides*, *Phrynops geoffroanus*, *Mesoclemmys tuberculata*) and 40 Crocodilians (*Caiman latirostris*) were analyzed. Alligators presented the highest levels in all elements in relation to the Testudines. The relationship between size and concentration was significant only for Testudines in the Fe, Cu and Pb elements ($p < 0,05$); in Crocodilians this relation was identified when comparing two of the three age groups for Al ($p = 0,0569$), being the other elements not significant. Sex did not influence the concentrations in both taxa ($p > 0,05$). Significant differences between concentration and the three species of Testudines studied were observed only for Cu ($p = 0,0240$) and Fe ($p = 0,0196$), in which *M. tuberculata* had higher concentrations (5,01 mg / L and 105,50 mg / L respectively). Pearson's correlation test showed high correlations between Cr and Ni ($R = 0,98$), Cd and Cr ($R = 0,95$), Pb and Ni ($R = 0,94$), Cd and Pb ($R = 0,93$), Pb and Cr ($R = 0,93$), Cd and Ni ($R = 0,92$). Regarding the second chapter, 37 articles were analyzed regarding the heavy metals theme in aquatic herpetofauna. The most used specimens in these studies were the Alligator mississippiensis (Crocodililya) and Podocnemideos (Amazon Testudines). Hg (12,5%) was the most studied element in biological samples such as blood (29%) and muscle (22,5%). Samples are mostly sampled in FAAS (52%) by Vapor-Frio (CVASF) (54,5%). It is concluded that although the animals do not exhibit clinical symptoms of intoxication, they present worrying levels of heavy metals that can reflect in the communities that make use of the spring. In addition, blood proved to be a good predictor of acute contamination and should be used as a noninvasive model in monitoring studies.

Keywords: Caiman, tortoises, contamination, reservoir

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Espécies de quelônios amazônicos utilizadas no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Podocnemis erythrocephala* (Tartaruga-de-cara-vermelha) (A) e *Podocnemis unifilis* (Tracajá) (B). Fonte: gettyimages e pinterest.....22.

Figura 2. Espécies utilizadas em biomonitoramento de ambientes aquáticos. Na Amazônia: *Melanosuchus niger* (Jacaré Açu) (A) e *Caiman crocodilus* (Jacaretinga) (B). Fonte: arkive.org e sevcikphoto.com.....24.

CAPÍTULO I

Figura 1. Localização da barragem do Tapacurá, no município de São Lourenço da Mata, Pernambuco - Brasil (8°2'59"S, 35°11'5"O). Adaptado: IBGE e Google Maps.....54.

Figura 2. Distribuição dos níveis médios encontrados (mediana) para os elementos Zn, Cu, Fe, Mn, Cd, Pb, Cr, Ni, Al (peso úmido) no grupo dos Crocodilianos (A) e Testudines (B) capturados no reservatório do Tapacurá, Pernambuco, Brasil (p-valor=0,05).....58.

Figura 3. Comparação dos níveis médios encontrados (mediana) no sangue de crocodilianos e testudines para os elementos que apresentaram diferença estatisticamente significativas entre os dois táxons, Mn (A), Cd (B), Al (C), Fe (D) capturados no reservatório do Tapacurá, Pernambuco, Brasil (p-valor=0,05).....58.

Figura 4. Diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de metais pesados detectados por classe etária (jovens e adultos) nos Testudines Fe (A); Cu (B); Pb (C) e Crocodilianos Al (D), capturados no reservatório do Tapacurá, Pernambuco, Brasil. O p-valor entre as classes etárias (D) não foi significativo, entretanto, observou-se significância entre as Classes II e IV (p-valor=0,0569).....61.

Figura 5. Comparativos das concentrações de Cu (A) e Fe (B), em amostras de sangue (p≤0,05) entre as espécies de Testudines: *K. scorpioides* (KS), *M. tuberculata* (MT) e *P. geoffroanus* (PG) capturados na Estação Ecológica do Tapacurá.....62.

CAPÍTULO II

Figura 1. Elementos mais utilizados em trabalhos envolvendo metais pesados na herpetofauna aquática entre 2008-2018.....	79.
--	-----

Apêndice

Figura 3. Covos utilizados na captura de <i>C. latirostris</i> no reservatório do Tapacurá, São Lourenço da Mata, Pernambuco (B).....	88.
---	-----

Figura 4. Busca ativa de <i>C. latirostris</i> no reservatório do Tapacurá. Captura manual, com uso do laço com cabo de aço.....	88.
--	-----

Figura 5. Biometria realizada em <i>C. latirostris</i> capturados no reservatório do Tapacurá, Pernambuco. Comprimento Total da Cabeça (CTC) (A), Largura da Cabeça (LC) (B), Pesagem de filhote (C), Comprimento Total (CT) e Rostro-Cloacal (CRC) (D), Pesagem de adulto (E).....	89.
---	-----

Figura 6. Sexagem de <i>C. latirostris</i> considerando a observação dos órgãos genitais (A) e (B); Marcação através do recorte das escamas caudais e microchip (C) e (D).....	90.
--	-----

Figura 7. Coleta de sangue através do acesso ao seio occipital de <i>C. latirostris</i> capturados no reservatório do Tapacurá (A) e armazenamento das amostras (B).....	90.
--	-----

Figura 8. Um dos pontos de coleta para busca passiva de Testudines e Crocodilianos (A). Captura de um indivíduo de <i>K. scorpioides</i> em uma das armadilhas na margem do reservatório do Tapacurá, São Lourenço da Mata, Pernambuco (B).....	91.
---	-----

Figura 9. Etapas do processamento de <i>P. geoffroanus</i> capturado no reservatório do Tapacurá, São Lourenço da Mata, Pernambuco, Brasil. A. Comprimento Total (CT), B. Altura da Carapaça, C. Largura da Carapaça (LC), D. Comprimento Retilíneo da Carapaça (CRC), E. Pesagem.....	92.
--	-----

Figura 10. Etapas do processamento de <i>P. geoffroanus</i> capturado no reservatório do Tapacurá, São Lourenço da Mata, Pernambuco Brasil. A. e B. Sexagem, C. Marcação da Carapaça, D. Coleta de sangue a partir do acesso a veia caudal.	92.
--	-----

Figura 11. Preparo das amostras para digestão (A), filtração e diluição (B) no Laboratório de Química Aplicada a Fitoterápicos (LaqaF) da Universidade Federal Rural de Pernambuco.	93.
Figura 12. Leitura das amostras em ICP-OES (A) na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco (DQF/UFPE) e em EAA-Chamas (B), no Departamento de Tecnologia Rural da Universidade Federal Rural de Pernambuco(DTR/UFRPE).	93.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações (médias $\pm$ DP) e alcance de metais traço dissolvidos ao longo da Bacia do Tapacurá. Em negrito destaque para Estação T7, ponto de coleta localizado no reservatório do Tapacurá (mg/L^{-1}). Fonte: de Aprile e Bouvy (2010).....33.

Tabela 2. Legislação acerca da presença e dos limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos e água doce para Cd, Cu, Cr, Ni, Zn, Pb, Fe, Mn, Al (ppm, mg/kg , $\mu\text{g/mg}$).....35.

Capítulo I

Tabela 1. Teores de contaminantes em sangue de Crocodilianos e Testudines capturados no reservatório do Tapacurá, Nordeste do Brasil, com a distribuição estratificada das médias/mediana dos elementos detectados (Zn, Cu, Fe, Mn, Cd, Pb, Cr, Ni e Al) (mg/L , peso úmido).....57

Tabela 2. Correlações entre os metais pesados analisados em sangue de Crocodilianos e Testudines capturados no reservatório do Tapacurá, Pernambuco, Brasil. Destaque em negrito para as correlações que obtiveram o $p < 0,0001$63

Capítulo II

Tabela 1. Dimensões e atributos utilizados para análise rápida dos artigos utilizados no presente estudo de 2008 a 2018.....74.

Tabela 2. Espécies de Testudines continentais utilizadas nos artigos do presente estudo de 2008 a 2018, os elementos estudados e suas respectivas matrizes biológicas.....75.

Tabela 3. Espécies de Crocodilianos utilizados nos artigos do presente estudo de 2008 a 2018, os elementos estudados e suas respectivas matrizes biológicas.....77.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANOVA	Análise de Variância
CERCLA	Comprehensive Environmental Response, Compensation and Liability
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COR	Correlação
CP	Contaminação Potencial
CPRH	Companhia Pernambucana de Recursos Hídricos
CRC	Comprimento Rostro-Cloacal
DIU	Dispositivo Intra Uterino
EAA	Espectrômetro de Absorção Atômica
EUA	Estados Unidos da América
FE	Fator de Enriquecimento
HNO ₃	Ácido Nítrico
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente
IUCN	União Internacional para Conservação da Natureza
kW	Quilowatt ou kilowatt
MeHg	Metil-Mercúrio
MERCOSUL	Mercado Comum do Sul
OMS	Organização Mundial da Saúde
PPM	Partes Por Milhão
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RMR	Região Metropolitana do Recife
SEMA	Secretaria do Meio Ambiente
SciELO	Scientific Eletronic Library Online
OASISBR	Portal Brasileiro de Informação Científica
MINWR	Merrit National Wildlife Refuge
HCl	Ácido clorídrico
HClO ₄	Ácido perclórico
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HF	Ácido fluorídrico
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
KMnO ₄	Permanganato de potássio
DMA	Analísadores Diretos de Mercúrio
CVASF	Espectroscopia de Absorção Atômica de Geração de Vapor-Frio
GFAAS	Espectroscopia de Absorção Atômica de forno de grafite
ICP-MS	Espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente

Dedicatória	
Agradecimentos	
Resumo	
Abstract	
Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Lista de abreviaturas e siglas	

1. INTRODUÇÃO	19
1.1. REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 ASPECTOS SOBRE A CONTAMINAÇÃO DA HERPETOFAUNA AQUÁTICA	21
2.1.2 Contaminação por metais pesados em animais da ordem Testudines	21
2.1.3 Contaminação por metais pesados em animais da ordem Crocodylia	22
2.2 DADOS TOXICOLÓGICOS DOS METAIS ESTUDADOS NA HERPETOFAUNA	24
2.2.1 Alumínio (Al)	24
2.2.2 Chumbo (Pb)	25
2.2.3 Cádmio (Cd)	26
2.2.4 Cobre (Cu)	26
2.2.5 Ferro (Fe)	27
2.2.6. Manganês (Mn)	28
2.2.7 Zinco (Zn)	28
2.2.8. Cromo (Cr)	29
2.2.9 Níquel (Ni)	30
2.3 CARACTERIZAÇÃO DA BACIA DO RIO TAPACURÁ	30
2.4 POLUIÇÃO DA BACIA DO TAPACURÁ	31
2.4.1 METAIS PESADOS NO ECOSISTEMA AQUÁTICO DA BACIA DO RIO TAPACURÁ	31
2.4.2 EFLUENTES ORGÂNICOS	33
2.4.3 EFLUENTES DE ATIVIDADES AGRÍCOLAS	33
2.4.4 EFLUENTES INDUSTRIAIS	34
2.5 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA ACERCA DA PRESENÇA E TEOR DE METAIS PESADOS EM ALIMENTOS	35
3.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
CAPÍTULO I	50
CAPÍTULO II	51

APÊNDICE90

1. INTRODUÇÃO

Habitualmente os metais pesados são identificados por apresentarem características como: Densidades acima de $4,0\text{g/cm}^3$, número atômico <20 , massa específica e atômica (OGA, 2003; CARDOSO 2008). Apesar da maioria estar naturalmente presente nos ecossistemas e serem essenciais na manutenção da homeostase dos organismos em suas funções fisiológicas (KJELLSTROM, 1984), níveis elevados de elementos considerados poluentes ocasionam efeitos tóxicos com graves consequências aos sistemas vivos, a exemplo: altas taxas de mortalidade, mutação genética, diminuição da longevidade e do potencial reprodutivo (GRILLITSCH e SCHIESARI, 2010; KÖHLER e TRIEBSKORN, 2013).

Em 2008, Lacerda e Malm classificaram os poluentes em dois grandes grupos: o primeiro é representado por substâncias liberadas através do descarte inadequado de resíduos sólidos, que gera um aumento na demanda bioquímica de oxigênio, proliferação de algas e plânctons (crescimento estimulado principalmente pelo excesso de nitrogênio e fósforo), causando insuficiência nos níveis de oxigênio necessários para manter a vida aquática. O segundo grupo está relacionado aos rejeitos provenientes de atividade industrial, mineração, queima de petróleo, entre outros (metais pesados, poluentes orgânicos, gases de efeito estufa). Os mesmos autores reiteram a falta de conhecimento acerca da exposição crônica a este grupo de contaminantes, que mesmo após serem reconhecidos como perigosos a vida nas décadas do século passado, continuam como fontes pontuais e difusas em resposta ao crescimento populacional urbano, junto a demanda por combustíveis fósseis.

Por possuírem características não degradativas, quando disponíveis no ambiente os metais pesados são incorporados ao longo dos níveis tróficos e dos ciclos biogeoquímicos, acumulando-se na biota (FEEMA, 1992) e atingindo inclusive, grandes predadores, que não são alvos intencionais (DELANY, 1988; ESTEVES, 2011). Este processo, conhecido como biomagnificação, ocorre quando um organismo contaminado serve de presa para outro que não consegue excretar o composto químico, acumulando-o no corpo. Posteriormente, este predador é item alimentar de outro organismo, concentrando e transferindo o elemento ao longo da cadeia alimentar (TOWNSEND, 2014). Em consequência, estes elementos em concentrações muito mais elevadas do que encontrado no ambiente, intoxicam seres humanos via consumo de pescado (CARVALHO et al. 2000), aumentando os riscos à saúde pública.

Uma variedade de animais possui característica de bioacumular metais em seus tecidos, como Moluscos, aves marinhas (EUROPEAN COMMISSION – COWI, 2002),

peixes, mexilhões (MARTINS, 2004) e a herpetofauna aquática (SCHNEIDER et al. 2015). Para esse último caso, os clados Testudine e Crocodylia recebem pouca atenção no que se refere à bioacumulação, mesmo apresentando características que os tornam ótimos bioindicadores de ecossistemas aquáticos, dentre estas características podem ser citadas: Ampla distribuição geográfica, longevidade, dieta variada, alta eficiência na conversão de energia, além de padrões alimentares que podem representar >30% da massa corporal (SCHNEIDER, 2013). Mesmo dentro de perímetros de Unidades de Conservação, quelônios e jacarés ainda são utilizados por comunidades, principalmente as tradicionais (a exemplo dos quilombolas e indígenas) como recurso em atividades de subsistência como caça e pesca (REBÊLO, 2002). Dessa forma, constitui-se como importante fonte de proteína animal ao mesmo tempo que potencializa o risco associado a bioacumulação e transferência de metais pesados destes animais para o homem (FACHIN TERAN et al. 2004).

Desde os anos 80 pesquisas evidenciam a importância dos crocodilianos como bioindicadores da qualidade ambiental (DELANY, 1988), avaliando a presença e teor de diversos elementos como: Cr, Cu, Zn, Fe, Pb, Hg, As. Nestas pesquisas são utilizadas para análises o tegumento (tecido e anexos), órgãos, fluídos e parasitas destes animais, que são capturados em ambiente natural, reservatórios ou em fazendas de procriação (DELANY, 1988; JAGOE, 1993; BURGER, 2000; TELLEZ e MERCHANT, 2015). Da mesma forma, os Testudines podem apresentar diversas formas de contaminação por pertencer a níveis tróficos mais elevados e permanecerem expostos aos contaminantes (CUNHA, 2015).

As principais trajetórias de metais pesados em ambientes lênticos ou reservatórios são através das entradas fluviais, com destino final nos sedimentos que se acumulam junto aos materiais sólidos e formas solúveis na água (SOUZA, 2013), ficando dessa forma disponível no ambiente e propício a entrar na cadeia trófica. Entretanto, deposições atmosféricas (NRIAGU, 1979) e águas residuais advindas de casas de moradores também podem ser fontes dos elementos (ZHENG, 2008), alertando a necessidade de acompanhamento da saúde ambiental destes reservatórios. Sendo assim, a presente dissertação teve como contribuição a elaboração de dois artigos, o primeiro capítulo analisa a presença de nove elementos químicos (Fe, Cu, Cr, Zn, Mn, Cd, Pb, Ni e Al) no sangue de animais da ordem Crocodylia e Testudines, capturados em um dos mais representativos reservatórios da região metropolitana da cidade de Recife, Nordeste do Brasil. Procura-se também realizar um diagnóstico sobre as principais espécies biomonitoras e os respectivos métodos analíticos utilizados para determinação de metais pesados no capítulo dois.

1. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS SOBRE A CONTAMINAÇÃO DA HERPETOFAUNA AQUÁTICA

Em 1989, Viarengo apontou que os organismos aquáticos podem reagir de duas formas mediante contaminação por metais pesados em seu habitat: 1) De forma sensível à ação de determinado metal, como os Cladóceros *Daphnia* e *Ceriodaphnia* e algumas espécies de peixes (DOMINGUES e BERTOLETTI, 2006) 2) De forma não sensível e bioacumuladora, aumentando sua concentração ao longo da cadeia alimentar e colocando em risco animais topo de cadeia. Neste grupo, pode-se incluir os répteis e várias espécies de peixes (DOMINGUES e BERTOLETTI, 2006; SCHNEIDER et al. 2015; NILSEN et al. 2017).

2.1.2 Contaminação por metais pesados em animais da ordem Testudines

A ordem Testudine é composta atualmente por 356 espécies amplamente distribuídas no mundo, possuindo características morfológicas que os diferem dentro dos três grandes grupos de quelônios: As tartarugas marinhas, cágados (dulcícolas) e jabutis (terrestres) (TURTLE TAXONOMY WORKING GROUP, 2017). Dados do período Triássico (GAFFNEY, 1990) a principal característica destes sauropsidas "répteis" é a presença da carapaça e ausência de fenestras temporais no crânio, características adquiridas ao longo de 200 milhões de anos que permanecem até os dias atuais (WILLISTON, 1917; GAFFNEY, 1990).

Com o ciclo de vida longo e complexo, os Testudines podem levar vários anos para atingirem a maturidade sexual a depender da espécie e das condições ambientais ao qual estão submetidas (RUEDA e ALMOCIDAD, 2007), tornando o grupo altamente vulnerável a variações ambientais drásticas, principalmente no que diz respeito a alterações causadas por ações antrópicas (MARCOVALDI e MARCOVALDI, 1985; RODRIGUES, 2005). Em contrapartida, graças a sua longevidade e ampla distribuição geográfica, esses animais podem trazer importantes informações acerca da qualidade ambiental dos locais que utilizam como habitat, principalmente os quelônios aquáticos dulcícolas e marinhos, quantificando os impactos de curto a longo prazo, produzindo resultados determinantes dos efeitos reais de contaminações químicas (SILVA, 2015; VIARENGO et al. 2007; PIÑA et al. 2009; TSANGARIS et al. 2010).

Com *status* de conservação preocupante, a Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas (IUCN) aponta em sua versão mais atualizada que 149 espécies de Testudines são oficialmente consideradas ameaçadas (59,4% das 251 espécies listadas na IUCN), com 84

espécies (33,5% dos listados) criticamente em perigo ou em perigo (TURTLE TAXONOMY WORKING GROUP, 2017; IUCN, 2017), sendo o grupo mais ameaçado de extinção dentre os vertebrados (SILVA, 2015). Apesar de assegurada a proibição da caça e consumo de Testudines de vida livre no Brasil através da Lei de Crimes Ambientais (Lei nº 9605 de 12 de fevereiro de 1998) que prevê sanções e penas para captura, matança, coleta de ovos e distúrbios de habitat da fauna silvestre, comunidades ribeirinhas utilizam amplamente estes animais como fonte de proteína animal. Este comportamento reitera a importância de estudos que utilizem os Testudines como bioindicadores da saúde ambiental devido aos riscos ocasionados pela ingestão de alimento e água provenientes de locais contaminados (BERNARDI et al. 2008; HUEZA et al. 2008; SCHNEIDER, 2013).

Trabalhos como o de Schneider et al. (2015) e Eggins et al. (2015) mostram como o uso de amostras não-letais de Testudines podem ser eficientes na determinação de elementos traço. As concentrações de queratina e tecidos internos são positivamente correlacionadas e trazem dados relativos a exposição crônica, ou seja, exposição moderadamente lenta a vários elementos, que podem vir a causar efeitos a longo prazo. Já o sangue é indicador de exposição aguda, com efeitos que surgem com poucas horas ou dias de exposição. No Brasil, os Testudines amazônicos são amplamente utilizados como bioindicadores, principalmente espécies da família Podocnemididae em áreas com fontes naturais e antropogênicas de Hg (SCHNEIDER et al. 2011; SCHNEIDER et al. 2015; EGGINS et al. 2015) (Figura 1).

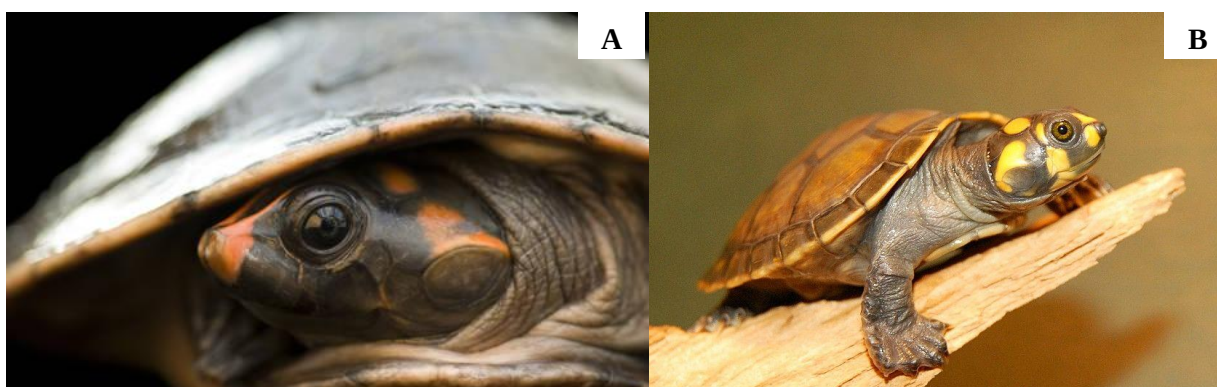


Figura 1. Espécies de quelônios amazônicos utilizadas no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Podocnemis erythrocephala* (Tartaruga-de-cara-vermelha) (A) e *Podocnemis unifilis* (Tracajá) (B). Fonte: gettyimages e pinterest.

2.1.3 Contaminação de metais pesados em animais da ordem Crocodylia

Considerados animais topo de cadeia, os crocodilianos são répteis fundamentais para manutenção da homeostase ambiental (MAZZOTTI et al. 2009). Estes predadores têm sofrido grande pressão devido a poluição das suas áreas de alimentação/reprodução que recebem

resíduos de atividades voltadas para agropecuária, indústrias e construção de áreas urbanas (VERDADE et al. 2002).

Dados do Cretáceo, das 24 espécies existentes, 6 estão atualmente listados como criticamente em perigo, 1 como em perigo, 3 como vulneráveis, 12 como baixo risco e 1 com deficiência de dados (IUCN, 2018). Os efeitos ocasionados pela contaminação química por metais pesados nas populações de crocodilianos têm sido reportados na literatura científica desde os anos 80, onde após acompanhamento por cinco anos foram relatadas a presença de animais com má condição corporal e baixas densidades populacionais em ambientes contaminados por mercúrio (DELANY et al., 1987; RICE e MAZZOTTI, 2006; MAZZOTTI, 2009).

Graças a sua longevidade, grande distribuição geográfica e capacidade de sobreviver a locais altamente impactados, esses animais têm sido utilizados no biomonitoramento da qualidade ambiental (SCHNEIDER et al. 2015; NILSEN et al. 2017). Eles também retêm maiores concentrações de metais pesados devido a sua posição dentro da cadeia alimentar, já que metais como o Hg e MeHg bioacumulam-se e biomagnificam-se ao longo da cadeia, tornando-os um potencial risco para as populações humanas que se alimentam da carne destes animais (CABANA et al. 1994; DUVALL e BARRON, 2000; RUMBOLD et al. 2002).

Habitualmente, as concentrações de metais detectadas nas espécies de crocodilianos oscilam de acordo com a história natural da espécie estudada, tamanho do animal, gênero, hábitos alimentares, tempo de exposição e habitat no qual ele está inserido. A via alimentar e habitat são as principais características associadas ao teor de metais pesados em matrizes biológicas como sangue, escama, músculo e órgãos internos (SCHNEIDER et al. 2015; LAZARO et al. 2015; NILSEN et al. 2016, 2017; BUENFIL-ROJAS et al. 2018). De forma geral, os Alligatoridae mostram-se altamente resistentes aos efeitos agudos de exposição a contaminantes (LAZARO et al. 2015).

No Brasil, as espécies comumente utilizadas para este tipo de avaliação são *Melanosuchus niger* (Jacaré Açu), *Caiman crocodilus* (Jacaretinga), *Caiman yacare* (Jacaré do Pantanal) e *Caiman latirostris* (Jacaré de Papo-Amarelo) (FREITAS, 2008; CORREIA et al. 2014; SCHNEIDER et al. 2015), localizados respectivamente na Amazônia, Pantanal, e Mata Atlântica, em ambientes naturais, áreas urbanas e fazendas de criação para consumo. Além disso, o *Alligator mississippiensis* (Jacaré americano), *Crocodylus moreletii* (Crocodilo mexicano) e *Crocodylus porosus* (Crocodilo de água salgada) também são amplamente estudados nos Estados Unidos, México e Austrália, respectivamente (Figura 2).

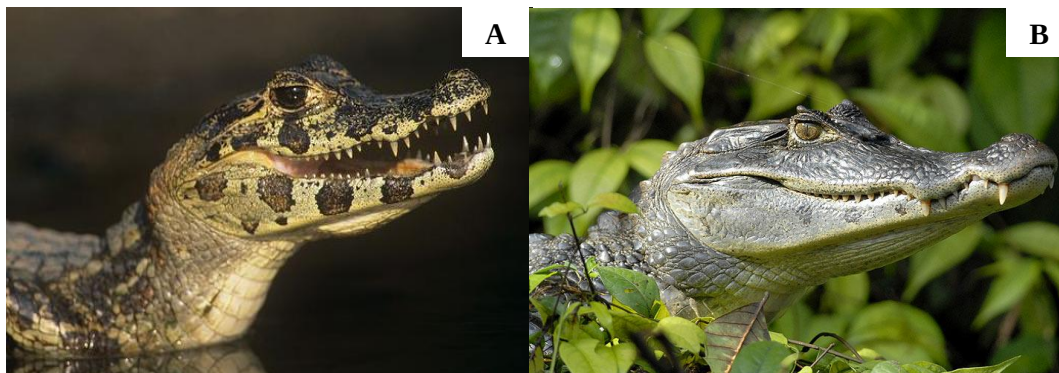


Figura 2. Espécies utilizadas em biomonitoramento de ambientes aquáticos na Amazônia: *Melanosuchus niger* (Jacaré-Açu) (A) e *Caiman crocodilus* (Jacaretinga) (B). Fonte: arkive.org esevcikphoto.com

2.2 DADOS TOXICOLÓGICOS DOS METAIS ESTUDADOS NA HERPETOFAUNA

De forma geral, os compostos orgânicos ou inorgânicos sofrem diversas transformações químicas durante o processo de transporte, com variações em sua concentração que pode aumentar, diminuir ou até ter seu poder tóxico inativado (MOZETO e ZAGATTO, 2006).

Quando entram no ecossistema aquáticos estes compostos associam-se a variados compartimentos através de processos como a adsorção, complexação e reprecipitação, interações iônicas simples, oxidação e redução química ou biológica, nucleação e aglomeração (MOZETO e ZAGATTO, 2006; PEDROZO e KUNO, 2008). Além disto, há também a dependência dos fatores abióticos do próprio meio em que está inserido (PEDROZO e KUNO, 2008; BIANCHINI e MARTINS, 2009; ESTEVES e GUARIENTO, 2011). Entre estes compostos podem ser citados o Al, Pb, Cd, Cu, Fe, Mn, Zn, Cr e Ni.

2.2.1 Alumínio (Al)

O Al é um elemento inorgânico encontrado em grande escala na crosta terrestre unido a silicatos, feldspatos, micas e argilas. É o metal pesado mais abundante e o terceiro elemento encontrado em maiores quantidades na crosta (NAYAK, 2002). Utilizado principalmente para fins industriais, médicos e tratamento de água, o Al também pode ser encontrado suplementando alimentos e em utensílios de cozinha (o que representa 20% da ingestão diária de Al) em pequenas quantidades (Al^{3+}), (LIN et al.1997), entretanto, sua função biológica ainda não é conhecida (GANROT, 1986; LIONE, 1983; SCHMITT et al. 2016).

A solubilização do Al em solo ocorre quando o pH < 5,3 (MATSUMOTO, 2000), sendo suas formas inorgânicas, complexas e de menor massa molecular as principais responsáveis pelo aumento da toxicidade na água (GENSEMER e PLAYLE, 1999;

VUORINEN et al. 2003). Dessa forma, tal parâmetro influencia fortemente no tipo de elemento metálico que é disponibilizado em ambiente aquático, determinando a hidrólise metálica, agregação, precipitação e entre outros mecanismos (SMITH, 2002).

Estudos em peixes apontaram problemas de maturação sexual e dificuldades no momento da desova em ambientes onde o Al apresentou altas concentrações. Além disso, houve diminuição no número de ovos e alteração gonadal (VOURINEN e VOURINEN, 1991; MUGIYA e TANAHASHI, 1998; HWANG, KAGAWA e MUGIYA, 2000).

Em humanos, Banasik et al. 2005 apontaram que doses tóxicas de Al podem estimular mutações cromossômicas, alterar fosforilação lipídica e inibir enzimas celulares (LI et al. 1998). Além disso, dificulta o desenvolvimento do cérebro em animais e humanos (YUMOTO et al. 2001).

2.2.2 Chumbo (Pb)

Assim como o mercúrio, o Pb é um dos elementos não essenciais mais tóxicos aos seres vivos (VANZ et al. 2003). É amplamente utilizado no meio industrial, no processo de fabricação de tintas, baterias, ligas metálicas, entre outros (PAIVA, 2005; SCHIFER et al. 2005). As principais fontes antrópicas desse metal são os fertilizantes, pesticidas, emissões advindas de veículos, queima de matéria orgânica utilizada na zona rural, incineração de resíduos urbanos e mineração (OLIVEIRA e SILVA, 2013). Já em ambiente natural, é encontrado abundantemente no solo, atmosfera e água superficiais. Em 2005, Schiffer et al. apontaram como resultado de captações e incorporações, a presença natural deste elemento químico em plantas, com correlações positivas dos teores deste metal presente no solo e nas plantas (WHO, 1995).

A exposição a este metal causa diversos efeitos no organismo humano, como alterações reprodutivas e no desenvolvimento, câncer, doenças cardiovasculares, gastrointestinais e alterações no sistema nervoso central (MOREIRA e MOREIRA, 2004). Logo após sua entrada no sangue o Pb espalha-se através dos tecidos e fica depositado em ossos e cabelo, o mesmo processo acontece com os organismos aquáticos, onde o metal acumula-se principalmente no fígado, rins e ossos (SCHIFER et al. 2005).

A contaminação de pescado por Pb representa uma grande ameaça não só ao ecossistema impactado, mas também as populações que alimentam-se de organismos aquáticos como fonte de proteína animal (SILVA, 2017). A ingestão de alimentos contaminados é uma das principais vias de intoxicação de seres humanos associados a ecossistemas aquáticos (CARVALHO et al. 2000) e devido a diversas espécies estarem no

topo da cadeia alimentar ocorre a biomagnificação deste contaminante via transferência trófica, que chega a acumular teores de elementos traço 10^5 mais elevados do que as concentrações detectadas no ambiente (GUIMARÃES et al. 1982; CHEN e FOLT, 2000).

2.2.3 Cádmio (Cd)

O Cd é um metal pesado insolúvel em água muito utilizado na fabricação de baterias, tintas e plásticos (AVILA-CAMPOS, 2008). Também é empregado como componente de fertilizantes fosfatados e no processo químico industrial chamado de galvanoplastia, que consiste em banhos de finas camadas de metal para o revestimento de corpos metálicos ou não-metálicos (COSTA, 1998). Em ambiente natural, é encontrado na crosta terrestre em concentrações que variam de 0,15 a 0,20 mg/L (ALLOWAY, 1990) devido a atividades vulcânicas, erosão de rochas sedimentares e incêndios florestais (CETESB, 2014).

A exposição ocorre principalmente através dos alimentos como moluscos (ostras), vegetais, frutos e peixes, em concentrações que podem variar de 1 µg/kg a 1000 µg/kg (KLAASSEN et al. 1996; 2001; CALABUIG, 2004). Além disso, não obteve essencialidade comprovada no organismo dos seres vivos, sendo considerado tóxico a vida e o oitavo metal potencialmente mais perigoso ao planeta (TERRY e STONE, 2002; ZBIGNIEW e WOJCIECH, 2006; ZHOU et al. 2006).

Souza (2012) apontou em seu estudo que as diferentes fases, produtividade, taxas de alimentação e ciclos de vida são dados que definem os efeitos do Cd no organismo, sendo o alimento uma importante fonte de contaminação. Da mesma forma, foi evidenciado que a taxa de concentração do Cd no organismo aumenta ou diminui em função da sua concentração na água, com rápido decaimento quando há transferência de um mesmo organismo para água não contaminada (CETESB, 1990).

2.2.4 Cobre (Cu)

Devido à grande quantidade de Cu liberado na atmosfera (75.000 toneladas), a contaminação por Cu é inevitável (MOORE et al. 1997). Oriundo tanto de fontes naturais quanto antropogênicas, esse metal é considerado um micronutriente essencial para manutenção dos organismos. Pode ser distribuído através do ar, solos e águas superficiais, chegando a apresentar uma abundância de aproximadamente 60 mg/kg na crosta terrestres (50 ppm) e $2,5 \times 10^{-4}$ mg/L nos mares (PEDROZO e LIMA, 2001).

Seu uso é bastante diversificado, podendo ser utilizado desde a fabricação de cerâmicas, baterias, desinfetantes, materiais para odontologia até como constituinte do

Dispositivo Intra Uterino (DIU), que evitam a gravidez através da liberação de cerca de 100-150 mg de Cu (MOORE, 1997; WHO, 1998; MEDITEXT, 2000).

Variações abióticas como salinidade, pH ou temperatura têm ligação direta com a concentração deste metal pesado no ambiente, influenciando e modificando sua disponibilidade de acordo com a espécie (PEDROZO e LIMA, 2001). Em ambientes aquáticos, as concentrações normais variam de 0,5 a 1.000 mg/L em águas superficiais e de 1 a 5 µg/L em águas marinhas (PEDROZO e LIMA, 2001).

Diversos estudos apontam a bioacumulação de Cu na herpetofauna aquática, sendo um dos principais fatores biológicos e ecológicos a idade e o tipo de alimentação (NISA et al. 2015; NILSEN et al. 2016; MARTINE-LOPEZ et al. 2017; NILSEN et al. 2017). Apesar do teor de Cu em alimentos depender do tipo de produto, do país, como se deu a produção, entre outras variáveis, a maioria dos alimentos contém menos de 10mg de Cu/Kg. Em peixes de água doce a concentração varia de 0,25 a 38,75 mg/Kg de Cu por peso seco (PEDROZO e LIMA, 2001).

2.2.5 Ferro (Fe)

Essencial para manutenção da vida, o Fe é o metal pesado que compõe cerca de 30% da massa total da terra. Sua forma mais abundante na superfície da terra é a Fe^{3+} , insolúvel em água (COX, 1997) e a maior parte é combinada com oxigênio, enxofre ou sílica.

São amplamente utilizados na indústria metalúrgica, siderúrgica, na fabricação de imãs, tintas, pigmentos, abrasivos e compostos para polímeros, na soldagem de metais, perfuração de poços petrolíferos, produção de aço, entre outros (ILO, 1997; HAZARDTEXT, 2000). O Fe natural advém do desgaste de rochas, meteoritos e escoamento superficial (KROSCWITZ, 1995), já os resíduos de Fe antropogênico têm origem das atividades realizadas no garimpo, soldagem, efluentes domésticos, escoamento superficial, uso de fertilizantes, polimento de metais, entre outros (ABUHILAL, BADRAN, 1990; SCHARMA et al. 2000).

O Fe com valência zero (não é um elemento tóxico) também é utilizado na biorremediação de ambientes contaminados, através da deterioração de compostos orgânicos considerados de difícil degradação, que são hidrofóbicos e cumulativos no ambiente (MATHESON e TRATNYEK, 1994).

Liberados na atmosfera, o Fe e seus compostos são captados na forma de material particulado e removido pelas águas das chuvas (CERCASOV et al. 1998). Quando está

localizado na água, pode ocorrer na forma de Fe II (iônica, com ausência de oxigênio na água) e Fe III (pH abaixo de 3) (FRESENIUS et al.1988; APHA, 1998).

Sua concentração está associada ao uso de fungicidas à base de Cu, localização geográfica, clima, temperatura, pH, potencial redox do meio, captação pela biota aquática, e deposição do metal no sedimento (ADACHI. 1998; JORDANOVA et al. 1999).

2.2.6. Manganês (Mn)

O Mn é o décimo segundo elemento mais abundante da crosta-terrestre, sendo encontrado no solo, água, rochas e alimentos (RAUL-HERNANDEZ, 2009). Constitui uma importante fonte de micronutrientes para os organismos e está presente naturalmente em concentrações baixas no ar na forma de carbonatos, hidróxidos e óxidos (WHO, 1999; RAUL-HERNANDEZ, 2009). Entretanto, níveis elevados podem causar intoxicação (FRANCO, 1999) que ocorre principalmente através da inalação de material particulado proveniente principalmente das indústrias ferro-manganês (MARTINS e LIMA, 2001; CAMARGO e BATISTUZZO, 2008; RAUL-HERNANDEZ, 2009).

É utilizado na fabricação de vidro, ligas ferromanganês e ferrosiliciomanganês, produtos de limpeza de peças metálicas, ligas de Ni e Cu, suplementos alimentares, entre outros (SIQUEIRA, 1984; MARTINS e LIMA, 2001). No ambiente aquático, o Mn está presente nas formas divalentes e trivalentes com distribuições que podem variar de acordo com o pH e potencial redox (RAUL-HERNANDEZ, 2009). No solo, concentrações normais variam de 40 a 900 mg/kg a depender das suas características, com ocorrência no subsolo (MARTINS e LIMA, 2001).

Howe et al. 2004 apontou que as concentrações de Mn em peixes de água doce ou salgada variam entre <0,2 e 19 mg/kg de peso seco até 100 mg/kg de peso seco em peixes de águas superficiais contaminadas, aumentando consideravelmente a partir da elevação da temperatura e diminuição da salinidade. Entretanto, esse valor reduz quando há um aumento do pH.

2.2.7 Zinco (Zn)

Elemento essencial aos organismos, oZn é um importante componente no crescimento de plantas e animais que atua na produção de diferentes classes de enzimas, facilitando o funcionamento do metabolismo, sistema imunológico, transcrição genética, morte celular, estabilizador de estruturas, membranas e componentes celulares (MAFRA e COZZOLINO, 2004; BROADLEY et al. 2007).

Entretanto, grandes quantidades de Zn podem ocasionar efeitos tóxicos. A exemplo, MARQUES et al. (2009) apontaram modificações histopatológicas nas brânquias de peixes, efeitos imunotóxicos, destruição do epitélio, fusão lamelar, entre outros. Em plantas, o excesso deste micronutriente afeta o crescimento vegetal, deficiência de Fe, alterações na absorção de Mn, Mg e P (CAROL e LONERAGAN, 1968; CHANEY, 1993; BROADLEY et al. 2007).

Em seres humanos, a maior parte da obtenção de Zn se dá através da alimentação, com ingestão diária média de 15 mg para indivíduos adultos (FRANCO, 1999). Seu excesso resulta em diarreias, cólicas, problemas pulmonares, febre, calafrios, gastroenterites, sonolência, vômitos (ROCHA, PEREIRA e PADUÁ, 1985). Além disso, os processos de solda e fabricação de ligas de Zn ocasionam sérias lesões no sistema respiratório (BRITO, 1988).

Também é encontrado abundantemente na crosta terrestre em diferentes formas (sulfetos, ou carbonatos de zinco). Sua fonte antropogênica vem da galvanização, com uso em baterias, fertilizantes, aros, tintas, plásticos, borrachas, cosmético e produtos farmacêuticos (MOORE e RAMAMMOORTHY, 1984; LESTER, 1987).

2.2.8. Cromo (Cr)

As formas de oxidação mais comuns do Cr são Cr^0 , Cr (II), Cr (III) e Cr (VI), podendo ser encontrados no ambiente aquático (1mg/L), terrestre (2-60 mg/kg) e atmosférico (0,1 mg/g³) (SILVA e PEDROZO, 2001). Cr (III) e Cr (VI) são as espécies que possuem maiores relevâncias em estudos toxicológicos (SILVA e PEDROZO, 2001), sendo o primeiro menos tóxico que o segundo e categorizado como a 16ª substância mais perigosa segundo o CERCLA (*The Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability*) (1997).

Fontes naturais de contaminação por Cr estão relacionadas com queimadas florestais e névoas vulcânicas. Antropogenicamente, resíduos de cromo são obtidos por meio de lixos urbanos e industriais, fertilizantes, soldagem de ligas metálicas, manufaturas do aço e ligas, entre outros (GROSSI, 1993).

Apesar de danoso à saúde ambiental em quantidades elevadas, o Cr trivalente possui um importante papel fisiológico nos organismos, sendo sua ausência um risco a saúde humana (GALVÃO e COREY, 1987). HERTZ et al, (1989) e SANO et al. (1999) apontam em seus trabalhos que a deficiência de cromo retarda o crescimento e causa intolerância à glicose, pois possuem a capacidade de aumentar a sensibilidade da célula na presença de esta substância

(MERTZ e ROGINSKI, 1969). Já o Cr (VI) é a forma mais tóxica que está ligada a matéria orgânica presente em ambientes aquáticos e no solo (CERVANTES et al. 2001).

Em animais aquáticos, a acumulação do cromo depende diretamente de fatores abióticos e bióticos, além do que, a absorção se dá por meio da difusão passiva (SILVA e PEDROZO, 2001). Em 2014, Miranda apontou em seu estudo que os alimentos de origem animal possuem os maiores teores de cromo, sendo os limites máximos permitidos de 1,0 mg/mL para Cr (III) e 0,05 mg/mL para Cr (VI) disponíveis na legislação brasileira (SILVA e PEDROZO, 2001).

2.2.9 Níquel (Ni)

Assim como o cromo, a toxicidade do Ni depende de características abióticas, tipo de espécie química, concentração disponível no ambiente, entre outros fatores (SCHAUMLÖFFEL, 2012). Este elemento ocorre nos estados Ni^{2+} , Ni^{3+} e Ni^{4+} e pode ser encontrado associado a outros elementos na crosta terrestre (8,5%) no solo, fundo do oceano, núcleo da terra e meteoritos (MENDES, 2011). Além disso, é o 24^a elemento mais abundante da crosta terrestre, representando assim, cerca de 3% de sua composição.

Amplamente utilizado para fins industriais, o Ni é empregado na construção de automóveis, composição de baterias, utensílios domésticos e maquinaria industrial. As principais fontes de contaminação atmosférica são por meio da combustão de petróleo e carvão, incineração e extração de minérios (HARTENSTEIN, 1981; HOBBS, 1986), assim, a contaminação pode se dar através da inalação, via cutânea ou por ingestão (WARNER, 1994).

Em ecossistemas aquáticos, já foi evidenciado a capacidade de bioacumulação do Ni a partir do consumo de algas contaminadas por crustáceos planctônicos, que bioacumularam de 30 a 300 vezes mais do que o teor disponível no ambiente (WATRAS et al. 1985). Em 2012, Aires apontou que efeitos do Ni parecem estar associados a distúrbios metabólicos no caranguejo (*Neohelice granulata*), entretanto não há ocorrência de biomagnificação para este elemento ao longo da cadeia alimentar (BARCELOUX, 1999).

2.3 CARACTERIZAÇÃO DA BACIA DO RIO TAPACURÁ

Construído na década de 70, o reservatório do Tapacurá, localizado na Zona da Mata do estado de Pernambuco, foi criado com objetivo de abastecer a população e conter as cheias. O açude represado do Tapacurá tem capacidade de 94.200 m³ e contribui com mais de 36% da água consumida na Região Metropolitana do Recife (RMR) (ANDRADE et al. 2009; COMPESA, 2010; CPRH, 2016). Esta área encontra-se dentro dos limites da Estação

Ecológica do Tapacurá, que visa à preservação da natureza e realização de pesquisas científicas (MMA, 2017).

Com uma área de drenagem de 470.5km, a bacia engloba seis municípios: Vitória de Santo Antão (38,6%), Pombos (31,2%), São Lourenço da Mata (19,8%), Gravatá (4,3%), Moreno (3,3%) e Chã Grande (2,8%) (CPRH, 2016). APRILE e BOUVY (2008) apontaram que não há saneamento básico adequado nestas cidades, sendo mais de 80% das águas residuais descarregadas nos afluentes sem receber tratamento adequado. Além disso, regiões onde há presença de atividades agrícolas e industriais também têm contribuído exponencialmente para poluição do rio em função da quantidade de contaminantes liberados na biota (APRILE et al. 2004; APRILE et al. 2008; APRILE et al. 2012).

A classificação climática de Köppen-Geiger indica que o clima da região é tropical, com estação seca no verão e chuvosa no inverno. A temperatura média anual é de 24° C, com registros pluviométricos que variam de 130 mm a 100 mm (RODAL et al. 2005; PEEL et al. 2007). Classificada como Floresta Estacional Semidecidual de Terras Baixas, apresenta vegetação arbórea com cerca de 30 m de altura e mata seca (ANDRADE-LIMA et al. 1970).

2.4 POLUIÇÃO DA BACIA DO TAPACURÁ

Desde os anos noventa o manancial do Tapacurá tem apresentado contínuo declínio da qualidade da água (rio e reservatório). Entre os anos de 1996 e 1997 as águas apresentaram odor, sabor e altos teores de coliformes fecais, classificando as águas da bacia como fortemente poluídas segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) (ARAÚJO e NUNES, 2003; PERNAMBUCO, 2003),). Neste mesmo período, Aprile e Bouvy (2012) estimaram que mais 100 famílias retiravam sua renda das casas de farinha, atividade que gera como resíduo a manipueira, líquido que contém altas quantidades de ácido cianídrico, compostos nitrogenados e fosfatados que contribuem na eutrofização da bacia devido a mais de 57% dos descartes dos resíduos serem diretamente no rio.

Classificado como eutrófico segundo a Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (OECD) e o Centro Panamericano de Engenharia Sanitária e Ciências do Ambiente (CEPIS/OPS), as principais atividades que atuam como fontes poluidoras e que contribuíram para esse *status* foram à policultura (35%), pecuária (30%), o cultivo de cana-de-açúcar (12%), bem como granjas e chácaras que ocupam uma menor área (BRAGA 2001; GUNKEL, 2003; ARAUJO e NUNES, 2003; PERNAMBUCO, 2003; CPRH, 2016). Além disto, aterros sanitários e lixões ilegais também representam uma fonte poluidora adicional,

lixiviando altas cargas de resíduos nos períodos chuvosos (ARAUJO e NUNES; GUNKEL, 2003; PERNAMBUCO, 2003).

Apesar das diversas formas que o solo é utilizado, a principal atividade que detém mais de 88% da área e é mais prejudicial ao meio ambiente é a agrícola, devido às substâncias utilizadas no controle de pragas (herbicidas e fertilizantes) que acabam sendo lançados no rio (GUNKEL; ARAÚJO e NUNES, 2003 APRILE et al. 2004; APRILE e BOUVY, 2008). Além de causar o desenvolvimento de doenças cancerígenas, cardiovasculares e neurológicas na população (MOREIRA et al. 2002), este descarte inadequado têm sido motivo de preocupação devido ao grande comprometimento que gera na saúde ambiental (LUCHINI e ANDREIA, 2000).

2.4.1 METAIS PESADOS NO ECOSSISTEMA AQUÁTICO DA BACIA DO RIO TAPACURÁ

Com objetivo de manter a gestão adequada dos recursos hídricos do Estado de Pernambuco nos anos 90, a Companhia Pernambucana do Meio Ambiente (CPRH) realizou programas de monitoramento da qualidade de águas que contemplavam os rios Tapacurá, Goiânia, Capibaribe e Jaboatão (APRILE e BOUVY, 2003).

Foram analisados os metais Fe, Cu, Pb, Mn, Ni, Cd, Zn e Cr nas águas superficiais e sedimentos do Rio Tapacurá. Níveis de Fe e Mn estavam acima do limite quando comparando com os valores recomendados pelo CONAMA ($\leq 300 \text{ ug.L}^{-1}$ para o Fe; $\leq 100 \text{ ug.L}^{-1}$ para o Mn) (BRASIL, 1986; APRILE e BOUVY, 2003; 2010). Os elementos considerados tóxicos, como o Pb e Cd foram detectados em níveis baixos ou em concentrações não perceptíveis.

Já em sedimentos as concentrações de Fe, Cu, Mn e Cd ficaram acima dos níveis estipulados pela SEMA (1988), principalmente o Fe, com valores que variaram de 548 a 32.606 ug.g^{-1} (APRILE e BOUVY, 2003; 2010). Os autores consideraram ainda que as concentrações durante os anos de estudo (1997/1998) não eram preocupantes e que provavelmente estariam correlacionados com o despejo inadequado de efluentes domésticos e industriais. No entanto, Dantas et al. (2009) apontaram que as águas do Rio Tapacurá eram altamente contaminadas, com proliferação de cianobactérias que produzem toxinas prejudiciais à saúde.

Em 2010, Aprile e Bouvy também apontaram que a distribuição de cinco metais pesados analisados na bacia do rio Tapacurá se dava de forma heterogênea, com *hotspots* principalmente em áreas agrícolas e níveis de contaminação que variavam de moderada a

grave de acordo fator de enriquecimento (FE) e índice de contaminação potencial (CP) (Tabela 1).

Tabela 1. Concentrações (médias±DP) e alcance de metais traço dissolvidos ao longo da Bacia do Tapacurá. Em negrito destaque para Estação T7, ponto de coleta localizado no reservatório do Tapacurá (mg L⁻¹). Fonte: de Aprile e Bouvy (2010).

Estação	Fe	Mn	Cu	Pb	Zn
T1	1,30±0,143	0,21±0,052	0,002±0,003	-	0,010±0,001
T2	0,77±0,066	0,34±0,061	0,011±0,002	0,0080±006	0,004±0,003
T3	1,22±0,202	0,24±0,072	0,004±0,003	0,011±0,008	0,009±0,008
T4	3,66±0,553	0,03±0,001	0,007±0,001	0,019±0,013	0,010±0,001
T5	2,09±0,336	0,30±0,090	0,006±0,004	<0,006	0,008±0,000
T6	1,35±0,232	1,00±0,091	0,005±0,004	<0,006	-
T7	0,50±0,016	0,06±0,017	0,008±0,001	0,008±0,007	0,013±0,006
T8	0,33±0,033	0,05±0,021	0,001±0,008	<0,006	0,009±0,004

2.4.2 EFLUENTES ORGÂNICOS

Apesar da incipiência de informações acerca da qualidade da água do Brasil, um dos principais causadores de distúrbios em ecossistemas aquáticos é o lançamento de efluentes (CAMARGO et al.1995; ANA, 2012). Devido ao crescimento acelerado das populações próximas aos corpos d'água, o processo de eutrofização antrópica tem se tornado cada vez mais evidente, com altas cargas de matéria orgânica depositadas no ambiente que aumentam a possibilidade de ocorrência de microorganismos patogênicos contidos no esgoto (CARVALHO et al.1993).

Dentre os compostos orgânicos encontrados no esgoto destacam-se os ácidos voláteis, ácidos solúveis não voláteis, ácidos graxos, proteínas, carboidratos, entre outros. Além disso, quase 80% dos metais como Ag, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb e Zn são provenientes de esgoto doméstico (ECKENFELDER, 1991; BOLLER, 1997).

Levando em consideração apenas o município de Vitória de Santo Antão (PE), o rio Tapacurá recebe em média 60% dos resíduos produzidos e despejados por seus moradores a sua montante (MELO, 2006). Este dado reitera a falta de monitoramento e fiscalização por parte dos órgãos públicos em relação ao uso adequado do manancial (ARAÚJO e NUNES, 2003).

2.4.3 EFLUENTES DE ATIVIDADES AGRÍCOLAS

As atividades agrícolas também lançam seus resíduos diretamente no solo ou na água (superficial ou subterrânea) (RIBEIRO e LOURENCETTI, 2007). Além dos pesticidas e herbicidas, os poluentes resultantes do escoamento agrícola também possuem dejetos animais,

nutrientes, sedimentos, agroquímicos, entre outros (MERTEN e MINELLA, 2002). As atividades agrícolas e agropastoris presentes nos seis municípios (4,63% da população de Pernambuco) do entorno da bacia do Tapacurá são uma das principais responsáveis por seu estado crítico de poluição hídrica (ARAÚJO e NUNES, 2003).

Paralelamente a essa problemática, o cultivo da terra de forma errada tem potencializado a contaminação aquática. As áreas declivosas e frágeis são utilizadas pelos agricultores em práticas agrícolas, isso gera uma maior erosão hídrica com os altos níveis de sedimento que chega até os corpos de água. Assim o solo tem sua capacidade produtiva comprometida devido à perda de carbono e nutrientes. Para compensar o balanço produtivo, os agricultores aumentam quantidade de adubos solúveis e agrotóxicos elevando os níveis de contaminação do solo e da água (MERTEN e MINELLA, 2002).

2.4.4 EFLUENTES INDUSTRIAIS

De acordo com a norma brasileira da ABNT – NBR 9800/1987, a definição de efluentes industriais é:

"Despejos líquidos provenientes das áreas de processamento industrial, incluindo os originados nos processos de produção, as águas de lavagem de operação de limpeza e outras fontes, que comprovadamente apresentem poluição por produtos utilizados ou produzidos no estabelecimento industrial".

A revolução industrial trouxe consigo o aumento do uso de carvão, petróleo e gás (GOLDEMBERG e LUCON, 2007). Consequentemente, grandes quantidades de rejeitos vêm sendo gerado até os dias atuais, que na maioria das vezes são depositados diretamente em cursos naturais (PERA TITUS et al. 2004).

Misturas combustíveis de gases usados na fabricação de plástico, refinarias e insumos provenientes de hidrocarbonetos com base em matérias-primas são exemplos de efluentes de plantas industriais, que possuem uma grande quantidade de compostos fenólicos (TATIBOUET, 2000; PHU, 2001), perturbando consideravelmente ambientes aquáticos e alterando as propriedades organolépticas da água (ZHOU et al. 1997; GUERRA et al. 2001).

Todos os anos são gerados cerca de 2,9 milhões de toneladas de resíduos industriais perigosos no Brasil que são lançados na sua maioria em cursos d'água e lixões sem qualquer tipo de tratamento (72%) (FURTADO, 2003), contribuindo para o aumento das contaminações em corpos aquáticos e consequentemente disseminados na cadeia trófica (JIMENEZ et al. 2004).

2.5 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA ACERCA DA PRESENÇA E TEOR DE METAIS PESADOS EM ALIMENTOS

No Brasil, o Decreto no 55.871 de 26 de março de 1965 – Determina os limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos em alimentos, com legislações mais recentes ao decreto original, como a Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - RDC Nº 42 de 29 de agosto de 2013, que dispõe sobre o regulamento técnico MERCOSUL acerca da presença e dos limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos, admitindo a presença de elementos metálicos e não metálicos dentro dos limites estabelecidos. Também há legislação pertinente acerca do limite de minerais estabelecido para corpos d'água do CONAMA 357/2005, no qual o reservatório do Tapacurá enquadra-se na Classe II. Estas concentrações devem ser o mais baixo possível, prevenindo-se a contaminação do alimento na fonte (BRASIL, 2013) (Tabela2).

Tabela 2. Legislação acerca presença e dos limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos e água doce para Cd, Cu, Cr, Ni, Zn, Pb, Fe, Mn, Al (ppm, mg/kg, µg/mg).

	Decreto nº 55.871 [1]	RDC nº 42 [2]	CONAMA 357/2005 [3]	OMS [4]
	(ppm)	(mg/kg)	(mg/L)	(µg/mg/pessoa/ semana)
Cd	30	0,05	≤0,001	7µg/0,49 mg/pessoa/semana
Cu	0,1	*	≤0,01	3500 µg/ 245mg/pessoa/semana
Cr	250	*	≤0,05	<10 a 1.300 µg / kg
Ni	0,30	*	≤0,025	35 µg/2,45 mg/pessoa/semana
Zn	2	*	≤0,18	3500 µg/245 mg/pessoa/semana
Pb	*	0,3	≤0,01	25µg/1,75 mg / pessoa / semana
Fe	*	*	*	5600 µg/392 mg/pessoa/semana
Mn	*	*	≤0,1	980 µg/68,6 mg / pessoa / semana
Al	*	*	*	1 mg / kgb.w/

[1] Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962;

[2] Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos;

[3] Limites dos elementos monitorados para corpos de água doce (Classe II) segundo a resolução CONAMA nº357/05;

[4] Dose limite para alimentação com peixes;

* Limites não estabelecidos

3.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABU-HILAL, A H.; BADRAN, M. M. Effect of pollution sources on metal concentrations in sediment cores from the Gulf of Aqaba (Red Sea). **Marine Pollution Bulletin**, v. 21, p. 190-197, 1990.
- ADACHI, A. *et al.* Metals levels in rainwater from Kobe City in Japan. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, p. 892-897, 1998.
- AIRES, Michele da Silva. Efeitos bioquímicos e fisiológicos da exposição ao níquel no caranguejo *Eurialiano neohelice granulata*. 2012. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande.
- ALLOWAY, B. J. Heavy metals in soils New York: John Wiley, 1990. 339p.
- ANDRADE, C.M. et al. Estrutura da comunidade fitoplanctônica com ênfase em Cyanobacteria no reservatório de Tapacurá-PE. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 1, p. 109-117, 2009.
- ANDRADE-LIMA, D. de; LIRA, O. C. Capacidade madeireira de três propriedades nos municípios de Água Preta, PE e Porto Calvo, AL. **Memórias do Instituto de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco**, v. 1, p. 329-356, 1974.
- ANDRADE-LIMA, D. **Recursos vegetais de Pernambuco**. Recife, Instituto de Pesquisas Agronômicas, Boletim Técnico, 1970, 32p.
- APHA/AWWA/WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed. Washington, 1998.
- APRILE, F. M.; BOUVY, M. Distribution and enrichment of heavy metals at the Tapacurá River basin, northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 12, n. 1, p. 1-8, 2008.
- APRILE, F. M.; PARENTE, A. H.; BOUVY, M. A dinâmica dos metais pesados nas águas e sedimentos superficiais do rio Tapacurá, Pernambuco, Brasil. **Química e Tecnologia**, v. 2, p. 7-14, 2003.
- APRILE, F.M.; BOUVY, M. Heavy metal levels in surface waters from a tropical river basin, Pernambuco State, northeastern Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 32, n. 4, 2010.
- APRILE, F.M.; PARENTE, A.H.; BOUVY, M. Análise dos resíduos industriais do processamento da farinha de mandioca na bacia do Rio Tapacurá (Pernambuco–Brasil). **Títulos não-correntes**, v. 18, n. 1, 2012.

ARAÚJO, M.H.; NUNES, R.F.P. Tapacurá: Uma descrição das suas condições sanitárias e ambientais voltadas para o abastecimento de populações urbanas.2003. (**Trabalho de Conclusão de Curso**) - Centro de Pesquisa Ageu Magalhães - Recife

AVILA-CAMPOS, M.J. Metais pesados e seus efeitos. Matéria eletrônica. Disponível em:< http://www.mundodoquímico.hpg.ig.com.br/metais_pesados_e_seus_efeitos.htm>. Acessado em: 12de janeiro de 2018.

BANASIK, A., et al. A. Aluminium-induced micronuclei and apoptosis in human peripheral blood lymphocytes treated during different phases of the cell cycle. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 20, n. 4, p. 402-406, 2005.

BANASIK, A., et al. A. Aluminium-induced micronuclei and apoptosis in human peripheral bloodlymphocytes treated during different phases of the cell cycle. **Environ. Toxicology**. v. 20, n. 4, p. 402-406, 2005.

BARCELOUX, D.G.; BARCELOUX, D.N. Journal of Toxicology: **Clinical Toxicology**, v. 37, n. 2, p. 239-258, 1999.

BERNARDI, M. M. *et al.* Ecotoxicologia. In: SPINOSA, H. DE S.; GÓMIAK, S. L.; PALERMO-NETO, J. **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. São Paulo: Manole, 2008, p. 942.

BIANCHINI, A.; MARTINS, E. S.; JORGE, M. B. **O modelo do ligante biótico e suas aplicações em ecotoxicologia**. Divulgação Científica. Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia. FURG (Universidade Federal do Rio Grande), 2009, 34 p.

BOLLER, M. Small wastewater treatment plants-a challenge to wastewater engineers. **Water Science and Technology**, v. 35, n. 6, p. 1-12, 1997.

BRAGA, RAP. Gestão ambiental da bacia do rio Tapacurá-Plano de ação. Universidade Federal de Pernambuco. CTG/DECIVIL/GRH, apoio FINEP e FACEPE. Recife. 101p, 2001.

BRASIL. RDC N° 42, de 29 de agosto de 2013. Resolução da Diretoria Colegiada. Diário oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 29 de agosto. de 2013.

BRASIL. Resolução CONAMA N° 20, de 18 de junho de 1986. Diário oficial da União, Brasília, DF. 18 de junho de 1986.

BRITO FILHO, D. **Toxicologia humana e geral**. 2.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1988.

BROADLEY, M. R. *et al.* Zinc in plants. **New Phytologist**. v.173. p. 677-702. 2007.

BUENFIL-ROJAS, A. M.; ALVAREZ-LEGORRETA, T.; CEDEÑO-VÁZQUEZ, J. R. Mercury and metallothioneins in blood fractions and tissues of captive Morelet's crocodiles in Quintana Roo, Mexico. **Chemosphere**, v. 199, p. 630-636, 2018.

BURGER, J. et al. Metals and metalloids in tissues of American alligators in three Florida lakes. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 38, n. 4, p. 501-508, 2000.

CABANA, G., et al. Pelagic food chain structure in Ontario lakes: a determinant of mercury levels in lake trout (*Salvelinus namaycush*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. v. 51, p.381-389, 1994.

CALABUIG, G. **Medicina Legal y Toxicología**, 6ª Edicion; E. Villanueva Cañadas, Masson; Barcelona; Espanha. 2004, 39-967p.

CARDOSO, T.P. et al. Concentração de mercúrio e análise histopatológica em músculo, rim, cérebro de peixe-espada (*Trichiurus lepturus*) coletados na praia de Itaipu - Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Rural [online]**, v.39, n.2, p.540-546,2009.

CARROLL, M.D.; LONERAGAN, J.F. Response of plant species to concentrations of zinc in solution. I. Growth and zinc content of plants. **Australian Journal of Agricultural Research**. v.19. p.859–868, 1968.

CARVALHO, C. E. V. et al. Distribuição de metais pesados em peixes costeiros bentônicos da região de Macaé, RJ, Brasil. **Ecotoxicology and Environmental Restoration**, v. 3, n. 2, p. 12-16, 2000.

CARVALHO, C. E. V.; OVALLE, A. R. C.; REZENDE, M. S. M. B.; LACERDA, L. Cases and solutions seasonal variation of particulate heavy metals in the Lower Paraíba do Sul River, RJ, Brazil. *Environ. Geology*, v. 37, n. 4, p. 197-302, 1999.

CERCASOV, V. et al. Comparative evaluation of some pollutants in the airborne particulate matter in Eastern and Western Europe: two-city study, Bucharest-Stuttgart. **Environmental Pollution**, v. 101, p. 331-337, 1998.

CERVANTES, Carlos et al. Interactions of chromium with microorganisms and plants. **FEMS microbiology reviews**, v. 25, n. 3, p. 335-347, 2001.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Cádmio e seus compostos**. Ficha de Informação Toxicológica. Divisão de Toxicologia, Genotoxicidade e Microbiologia Ambiental, 2014.

CETESB. Implantação de métodos para avaliação da bioconcentração de agentes químicos em peixes: resultados iniciais. Relatório técnico CETESB, São Paulo, 31p, 1990.

CHANEY, R.L. **Zinc phytotoxicity**. In: ROBSON, A.D. (Org.). Zinc in Soil and Plants. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, p.135–150, 1993.

CHEN, C.Y.; FOLT, C.L. Bioaccumulation and diminution of arsenic and lead in a freshwater food web. **Environmental Science & Technology**, v. 34, p. 3878-3884, 2000.

COMPESA. **COMPANHIA PERNAMBUCANA DE SANEAMENTO**. Disponível em: www.compesa.com.br/saneamento/tapacura.pdf. Acessado em: 20 de junho de 2017.

CORREIA, J. et al. Mercury contamination in alligators (*Melanosuchus niger*) from Mamirauá Reservoir (Brazilian Amazon) and human health risk assessment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 23, p. 13522-13527, 2014.

COSTA, C. A. Sorção de Íons Cobre, Níquel e Zinco com o Rejeito do Beneficiamento de Carvões e Outros Materiais Alternativos. 1998. **Tese (Mestrado)** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

COX, P. A. **The elements on earth**. Oxford: Oxford University Press, 1997, p. 105-280.

CPRH, Companhia Pernambucana de Recursos Hídricos. 2017. Execução das ações necessárias a criação dos conselhos gestores e elaboração dos planos de manejo para os refúgios de vidas silvestres: Mata de Tapacurá, Mata de Engenho Tapacurá, Mata do outeiro de Pedro, Mata do Camucim e Mata do Toró- São Lourenço da Mata/PE, P. 3.15, 2017.

CUNHA, F.A.G. et al. Biomagnificação do mercúrio na cadeia de um quelônio de água doce (*Chelus fimbriata*) e seu perfil genotóxico em ambientes fluviais do médio rio Negro, Amazonas, Brasil. 2015. **Dissertação (Mestrado)**. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.

DANTAS, R.R.L; TAVARES, R.G.; SILVA, V.P. Poluição da bacia do rio Tapacurá: floração de cianobactérias, consequência do nível trófico. 2010. **Trabalho de Conclusão de Curso** - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife

DELANY, M.F.; BELL, J.U.; SUNDLOF, S.F. Concentrations of contaminants in muscle of the American alligator in Florida. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 24, n. 1, p. 62-66, 1988.

DOMINGUES, DF.; BERTOLETTI, E. Seleção, manutenção e cultivo de organismos aquáticos. In: Zagatto e Betorletti (ed) *Ecotoxicologia Aquática-princípios e aplicações*. 1ª ed. São Carlos: Editora Rima, p. 153-184, 2006.

DUVALL, S.E., BARRON, M.G. A screening level probabilistic risk assessment of mercury in Florida everglades food webs. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 47, p.298-305, 2000.

ESTEVES, F. A., GUARIENTO, R. D. **Elementos-traço**. In: ESTEVES, F. A. (Org.). **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, Cap. 18, 2011. p. 323 – 337.

- EUROPEAN COMMISSION - COWI. Heavy metals in waste: final report. Denmark: Cowi A/S, 2002.
- FACHÍN-TERÁN, A.; VOGT, R.C. Estrutura populacional, tamanho e razão sexual de *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae) no rio Guaporé (RO), norte do Brasil. **Phyllomedusa**, v. 3, n. 1, p. 29-42, 2004.
- FEEMA (Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente), 1992. *Legislação Ambiental Básica*. Rio de Janeiro: Feema/Sindicato Nacional da Indústria da Construção de Estradas, Pontes, Portos, Aeroportos, Barragens e Pavimentação.
- FELLENBERG, G.; **Introdução aos Problemas da Poluição Ambiental**, Ed. Pedagógica e Universitária Ltda: São Paulo, 1980.
- FRANCO, G. Tabela de Composição Química dos Alimentos. 9. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1999, 307p.
- FREITAS-FILHO, R. F. Dieta e Avaliação de Contaminação Mercurial no Jacaré-de-Papo-Amarelo, *Caiman latirostris*, Daudin 1802, (Crocodylia, Alligatoridae) em Dois Parques Naturais no Município do Rio de Janeiro, Brasil. 2007. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Juiz de Fora.
- FRESENIUS, W. et al. Water analysis; a practical guide to physico-chemical, chemical and microbiological water examination and quality assurance. Springer-Verlag, 1988.
- FRESENIUS, W.; QUENTIN, K. E.; SCHNEIDER, W. (Org.). **Water analysis - a practical guide to physico-chemical, chemical and microbiological water examination and quality assurance**. Berlin: Springer-Verlag, 1988. 804 p.
- FURTADO, M.; **Química e Derivados**, 2003.
- GAFFNEY, E.S. The comparative osteology of The Triassic turtles Proganochelys. **Bulletin of American Museum of Natural History**, v. 194, p. 1-263, 1990.
- GALVÃO, L.A.C.; COREY, G. Cromo. Geneva: Centro Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. **Boletín informativo**, v. 3, n. 7, p. 1, 1987.
- GANROT, R. Metabolism and Possible Health Effects of Aluminum. **Environmental Health Perspectives**, v. 65, p. 363, 1986.
- GENSEMER, R. W.; PLAYLE, R.C. The Bioavailability and Toxicity of Aluminium in Aquatic Enviroments. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 29, n. 4, p. 315-450, 1999.

GRILLITSCH, B.; SCHIESARI, L. The ecotoxicology of metals in reptiles. In: SPALDING, D.W.; LINDER, G.L.; BISHOP, A.; KREST, S. (Eds). **Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles**. CRC Press, 2010, p. 944.

GOLDEMBERG, J.; LUCON, O. Energia e meio ambiente no Brasil. **Estudos avançados**, v. 21, p.7-20, 2007.

GROSSI, M. G. L. Avaliação da qualidade dos produtos obtidos de usinas de compostagem brasileiras de lixo doméstico através de determinação de metais pesados e substâncias orgânicas tóxicas. 1993. **Tese (Doutorado)** - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

GUERRA, R. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. **Chemosphere**, v. 44, p.1737-1747, 2001.

GUIMARÃES, J.R.D.; LACERDA, L.D.; TEIXEIRA, V.L. Concentração de metais pesados em algas bentônicas da Baía da Ribeira, Angra dos Reis: Com sugestão de espécies monitoras. **Revista Brasileira de Biologia**. v.42, p.553-557, 1982.

GUNKEL, G. et al. Estudos da limnologia do Reservatório de Tapacurá em Pernambuco: Problemas da Gestão de Reservatórios no semi-árido Brasileiro. Desafio à Gestão da Água no liminar do Século XXI. **Anais do XV Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos**. ABRH. Curitiba, 2003.

HARTENSTEIN, R.; NEUHAUSER, E.F.; NARAHARA, A. Effects of Heavy Metal and Other Elemental Additives to Activated Sludge on Growth of *Eisenia foetida* 1. **Journal of Environmental Quality**, v. 10, n. 3, p. 372-376, 1981.

HAZARD MANAGEMENT. Iron. In: Toms cps tm system. **Toxicology, occupational medicine and environmental series**. Englewood: Micromedex, 2000. CD-ROM

HERNÁNDEZ, R.B. Manganês: o papel do fracionamento químico e da especiação como determinantes de seu comportamento geoquímico e neurotóxico nos organismos em desenvolvimento. 2009. **Tese (Doutorado)** - Universidade de São Paulo, São Paulo.

HERTZ, Y.; MADAR, Z.; HEPHER, B.; GERTLER, A. Glucose metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio*): the effects of cobalt and chromium. **Aquaculture**, v. 76, n. 3-4, p. 255-267, 1989.

HOBBS, R.J.; STREIT, B. Heavy metal concentrations in plants growing on a copper mine spoil in the Grand Canyon, Arizona. *American Midland Naturalist*, p. 277-281, 1986.

HOWE, P., MALCOLM, H., DOBSON, S. Manganese and its compounds: Environmental aspects. **World Health Organization**, Geneva. 2004.

HUEZA, I. M.; SANT'ANA, M. G.; PALERMO-NETO, J. Toxicologia do chumbo, mercúrio, arsênio e outros metais. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; PALERMO-NETO, J. (Ed.). **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. São Paulo: Manole, 2008, p. 641-662.

HWANG, U.G. KAGAWA, N. MUGIYA, Y. 2000. Aluminium and cadmium inhibit vitellogenin and its mRNA induction by estradiol-17 β in the primary culture of hepatocytes in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 119, n. 1, p. 69-76, 2000.

INTERNATIONAL LABOUR ORGANIZATION. Encyclopaedia of occupational health and safety. **Metals: chemical properties and toxicity**. 4th. ed. Geneve, 1997. v. 3, p.63.1-63.68, 1997.

IUCN 2017. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2017-3. <http://www.iucnredlist.org>. Acessado em December 2017.

IUCN, UNEP. WWF, 1980: World Conservation Strategy. **World Conservation Union, United Nations Environment Programme, World Wide Fund for Nature, Gland**, p. 202-216, 2017.

JAGOE, C. H. et al. Mercury in alligators (*Alligator mississippiensis*) in the southeastern United States. **Science of the Total Environment**, v. 213, n. 1-3, p. 255-262, 1998.

JIMENEZ, R. S.; DAL BOSCO, S. M.; CARVALHO, W. A. Remoção de metais pesados de efluentes aquosos pela zeólita natural escolecita–influência da temperatura e do pH na adsorção em sistemas monoelementares. **Química Nova**, v. 27, p.734-738, 2004.

JORDANOVA, A. et al. Heavy metal assessment in algae, sediments and water from the Bulgarian Black Sea coast. **Water Science & Technology**, v. 39, p. 207-202, 1999.

KLAASSEN, C.D.; Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons; Fifth Edition; McGraw-Hill; 91-109; 691-696; 699-712; USA; 1996; (livro)

KÖHLER, H.R.; TRIEBSKORN, R. **Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond?**. Science, v. 341, n. 6147, p. 759-765, 2013.

KROSCWITZ, J. I. (Ed.). **Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology**. 4th ed. New York: John Wiley & Sons, 1995, 2232p.

LACERDA L.D.; MALM O. Contaminação por mercúrio em ecossistemas aquáticos: uma análise das áreas críticas. **Estudos avançados**, v. 22, p. 173-190, 2008

LÁZARO, W. L. et al. Non-lethal sampling for mercury evaluation in crocodilians. **Chemosphere**, v. 138, p. 25-32, 2015.

LI, W. et al. Phosphorylation sensitizes microtubule-associated protein tau to $Al^{(3+)}$ -induced aggregation. **Neurochem. Res.** v. 23, n. 12, p. 1467-1476, 1998.

LIONE, A. The prophylactic reduction of aluminium intake. **Food Chem. Toxicol.**, v. 21, n. 1, p. 103-109, 1983.

LUCHINI, L. C.; ANDRÉA, MM de. Comportamento ambiental de agrotóxicos. **Horticultura Brasileira**, v. 18, p. 33-35, 2000.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S.M.F. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista de nutrição**, v.17, n.1, p. 79-87, Jan./Mar. 2004.

MARCOVALDI, M. A.; MARCOVALDI, G. G. Projeto Tamar: área de desova, ocorrência e distribuição das espécies, época de reprodução, comportamento de postura e técnicas de conservação das tartarugas marinhas no Brasil. **Brasília, MA-IBDF, 46p**, 1985.

MARQUES D.C. *et al.* **Alterações histológicas em brânquias de *Astyanax aff. bimaculatus* causadas pela exposição aguda ao zinco.** In: XVI Congresso Brasileiro de Toxicologia, Belo Horizonte, 2009.

MARTÍNEZ-LÓPEZ, E. *et al.* Influence of a former mining area in the heavy metals concentrations in blood of free-living Mediterranean pond turtles (*Mauremys leprosa*). **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 99, p. 167-172, 2017.

MARTINS, I.; LIMA, I.V. **Ecotoxicologia do manganês e seus compostos**. Salvador: Centro de Recursos Ambientais (CRA), 2001, 121p.

MARTINS, R. Acumulação e liberação de metais pesados por briófitas aquáticas. 2004. **Tese (Doutorado)** - Universidade do Porto.

MATHESON, L. J.; TRATNYEK, P. G. Reductive dehalogenation of chlorinated methanes by iron metal. **Environmental Science & Technology**, v. 28, p. 2045-2053, 1994.

MATSUMOTO, H. Cell biology of aluminum toxicity and tolerance in higher plants. **Int. Rev. Cytol**, p. 1-46, 2000.

MAZZOTTI, Frank J. et al. Alligators and crocodiles as indicators for restoration of Everglades ecosystems. **Ecological indicators**, v. 9, n. 6, p. S137-S149, 2009.

MEDICAL MANAGEMENT. **Copper**. In: **Tomes cps tm system**. Toxicology, occupational medicine and environmental series. Englewood: Micromedex, 2000. CD-ROM.

MELO, S. C. Análise quali-quantitativa no rio Tapacurá no município de Vitória de Santo Antão-PE. 2012. **(Monografia)** - Universidade Maurício de Nassau, Recife.

MERTZ, W.; ROGINSKI, E. E. Effects of chromium (III) supplementation on growth and survival under stress in rats fed low protein diets. **The Journal of nutrition**, v. 97, n. 4, p. 531-536, 1969.

MOORE, J.W. Ramamoorthy, S. **Heavy metals in natural** waters. New York: Springer-Verlag, 1984. 32p.

MOORE, M. M. *et al.* **Copper**. South Australia: National Environmental Department, n. 3, 1997.

MOREIRA F.R.; MOREIRA J.C. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 15, p. 119-129, 2004.

MOZETO, A. A.; ZAGATTO, P. A. **Introdução de agentes químicos no ambiente**. In: ZAGATTO e BERTOLETTI (Org.). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: Rima Editora, 2006, p.295-320.

MUGIYA, Y.; TANAHASHI, A. Inhibitory effects of aluminium on vitellogenin induction by estradiol-17B in the primary culture of hepatocytes in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 109, n. 1, p. 37-43, 1998.

NAYAK, P. Aluminum: impacts and disease. **Environ. Res.** v. 89, n. 2, p. 101-115, 2002.

NILSEN F.M.; *et al.* Trace element biodistribution in the American alligator (*Alligator mississippiensis*). **Chemosphere**. v. 181: , p.343–351, 2017.

NILSEN, F. *et al.* Evaluating mercury concentrations and body condition in American alligators (*Alligator mississippiensis*) at Merritt Island National Wildlife Refuge (MINWR), Florida. **Science of the Total Environment**, v. 607, p. 1056-1064, 2017.

NILSEN, F. M., *et al.* Global DNA methylation loss associated with mercury contamination and aging in the American alligator (*Alligator mississippiensis*). **Science of the Total Environment**, v. 545, p. 389-397, 2016.

NRIAGU, J. O. Global inventory of natural and anthropogenic emissions of trace metals to the atmosphere. **Nature**, v. 279, n. 5712, p. 409, 1979.

OGA, S.; CAMARGO, M.M.A.; BATISTUZZO, J.A.O. **Fundamentos de toxicologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2003, 554 p.

OGA; CAMARGO e BATISTUZZO, J.A.O. **Fundamentos de toxicologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 690p.

OLIVEIRA, A.; SILVA, N. Determinação da concentração de metais em águas de córrego Barbado, Cuiabá – MT. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v.2, n.1, p.47-63, 2013.

PAIVA, A.C. **Dispersão do chumbo em ambientes aquáticos da região de Belo Jardim – Pernambuco**. 2005. 85p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco Recife, Pernambuco.

PEDROZO, M. F.; KUNO, R. **Contaminantes da água e do solo**. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. (Org.). **Fundamentos de toxicologia**. São Paulo: Atheneu Editora, São Paulo, Cap. 2.6, 2008. p. 199 – 240.

PEDROZO, Maria de Fatima Menez et al. Ecotoxicologia do cobre e seus compostos. In: **Cadernos de Referencia Ambiental**, 002. CRA, 2001.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. Hydrology and Earth System Sciences Discussions. **European Geosciences Union**.v.11, pp.1633-1644, 2007.

PERA-TITUS, M., *et al.* Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: a general review. **Applied Catalysis B: Environmental**, v.47, p. 219-256, 2004.

PHILIPS, K.J. (ANUSAVICE) –**materiais dentários**.Rio de Janeiro: Campus/ Elsevier. 11ed, 2005.

PHU, N. H. *et al.* Characterization and activity of Fe-ZSM-5 catalysts for the total oxidation of phenol in aqueous solutions. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 34, p. 267-275,2001.

PIÑA, C. I. *et al.* Heavy metal contamination in *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812)(Testudines: Chelidae) in a river basin, Sao Paulo, Brazil. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 83, n. 6, p. 771, 2009.

REBELO, G. H. *et al.* Quelônios, jacarés e ribeirinhos no Parque Nacional do Jaú (AM). 2002.

RIBEIRO, Maria Lúcia *et al.* Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar. **Química Nova**, 2007.

RICE, K.G., MAZZOTTI, F.J. American Alligator Distribution, Size, and Hole Occupancy and American Crocodile Juvenile Growth and Survival. **Volume I. Map recover**, v. 2006.

ROCHA, A.A.; PEREIRA, D.N.; PÁDUA, B.H. Produtos de pesca e contaminantes químicos na água da represa Billings, São Paulo (Brasil). **Revista de Saúde pública**, v.19, p.401-410, 1985.

RODAL, M.J.N. *et al.* Mata do Toró: uma floresta estacional semidecidual de terras baixas no nordeste do Brasil. **Hoehnea**. v.32, p.283-294, 2005.

RODRIGUES, M. T. Conservação dos répteis brasileiros: os desafios para um país megadiverso. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 87-94, 2005.

RUEDA-ALMONACID, J. V. *et al.* Las tortugas y los cocodrilianos de los países andinos del trópico. **Serie de guías tropicales de campo**, v.6, 412-423, 2007.

RUMBOLD, D.G., *et al.* Levels of mercury in alligators (*Alligator mississippiensis*) collected along a transect through the Florida Everglades. **Science of the Total Environment**. v.297, p. 239-252, 2002.

SANO, H. *et al.* Effects of supplemental chromium and isolation stress on tissue responsiveness and sensitivity to insulin in sheep. **Small ruminant research**, v. 33, n. 3, p. 239-246, 1999.

SCHAUMLÖFFEL, D. Nickel species: analysis and toxic effects. **Journal of trace elements in medicine and biology**, v. 26, n. 1, p. 1-6, 2012.

SCHIFER, T.S.; JUNIOR, S. B.; MONTANO, M. A. E. Aspectos toxicológicos do chumbo. **Infarma**, v. 17, p. 67-72, 2005.

SCHMITT, M.; WATANABE, T.; JANSEN, S. The effects of aluminium on plant growth in a temperate and deciduous aluminium accumulating species. **AoB Plants** v. 8, 2016.

SCHNEIDER, L. *et al.* An evaluation of the use of reptile dermal scutes as a non-invasive method to monitor mercury concentrations in the environment. **Chemosphere**, v. 119, p. 163-170, 2015.

SCHNEIDER, L. *et al.* Mercury contamination in reptiles: an emerging problem with consequences for wild life and human health. **Mercury: Sources, Applications and Health Impacts**. Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, New York, USA, p. 173-232, 2013.

SHARMA, V. K. *et al.* Cases and solutions: metals and grain size distribution in soil of the middle Rio Grande basin, Texas, USA. **Environmental Geology**, v. 39, v. 6, p. 698-704, 2000.

SILVA, C.A. *et al.* Consumo de pescado proveniente do Lago Igapó (Londrina/PR) por pescadores amadores: uma eventual exposição à contaminação por chumbo. 2017. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina.

SILVA, C.G. *et al.* Ecotoxicologia do cromo e seus compostos. In: Cadernos de Referencia Ambiental, 005. CRA, 2001.

SILVA, M. I.A. *et al.* Estudo das alterações bioquímicas em sangue e diferentes órgãos de *Phrynosoma geoffroanus* (Schweigger, 1812)(Testudines: Chelidae) coletados em ambiente

contaminado ou expostos ao benzo [a] pireno. 2015. **Tese (Doutorado)** - Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

SIQUEIRA, M. E. P. B. **Avaliação do ácido homovanílico urinário e da adenosina desaminase plasmática como índice de exposição ocupacional ao manganês.** 1984. 243p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SIQUEIRA, M. E. P. B. Avaliação do ácido homovanílico urinário e da adenosina desaminase plasmática como índice da exposição ocupacional ao manganês. 1984. **Tese (Doutorado)** - Universidade de São Paulo, São Paulo.

SOUZA, J. P. de *et al.* Toxicidade do cádmio em uma cadeia alimentar constituída por uma microalga (*Scenedesmus quadricauda*), um cladóceros (*Simocephalus serrulatus*) e um peixe (*Hyphessobrycon eques*). 2012. **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

SULTANA, S. *et al.* Accumulation of heavy metals (Cu, Zn, Ni, Cd, Co, Pb and Cr) in blood of freshwater turtles from Balloki headworks and Trimmu barrage, Punjab, Pakistan. **Pure and Applied Biology**, v. 4, n. 3, p. 280, 2015.

TATIBOUET, J.M. **Studies in Surface Science and Catalysis**, 2000,

TELLEZ, M.; MERCHANT, M. Biomonitoring heavy metal pollution using an aquatic apex predator, the American alligator, and its parasites. **PloS one**, v. 10, n. 11, p. e0142522, 2015.

TELLEZ, M.; MERCHANT, M. Biomonitoring heavy metal pollution using an aquatic apex predator, the American alligator, and its parasites. **PloS One**, v. 10, n. 11, p. 142-522, 2015.

TERRY, P.A.; STONE, W. Biopartition of cadmium and copper contaminated water by *Scenedesmus abundans*. **Chemosphere**, v.47, p. 249-255, 2002.

THOMAZ, S.M.; BINI, L.M. Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas em reservatórios. 1998.

TOWNSEND, C.R.; BEGON, M.; HARPER, J.L. **Fundamentos em ecologia**. Artmed Editora, 2014.

TSANGARIS, C. *et al.* Multiple biomarkers of pollution effects in caged mussels on the Greek coastline. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**, v. 151, p. 369-378, 2010.

TURTLE TAXONOMY WORKING GROUP [Rhodin, A.G.J., Iverson, J.B., Bour, R. Fritz, U., Georges, A., Shaffer, H.B., and van Dijk, P.P.]. 2017. Turtles of the World: Annotated Checklist and Atlas of Taxonomy, Synonymy, Distribution, and Conservation Status (8th

Ed.). In: Rhodin, A.G.J., Iverson, J.B., van Dijk, P.P., Saumure, R.A., Buhlmann, K.A., Pritchard, P.C.H., and Mittermeier, R.A. (Eds.). *Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group*. *Chelonian Research Monographs* 7:1–292. doi: 10.3854/crm.7.checklist.atlas.v8.2017

TURTLE TAXONOMY WORKING GROUP.[RHODIN, A.G.J., et al.]. *Turtles of the World: Annotated Checklist and Atlas of Taxonomy, Synonymy, Distribution, and Conservation Status* (8th Ed.). In: Rhodin, A.G.J., Iverson, J.B., van Dijk, P.P., Saumure, R.A., Buhlmann, K.A., Pritchard, P.C.H., and Mittermeier, R.A. (Eds.). *Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group*. **Chelonian Research Monographs**, v.7, n.1, p. 292, 2017.

VANZ, A.; MIRLEAN, N.; BAISCH, P. Avaliação de poluição do ar por chumbo particulado: Uma abordagem geoquímica. **Química Nova**. v.26, n.1, p.25-29. 2003.

VERDADE, L.M.; ZUCOLOTO, R.B.; COUTINHO, L.L. Microgeographic variation in *Caiman latirostris*. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 294, n. 4, p. 387-396, 2002.

VIARENGO A. Heavy metals in marine invertebrates: Mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. **Review in Aquatic Sciences**, v.1, p.295-317, 1989.

VIARENGO, A. *et al.* The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 146, p. 281-300, 2007.

VUORINEN, P.J.; VUORINEN, M. Effects of long-term prespawning acid/aluminium exposure on whitefish (*Coregonus wartmanni*) reproduction and blood and plasma parameters. **Finish Fisheries Research**, v. 12, p. 125-133, 1991.

WARNER, J. S. Occupational exposure to airborne nickel in producing and using primary nickel products. **IARC Sci Publ.**, v. 53, p. 419-437, 1984.

WATRAS, C. J.; MACFARLANE, J.; MOREL, F. Nickel accumulation by *Scenedesmus* and *Daphnia*: Food-chain transport and geochemical implications. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 42, n. 4, p. 724-730, 1985.

WILLINSTON, S.W. The phylogeny and classification of reptiles. **Journal of Geology, Chicago**, v. 25, n. 5, p. 411-421, 1917.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Copper. Geneva: WHO, (Environmental Health Criteria 200), 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Lead Inorganic. Environmental Health Criteria 165. International Programme on Chemical Safety. Geneva: **World Health Organization**, 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Manganese. Geneva, (Environmental Health Criteria 17), 1999.

YUMOTO, S. *et al.* Aluminium incorporation into the brain of rat fetuses and sucklings.

Brain Res. Bull. v. 55, n. 2, p. 229-234, 2001.

ZBIGNIEW, T.; WOJCIECH, P. Individual and combined effect of anthracene, cadmium and chloridazone on growth and activity of SOD isoforms in three *Scenedesmus* species.

Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 65, p. 323-332, 2006.

ZHENG, N. A. *et al.* Characterization of heavy metal concentrations in the sediments of three freshwater rivers in Huludao City, Northeast China. **Environmental pollution**, v. 154, n. 1, p. 135-142, 2008.

ZHOU, G. M.; FANG, H. H. Co-degradation of phenol and m-cresol in a UASB reactor.

Bioresource technology, v. 61, p. 47-52, 1997.

ZHOU, H. JUNEAU, P. QIU, B. Growth and photosynthetic responses of the bloomforming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to elevated levels of cadmium. *Chemosphere*, v.65, p.1738-1746, 2006.

ZHOU, J.L.; ROWLAND, S.J. Evaluation of the interactions between hydrophobic organic pollutants and suspended particles in estuarine waters. **Water Research**, v. 31, n. 7, p. 1708-1718, 1997.

CAPÍTULO I

Manuscrito a ser submetido a revista *Total of Science Enviroment*

Qualis (Biodiversidade): A2

Fator de impacto: 4.610

ANÁLISE DE METAIS PESADOS DA HERPETOFAUNA AQUÁTICA EM UM AMBIENTE LÊNTICO DE MATA ATLÂNTICA, NORDESTE DO BRASIL

Rayssa Lima Dos Santos^a, Jozélia Maria de Sousa Correia^b, Lourinalda Luiza da Silva Selva de Oliveira^c, George Tadeu Nunes Diniz^d, Ednilza Maranhão dos Santos^e

^aUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, av. Gregório Ferraz Nogueira, Serra Talhada – PE rayssa.lima20@hotmail.com, 81.995749280.

^bUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, rua Manoel de Medeiros, Recife – PE, jozeliac@hotmail.com, 81. 986780223

^cUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, rua Manoel de Medeiros, Recife – PE PE_silvalourinalda@gmail.com, 81. 99321220.

^dUniversidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, rua Manoel de Medeiros, Recife – PE, ednilzamaranhao@gmail.com, 81. 985678315.

^eCentro de Pesquisa Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, Fundação Oswaldo Cruz, Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, Recife – PE, george_tadeu@yahoo.com.br, número de telefone.

Highlights

- Crocodilianos apresentam maiores concentrações de Fe, Cu, Cr, Zn, Mn, Cd, Pb, Ni e Al que os Testudines;
- Observam-se diferenças significativas na correlação entre a classe etária (tamanho) e os teores detectados nos indivíduos estudados;
- O gênero em Testudines e Crocodilianos não foi um parâmetro que apresentou diferenças significativas nas concentrações dos contaminantes encontrados;
- Diferenças interespecíficas foram observadas nos teores dos contaminantes detectados para as três espécies de Testudines estudadas;
- Observou-se interações estatisticamente significativas entre os metais estudados para ambos os grupos, com formação de correlações fortes, médias e fracas.

Grafical Abstract

An Broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*) and three Testudine species (*Phrynops geoffroanus*, *Mesoclemmys tuberculata* e *Kinosternon scorpioides*) resident of the Tapacurá reservoir, Pernambuco - Brazil. Photo taken in front of the pond by Alligator Project of Interdisciplinary Laboratory of Amphibians and Reptiles.



RESUMO

O uso de organismos sensíveis às variações ambientais em biomonitoramento é extremamente relevante no diagnóstico efetivo da saúde de um ecossistema. As concentrações de Fe, Cu, Cr, Zn, Mn, Cd, Pb, Ni e Al em sangue de jacarés (*Caiman latirostris*) e Testudines (*Kinosternon scorpioides*, *Mesoclemmys tuberculata* e *Phrynops geoffroanus*) do reservatório do Tapacurá, Pernambuco – Brasil foram estudados. Uma alíquota de 0,25ml de sangue foi utilizado para as análises, sendo digerido em HNO₃, diluída, filtrada e posteriormente armazenada para leitura em Espectrômetro de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) e Espectrômetro de absorção atômica com chama (FAAS). Jacarés apresentaram os maiores teores em todos os elementos em relação aos Testudines, entretanto, diferenças estatisticamente significativas foram observadas apenas para o Fe, Cd, Mn e Al ($p < 0,05$). Diferenças entre a classe etária e os teores de concentração foram observadas para Fe, Cu e Pb ($p < 0,05$) em Testudines. Em Jacarés, as classes etárias apresentaram diferenças significativas entre jovens e adultos apenas para o Al (Classe II 14,65 mg/L e Classe IV 9,02 mg/L) ($p = 0,0569$). O sexo não influenciou nas concentrações detectadas no presente estudo para ambos os grupos e diferenças interespecíficas entre os Testudines foram significativas apenas para o Cu (*P. geoffroanus* 3,77 mg/L, *M. tuberculata* 5,01 mg/L e *K. scorpioides* 3,95 mg/L) ($p = 0,0240$) e Fe (*P. geoffroanus* 60,00 mg/L, *M. tuberculata* 105,50 mg/L e *K. scorpioides* 84,63 mg/L) ($p = 0,0196$), onde *M. tuberculata* apresentou os maiores teores em relação às outras duas espécies. Observaram-se interações entre os metais estudados, com a formação de correlações positivas e negativas. Conclui-se que apesar dos animais presentes no reservatório não exibirem sintomas clínicos de intoxicação, apresentam níveis preocupantes de metais que podem refletir na saúde das populações ribeirinhas que fazem uso do manancial. Além disto, o sangue mostrou-se um bom preditor de contaminação aguda, devendo ser usado como modelo não invasivo para avaliar a presença de metais pesados na biota aquática continental.

Palavras chave: Contaminantes, Jacaré, Quelônio, Sangue

1. INTRODUÇÃO

Com a revolução industrial e a expansão tecnológica das últimas décadas na história da humanidade, houve um drástico aumento na quantidade de poluentes produzidos, bem como a diversificação da composição desses materiais que são descartados livremente na natureza (Pires et al., 2003). Estes elementos são capazes de entrar na cadeia trófica, atingindo organismos de níveis intermediários e predadores de topo como os Testudines e Crocodilianos. Se expostos a contaminação de longo prazo, estes animais podem vir a sofrer com distúrbios e alterações fisiológicas como problemas reprodutivos, de desenvolvimento, metabólicos e neurológicos (Delany et al., 1988; Mulvey e Diamond, 1991; Chan, 1998; Guillette et al., 2000; Campbell et al., 2010).

O uso de organismos sensíveis às variações ambientais em biomonitoramento, é extremamente relevante no diagnóstico efetivo da saúde de um ecossistema, permitindo através de estudos de toxicidade, a criação de legislações que protejam os corpos hídricos, a vida aquática, e consequentemente a vida humana (Aragão e Araújo, 2006). Apesar dos répteis estarem elencados como não sensíveis, são bons bioacumuladores (Domingues e Bertolotti, 2006), possuem o ciclo de vida longo, são territorialistas, resistentes a alterações no meio e espécies-chaves importantes para manutenção da homeostase dos ecossistemas no qual estão inseridos. Desde os anos 80, estes animais têm sido utilizados na detecção e monitoramento de diversas localidades contaminadas, principalmente ambientes lênticos como lagos, lagoas, poças e reservatórios (Delany et al., 1988; Yanochko et

al., 1997; Burger et al., 2000; Horai et al., 2014; Tellez et al., 2015; Schneider et al., 2015; Nilsen et al., 2016; Nilsen et al., 2017).

No Brasil, estudos evidenciando a importância de répteis no monitoramento de ambientes aquáticos são recentes (Vieira et al., 2011; Schneider et al., 2012; Correia et al., 2014; Schneider et al., 2015), sendo realizados em sua maioria na região Amazônica, local onde há naturalmente fontes de Hg e MeHg em solo, rios, sedimentos e reservatórios recém construídos (Roulet et al., 2001; Fadini e Jardim, 2001). Também existe na região uma forte atividade histórica nos garimpos, que utiliza o Hg durante a etapa de separação do ouro (amalgamação) e que posteriormente é lixiviado para os ambientes aquáticos (Lacerda, 2014).

Estudos referentes a metais presentes na herpetofauna aquática brasileira também tem destaque no Pantanal, onde o *Caiman yacare* é a principal espécie utilizada em estudos toxicológicos devido a sua exposição a agroquímicos, mineração, efluentes domésticos e industriais (Vieira et al., 2010; Lázaro et al., 2015). Além disso, na Amazônia as espécies mais estudadas a nível de contaminação são o *Caiman crocodilus* e *Melanosuchus niger*. Ambas as localidades são uma das maiores áreas alagadas do mundo, o que favorece os processos de biomagnificação e bioacumulação durante as inundações (Lázaro et al., 2015). Considerada sentinela no monitoramento de ambientes (Poletta et al., 2008), dados publicados com *C. latirostris* no Nordeste no que se refere a contaminação por metais pesados é insipiente. Os Testudines também têm sido alvo de interesse pelos pesquisadores no que se refere à biomonitoramento principalmente na Amazônia com a família Podocnemididae (*Podocnemis erythrocephala*, *Podocnemis unifilis*) (Schneider et al., 2011, 2015; Eggins et al., 2015). Estes animais são tradicionalmente utilizados como fonte de proteína animal pelas populações ribeirinhas, o que pode vir a expor essas famílias a riscos ainda maiores de contaminações.

O acompanhamento da saúde ambiental através destes animais é realizado por meio de estudos que avaliam as concentrações de contaminantes dentro de matrizes biológicas, como sangue, escamas, carapaça, pele, músculo, órgãos e mais recentemente, parasitas presentes nestes organismos (Correia et al., 2014; Schneider et al., 2015; Tellez e Merchant, 2015; Buenfil-Rojas et al., 2015, 2018). Apesar da boa resposta, o emprego de órgãos na detecção de contaminantes químicos necessita que haja o sacrifício do animal estudado. Dessa forma, o uso de matrizes consideradas não-letais tem sido continuamente estimulada, principalmente para estudos com animais que estão dentro da Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção (Schneider et al., 2011). Amostras não invasivas como o sangue trazem respostas relativas a contaminações recentes dos organismos expostos, refletindo os níveis de metal circulante (Schifer et al., 2005), além disto, pesquisas evidenciam que essa matriz é correlacionada positivamente com concentrações de outras regiões do corpo, como carapaça, músculo e fígado (Golet e Haines, 2001; Schneider et al., 2011), reiterando sua eficiência.

Em Pernambuco, há ocorrência de 8 espécies de Testudines, sendo 3 dulcícolas distribuídas em áreas de Caatinga e Mata Atlântica: *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1766), *Mesoclemmys tuberculata* (Lüderwaldt, 1926) e *Phrynops geoffroanus* (Schweiggen, 1812) (Moura et al. 2014), 4 espécies marinhas: *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), *Lepidochelys olivacea*, (Eschscholtz, 1829), *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766) e *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) (Tartaruga Verde, Oliva, de Pente e Cabeçuda, respectivamente), além de 1 terrestre (*Chelonoidis carbonaria* Spix, 1824) (Jabutí piranga) (Moura et al., 2014). Os Crocodilianos são representados em Pernambuco pelo *Caiman latirostris* (Daudin, 1802) e *Paleosuchus palpebrosus* (Cuvier, 1807). Para ambos os grupos não há registro de estudos relativo a contaminantes no Nordeste, sendo assim, o principal objetivo

deste trabalho é quantificar a presença e os teores de Fe, Cu, Cr, Zn, Mn, Cd, Pb, Ni e Al presentes em amostras de sangue de três espécies de Testudines continentais (*Kinosternon scorpioides*, *Mesoclemmys tuberculata* e *Phrynops geoffroanus*) e no Jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) capturados no reservatório do Tapacurá, localizado no município de São Lourenço da Mata - Pernambuco, Brasil, correlacionando as concentrações com variáveis como o sexo e classe etária.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de amostragem

Construída na década de 70, a barragem do Tapacurá tem o objetivo abastecer a população e conter as cheias. O rio Tapacurá possui uma área de drenagem de 470.5 km² e engloba seis municípios: Vitória de Santo Antão, Pombos, São Lourenço da Mata, Gravatá, Moreno e Chã Grande (CPRH, 2016). Localizada na latitude 8 ° 10 ', longitude 35 ° 11' e altitude 102 m, o lago represado pela barragem abrange uma área de 9,5km² e tem capacidade de armazenar cerca de 94.200 m³ de água, contribuindo com mais de 36% da água consumida na Região Metropolitana do Recife (Andrade et al., 2009; COMPESA, 2015; CPRH, 2017) (Figura 1).



Figura1. Localização da barragem do Tapacurá, no município de São Lourenço da Mata, Pernambuco - Brasil (8°2'59"S, 35°11'5"O). Adaptado: IBGE e Google Maps.

Em área adjacente ao reservatório encontra-se um importante remanescente de Mata Atlântica que integra a Estação Ecológica do Tapacurá, uma unidade de conservação pertencente a Universidade Federal Rural de Pernambuco, que ocupa uma área de 776 ha separadas em duas porções florestais de mata em torno do lago da barragem de Tapacurá (Lyra-Neves et al., 2007).

2.2 Captura e processamento dos animais

2.2.1 Crocodylia

Foram coletadas amostras de sangue de 40 animais capturados entre os anos de 2014 e 2017 dentro dos limites do reservatório do Tapacurá, São Lourenço da Mata (Pernambuco, Brasil) (1W 00' 18", 89S 59' 58"). Os jacarés foram capturados manualmente com uso do laço de cabo de aço fixado em vara telescópica com alcance de 4m, cordas, lacres e fitas adesivas, sendo imobilizados as mandíbulas e os membros (anterior e posterior) (Magnusson, 1982; Bayliss et al., 1986). Em seguida, os animais foram levados para o laboratório da Estação Ecológica do Tapacurá para biometria, sexagem, pesagem, marcação com microchip e recorte de escamas caudais.

A sexagem foi realizada considerando a observação dos órgãos genitais através de uma pinça cirúrgica dentro da cloaca, separando-o a borda (Webb et al., 1984). As medidas biométricas foram aferidas com auxílio de trena, paquímetro e balanças pesola de 1 a 100Kg. Através da mensuração do comprimento rostro-cloacal

(CRC cm), os jacarés foram classificados nas seguintes classes de tamanhos: jacarés jovens (classe I, ≤ 49 cm); jacarés sub-adultos (classe II, 50-119 cm); jacarés adultos (classes III, 120 – 179 cm) e jacarés adultos maiores (classes IV >180 cm), adaptado de Velasco e Ayarzagüena (1995).

Para coleta do sangue os animais foram posicionados em decúbito esternal seguindo a metodologia proposta por Myburgh (2014), sendo a coleta realizada a partir do acesso à região pós-occipital com seringas hipodérmicas convencionais de calibres variados e imediatamente armazenados no freezer para posterior análise dos metais pesados.

2.2.2 Testudines

Foram coletadas amostras de sangue de 40 animais capturados no ano de 2017 dentro dos limites do reservatório do Tapacurá, São Lourenço da Mata (Pernambuco, Brasil) (1W 00' 18", 89S 59' 58"). Utilizou-se petrechos de pesca do tipo *funnel traps* ou “covos” (Barreto et al., 2009) para captura dos animais. Os animais foram atraídos pelo cheiro por meio de iscas inseridas no interior das armadilhas. Ocasionalmente, capturou-se Testudines por busca ativa com auxílio de um puçá (Bossle, 2010). Em seguida, os animais foram levados para o laboratório para biometria, sexagem, pesagem e marcação.

A sexagem foi realizada levando em consideração o tamanho da cauda e abertura da placa anal segundo Balestra et al. (2016). As medidas biométricas foram aferidas com auxílio de paquímetro e fita métrica. Posteriormente, os animais foram pesados em balanças do tipo pesola de 1 a 100Kg e marcados por meio da serragem de seus escudos marginais (Cagle, 1939), indicando dessa forma a ordem numérica da captura, com auxílio de uma lima. Para coleta de sangue utilizou-se seringas e agulhas de calibres variados. O fluido foi coletado da veia caudal ou seio occipital (Balestra et al., 2016), sendo imediatamente armazenado no freezer para posterior análise dos metais pesados.

Após biometria, todos os espécimes receberam um microchip, implantado no tecido subcutâneo do membro posterior direito (Testudines) e lado direito do pescoço (Crocodylia) (Buhlman e Tuberville, 1998) para que não houvesse repetição do processamento caso o animal fosse recapturado. Além disso, a marcação auxiliou no monitoramento destes animais dentro do reservatório.

2.3 Preparação das amostras de sangue

As amostras de sangue permaneceram refrigeradas até o momento de sua digestão, onde foram retiradas do armazenamento até atingirem a temperatura ambiente de 28°C. O preparo das amostras de sangue foi realizado a partir da adaptação da metodologia listada por Neto e Barreto (2011). Para proceder a digestão 0,25mL de sangue foram transferidos para tubos de vidro previamente reservados, posteriormente foram adicionados 3 mL de ácido nítrico (HNO₃) (Química Moderna ®) e condicionadas a estufa de resistência elétrica por 72 horas a uma temperatura de 67°C.

As amostras digeridas foram filtradas em balões volumétricos de 25 mL, no qual o volume foi completado com água destilada, homogeneizado e transferido para recipientes de plástico onde permaneceram refrigeradas até o momento das análises em Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS) e Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES).

2.4 Obtenção das soluções padrão

Para obtenção das soluções de calibração foi utilizado um padrão com concentração de 1000 mg/L de Zn, que permitiu o preparo das soluções com concentrações entre 0,5 e 2,0 mg/L para traçar a curva analítica no

Espectrômetro de Absorção Atômica (FAAS). Uma solução de 7,8% de HNO_3 (Química Moderna ®) e água ultrapura Milli-Q foram utilizadas na preparação das soluções: Uma alíquota de 1mL da solução padrão (1000 mg/L) foi transferida para um balão volumétrico de 100mL e completado até o menisco com a solução de HNO_3 a 7,8%, resultando na solução estoque de 10 mg/L. A partir da solução estoque de 10 mg/L foram pipetados e transferidos 2,5 mL, 7,5 mL, 10 mL para 3 balões volumétricos de 50 mL. Todos os balões foram completados até o menisco com água destilada, gerando soluções com concentrações de 0,5, 1,5 e 2,0 mg/L.

As soluções padrões multielementares (Merck Certipur®) do ICP-OES foram obtidas a partir da diluição dos elementos analisados em HNO_3 .

2.5 Leitura em Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES) e Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama (FAAS)

Os elementos analisados foram: Pb, Cd, Cu, Cr, Ni, Fe, Al, Mn e Zn. A determinação foi realizada por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES) utilizando aparelho modelo ICP OES Optima 7000 DV (Perkin Elmer, EUA®) com configuração axial e no Espectrômetro de Absorção Atômica (FAAS), utilizando aparelho modelo FAAS Agilent Technologies (200 Series AA).

2.6 Análise estatística

A normalidade e a homogeneidade das variâncias foram testadas através do teste de Shapiro-Wilk e Bartlett. Para correlação das classes etárias, sexo e espécie dos animais com as concentrações dos elementos estudados utilizou-se a análise variância (ANOVA) seguido do *post hoc* teste de Tukey quando observados o pressuposto de homogeneidade. Caso contrário, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido do *post hoc* Mann-Whitney. Também foi utilizado o teste T-Student quando observados os pressupostos de normalidade, quando não, utilizou-se o teste de Mann-Whitney para avaliar as medianas das variáveis envolvidas no estudo. Além disto, também utilizou-se o teste de Correlação de Pearson para avaliar as correlações entre os metais. Todas as conclusões foram tomadas ao nível de significância de 5%.

O software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016) foi utilizado na avaliação dos resultados do estudo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisou-se 40 amostras de sangue de Testudines (*K. scorpioides*, *M. tuberculata* e *P. geoffroanus*) e 40 amostras de sangue de Crocodilianos (*C. latirostris*) capturados no reservatório do Tapacurá. Os jacarés foram enquadrados nas seguintes Classes Etárias: Classe II (n=22), Classe III (n=13) e Classe IV (n=5) e apresentaram Comprimento Rostro-Cloacal médio de $55,34 \text{ cm} \pm 23,02$ (20-104,5). Os Testudines foram classificados como Jovens (n=13) e Adultos (n=27) e apresentaram Comprimento Total da Carapaça e Peso médio de $16,9 \text{ cm} \pm 4,82$ (9-29) e $744,31 \text{ g} \pm 723,39$ (95-3200).

Os nove elementos analisados foram detectados em todas as amostras de sangue dos animais capturados (Tabela 1). De forma geral, os níveis médios encontrados foram maiores para o grupo dos Crocodilianos do que para os Testudines (Figura 2). Entretanto, diferenças estatisticamente significativas entre os dois táxons foram identificadas apenas para Fe, Cd, Mn, Al ($p < 0,05$) (Figura 3). O Fe apresentou as maiores concentrações para ambos os grupos ($94,67 \text{ mg/L} \pm 69,85$), seguido do Zn ($13,33 \text{ mg/L} \pm 7,38$), Al ($9,65 \text{ mg/L} \pm 6,27$), Pb ($4,75 \text{ mg/L} \pm 12,18$), Cu ($4,43 \text{ mg/L} \pm 1,20$), Mn ($1,90 \text{ mg/L} \pm 1,52$), Cr ($1,30 \text{ mg/L} \pm 2,41$), Ni ($0,95 \text{ mg/L} \pm 1,43$), Cd ($0,03 \text{ mg/L} \pm 2,62$) ($\text{Fe} > \text{Zn} > \text{Al} > \text{Pb} > \text{Cu} > \text{Mn} > \text{Cr} > \text{Ni} > \text{Cd}$).

O Fe, Mn e Al são considerados essenciais (com exceção do Cd) para manutenção do funcionamento de funções fisiológicas, sendo normalmente presentes nos organismos (Fraga, 2005). Contudo, níveis muito altos podem ocorrer devido às fontes de contaminação antropogênica, ocasionando efeitos tóxicos nos organismos expostos aquelas concentrações. Os animais da ordem Crocodylia encontram-se no topo da cadeia alimentar de ecossistemas aquáticos (Verdade e Piña, 2007), enquanto os Testudines são localizados em níveis intermediários. Além das hierarquias dentro dos níveis tróficos, os diferentes hábitos alimentares, nichos ecológicos frequentados e história de vida também podem influenciar direta e indiretamente nos diferentes teores dos elementos estudados entre estes dois grupos (Vieira et al., 2010).

Tabela 1. Teores de contaminantes em sangue de Crocodilianos e Testudines capturados no reservatório do Tapacurá, Nordeste do Brasil, com a distribuição estratificada das médias/mediana dos elementos detectados (Zn, Cu, Fe, Mn, Cd, Pb, Cr, Ni e Al) (mg/L, peso úmido).

Elemento/ Táxon	Número de amostras	Valor Mínimo	Valor Máximo	Média	Mediana	Desvio	p-valor
Zinco (Zn)	80	2,89	41,08	14,38	13,33	7,38	
Crocodilianos	40	3,15	41,08	15,01	13,33	8,44	0,9157
Testudines	40	2,89	30,73	13,75	13,31	6,19	
Cobre (Cu)	80	2,17	6,30	4,25	4,43	1,20	
Crocodilianos	40	2,17	6,30	4,40	4,93	1,38	0,1370
Testudines	40	2,67	5,87	4,10	4,32	0,98	
Ferro (Fe)	80	23,77	328,20	116,02	94,67	69,85	
Crocodilianos	40	26	328,2	141,45	138,73	71,45	0,0002
Testudines	40	24	295,3	90,58	81,03	58,75	
Manganês (Mn)	80	0,00	4,80	2,17	1,90	1,52	
Crocodilianos	40	2,00	4,80	3,52	3,50	0,84	< 0,0001
Testudines	40	0,00	1,80	0,83	0,85	0,54	
Cádmio (Cd)	80	0,00	6,23	1,59	0,03	2,62	
Crocodilianos	40	0,00	6,23	3,14	5,63	2,99	< 0,0001
Testudines	40	0,03	0,03	0,03	0,03	0,00	
Chumbo (Pb)	80	2,15	64,30	11,08	4,75	12,18	
Crocodilianos	40	2,15	64,30	17,43	27,58	14,74	0,2561
Testudines	40	3,85	8,05	4,73	4,50	0,82	
Cromo (Cr)	80	0,00	7,40	2,42	1,30	2,41	
Crocodilianos	40	0,00	7,40	3,33	6,12	3,15	0,5044
Testudines	40	1,25	3,15	1,52	1,30	0,45	
Níquel (Ni)	80	0,00	5,60	1,50	0,95	1,43	
Crocodilianos	40	0,00	5,60	1,94	3,35	1,91	0,7015
Testudines	40	0,80	1,80	1,05	0,92	0,31	
Alumínio (Al)	80	3,45	48,35	12,27	9,65	6,27	
Crocodilianos	40	7,75	48,35	13,40	14,32	6,64	0,0086
Testudines	40	3,45	29,10	11,13	9,10	5,72	

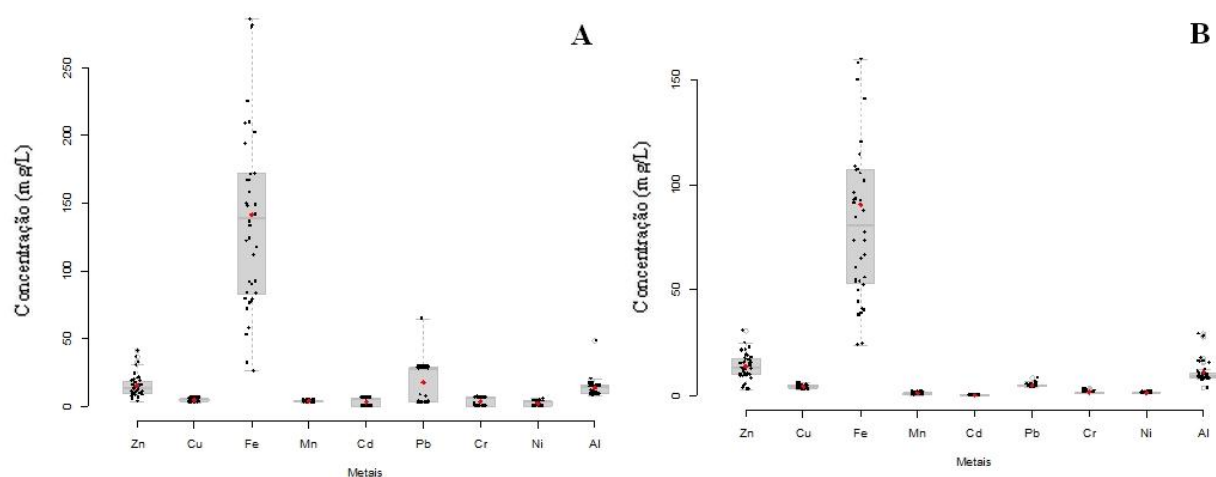


Figura 2. Distribuição dos níveis médios encontrados (mediana) para os elementos Zn, Cu, Fe, Mn, Cd, Pb, Cr, Ni, Al (peso úmido) no grupo dos Crocodilianos (A) e Testudines (B) capturados no reservatório do Tapacurá, Pernambuco, Brasil (p-valor=0,05).

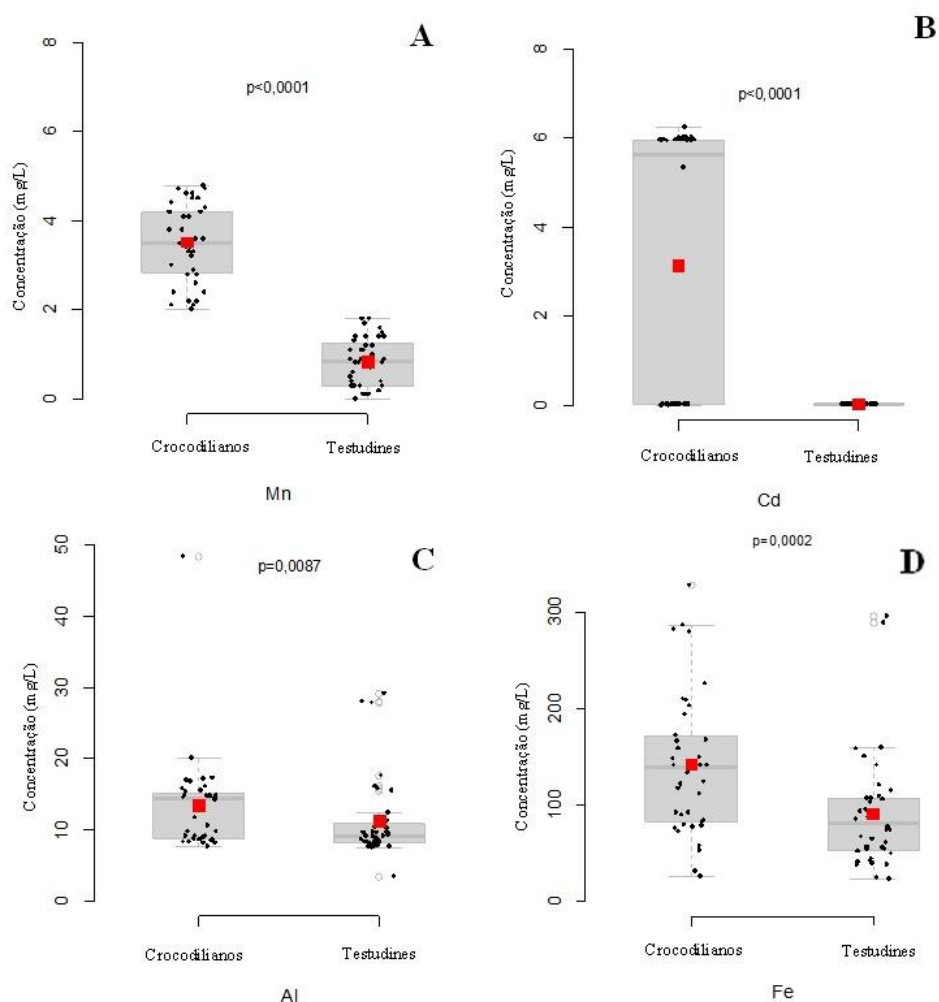


Figura 3. Comparação dos níveis médios encontrados (mediana) no sangue de crocodilianos e testudines para os elementos que apresentaram diferença estatisticamente significativas entre os dois táxons, Mn (A), Cd (B), Al (C), Fe (D) capturados no reservatório do Tapacurá, Pernambuco, Brasil (p-valor=0,05).

Os resultados obtidos para Fe no presente estudo foram muito superiores às concentrações obtida por Lance et al. (1983) em plasma de jacarés selvagens capturados na Louisiana, EUA por 4 meses (0,53 mg/L), sendo também superior aos teores detectados em águas superficiais no reservatório do Tapacurá (0,50 mg/L) como apontado no trabalho de Aprile e Bouvy (2010), assim como o Mn (1,90 mg/L), que apresentou 0,06 mg/L no mesmo ponto de coleta. No presente estudo foram utilizadas alíquotas de Fe total e acredita-se que estes teores se devem em razão do ferro ser um micronutriente natural da hemoglobina, componente essencial que transporta e armazena oxigênio para os órgãos e tecidos do corpo, além disso, os efluentes orgânicos despejados ao longo da bacia do Tapacurá também podem estar influenciando diretamente estes teores (Gunkel et al., 2003; Aprile e Bouvy, 2004; 2010). Valores mais altos para Fe foram encontrados em vísceras de Tilápia ($1635,0 \pm 5,68$ mg/L), Lambari ($9165,1 \pm 6,39$ mg/L), brânquias de Bagre (*Catfish*) ($121,0 \pm 0,58$ mg/L) e de Lambari ($198,4 \pm 0,01$ mg/L), na pesquisa realizada por Souza et al. (2009). Os autores atribuíram os altos valores a presença do elemento em solo, água, atmosfera e processos industriais.

Martínez-López et al. (2017) apontaram que os espécimes do Cágado-mediterrânico (*Mauremys leprosa*) capturados na Espanha apresentaram teores de 0,0017 mg/L de Cd em 30% das amostras de sangue, valores menores que os detectados no presente estudo para Testudines (0,03 mg/L). Em indivíduos de *Lissemys punctata*, no Paquistão, os valores foram semelhantes, mas superiores (0,04 mg/L) (Sultana et al., 2015). Buenfil-Rojas et al. (2015) observaram que crocodilos adultos (*Crocodylus moreletii*) do México apresentaram 0,00457 mg/L de Cd, valor muito abaixo do detectado para este trabalho para *C. latirostris* (5,63 mg/L). Apesar dos valores aparentemente baixos quando comparados com os outros elementos detectados, o Cd é considerado um elemento tóxico, não essencial a vida e sem função biológica. A Organização Mundial da Saúde (OMS) limita o consumo semanal de pescado contaminado por Cd a 0,49 mg/pessoa e dados do CONAMA 357/2005 (MMA, 2018) indicam que para corpos d'água enquadrados na Classe II (Classificação do reservatório do Tapacurá), no qual as águas podem ser destinadas ao abastecimento para consumo humano, o limite máximo permitido para Cd é $\leq 0,001$ mg/L, o que reitera a problemática da contaminação da água e da biota do Tapacurá, que abastece a Região Metropolitana do Recife e alimenta comunidades ribeirinhas moradoras das áreas adjacentes ao reservatório. Os teores de Cd também podem estar relacionados aos níveis de nutrientes da água, sedimentos, intemperismo e erosão de solos e rochas.

O Al apresentou concentrações significativas e elevadas para ambos os táxons ($p=0,0086$), onde os Crocodilianos exibiram teores de 14,32 mg/L e os Testudines de 9,10 mg/L. Na Flórida, Nilsen et al. (2017) detectaram teores semelhantes para este elemento nas diferentes matrizes biológicas de *Alligator mississippiensis* estudadas, no qual, valores significativos foram detectados para fígado e escama (16,04 e 20,15 mg/L), o autor enfatiza que não há literatura suficiente que explique os padrões de toxicidade deste elemento nos répteis.

O Pb e Zn não apresentaram diferenças significativas para ambos os grupos, entretanto, as médias individuais detectadas em cada táxon foram altas: Obteve-se 27,58 mg/L de Pb para os Crocodilianos e 4,50 mg/L para os Testudines. Warner et al. (2016) observaram níveis muito inferiores para fêmeas (0,0815 mg/L) e machos (0,0981 mg/L) de crocodilos do Nilo (*Crocodyus niloticus*) na África do Sul. Em 1998, Camus et al. detectaram valores um pouco mais elevados, que variaram de 0,07 a 2,80 mg/L em amostras de Jacaré Americano (*A. mississippiensis*). As concentrações para Pb em Testudines também foram maiores que os resultados obtidos na literatura mais recente por Di Gerônimo et al. (2018) ($\leq 0,02$ mg/L), Martínez-López et al.

(2017) (0,0955 mg/L) e Sultana et al. (2015) (0,83 mg/L) em *Macrochelys temminckii*, *M. leprosa* e *Kachuga smith*, respectivamente. Os valores detectados no estudo são atribuídos as fontes de contaminação ao longo da bacia do Tapacurá, tais rejeitos são transportados até o reservatório onde são depositados e permanecem disponíveis no ambiente. Resende, (2002) afirma que a principal via de contaminação de ambientes de água doce são os escoamentos advindos de atividades agrícolas e seus canaviais, o que também é atribuído para o reservatório estudado.

Os teores médios de Zn encontrados para cada grupo (13,31 mg/L - Testudines e 13,13 mg/L - Crocodilianos) neste estudo foram semelhantes aos resultados obtidos em Sultana et al. 2015, onde indivíduos de *Kachuga tecta* apresentaram níveis de 11, 97 mg/L em reservatórios do Paquistão. Goye e Clarkson (1996) afirmam que há uma alta taxa de retenção de Zn no sangue e ossos antes dele ser possivelmente eliminado ou fixado, explicando os altos teores. O uso de adubos sintéticos e pesticidas que contém Zn em sua composição nas áreas de cultivo e o excesso de resíduos orgânicos também explicam estes resultados. No trabalho de Aprile e Bouvy (2010) em águas superficiais ao longo da bacia do Tapacurá, os maiores teores de Zn (0,013 mg/L) foram encontrados no ponto de coleta do reservatório do Tapacurá, em comparação com os outros sete pontos de amostragem, corroborando com os dados obtidos neste trabalho. Martínez-López et al. (2017) avaliaram as concentrações de Zn, Cd, Pb e Cu em sangue de indivíduos de *Mauremys leprosa* no Norte da África, onde o Zn (3,964 mg/L) apresentou resultados inferiores ao do presente estudo (13,31mg/L) assim como o Cu (0,3443 mg/L), que exibiu valores entre 2,67 e 5,87 mg/L. Ambos os elementos são considerados micronutrientes essenciais no desenvolvimento e homeostase dos organismos, sendo parte estrutural de proteínas (Chaney, 1993), entretanto, também é componente de fungicidas, fertilizantes, esterco de animais, lixo urbano e deposição de poeiras industriais (Alexandre et al., 2012) o que pode elevar suas concentrações em ambientes antropizados.

Deve-se levar em consideração que as concentrações detectadas advêm de animais em grande parte adultos, expostos diariamente aos elementos por vários anos, onívoros com tendência a carnivorina, de níveis tróficos elevados, não migratórios e que habitam um local que possui fontes pontuais e difusas de despejo de agrotóxicos, pesticidas, resíduos orgânicos e outros rejeitos advindos de atividades humanas como pontuado por Gunkel et al. (2003), Bouvy e Aprile (2004), Aprile e Bouvy (2010).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre a concentração dos elementos estudados com as classes etárias dos jacarés capturados ($p>0,05$), no entanto, o Al apresentou diferenças significativas entre duas das três classes analisadas (Classe II e Classe IV) ($p=0,05$). Para este elemento, os animais da Classe II apresentaram concentrações com mediana de 14,65 mg/L (7,75 - 14,65 mg/L), número maior que os teores detectados para os indivíduos pertencentes a Classe IV (9,20 mg/L (8,10 – 14,45 mg/L). Já para os Testudines, os adultos apresentaram maiores concentrações do que os jovens, com diferenças significativas para Fe (92,67 mg/L), Cu (4,57 mg/L) e Pb (4,85 mg/L) ($p<0,05$) assim como os estudos Meyers-Schöne et al. (1993) e Burger et al. (2009) (Figura 4).

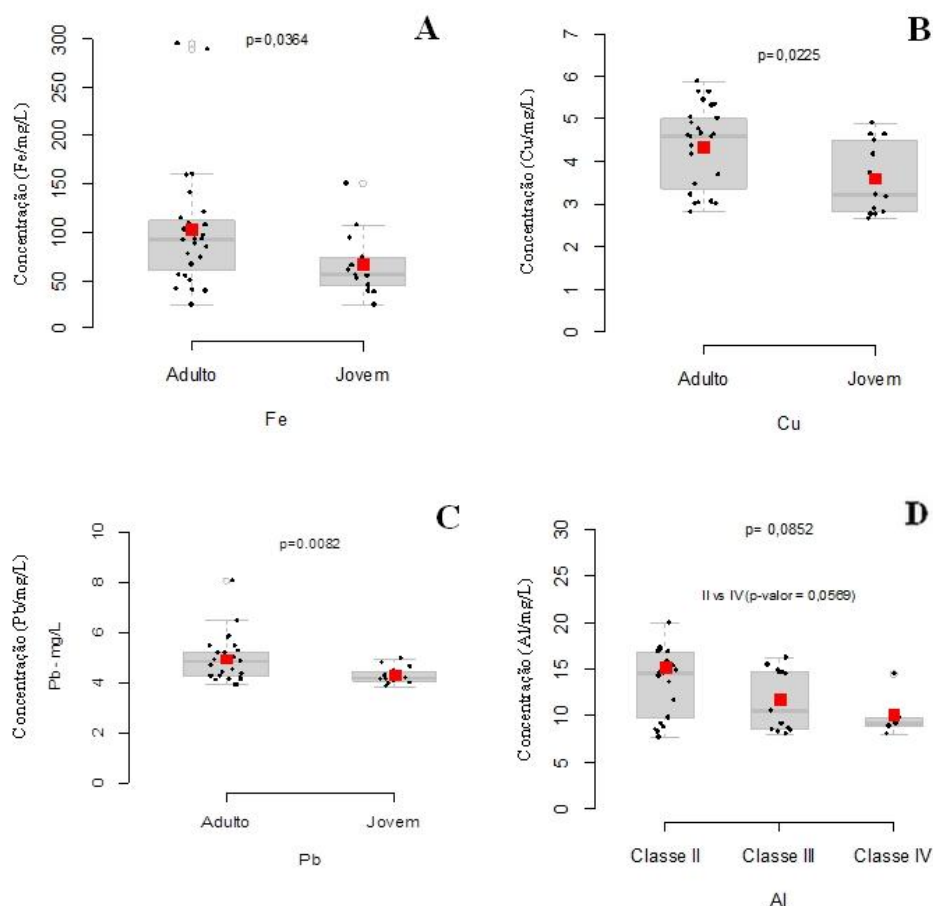


Figura 4. Diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de metais pesados detectados por classe etária (jovens e adultos) nos Testudines Fe (A); Cu (B); Pb (C) e Crocodilianos Al (D), capturados no reservatório do Tapacurá, Pernambuco, Brasil. O p-valor entre as classes etárias (D) não foi significativo, entretanto, observou-se significância entre as Classes II e IV (p-valor=0,0569).

A literatura sugere que organismos maiores tendem a ter maiores concentrações de metais pesados circulantes devido ao maior tempo de exposição desses animais a locais contaminados, bem como aos variados comportamentos alimentares que apresentam durante suas fases de vida (Schneider et al., 2013; 2015; Eggins et al., 2015). Este fato não foi documentado no presente estudo, onde jacarés da Classe II (50-119 cm) apresentaram maiores concentrações de Fe, Cd, Pb, Cr, Ni e Al do que os animais de Classe IV (> 180 cm). Apesar disto, não observou-se diferenças estatisticamente significativas para esta relação ($p > 0,05$) da mesma forma que o trabalho de Rainwater et al. (2007), que avaliou concentrações de Hg, As, Cd, Cu, Pb e Zn para *C. moreletii*. Autores como Buenfil-Rojas et al. (2015) evidenciaram diferenças de significância entre os metais, afirmando que para Cd não houve uma correlação significativa entre tamanho e concentração para *C. moreletii* ($p > 0,05$), com juvenis apresentando teores mais elevados (630,4 ng/g) que os adultos (16,04 ng/g). Entretanto, para Hg fica evidente a relação positiva entre comprimento total, comprimento rostro-cloacal, massa corporal e concentração ($p = 0,04$).

Acredita-se que estes teores mais baixos para animais maiores se devam ao metabolismo dos animais menores e a variabilidade dos itens alimentares como apontado por Vieira et al. 2010 e Schneider et al. 2013 em seus estudos, onde o *M. niger* apresentou menores concentrações de Hg do que *C. crocodilus*, espécie

consideravelmente menor. Quando atingem maiores tamanhos, *M. niger* passa a consumir vertebrados terrestres na sua composição alimentar, o que poderia explicar níveis inferiores de Hg em seus tecidos. Devido às taxas de crescimento de jacarés grandes serem mais lentas, a frequência com que esses animais se alimentam também é inferior, gerando, em consequência, uma menor exposição a contaminantes (Khan e Tansel, 2000).

Apesar do parâmetro sexo não ter influenciado o nível das concentrações detectadas em ambos os grupos ($p>0,05$), as fêmeas destacaram-se por apresentar maiores teores em oito dos nove elementos estudados para os crocodilianos (Zn, Cu, Fe, Cd, Cr, Ni e Al) ($p>0,05$), enquanto isso, os Testudines machos apresentaram maiores teores em relação as fêmeas para os elementos Zn, Cd, Pb, Cr e Ni. O gênero é um parâmetro que tem se mostrado não significativo para vários trabalhos que utilizam Testudines e espécies da ordem Crocodylia (Burger et al., 2009; Schneider et al., 2011; Warner et al., 2016). A literatura explica que machos, fêmeas e juvenis armazenam elementos químicos de formas diferentes (Schneider et al., 2011). Os machos podem apresentar maiores teores que a fêmea devido a liberação de pequenas quantidades destes elementos através dos ovos das fêmeas durante o processo de nidificação e ovoposição (Delany et al., 1988; Schneider et al., 2011). Inclusive, além de ser um método de avaliação não-letal, os ovos trazem também importantes registros de contaminação via reprodução, com diferenças significativas entre o conteúdo e as cascas (Preez et al., 2018).

Para este estudo, *M. tuberculata* foi a espécie de Testudine que apresentou maiores médias de concentrações para Cu (de 5,01 mg/L), Fe (105,40 mg/L), Pb (4,95 mg/L), Cr (1,69 mg/L), Ni (1,28 mg/L) e Al (12,35 mg/L) quando comparados com as outras duas espécies (*K. scorpioides* e *P. geoffroanus*). Entretanto, diferenças estatisticamente significativas foram observadas apenas para Cu ($p=0,0240$) e Fe ($p=0,0196$) em *P. geoffroanus* (3,77 e 58,61 mg/L) e *K. scorpioides* (3,95 e 90,50 mg/L) respectivamente (Figura 5). Sabe-se que o *M. tuberculata* possui comportamento alimentar carnívoro, consumindo principalmente peixes, os demais são considerados onívoros e alimentam-se de peixes, crustáceos e insetos aquáticos (Souza, 2004; Vanzolini et al., 1980), o que pode explicar os teores mais altos para esta espécie. Da mesma forma, em 2010, Schneider et al., observaram que as diferenças de concentração mercurial avaliada para seis espécies de Testudines amazônicos se deviam as variações na dieta e ao comportamento de forrageio de cada espécie. Burger et al. (2009) avaliaram os teores de seis metais pesados em sangue de quatro espécies de Testudines amazônicos e pontuaram que também não houve diferenças significativas entre as espécies da família Podocnemididae.

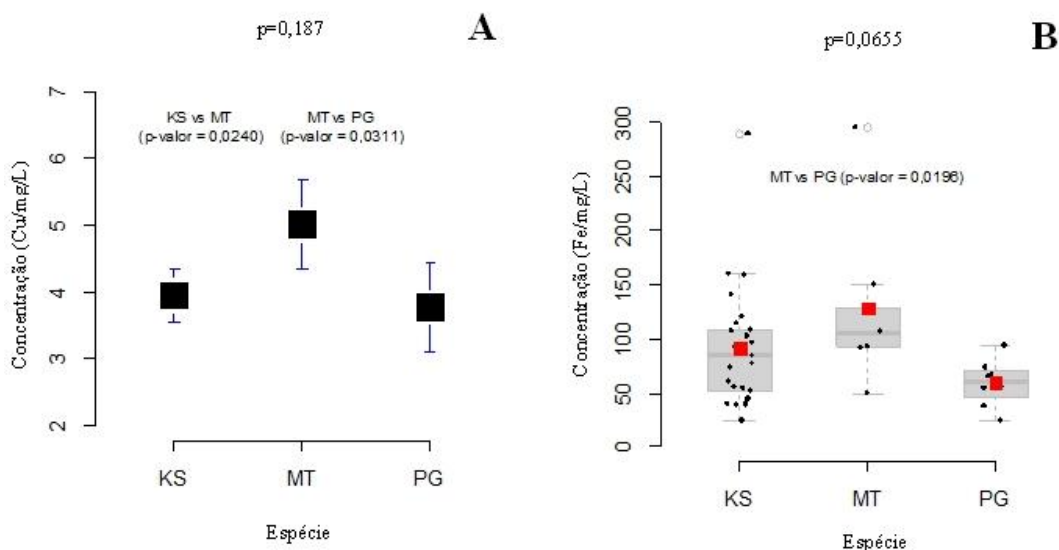


Figura 5. Comparativos das concentrações de Cu (A) e Fe (B), em amostras de sangue ($p\leq0,05$) entre as espécies de Testudines: *K. scorpioides* (KS), *M. tuberculata* (MT), e *P. geoffroanus* (PG) capturados na Estação Ecológica do Tapacurá.

No tocante das correlações entre os elementos estudados, observou-se a formação de dois grupos: O primeiro apresentou correlações positivas e o segundo apresentou correlações negativas. O teste de Correlação de Pearson apontou que as relações mais fortes foram entre os elementos que apresentaram o $p < 0,001$, como Cr e Ni ($R=0,98$), Cr e Cd ($R=0,95$), Ni e Pb ($R=0,94$), Cd e Pb ($R=0,93$), Cr e Pb ($R=0,93$), Cd e Ni ($R=0,92$) (Tabela 2). Os elementos químicos interagem de diversas formas entre si, podendo apresentar efeitos sinérgicos, de potenciação, aditivos, inibidores ou antagonísticos. Estudos envolvendo essas relações são bastante difundidas entre plantas e invertebrados aquáticos (Naddy et al., 2015; Puga et al., 2015; Rainbow, 2017), porém, pesquisas com vertebrados são escassos, sendo mais recorrente em camundongos e peixes durante ensaios de toxicidade (Green e Planchart 2018).

Em 1990, Khangarot e Ray, apontaram em seus testes de toxicidade entre Ni e Cr em *Poecilia reticulata* que os efeitos da mistura destes elementos são considerados aditivos. Anos antes (1981), os mesmos autores avaliaram a toxicidade de misturas de Zn – Ni – Cu para a mesma espécie e observaram efeitos sinérgicos. No presente estudo, as concentrações de Cr e Ni apresentaram a maior correlação ($R= 0,98$).

Tabela 2. Correlações entre os metais pesados analisados em sangue de Crocodilianos e Testudines capturados no reservatório do Tapacurá, Pernambuco, Brasil. Destaque em negrito para as correlações que obtiveram o $p < 0,0001$.

	Zn	Cu	Fe	Mn	Cd	Pb	Cr	Ni	Al
Zn	1,0000	0,8702	0,6668	0,4901	0,9477	0,8740	0,9158	0,6377	0,5893
Cu	0,019	1,0000	0,0002	0,1054	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Fe	-0,049	0,406	1,0000	0,1067	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Mn	0,078	-0,182	0,182	1,0000	0,0159	0,0847	0,7591	0,8181	0,7963
Cd	0,007	0,701	0,502	0,269	1,0000	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Pb	-0,018	0,658	0,533	0,194	0,933	1,0000	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Cr	-0,012	0,777	0,484	0,035	0,956	0,933	1,0000	< 0,0001	< 0,0001
Ni	-0,053	0,789	0,475	-0,026	0,923	0,938	0,983	1,0000	< 0,0001
Al	-0,061	0,623	0,422	0,029	0,459	0,436	0,519	0,537	1,0000

O Cd e o Cr apresentam correlações sinérgicas e aditivas quando aplicadas doses em *Artemia franciscana* em concentrações mais altas segundo Hadjispyrou, Kunglos e Anagnostopoulos (2001), assim como a forte ligação detectada no presente estudo ($R=0,95$). Entretanto, também foi evidenciado o antagonismo entre esses mesmo elementos por outros autores em trabalhos mais antigos (Aoyama et al., 1987; Kungolos e Aoyama, 1993).

Em ensaios realizados no crustáceo planctônico *Daphnia magna* com mistura binária de metais (Ni e Cd), Traudt et al. (2017) destacaram que numa concentração constante de Cd em que o Ni foi adicionado gradualmente, a mortalidade dos indivíduos expostos diminuía consideravelmente, evidenciando o efeito antagonístico do Ni sobre o Cd, que neste estudo obteve correlações significativas de 92%. Corroborando com estes dados, İşcan et al. (2002) avaliaram a exposição de Cd e Ni em tecidos testiculares e também constataram que a combinação de ambos os metais causava menos danos que a ação do Cd sozinho.

O Cd, Pb e Fe possuem mecanismos de absorção semelhantes, observando-se que uma maior concentração de Cd e Pb ocorre em animais com baixos estoques de ferro (antagonismo), o Pb inibe o

funcionamento da ferroquelatase, enzima responsável por inserir o ferro na molécula orgânica protoporfirina IX (grupo heme), causando anemia (Souza e Tavares, 2009). Da mesma forma, o Cd também pode diminuir a capacidade de absorção do ferro via trato gastrointestinal (ATDSR, 2004). Sendo assim, o Pb e Cd ($R=0,93$) podem produzir efeitos aditivos, ou mais que aditivos em parâmetros hematológicos (ATSDR, 2004) confirmando as fortes correlações detectadas entre os dois elementos neste estudo ($p<0,001$).

Há ausência de informações acerca dos mecanismos das interações entre metais pesados em répteis disponíveis na literatura. Os resultados das correlações obtidas para este trabalho são baseados apenas na estatística, ou seja, especula-se a existência dessas correlações baseadas em pesquisas realizadas anteriormente com organismos de outros grupos zoológicos. Entretanto, para uma inferência concreta e segura acerca das interações metálicas são necessários estudos específicos, com uso de animais que sejam indicadores rápidos de contaminação aguda, doses específicas dos elementos de interesse, bem como o período de exposição do estudo.

5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos observa-se contaminação presente na biota aquática das águas do reservatório do Tapacurá, demonstrando que Testudines e Crocodilianos são bons bioindicadores de contaminação ambiental, indicando também, que o sangue (um parâmetro não letal) poderá ser utilizado para avaliar inicialmente a presença de contaminantes em animais expostos recentemente. Como esperado, os predadores topo de cadeia trófica (Crocodilianos) apresentaram maiores concentrações dos elementos estudados. A avaliação de outras matrizes como escama, músculo e carapaça são necessárias para um melhor entendimento acerca dos processos de bioacumulação, biomagnificação e bioconcentração desses elementos na biota.

O uso de agrotóxicos e fertilizantes em cultivos agrícolas, principalmente oriundos da monocultura canavieira na matriz localizada no entorno do reservatório de Tapacurá, possivelmente, tem contribuído com esta contaminação, entretanto, sabe-se que ao longo de toda bacia hidrográfica do rio Tapacurá há fontes pontuais de contaminantes proveniente das mais diversas atividades antropogênicas. O consumo ilegal de Testudines e Crocodilianos pela comunidade ribeirinha constitui um risco para estas populações, pois as concentrações detectadas ultrapassam os parâmetros estipulados pela legislação que diz respeito aos limites de contaminantes inorgânicos em alimento.

6. AGRADECIMENTOS

Agradecemos a equipe da Estação Ecológica do Tapacurá durante as etapas de campo e aos Laboratório de Química Aplicada e Fitoterápicos da UFRPE; a Gerônimo Ferreira da Silva do Departamento de Tecnologia Rural da UFRPE; Ana Paula Silveira Paim da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE; a Rachel Ann Hauser Davis da FioCruz (RJ) pelo auxílio na interpretação dos dados, a Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (APQ 0245-2, 04/15) pelo financiamento da pesquisa e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexandre, J.R., Oliveira, M. L., Santos, T. C., Canton, G. C., Conceição, J. M., Eutrópio, F. J., Ramos, A. C. Zinc and iron: from micronutrients to soil contaminants. *Natureza on line*, v. 10, n. 1, p. 23-28, 2012. ISSN 1806-7409.
- Andrade, C.M., Tiago, C., Karine, N., Vasconcelos, C., 2009. Structure of the phytoplankton community with emphasis on Cyanobacteria in Tapacurá reservoir- PE. *Rev Inst Adolfo Lutz* 68, 109–117. ISSN 0073-9855.
- Aoyama, I., Okamura, H., Yagi, M., 1987. The interaction effects of toxic chemical combinations on *chlorella ellipsoidea*. *Toxic. Assess.* 2, 341–355. <https://doi.org/10.1002/tox.2540020309>.
- Aprile, F., Parente, A., Marc Bouy, 2004. Industrial residues analysis of the processing of cassava flour in the rio Tapacurá Basin (Pernambuco state/Brazil). *Bioikos PUC-Campinas* 18, 63–69. ISSN 0102-9568.
- Aprile, F.M., Bouvy, M., 2010. Heavy metal levels in surface waters from a tropical river basin, Pernambuco State, northeastern Brazil. *Acta Sci. Biol. Sci.* 32, 357–364. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v32i4.5231>.
- Aragão, M.A., Araújo, R.P., 2006. Methods of toxicity testing with aquatic organisms. In: *Ecotoxicology Principles and Applications*. Editora Rima. São Paulo, São Carlos. pp. 117–147.
- Balestra, R.A., Valadão, R., Vogt, R.C., Bernhard, R., Ferrara, C.R., Brito, E.S., Arias, R.B., Malvásio, A., Lustosa, A.P., Souza, F.L. de, Drummond, G.M., Bassetti, L.A.B., Coutinho, M.E., P.D., F.J., Campos, Z.M. da S., Mendonça, S.H.S.T. de, Rocha, J.M.N., Luz, V.L.F., 2016. Roadmap for Continental Chelonian Inventories and Surveys. *Biodiversidade Bras.* 6, 114–152. Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/revistaeletronica/index.php/BioBR/article/view/471>. Acessado em: 03.10.2018.
- Barreto, L., Lima, L.C., Barbosa, S., 2009. Observations on the ecology of *Trachemys adiutrix* and *Kinosternon scorpioides* on Curupu Island, Brazil. *Herpetological Review*, 40: 283. Disponível em: <https://bit.ly/2zPMHeN>. Acessado em: 03.10.2018.
- Bayliss, P., 1987. Survey Methods and Monitoring Within Crocodile Management Programmes, in: *Wildlife Management: Crocodiles and Alligators*. pp. 157–175.
- Buenfil-Rojas, A.M., Alvarez-Legorreta, T., Cedeño-Vázquez, J.R. 2018. Mercury and metallothioneins in blood fractions and tissues of captive Morelet's crocodiles in Quintana Roo, Mexico 199, 630–636. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.111>.
- Buenfil-Rojas, A.M., Álvarez-Legorreta, T., Cedeño-Vázquez, J.R., 2015. Metals and Metallothioneins in Morelet's Crocodile (*Crocodylus moreletii*) from a Transboundary River Between Mexico and Belize. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 68, 265–273. <https://doi.org/10.1007/s00244-014-0088-5>.
- Buhlmann, K.A., Tuberville, T.D., 1998. Use of Passive Integrated Transponder (PIT) Tags for Marking small freshwater turtles. *Chelonian Conserv. Biol.* 3, 102–104. Disponível em: researchgate.net/profile/Tracey_Tuberville/publication/230823883_Use_of_Passive_Integrated_Transponder_PIT_Tags_for_Marking_Small_Freshwater_Turtles. Acessado pela última vez: 03.10.2018.

- Burger, J., Gochfeld, M., Rooney, A.A., Orlando, E.F., Woodward, A.R., Guillette, L.J., 2000. Metals and metalloids in tissues of American alligators in three Florida lakes. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 38, 501–508. <https://doi.org/10.1007/s002449910066>.
- Burger, J., Jeitner, C., Schneider, L., Vogt, R., Gochfeld, M., 2010. Arsenic, cadmium, chromium, lead, mercury, and selenium levels in blood of four species of turtles from the Amazon in Brazil. *J. Toxicol. Environ. Health. A* 73, 33–40. <https://doi.org/10.1080/15287390903248877>.
- Cagle, F.R. 1939. A System of Marking Turtles for Future Identification. *Copeia*, 1939(3), 170. doi:10.2307/1436818.
- Campbell, J.W., Waters, M.N., Tarter, A., Jackson, J., 2010. Heavy metal and selenium concentrations in liver tissue from wild American alligator (*Alligator mississippiensis*) livers near Charleston, South Carolina. *J. Wildl. Dis.* 46, 1234–1241. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.4.1234>.
- Camus, A. C., Mitchell, M.M., Williams, J.F., Jowett, P.L.H., 1998. Elevated lead levels in farmed American alligators *Alligator mississippiensis* consuming nutria *Myocastor coypus* meat contaminated by lead bullets. *J. World Aquac. Soc.* 29, 370–376. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1998.tb00661.x>.
- Chan, H.M., 1998. Metal accumulation and detoxification in humans. In: J. Langston and m. J. Bebianno. *Metal metabolism in aquatic environments*, London, UK. pp: 415–438.
- Chaney, R.L., 1993. Zinc phytotoxicity. In: Robson, A.D. *Zinc in Soil and Plants*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp.135–150.
- COMPESA – Companhia Pernambucana de Saneamento. 2017. Sistema Tapacurá. Recife: COMPESA. www.compesa.com.br/arquivos/saneamento/tapacura.pdf. Acesso em 23 de julho 2018.
- Correia, J., Cesar, R., Marsico, E., Diniz, G.T.N., Zorro, M.C., Castilhos, Z., 2014. Mercury contamination in alligators (*Melanosuchus niger*) from Mamirauá Reservoir (Brazilian Amazon) and human health risk assessment. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 13522–13527. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3282-0>.
- CPRH, Companhia Pernambucana de Recursos Hídricos. 2017. Execução das ações necessárias a criação dos conselhos gestores e elaboração dos planos de manejo para os refúgios de vidas silvestres: Mata de Tapacurá, Mata de Engenho Tapacurá, Mata do outeiro de Pedro, Mata do Camucim e Mata do Toró- São Lourenço da Mata/PE, pp. 3.15, 2017. Disponível em: http://www.cprh.pe.gov.br/arquivos_anexo/tapacura/PM_RVS_Tapacura.pdf. Acessado em: 03.10.2018.
- Delany, M.F., Bell, J.U., Sundlof, F., 1988. Concentration of contaminants in muscle of the american alligator in Florida. *J. Wildl. Dis.* 24, 62–66. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-24.1.62>.
- DiGeronimo, P.M., Di Girolamo, Grasperge, N.B., Gregory, B.B., Jowett, P. and Nevarez, J.G., 2018. Assessment of Blood Lead, Zinc, and Mercury Concentrations and Cholinesterase Activity in Captive-reared Alligator Snapping Turtles (*Macrochelys temminckii*) in Louisiana, USA 54, 1–5. <https://doi.org/10.7589/2017-06-129>.

- Eggins, S., Schneider, L., Krikowa, F., Vogt, R.C., Silveira, R. Da, Maher, W., 2015. Mercury concentrations in different tissues of turtle and caiman species from the Rio Purus, Amazonas, Brazil. *Environ. Toxicol. Chem.* 34, 2771–2781. <https://doi.org/10.1002/etc.3151>
- Fadini, P.S., Jardim, W.F., 2001. Is the Negro River Basin (Amazon) impacted by naturally occurring mercury? *Science of The Total Environment*, 275, 1-3, 71–82. doi:10.1016/s0048-9697(00)00855-x.
- Fraga, C.G., 2005. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Mol. Aspects Med.* 26, 235–244. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.013>.
- Golet, W.J., Haines, T.A., 2001. Snapping Turtles (*Chelydra serpentina*) As Monitors for Mercury Contamination of Aquatic Environments *Environ Monit Assess* (2001) 71: 211. <https://doi.org/10.1023/A:1011802117198>.
- Goyer, R.A., Clarkson, T.W., Ag, S., 2001. Toxic effects of metals, in: *The Basic Science of Poisons*. pp. 811–867.
- Green, A.J., Planchart, A., 2018. The neurological toxicity of heavy metals: A fish perspective. *Comp. Biochem. Physiol. Part - C Toxicol. Pharmacol.* 208, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2017.11.008>.
- Guillette, L.J. Andrew C.D. Guinderson, M.P.; Stefan, Kools, A.E., Milnes, M.R.; Orlando, E.F.; Rooney, A.A. Woodward, A.R. 2000. Alligators and Endocrine Disrupting Contaminants: A current. *Am. Zool.* 40, 438–452. <http://www.jstor.org/stable/3884320>.
- Gunkel, G., Rueter, K., Casallas, J., Do, M., Sobral, C., 2003. Studies of the Limnology of the Tapacurá Reservoir in Pernambuco: Reservoir Management Problems in the Brazilian Semi-Arid. XV Símpósio Bras. Recur. Hídricos. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042003000100011>.
- Hadjispyrou, S., Kungolos, A., Anagnostopoulos, A., 2001. Toxicity, Bioaccumulation and Interactive Effects of Organotin, Cadmium, and Chromium on *Artemia franciscana* 186, 179–186. <https://doi.org/10.1006/eesa.2001.2059>.
- Horai, S., Itai, T., Noguchi, T., Yasuda, Y., Adachi, H., Hyobu, Y., Riyadi, A.S., Boggs, A.S., Lowers, R., Guillette Jr., L.J., Tanabe, S., 2014. Concentrations of trace elements in American alligators (*Alligator mississippiensis*) from Florida, USA. *Chemosphere* 108, 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.031>.
- Iscan, M., Ada, A.O., Coban, T., Kapucuoglu, N., Aydin, A., Isimer, A., 2002. Combined effects of cadmium and nickel on testicular xenobiotic metabolizing enzymes in rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 89, 177–190. <https://doi.org/10.1385/BTER:89:2:177>.
- Khan, B., Tansel, B., 2000. Mercury bioconcentration factors in American alligators (*Alligator mississippiensis*) in the Florida everglades. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 47, 54–58. <https://doi.org/10.1006/eesa.2000.1923>.
- Khangarot, B., Ray, P., 1990. Acute Toxicity and Toxic Interaction of Chromium and Nickel to Common Guppy *Poecilia reticulata* (Peters). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 44, 832–839. <https://doi.org/10.1007/bf01702171>.

- Kungolos, A., Aoyama, I., 1993. Interaction effect, food effect, and bioaccumulation of cadmium and chromium for the system *Daphnia magna-Chlorella ellipsoidea*. Environ. Toxicol. Water Qual. 8, 351–369. <https://doi.org/10.1002/tox.2530080402>.
- Lacerda, L.D., 2014. Mercury contamination in Brazil: Industrial sources vs gold mining. Química Nova. 20: 196-199. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40421997000200012>.
- Lázaro, W.L., de Oliveira, R.F., dos Santos-Filho, M., da Silva, C.J., Malm, O., Ignácio A.R., Diez, S., 2015. Non-lethal sampling for mercury evaluation in crocodilians. Chemosphere 138, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.05.007>.
- Lyra-neves, R.M., Oliveira, M.A.B., Telino-júnior, W.R., Santos, E.M., 2007. Interspecific behavior between *Callithrix jacchus* (Linnaeus) (Primates, Callitrichidae) and some birds of Atlantic Forest, Pernambuco, Brazil. Rev. Bras. Zool. 24, 709–716. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752007000300022>.
- Magnusson, W.E., 1982. Techniques of surveying for crocodilians. In: Proceedings of the 5 working meeting of the crocodile specialist group of the Species Survival Commission of IUCN-The World Conservation Union. Gland, Switzerland. pp. 389-403.
- Martínez-López, E., Gómez-Ramírez, P., Espín, S., Aldeguer, M.P., García-Fernández, A.J., 2017. Influence of a Former Mining Area in the Heavy Metals Concentrations in Blood of Free-Living Mediterranean Pond Turtles (*Mauremys leprosa*). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 99, 167–172. <https://doi.org/10.1007/s00128-017-2122-6>.
- Meyers-Schöne, L., Shugart, L.R., Walton, B.T., Beauchamp, J.J., 1993. Comparison of two freshwater turtle species as monitors of radionuclide and chemical contamination: DNA Damage and residue analysis. Environ. Toxicol. Chem. 12, 1487–1496. <https://doi.org/10.1002/etc.5620120816>.
- MMA – Ministério do Meio Ambiente (CONAMA) – Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2018. Resolução CONAMA Nº 357/2005 - Classification of water bodies and environmental guidelines for their classification, as well as establishing the conditions and standards for the discharge of effluents, and other measures. - Data da legislação: 17/03/2005 - Publicação DOU nº 053, de 18/03/2005, págs. 58-63. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama>. Acesso em 20 outubro 2018.
- Moura, C.C. de M., De Moura, G.J.B., Lisboa, E.B.F., Luz, V.L.F., 2014. Geographical distribution and ecological considerations of the Testudines fauna from Northeast Brazil. SITIENTIBUS série Ciências Biológicas 14, 1–20. <https://doi.org/10.13102/scb236>.
- Mulvey, M., Diamond, S. 1991. Genetic factors and tolerance acquisition in populations exposed to metals and metalloids. In: Metal ecotoxicology: concepts and applications, pp. 301-321.
- Myburgh, J.G., Kirberger, R.M., Steyl, J.C.A., Soley, J.T., Booyse, D.G., Huchzermeyer, F.W., Lowers, R.H., Jr, L.J.G., Africa, S., Studies, A.C., Africa, S., Africa, S., Health, I., Space, K., States, U., 2014. The post-occipital spinal venous sinus of the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*): Its anatomy and use for blood sample collection and intravenous infusions 1–10. <https://doi.org/10.4102/jsava.v85i1.965>.
- Naddy, R.B., Cohen, A.S., Stubblefield, W.A., 2015. The interactive toxicity of cadmium, copper, and zinc to *Ceriodaphnia dubia* and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Environ. Toxicol. Chem. 34, 809–815. <https://doi.org/10.1002/etc.2870>.

- Nilsen, F.M., Kassim, B.L., Delaney, J.P., Lange, T.R., Brunell, A.M., Guillet Jr., L.J., Long, S.E., Schock, T.B., Guillet, L.J., Long, S.E., Schock, T.B., 2017. Trace element biodistribution in the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Chemosphere* 181, 343–351. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.102>.
- Nilsen, F.M., Parrott, B.B., Bowden, J.A., Kassim, B.L., Somerville, S.E., Bryan, T.A., Bryan, C.E., Lange, T.R., Delaney, J.P., Brunell, A.M., Long, S.E., Guillet, L.J., 2016. Global DNA methylation loss associated with mercury contamination and aging in the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Sci. Total Environ.* 545–546, 389–397. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.059>.
- Pires, J.M.M., Jorge Carvalho de Lena, Carlos Cardoso Machado, Reginaldo Sérgio Pereira, 2003. Polluting potential of Samarco Mineração S.A. solid waste: a Germano dam case study. *Soc. Invest. Florestais* 27, 393–397. ISSN 0100-6762. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622003000300017>.
- Poletta, G.L., Larriera, A., Kleinsorge, E., Mudry, M.D., 2008. *Caiman latirostris* (broad-snouted caiman) as a sentinel organism for genotoxic monitoring: Basal values determination of micronucleus and comet assay 650, 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.12.001>.
- Preez, M. du; D.G.H.K.H.B., 2018. Metallic elements in Nile Crocodile eggs from the Kruger National Park, South Africa. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 148, 930–941. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.032>.
- Puga, A.P., Abreu, C.A., Melo, L.C.A., Paz-Ferreiro, J., Beesley, L., 2015. Cadmium, lead, and zinc mobility and plant uptake in a mine soil amended with sugarcane straw biochar. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 17606–17614. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4977-6>.
- Rainbow, P.S., 2017. Heavy metal levels in marine invertebrates. In: *Heavy metals in the marine environment*. CRC press, pp. 67-79.
- Rainwater, T.R., Wu, T.H., Finger, A.G., Cañas, J.E., Yu, L., Reynolds, K.D., Coimbatore, G., Barr, B., Platt, S.G., Cobb, G.P., Anderson, T.A., McMurtry, S.T., 2007. Metals and organochlorine pesticides in caudal scutes of crocodiles from Belize and Costa Rica. *Sci. Total Environ.* 373, 146–156..
- Resende, Á.V., 2002. Agriculture and water quality: Contamination by nitrate. *Documentos/Embrapa Cerrados*.
- Roulet, M., Lucotte, M., 2001. Methylmercury production and accumulation in sediments and soils of an amazonian floodplain – effect of seasonal inundation? 128, 41. <https://doi.org/10.1023/A:1010379103335>.
- Schifer, T.D.S., Junior, S.B., Montano, M.A.E., 2005. Toxicological aspects of lead. *Informa* 17, 67–72. Disponível em: <https://bit.ly/2zQokh1>. Acessado em: 03.10.2018.
- Schneider, L., Belger, L., Burger, J., Vogt, R.C., Jeitner, C., Peleja, J.R.P., 2011. Assessment of non-invasive techniques for monitoring mercury concentrations in species of Amazon turtles. *Toxicol. Environ. Chem.* 93, 238–250. <https://doi.org/10.1080/02772248.2010.517627>.
- Schneider, L., Eggins, S., Maher, W., Vogt, R.C., Krikowa, F., Kinsley, L., Eggins, S.M., Da Silveira, R., 2015. An evaluation of the use of reptile dermal scutes as a non-invasive method to monitor mercury concentrations in the environment. *Chemosphere* 119, 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.065>.

- Schneider, L., Maher, W., Green, A., Vogt, R.C., 2013. Mercury contamination in reptiles: an emerging problem with consequences for wild life and human health, Mercury: Sources, Applications and Health Impacts. Disponível em: <https://bit.ly/2P3Akkd>. Acessado em: 03.10.2018.
- Schneider, L., Peleja, R.P., Kluczkowski, A., Freire, G.M., Marioni, B., Vogt, R.C., Da Silveira, R., 2012. Mercury concentration in the spectacled caiman and black caiman (Alligatoridae) of the Amazon: Implications for human health. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 63, 270–279. <https://doi.org/10.1007/s00244-012-9768-1>.
- Souza, A.M., Tavares, C.F.F., 2009. Lead and anemia. Lead and human health . 42, 327– 330. <https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v42i3p337-340>.
- Souza, F.L., 2004. A review on patterns of activity, reproduction and feeding of Brazilian tortoises 3, 15–27. Disponível em: <https://bit.ly/2QtmMit>. Acessado em: 03.10.2018.
- Souza, G.R. De, Aparecida, M., Garcez, P., Cristina, V., Bedana, D., 2009. Quantification of heavy metals in fish from a fishery located in the city of Umuarama. Arq. Ciênc. Vet. Zool 12, 61–66. <https://doi.org/10.25110/arqvet.v12i1.2009.2935>.
- Sultana, S., Sultana, T., Jabeen, F., 2015. Accumulation of heavy metals (Cu , Zn , Ni , Cd , Co , Pb and Cr) in blood of freshwater Turtles from Balloki Headworks and Trimmu Barrage , 4, 280–287. Disponível em: <https://bit.ly/2RkWLDC>. Acessado em: 03.10.2018.
- Tellez, M., Merchant, M., 2015. Biomonitoring heavy metal pollution using an aquatic apex predator, the American Alligator, and its Parasites. PLoS One 10, 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142522>.
- Traudt, E.M., Ranville, J.F., Meyer, J.S., 2013. Learned discourses: Timely scientific opinions. Integr. Environ. Assess. Manag. 9, 343. <https://doi.org/10.1002/ieam.1416>.
- Vanzolini, P.E., Ramos-Costa, A.M.M., Vitt, L.J. 1980. Répteis das caatingas. Academia Brasileira de Ciências. p. 153-154.
- Velasco, A., Ayarzaquena, J., 1995. Situación actual de las poblaciones de baba (Caiman crocodylus) sometidas a aprovechamiento comercial en los llanos venezolanos. Publicación de la asociación amigos de doñana, 5: 5-70, pp. 71.
- Verdade, L.M., Piña, C.I. 2007. O jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris* Daudin, 1802).
- Vieira, L.M., Nunes, V.D., Amaral, M.C.D., Oliveira, A.C., Hauser-Davis, R.A., Campos, R.C., 2011. Mercury and methyl mercury ratios in caimans (*Caiman crocodilus yacare*) from the Pantanal area, Brazil. J. Environ. Monit. 13, 280–287. <https://doi.org/10.1039/c0em00561d>.
- Warner, J.K., Combrink, X., Myburgh, J.G., Downs, C.T., 2016. Blood lead concentrations in free-ranging Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*) from South Africa. Ecotoxicology 25, 950–958. <https://doi.org/10.1007/s10646-016-1652-8>.
- Webb, G.J.W., Manolis, S.C., Sack, G.C., 1984. Technical Note Cloacal Sexing of Hatchling Crocodiles. Aust. Wildl. Res. 11, 1982–1983. <https://doi:10.1071/wr9840201>.
- Yanochko, G.M., Jagoe, C.H., Brisbin, I.L., 1997. Tissue mercury concentrations in alligators (*Alligator mississippiensis*) from the Florida Everglades and the Savannah River Site, South Carolina. Arch. Env. Contam Toxicol 32, 323–328. <https://doi.org/10.1007/s002449900192>.

CAPÍTULO II

Manuscrito a ser submetido a revista *Archives of environmental contamination and toxicology*

Qualis (Biodiversidade): B1

Fator de Impacto: 2.467

DIAGNÓSTICO DOS MÉTODOS UTILIZADOS NA DETERMINAÇÃO DE METAIS PESADOS EM TESTUDINES E CROCODILIANOS

DIAGNOSIS OF METHODS USED IN THE DETERMINATION OF HEAVY METALS IN TESTUDINES AND CROCODILIANS

RAYSSA LIMA DOS SANTOS¹ JOZELIA MARIA DE SOUSA CORREIA² LOURINALDA LUIZA DA SILVA SELVA DE OLIVEIRA³ EDNILZA MARANHÃO DOS SANTOS⁴

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, av. Gregório Ferraz Nogueira, Serra Talhada – PE rayssa.lima20@hotmail.com, 81.995749280.

²Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química, rua Manoel de Medeiros, Recife – PE, jozeliac@hotmail.com, 81. 986780223

³Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, rua Manoel de Medeiros, Recife – PE silvalourinalda@gmail.com, 81. 99321220.

⁴Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, rua Manoel de Medeiros, Recife – PE, ednilzamaranhao@gmail.com, 81. 985678315.

RESUMO

Testudines e Crocodilianos têm sido amplamente utilizados em pesquisas de monitoramento da saúde ambiental. Entretanto, fica evidente a falta de materiais específicos que esclareçam os padrões metodológicos, deixando uma lacuna a respeito dos detalhes dos procedimentos. O presente trabalho tem como principal objetivo apresentar informações relevantes dos últimos dez anos acerca do uso de Testudines e Crocodilianos como biomonitores aquáticos, bem como as principais matrizes biológicas, métodos de digestão, equipamentos e procedimentos analíticos utilizados para detecção dos elementos. Foram avaliados 37 trabalhos referentes à análise de metais pesados na herpetofauna aquática, dentre os Testudines, a família Podocnemididae representou mais de 40% das espécies encontradas e entre os Crocodilianos, o *Alligator mississippiensi* foi a principal espécie estudada. 34 elementos foram detectados, sendo o Hg (12,5%) o mais estudado principalmente em sangue (29%) e músculo (22,5%). A digestão das amostras é realizada com ácido nítrico diluído (HNO₃) (37,8%) e também pelas combinações com outros ácidos. Por fim, a leituras das amostras em solução é realizada em sua maioria no Espectrômetro de Absorção Atômica (52%) por Vapor-Frio (CVASF) (54,5%). A escolha do método ideal para análise dependerá de vários aspectos a serem levados em consideração. Por fim, acredita-se que a construção de protocolos padrões facilitarão a replicabilidade dos trabalhos e comparações coerentes entre os resultados obtidos, buscando o equilíbrio entre as vantagens e desvantagens dos padrões.

Palavras chave: Caiman, Contaminação, Quelônios, Elementos, Lântico, Aquático.

INTRODUÇÃO

A determinação de elementos traço em amostras biológicas têm sido amplamente estudadas devido ao potencial para biomonitorar ecossistemas suspeitos de contaminação química. Com a revolução industrial e o aumento da produtividade, uma grande quantidade de rejeitos resultantes dos processos industriais passaram a ser gerados, e em consequência, descartados no meio ambiente de forma inadequada e perigosa, trazendo prejuízos sérios para a vida aquática e humana que depende daquela biota (Köhler e Triebskorn 2013)

No grupo dos elementos químicos considerados não-essenciais, ou seja, que não possuem nenhuma função nutricional ou bioquímica para os organismos vivos, pode-se citar o Hg, Pb, Cd, As, W, Ti, Sb, Al, e Sn. Devido ao alto grau de periculosidade e capacidade de causarem perturbações endócrinas, pesquisas são direcionadas principalmente para detecção e monitoramento das concentrações destes elementos no ambiente (Vanz et al. 2003, Zhou et al. 2006).

De forma geral, o monitoramento de ecossistemas aquáticos é realizado através da análise de águas superficiais, sedimentos, solo ou matrizes biológicas. Animais utilizados neste tipo de atividade são conhecidos como biomonitores e devem fazer parte de grupos taxonômicos que representem bem os organismos aquáticos, sendo amplamente disponíveis em qualquer época do ano (Domingos e Bertoletti, 2006).

Segundo Viarengo (1989), os organismos aquáticos podem reagir de duas formas quando são expostos a contaminantes químicos: i) Sensíveis: quando indicam de forma rápida que há alterações tóxicas no ambiente, ou ii) Não sensíveis: conseguem sobreviver e bioacumular a presença tóxica de determinado contaminante, aumentando as concentrações à medida que sua posição nas cadeias alimentares se eleva. Os reptéis reúnem um conjunto de características apontadas por Schneider et al. (2011) que explicam por que esses animais têm sido frequentemente utilizados nestes tipos de estudo: são animais de vida longa, permitindo que acumulem contaminantes a longo prazo e contribuam com dados relevantes para pesquisas de monitoramento; heterogeneidade na composição alimentar a depender de sua localização dentro da cadeia trófica; Apresentam correlação entre as taxas de contaminação detectadas em seus tecidos com os teores em águas superficiais, sedimentos e alimentos apresentados em estudos anteriores; de vida livre; amplamente distribuídos e com tecido suficientemente disponível para coleta. Além disso, existe a problemática de muitas espécies (tartarugas, cágados, jacarés) serem utilizadas como fonte de proteína animal por comunidades tradicionais, expondo toda população a contaminações devido ao consumo destas carnes (Schneider et al. 2011).

Apesar do número de publicações dentro desta temática ter aumentado nos últimos anos, fica evidente a falta de materiais específicos que esclareçam os padrões metodológicos para pesquisadores que necessitam replicar estes estudos em diferentes partes do mundo, deixando uma lacuna a respeito dos detalhes dos procedimentos que vão desde o armazenamento de amostras até dados sobre a forma como é feita a leitura em equipamentos. Diante deste contexto, o presente trabalho tem como principal objetivo apresentar informações relevantes dos últimos dez anos no que diz respeito ao uso de Testudines e crocodilianos como biomonitores de ecossistemas aquáticos, bem como as principais matrizes biológicas utilizadas, métodos de digestão, equipamentos utilizados nas leituras e os procedimentos analíticos utilizados para detecção dos elementos químicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de dados

Para a realização deste trabalho foi realizado uma revisão sistemática utilizando artigos científicos de diferentes periódicos, publicados entre 2008 e 2018, usando as buscas *online* em bases de dados como, SciELO (*Scientific Eletronic Library Online*), Portal Brasileiro de Informação Científica (OASISBR); *Web of Science*, *Science Direct*, Google Acadêmico e *Scopus*. Utilizou-se nas buscas as palavras-chave utilizadas de maneira individual e combinadas entre si, nos idiomas inglês e português: metais pesados testudines; bioacumulação testudines; metais pesados répteis; metais pesados crocodilianos; bioacumulação crocodilianos; *heavy metal freshwater*; *bioaccumulation freshwater*; *heavy metals tortoise*; *bioaccumulation testudines*; *heavy metals crocodilians*; *bioaccumulation crocodilians*.

Como método avaliativo para caracterizar os artigos coletados foram estabelecidas quatro variáveis categóricas dentro de duas dimensões (Tabela 1). Após as buscas, os artigos foram lidos para análise do conteúdo e composição dos resultados. Posteriormente, os dados foram tabulados no Microsoft Office Excel 2010. Utilizou-se apenas a estatística descritiva para as comparações, como as médias, frequência numérica e porcentagens.

Tabela 1. Dimensões e atributos utilizados para análise rápida dos artigos utilizados no presente estudo

Dimensões	Atributos (Variáveis categóricas)
BIOLÓGICA	Táxon estudados
	Matrizes biológicas
ANALÍTICA	Elementos químicos
	Métodos de análise

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados 37 trabalhos referentes à análise de metais pesados na herpetofauna aquática no presente estudo, destes, 18 artigos abordaram o grupo dos Crocodylia e 19 Testudines.

Herpetofauna aquática como bioindicadora

Nos 19 trabalhos avaliados para ordem Testudine, foram identificados 17 gêneros e 21 espécies que são amplamente utilizadas em estudos de monitoramento (Tabela 2). Representantes da família Podocnemididae representaram mais de 40% das espécies encontradas. Este táxon é amplamente explorado como recurso alimentar pelas comunidades tradicionais da Amazônia (Alho 1984; Vogt 2001, 2008), além disso, tem importância cultural e econômica para região Norte (Schneider et al. 2015; Eggins et al. 2015). Schneider et al. em 2010 analisaram os níveis de mercúrio em seis espécies de quelônios ocorrentes no rio Amazonas e constataram que esta família foi a que apresentou os menores teores ($33,1 \pm 17$ ppb para *P. erythrocephala*) em relação aos espécimes do gênero *Chelus* (432 ± 196 ppb) (6,8% de representatividade nos trabalhos) e *Peltocephalus* (106 ± 41 ppb) (2,27%) devido aos hábitos alimentares específicos das espécies.

Da mesma forma, Martinez-Lopez et al. (2017) detectaram em seu estudo na Espanha que *Mauremys leprosa* apresentou concentrações de Pb ($31,39 \mu\text{g/dL}$) três vezes maior do que havia sido reportado na literatura de anos anteriores (Hays e Mcbee 2007), valores estes que ultrapassam os limites estipulados pela legislação

européia. O local do estudo se trata de uma antiga fonte pontual de mineração, o que explica os altos teores detectados no sangue desses animais e reitera a importância dos Testudines como ferramenta que reflete a poluição em ambientes aquáticos.

Os principais métodos de captura desses animais são através do uso de petrechos de pesca do tipo *Trammel nets*, *hand nets*, *fyke nets*, *fish nets*, coleta diretamente do ninho (ovos), entre outras armadilhas (Schneider et al. 2009; Yu et al. 2011; Rendón-Valencia et al. 2014; Allender et al. 2015).

Tabela 2. Espécies de Testudines continentais utilizadas nos artigos do presente estudo de 2008 a 2018, os elementos estudados e suas respectivas matrizes biológicas.

	Autor	Ano	Espécie	Elementos	Matriz biológica
1	Piña et al.	2009	<i>Phrynops geoffroanus</i>	As, Co, Cr, Se, Pb	Sangue
2	Schneider et al.	2009	<i>Podocnemis erythrocephala</i>	Hg	Sangue, músculo, fígado e carapaça
3	Schneider et al.	2010	<i>Podocnemis erythrocephala</i> <i>Podocnemis sextuberculata</i> <i>Podocnemis unifilis</i> <i>Podocnemis expansa</i> <i>Peltocephalus dumerilianus</i> <i>Chelus fimbriatus</i>	Hg	Sangue, músculo, fígado e carapaça
4	Green et al.	2010	<i>Cuora amboinensis</i> <i>Heosemys spinosa</i> <i>Siebenrockiella crassicollis</i>	Hg	Fígado, rim, músculo, escudos e garras
5	Burger et al.	2009	<i>Podocnemis erythrocephala</i> <i>Podocnemis sextuberculata</i> <i>Podocnemis dumerilianus</i> <i>Chelus fimbriatus</i>	As, Cd, Cr, Pb, Hg, Se	Sangue
6	Bishop et al.	2010	<i>Trachemys scripta</i> <i>Pseudemys rubriventris</i>	Pb	Carapaça
7	Yu et al.	2011	<i>Trachemys scripta</i>	Cd, Cr, Cu, Pb e Hg	Músculo
8	Yu et al.	2013	<i>Trachemys scripta</i> <i>Sternotherus odoratus</i>	Hg	Fígado e pele
9	Rendón-Valencia et al.	2014	<i>Trachemys callirostris</i>	Hg	Ovos
10	Schneider et al.	2015	<i>Podocnemis unifilis</i> <i>Podocnemis expansa</i>	Hg	Queratina, osso e músculo
11	Nisa et al.	2015	<i>Kachuga smithi</i> <i>Kachuga tecta</i> <i>Lissemys punctata</i>	Cu, Zn, Ni, Cd, Co, Pb and Cr	Sangue
12	Allender et al.	2015	<i>Terrapene carolina carolina</i>	Pb, As, Zn, Cr, Se, Cu, Cd, Ag	Sangue
13	Eggins et al.	2015	<i>Podocnemis unifilis</i> <i>Podocnemis expansa</i>	Hg e MeHg	Músculo, fígado, sangue e queratina epidérmica
14	Smith et al.	2016	<i>Chrysemys picta</i> <i>Chelydra serpentina</i>	Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Mg, Mn, Zn	Músculo, fígado, carapaça e garra
15	Martinez-Lopes et al.	2017	<i>Mauremys leprosa</i>	Hg, Pb, Cu, Zn, Cd	Sangue

16	Huo et al.	2017	<i>Chinemys reevesii</i>	Cd	Sangue, fígados, corações, baços, pulmões, rins, cérebros, pâncreas, estômagos, intestinos, músculos, bile, urina e fezes
17	Sherwood et al.	2018	<i>Malaclemys terrapin</i>	Hg	Carapaça, sangue e músculo da tartaruga
18	Dupre et al.	2018	<i>Macrolemys temminckii</i>	Cr, Cd and Pb	Carapaça
19	Di Gerônimo et al.	2018	<i>Macrolemys temminckii</i>	Pb, Zn, Hg	Sangue

A respeito dos Crocodilianos, estudos de bioacumulação a longo prazo têm permitido que os pesquisadores avaliem se os níveis de contaminação das áreas de estudo tem aumentado ou diminuído. Além disso, com estes dados também é possível detectar níveis de intoxicações que só são possíveis de observar após anos de exposição. Na área protegida do Parque Nacional do Flórida Everglades (EUA), são realizadas pesquisas desde os anos 90as quais avaliam os níveis de Hg no ambiente, tendo em vista que este local é altamente impactado por contaminações advindas de fontes pontuais e difusas deste elemento (Horai et al. 2014).

Ainda dentro deste contexto, foi observado no presente estudo que nos últimos dez anos mais da metade das publicações foram realizadas nos Estados Unidos (33%) e Brasil (33%), seguido do México (22%) e África do Sul (11%). Também é perceptível que os autores dão preferências a locais protegidos para realizar tais estudos, como a Reserva Natural Nacional do Lago Woodruff, Lago Apopka, Merrit National Wildlife Refuge (MINWR) (Flórida, EUA) e Parques Nacionais Sul-Africanos (África do Sul) (Horai et al. 2014; Warner et al. 2016).

As espécies da ordem Crocodylia mais frequentemente utilizadas em estudos publicados que avaliam o potencial de acumulação de metais pesados em ecossistemas aquáticos são o Jacaré-norte-americano (*Alligator mississippiensi*) (30%), Jacaré do pantanal (*Caiman yacare*) (10%), Jacaretinga (*Caiman crocodilus*) (15%), Crocodilo do Nilo (*Crocodylus niloticus*) (15%), Crocodilo Mexicano (*Crocodylus moreletii*) (15%) e Jacaré-açu (*Melanosuchus niger*) (15%). Esses espécimes são capturados vivos ou mortos através da busca ativa em fazendas de criação, vida livre, ou recolhido de caçadores ilegais (Trillanes et al. 2014; Nilsen et al. 2017) (Tabela 3).

O Brasil possui áreas urbanas altamente impactadas que ainda são utilizadas por Testudines e Crocodilianos como habitat, evidenciando a necessidade de avaliar a qualidade dos recursos disponíveis em ambientes antropizados através destes animais como monitores. Vieira et al. (2010), Schneider et al. (2012), Correia et al. (2014) e Lázaro et al. (2015) vem realizando este tipo de pesquisa com Crocodilianos no Brasil, entretanto, a análise de metais pesados ainda constitui um tipo de estudo oneroso, que limita os pesquisadores principalmente no que diz respeito ao processamento e leitura das amostras. Além disso, o acompanhamento faunístico gera ainda mais custos, fazendo com que a análise apenas da água e do sedimento de ambientes aquáticos seja priorizado, ao invés do acompanhamento geral da saúde do ambiente.

Tabela 3. Espécies de Crocodilianos utilizados nos artigos do presente estudo de 2008 a 2018, os elementos estudados e suas respectivas matrizes biológicas

	Autor	Ano	Espécie	Elementos	Matriz biológica
1	Campbell et al.	2010	<i>Alligator mississippiensis</i>	Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Hg, As, Se	Fígado
2	Vieira et al.	2010	<i>Caiman yacare</i>	Hg e MeHg	Músculo
3	Schneider et al.	2012	<i>Caiman crocodilus</i>	Hg	Músculo
4	Schneider et al.	2012	<i>Melanosuchus niger</i>	Hg	Músculo
5	Horai et al.	2014	<i>Alligator mississippiensis</i>	Hg	Músculo
6	Trillanes et al.	2014	<i>Crocodylus moreletii</i>	As, Hg, Pb, Hg, Ni, Cd, Cr	Escama
7	Correia et al.	2014	<i>Melanosuchus niger</i>	Hg	Músculo
8	Buenfil-Rojas	2015	<i>Crocodylus moreletii</i>	Hg e Cd	Escamas caudais e amostras de sangue
9	Tellez et al.	2015	<i>Alligator mississippiensis</i>	As, Cd, Cu, Fe, Pb, Se e Zn	Pulmão, intestino, fígado
10	Schneider et al.	2015	<i>Caiman crocodilus</i>	Hg e HgMe	Músculo, Fígado, sangue e queratina epidérmica
11	Eggins et al.	2015	<i>Caiman crocodilus</i>	Hg e MeHg	Músculo, fígado, sangue e queratina epidérmica
12	Eggins et al.	2015	<i>Melanosuchus niger</i>	Hg e MeHg	Músculo, fígado, sangue e queratina epidérmica
13	Lazaro et al.	2015	<i>Caiman yacare</i>	Hg	Escama
14	Nilsen et al.	2016	<i>Alligator mississippiensis</i>	Hg, Al, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Sn e Pb	Sangue
15	Du Prez et al.	2016	<i>Crocodylus niloticus</i>	Pb	Sangue
16	Warner et al.	2016	<i>Crocodylus niloticus</i>	Pb	Sangue
17	Nilsen et al.	2017	<i>Alligator mississippiensis</i>	Hg	Sangue
18	Nilsen et al.	2017	<i>Alligator mississippiensis</i>	Al, Va, Cr, Mn, Co, Ni, Co, Zn, As, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Sn, Cd, Sn, Pb e padrões de Sc, Y e Ru	Sangue, escama
19	Buenfil-Rojas et al.	2018	<i>Crocodylus moreletii</i>	Hg	Escama, sangue, pele, órgãos
20	Du Preez et al.	2018	<i>Crocodylus niloticus</i>	Al, Cu, Pb, Cr, Ni, Co, Cd, Zn, Se, As, Mn, Fe, Ba, V, Ag	Ovos

Metais pesados mais estudados dentro da herpetofauna aquática

Foram elencados um total de 34 elementos em pesquisas de contaminação aquática envolvendo Testudines e Crocodilianos. O elemento mais representativo foi o Hg com 15 trabalhos (ou 12,5%) analisados, seguido do Cd (8,3%) e Pb (5,6%) (Figura 1). A importância destes elementos na saúde ambiental e humana explica seus altos índices nos estudos analisados, pois ambos são considerados metais pesados não essenciais, ou seja, não possuem nenhuma função nos organismos e suas concentrações podem ser consideradas tóxicas em qualquer concentração (Vanz et al. 2003, Zbigniew e Wojciech 2006; Green et al. 2010).

Animais aquáticos podem interceptar Hg, Pb e Cd em água e sedimento (Schifer et al. 2005), nos jacarés e cágados, esses metais acumulam-se, segundo os estudos analisados, principalmente no rins, fígado e músculo, locais apontados como bons preditores de metais pesados (Burger 2010; Yu 2011; Horai 2014; Tellez e Merchant 2015; Preez 2016; Nilsen 2017).

Considerado um dos elementos mais perigosos à saúde humana (Vanz et al. 2003), o Pb penetra através da pele dos organismos devido a sua solubilidade em gordura (lipossolúveis) e moléculas de poeira que apresentam alto grau de insalubridade (Schifer et al. 2005), dessa forma, a contaminação se dá lenta e cumulativamente (Buschinelli et al. 1990)

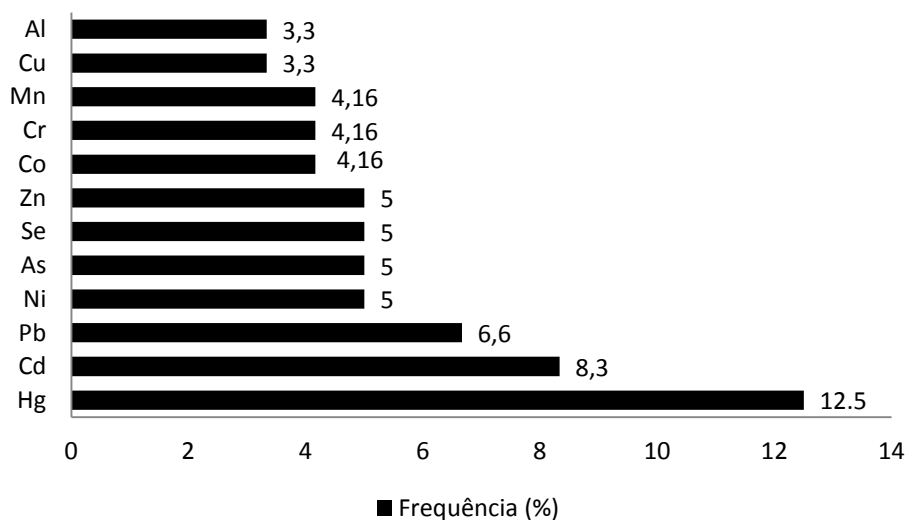


Figura 1. Elementos mais utilizados em trabalhos envolvendo metais pesados na herpetofauna aquática entre 2008-2018

Já o mercúrio é capaz de sofrer metilação em ecossistemas aquáticos (Lacerda e Malm 2008), esse processo natural ocorre em sedimentos e água de rios, lagos e oceanos através de bactérias sulfato redutoras ou processos químicos e abióticos (Oliveira et al. 2015). O MeHg (Metilmercúrio), assim como o Pb, é capaz de ser absorvido pelas membranas biológicas facilmente graças a sua característica lipossolúvel, sendo transferido aceleradamente na cadeia alimentar, aumentando riscos à saúde dos ecossistemas naturais e consequentemente a saúde humana (Lacerda e Malm 2008). No Brasil, altos teores de Hg são encontrados naturalmente em solo amazônico (Fadini e Jardim 2001). Essas concentrações são intensificados devido as atividades antropogênicas na região, como o garimpo, que gera resíduos que são lançados diretamente nos mananciais (Kehrig 2008).

Assim como o mercúrio e Pb, o Cd é altamente tóxico para os organismos que vivem nos ecossistemas aquáticos (Papathanassion 1983). A eliminação direta ou indireta de rejeitos industriais no ambiente é a principal forma de contaminação, sendo detectadas concentrações elevadas deste elemento em rios, estuários e mar (Barbieri 2010, 2012). Em peixes, o Cd provoca danos graves no sistema respiratório, chegando até a causar necrose no epitélio branquial em concentrações maiores a 150mg/kg (Sorensen 1991).

Matrizes biológicas utilizadas de Testudines e Crocodilianos

Graças à facilidade de captura e retirada de material biológico dos crocodilianos (Khan e Tansel 2000), pesquisas têm evidenciado métodos não-invasivos para coleta de amostras (Schneider et al. 2015; Preez et al. 2016; Buenfil-Rojas et al. 2015; Nilsen et al. 2017). Nos anos 80, Delany (1988) enfatizou a necessidade de desenvolver métodos em que não houvesse a necessidade de sacrificar os animais para pesquisa científica. A partir de então, além de órgãos vitais como o fígado e rins (19% das matrizes utilizadas nos estudos para ambos os táxons), também têm sido utilizados amplamente na identificação de metais pesados o sangue (29%), músculo (22,5%), escamas (12%), carapaça (9%), ovos e garras (3,2% cada) (Schneider et al. 2012; Correia et al. 2014; Buenfil-Rojas et al. 2015; Lazaro et al. 2015; Nilsen et al. 2017; Buenfil-Rojas et al. 2018).

Nilsen et al. (2017) apontam como parte do seu estudo que apenas as concentrações de quatro elementos podem ser identificados em amostras de músculo: Hg, Se, Rb e Zn, já com as amostras de sangue e escama é possível inferir as concentrações de Hg, Se, Rb e Zn, dos 17 metais pesados analisados. A transferência materna de metais pesados através da análise das cascas dos ovos também tem mostrado resultados não-invasivos eficientes nos estudos de metais como Se, Fe, Cu e Zn, incluindo herbicidas e inseticidas como Atrazina e Endosufan (Beldomenico et al. 2007).

Estudos toxicológicos com Testudines também realizam a eutanásia dos animais (Smith et al. 2016; Eggins et al. 2015; Schneider et al. 2011) com aplicação de drogas específicas. Isso pode ser explicado pelo fato de alguns metais se aderirem aos tecidos dos órgãos internos, evidenciando dados de contaminação recentes e em níveis mais altos de detecção. Em 2011, Schneider et al. avaliaram o melhor método não-invasivo para pesquisas toxicológicas com esses animais e indicaram que a carapaça não é um bom tecido para monitorar Hg em *Podocnemis erythrocephala* e *Podocnemis sextuberculata*, entretanto, para essa segunda espécie ficou nítido que os níveis de Hg no sangue foram correlacionados aos encontrados em músculo e fígado, sendo indicado como um método de amostragem simples e não-letal. Dez anos antes desse estudo, Golet e Haines (2001) constataram que as concentrações de mercúrio na carapaça e no sangue estavam correlacionadas com a concentração muscular, indicando a eficácia dessas amostragens não letais.

As matrizes de sangue são consideradas um dos melhores métodos não-invasivos para determinação de metais pesados, onde não há necessidade de eutanasiar o animal. A quantidade de fluido coletado varia de acordo com os critérios de avaliação, Hammerton et al. (2003) retiraram uma alíquota de 0,4 mL para avaliar concentrações de chumbo em espécies de *Crocodylus porosus* em um Parque da Austrália, já Allender et al. 2015 utilizaram o protocolo de extrair 0,3 mL ou equivalente a 0,8% do peso corporal de cada animal coletado em Tenesse, Estados Unidos, para avaliar as concentrações de nove tipos de metais. Schneider et al. 2015 avaliaram o uso de amostras não letais para análise de metais pesados em testudines e crocodilianos e apontaram

uma correlação positiva das concentrações presentes no sangue e em órgãos internos, reiterando a eficácia deste tipo de amostra para estudos toxicológicos com animais selvagens.

Matrizes aquosas como o sangue podem ser analisadas como sangue total, plasma ou soro (Buenfil-Rojas et al. 2015, 2018). As amostras são armazenadas com ou sem adição de anticoagulantes como heparina de lítio ou trítion, e no momento da digestão são diluídas em proporções pré-estabelecidas, com água deionizada ou HCl (Piña et al. 2009; Nilsen et al. 2016). A digestão se dá da mesma forma que as amostras sólidas, com adição de ácido nítrico concentrado, ou misturas de ácidos (Ácido perclórico (HClO_4); ácido sulfúrico (H_2SO_4) ou ácido fluorídrico (HF) em quantidades pré-estabelecidas (0,6 mL – 7mL) (Allender et al. 2015; Nilsen et al. 2016).

Métodos de análise

Separação e digestão das amostras

As técnicas de preparo de amostras para análises químicas são procedimentos que transformam a forma original de uma determinada amostra em outra mais adequada para o tipo de análise que será utilizada, normalmente, as análises em amostras biológicas necessitam que elas estejam em estado líquido (solução aquosa) (Sousa e Orlando 2015).

Os trabalhos que envolvem amostras biológicas de Testudines e Crocodilianos normalmente apresentam padrões semelhantes de protocolo de digestão a depender da escolha da matriz (Escama, pele, carapaça, músculo, sangue, garra córnea, casca dos ovos), integridade da amostra, facilidade de coleta e peso (úmido ou seco). Após a coleta do material biológico é necessário separar os compostos orgânicos e inorgânicos presente nas matrizes com auxílio de ácidos oxidantes como: Ácido perclórico (HClO_4), ácido nítrico (HNO_3), ácido sulfúrico (H_2SO_4) ou ácido fluorídrico (HF) (Piña et al. 2009; Schneider et al. 2009; Bishop et al. 2010; Schneider et al. 2011; Schneider et al. 2012; Sousa e Orlando 2015).

A maioria das pesquisas analisadas utilizam o ácido nítrico (HNO_3) (37,8%) na digestão de suas amostras, isso se deve graças aos seus produtos serem normalmente nitratos metálicos solúveis em meio aquoso, além de possuir eficiência oxidante moderada podendo ser usado em temperaturas elevadas (90°C – 210°C) (Vieira et al. 2010; Nilsen et al., 2016; Sousa e Orlando 2015). Combinações de peróxido de hidrogênio e ácido nítrico (H_2O_2 e HNO_3) (5%), também são utilizados devido ao atributo oxidativo do peróxido de hidrogênio. Essa fusão tem como produto decomposto a água, o que favorece o descarte do resíduo (Sousa e Orlando 2015). O também utilizado HNO_3 e HCL (10%) (Piña et al. 2009) melhoram a eficácia da digestão de amostras constituída ou com presença de compostos inorgânicos (Sousa e Orlando 2015). Similarmente, são utilizadas misturas sulfonítricas (H_2SO_4 e HNO_3) (5%) ou a mistura de ácido sulfúrico, ácido nítrico e permanganato de potássio (H_2SO_4 , HNO_3 e KMnO_4) (2%) (Lázaro et al. 2015), entretanto são misturas perigosas devido a corrosividade dos compostos, necessitando de cautela no momento de seu manuseio (Vogel 1971).

Técnicas analíticas

De maneira geral as técnicas analíticas que detectam a presença de minerais em matrizes biológicas de Testudines e Crocodilianos são a Espectrometria de Absorção Atômica (EAA), que representa quase mais de 50% dos estudos analisados, seguido da Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) (36%), Analisadores Diretos de Mercúrio (DMA) (5,2%) e outros 2% não informaram o tipo de técnica utilizada.

A literatura relata que apesar de ser um dos métodos mais utilizados na determinação de elementos em baixas concentrações (Sneddon e Smith, 1995; Welz e Sperling, 1999), a EAA apresenta limitações, como a não multi-elementariedade (Sneddon et al. 1993; Skoog et al. 2002) ao contrário do ICP, que é multielementar e capaz de determinar até 75 elementos (Freschi et al. 2000). Apesar de possuir uma ampla faixa de concentração e velocidade quando comparado com as outras técnicas, o ICP é relativamente novo e seu manuseio necessita de treinamento técnico específico (Pozebon et al. 1999). O uso de cada técnica é definido de acordo com a disponibilidade dos equipamentos, suporte financeiro, habilidade e experiência no manuseio das técnicas disponíveis, quantidade e tipos de metais pesados que se deseje avaliar.

Dentre os atomizadores, as técnicas mais utilizadas são a Espectroscopia de Absorção Atômica de Geração de Vapor-Frio (CVASF) apenas para o mercúrio (54,5%), Espectroscopia de Absorção Atômica por Chama (18 %), Espectroscopia de Absorção Atômica de forno de grafite (GFAAS) (13,6%), Espectroscopia de Absorção Atômica por geração de hidretos (9%) e Espectroscopia de Absorção Atômica por amálgama de folha de ouro com detecção de condutividade (4%). A grande quantidade de trabalhos que utilizam a técnica de Vapor frio é diretamente relacionada com o elemento Hg, elemento mais estudado dentre os artigos analisados. Desde 2008, Srogi e outros estudiosos apontam o CVASF como principal método para detectar Hg na espectrometria de absorção atômica, no qual o Hg é levado por um gás para a célula de absorção na forma atômica, sem necessidade de ser aquecida (Welz 1999).

No caso da Espectrometria de Emissão Atômica, o ICP-OES possui capacidade de detectar elementos como Cu, Fe, Ca, Mg, Zn e o ICP-MS é indicado na detecção de elementos com concentrações menores como Cu, Cr, Tl e Pb (Pozebon et al. 1999).

A escolha do método ideal para análise dependerá de vários aspectos a serem levados em consideração. Sendo assim, bons procedimentos de coleta, manipulação e processamento das amostras, bem como a construção de protocolos padrões facilitarão a replicabilidade dos trabalhos e comparações coerentes entre os resultados obtidos, buscando o equilíbrio entre as vantagens e desvantagens dos padrões.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No decorrer do presente estudo ficou evidenciada a incipiência de pesquisas realizadas no Brasil no que diz respeito ao uso da herpetofauna aquática no biomonitoramento da qualidade de ecossistemas aquáticos. Apenas nas regiões norte e centro-oeste foram realizadas pesquisas com esses grupos, todavia, regiões como o nordeste do Brasil, com áreas bastante impactadas e degradadas necessitam de incentivo para o monitoramento da saúde ambiental, sendo os testudines e crocodilianos uma opção recomendada para este fim. Paralelamente a esse fato, existe a falta de recursos e equipamentos nas instituições públicas, como as universidades, o que influencia diretamente na quantidade e qualidade dessas pesquisas, visto que estudos toxicológicos ainda são caros e necessitam de pessoal capacitado para manusear e utilizar os equipamentos.

Mesmo com métodos alternativos para coleta de material biológico não letal (Sangue, escama, carapaça, pele ou músculo) os pesquisadores continuam demonstrando interesse em procedimentos onde há o sacrifício do animal, isso por que já foi comprovado que órgãos internos aderem mais facilmente metais pesados em seus tecidos, como fígado e rins. Entretanto, com a crescente diminuição da biodiversidade ocasionada por fatores antrópicos, grupos de pesquisadores têm sido motivados a gerar discussões acerca da ética e limite no abate

destes organismos de forma plural, fundamentados em reflexões e conceitos referentes Bioética, sugerindo outros tecidos e evitando a morte de animais. A queratina e o sangue são apontados como bons preditores de metais pesados, relacionando os valores encontrados com órgãos internos, classe de tamanho, faixa etária e sexo. Entretanto, além da insuficiência de estudos que realizam este tipo de investigação no Brasil, outros fatores devem ser levados em consideração na avaliação de impactos ambientais, como fontes pontuais ou difusas, se há análise (além das amostras biológicas) de sedimento ou água onde o organismo está inserido, qual tipo de amostra.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alho C J R., Danni TMS, Pádua LFM (1984). Influência da temperatura de incubação na determinação do sexo da tartaruga da Amazônia *Podocnemis expansa* (Testudinata, Pelomedusidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 44: 305-311.
- Allender M. C., Dreslik M. J., Patel B., Luber E. L., Byrd J., Phillips C. A. & Scott J. W. (2015) Select metal and metalloid surveillance of free-ranging Eastern box turtles from Illinois and Tennessee (*Terrapene carolina carolina*). **Ecotoxicology** 24: 1269–1278.
- Barbieri E. (2010). Acute toxicity of ammonia in White shrimp (*Litopenaeus schmitti*) (Burkenroad, 1936, Crustacea) at different salinity levels. **Aquaculture**.302:231-7.
- Barbieri E. (2012) Acute toxicity of ammonia on juvenile Cobia (*Rachycentron canadum*, Linnaeus, 1766) according to the salinity. **Aquaculture Int.** 20:373-82.
- Beldomenico P M, Rey F, Prado WS, Villarreal JC, Muñoz-de-Toro M. Luque EH. (2007) In ovum exposure to pesticides increases the egg weight loss and decreases hatchlings weight of *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae). **Ecotoxicology and Environmental Safety** 68: 246–251.
- Bishop BE, Savitzky BA, Abdel-Fattah T. (2010) Lead bioaccumulation in emydid turtles of an urban lake and its relationship to shell disease. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 73: 565–571.
- Buenfil-Rojas AM, Álvarez-Legorreta T, Cedeño-Vázquez JR. (2015) Metals and Metallothioneins in Morelet's Crocodile (*Crocodylus moreletii*) from a Transboundary River Between Mexico and Belize. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 68: 265–273.
- Buenfil-Rojas AM, Alvarez-Legorreta T, Cedeño-Vázquez JR. (2018) Mercury and metallothioneins in blood fractions and tissues of captive Morelet's crocodiles in Quintana Roo, Mexico. **Chemosphere**, 199: 630-636.
- Burger J, Jeitner C, Schneider L, Vogt R, Gochfeld M (2009) Arsenic, cadmium, chromium, lead, mercury, and selenium levels in blood of four species of turtles from the Amazon in Brazil. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, 73:33-40.
- Buschinelli, JT, Barbosa, CQ, Trivelato GC. (1990). Chumbo x trabalhadores: um jogo lento e fatal. **Proteção**, 7:42-50.
- Correia J, Cesar R, Marsico E, Diniz G, Zorro TN, Castilhos Z (2014). Mercury contamination in alligators (*Melanosuchus niger*) from Mamirauá Reservoir (Brazilian Amazon) and human health risk assessment. **Environmental Science and Pollution Research**, 21:13522-13527.
- Correia J, Cesar R., Marsico E, Diniz GTN, Zorro MC. Castilhos Z. (2014) Mercury contamination in alligators (*Melanosuchus niger*) from Mamirauá Reservoir (Brazilian Amazon) and human health risk assessment. **Environmental Science and Pollution Research** 21: 13522–13527
- Delany M F, Bell JU. Sundlof F. (1988) Concentration of contaminants in muscle of the American alligator in Florida. **Journal of Wildlife Diseases** 24: 62–66

Domingues DF; Bertoletti E. (2006) Seleção, manutenção e cultivo de organismos aquáticos. In: Zagatto e Bertoletti (ed) Ecotoxicologia Aquática-princípios e aplicações. 1ª ed. São Carlos: Editora Rima, p. 153-184.

Eggins S, Schneider L, Krikowa F, Vogt RC, Silveira R., Maher W. (2015) Mercury concentrations in different tissues of turtle and caiman species from the Rio Purus, Amazonas, Brazil. **Environmental Toxicology and Chemistry** 34: 2771–2781.

Eggins S, Schneider L, Krikowa F, Vogt RC, Silveira RD, Maher W (2015). Mercury concentrations in different tissues of turtle and caiman species from the Rio Purus, Amazonas, Brazil. **Environmental toxicology and chemistry**, 34(12): 2771-2781.

Fadini PS, Jardim WF. (2001). Is the Negro River Basin (Amazon) impacted by naturally occurring mercury? **Science of the Total Environment**, 275: 71-82.

Freschi GPG, Dakuzaku Sinabucro C, Gomes Neto JA, Moraes MD. (2000). Espectrometria de Absorção Atômica multielementar simultânea com atomização eletrotérmica em forno de grafite uma revisão da técnica e aplicações. **Eclética Química**, 25:1.

Golet WJ, Haines, TA. 2001. Snapping turtles (*Chelydra serpentina*) as monitors for Hg contamination of aquatic environments. **Environmental Monitoring and Assessment**. 71: 211–20.

Green AJ, Planchart A (2018). The neurological toxicity of heavy metals: A fish perspective. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, 208:12-19.

Hays KA, McBee K (2007). Flow cytometric analysis of red-eared slider turtles (*Trachemys scripta*) from Tar Creek Superfund Site. **Ecotoxicology** 16:353–361.

Horai S., Itai T., Noguchi T., Yasuda Y., Adachi H., Hyobu Y., Riyadi A. S., Boggs A. S., Lowers R., Guillette Jr. L. J. & Tanabe S. (2014) Concentrations of trace elements in American alligators (*Alligator mississippiensis*) from Florida, USA [WWW document]. *Chemosphere* 108: 159–167 URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24698170>

Kehrig, H D A, Howard, BM, Malm O. (2008). Methylmercury in a predatory fish (*Cichla* spp.) inhabiting the Brazilian Amazon. **Environmental Pollution**, 154: 68-76.

Khan B. Tansel B. (2000) Mercury bioconcentration factors in American alligators (*Alligator mississippiensis*) in the Florida everglades. **Ecotoxicology and environmental safety**. 47: 54–58

Köhler H R., Triebkorn R. (2013). Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond. **Science**, 341: 759-765.

Lacerda LD, Malm O. (2008). Contaminação por mercúrio em ecossistemas aquáticos: uma análise das áreas críticas. **Estud. av. [online]**. 22: 173-190.

Lázaro, WL, De Oliveira RF, Dos Santos-Filho M, Da Silva CJ, Malm O, Ignácio ÁR, Díez S (2015) Non-lethal sampling for mercury evaluation in crocodilians. **Chemosphere**, 138: 25-32.

Martínez-López E, Gómez-Ramírez P, Espín S, Aldeguer MP, García-Fernández, AJ. (2017). Influence of a former mining area in the heavy metals concentrations in blood of free-living Mediterranean pond turtles (*Mauremys leprosa*). **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, 99(2): 167-172.

Nilsen FM, Kassim BL, Delaney JP, Lange TR., Brunell AM., Guillette Jr. LJ, Long SE, Schock TB., Guillette LJ, Long SE, Schock TB. (2017) Trace element biodistribution in the American alligator (*Alligator mississippiensis*). **Chemosphere** 181: 343–351.

Nilsen FM, Kassim BL, Delaney JP (2017) Trace element biodistribution in the American Alligator (*Alligator mississippiensis*). **Chemosphere**. 181: 343–351.

Nilsen FM, Parrott BB, Bowden JA, et al (2016). Global DNA methylation loss associated with mercury contamination and aging in the American alligator (*Alligator mississippiensis*). **Science of the total environment**, 545: 389-397.

Oliveira DCM., Correia RRS, Marinho CC, Davé JR., Guimarães JR. (2015). Mercury methylation in sediments of a Brazilian mangrove under different vegetation covers and salinities. **Chemosphere**.127:214-221.

Papathanassion E (1983). Effects of Cadmium and mercury ions on respiration and survival of the common prawn *Palaemon serratus*. (Pennant). **Rev Inst Oceanogr Med**. 70:21-35. 17.

Piña CI, Lance VA, Ferronato BO, Guardia I, Marques TS. Verdade LM. (2009) Heavy metal contamination in *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) (Testudines: Chelidae) in a River Basin, São Paulo, Brazil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**. 83: 771–775

Pozebon, D, Dressler, VL, Curtius AJ. (1999). Análise de cabelo: uma revisão dos procedimentos para a determinação de elementos traço e aplicações. **Química Nova**, 22: 838-41.

Preeze M, Govender D. Bouwman H. (2016) Heavy metals in muscle tissue of healthy crocodiles from the Kruger National Park, South Africa. **African Journal of Ecology** 44: 519–523.

Rendón-Valencia B., Zapata L. M., Bock B. C., Páez V. P. & Palacio J. A. (2014) Mercury levels in eggs, embryos, and neonates of *Trachemys callirostris* (Testudines, Emydidae). **Acta Biológica Colombiana** 19: 499–506

Schifer TDS, Junior SB, Montano MAE. (2005) Aspectos toxicológicos do chumbo. **Informa** 17: 67–72

Schneider L, Belger L, Burger J et al. (2011) Assessment of non-invasive techniques for monitoring mercury concentrations in species of Amazon turtles. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 93: 238-250.

Schneider L, Eggins S, Maher W, et al. (2015) An evaluation of the use of reptile dermal scutes as a non-invasive method to monitor mercury concentrations in the environment. **Chemosphere**, 119:163-170.

Schneider L, Peleja RP, Kluczkowski A, et al. (2012) Mercury concentration in the spectacled caiman and black caiman (alligatoridae) of the Amazon: implications for human health. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 63: 270-279.

Schneider, L, Belger, L, Burger, J, Vogt, RC (2009) Mercury bioaccumulation in four tissues of *Podocnemis erythrocephala* (Podocnemididae: Testudines) as a function of water parameters. **Science of the total environment**, 407: 1048-1054.

Skoog, DA, Holler FJ, Nieman TA (2002). *Princípios de Análise Instrumental*, 5ª ed., Bookman: Porto Alegre.

Smith DL, Cooper MJ, Kosiara JM, Lamberti GA. (2016) Body burdens of heavy metals in Lake Michigan wetland turtles. **Environmental monitoring and assessment**, 188: 128.

Sneddon J, Smith MV. Indushty S, Lee Y (1995). **Spectroscopy**. 10:26.

- Sneddon, J, Farah BD, Farah KS (1993) Microchem. J. 48:318
- Sorensen EMB. Copper. (1991) In: Sorensen EMB, editor. Metal Poisoning in Fish. Boca Raton: CRC Press; p. 235-84.
- Sousa RA, Campos NS, Orlando R.(2015) Preparação de amostras para análise elementar. Juiz de Fora, junho de 2015 17 p. Departamento de química UFJF.
- Srogi K. (2008) Levels and congener distributions of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in environmental and human samples: a review. **Environmental Chemistry Letters**, 6:1-28.
- Tellez M, Merchant M (2015) Biomonitoring heavy metal pollution using an aquatic apex predator, the American alligator, and its parasites. **Plos one**, 10: 1–19.
- Trillanes CE., Pérez-Jiménez JC., Rosíles-Martínez R, González-Jáuregui M. (2014) Metals in the caudal scutes of Morelet's crocodile (*Crocodylus moreletii*) from the southern Gulf of Mexico. **Bulletin of environmental contamination and toxicology** 93: 423–428.
- Vanz A, Mirlean N.; Baisch P (2003). Avaliação de poluição do ar por chumbo particulado: Uma abordagem geoquímica. **Química Nova**.26: 25-29.
- Viarengo A. (1989). Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. **Rev. Aquat. Sci**, 1: 295-317.
- Vieira LM, Nunes VDS, Amaral MDA, Oliveira AC, Hauser-Davis, RA, Campos RC (2011). Mercury and methyl mercury ratios in caimans (*Caiman crocodilus yacare*) from the Pantanal area, Brazil. **Journal of Environmental Monitoring**, 13(2): 280-287
- Vogel AI. **Química orgânica**. Livro Técnico, 1971.
- Vogt RC. (2001). Turtles of the Rio Negro. Conservation and Management of Ornamental Fish Resources of the Río Negro Basin, Amazonia, Brazil. Manaus (Brasil): Editora da Universidade do Amazonas, 245-262.
- Vogt RC. (2008). Tartarugas da Amazônia. INPA-Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Gráfica BÍblos, Lima, Peru, 104pp.
- Warner JK, Combrink X, Myburgh, JG, Downs CT (2016) Blood lead concentrations in free-ranging Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*) from South Africa. **Ecotoxicology**, 25(5): 950-958.
- Welz B, Sperling, M, (1999) Atomic Absorption Spectrometry, 3rd ed., Wiley-VCH: Weinheim.
- Welz B. (1999) Atomic absorption spectrometry—pregnant again after 45 years. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 54:14, p. 2081-2094.
- Yu S., Halbrook R. S., Sparling D. W. & Colombo R. (2011) Metal accumulation and evaluation of effects in a freshwater turtle. **Ecotoxicology** 20: 1801–1812.
- Zbigniew T, Wojciech P. (2006). Individual and combined effect of anthracene, cadmium, and chloridazone on growth and activity of SOD isoforms in three *Scenedesmus* species. **Ecotoxicology and environmental safety**, 65: 323-331.
- Zhou W, Juneau P, Qiu B. (2006). Growth and photosynthetic responses of the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to elevated levels of cadmium. **Chemosphere**, 65: 1738-1746.

APÊNDICE



Figura 3. Covos utilizados na captura de *C. latirostris* no reservatório do Tapacurá, São Lourenço da Mata, Pernambuco.



Figura 4. Busca ativa de *C. latirostris* no reservatório do Tapacurá. Captura manual, com uso do laço com cabo de aço.

APÊNDICE



Figura 5. Biometria realizada em *C. latirostris* capturados no reservatório do Tapacurá, Pernambuco. Comprimento Total da Cabeça (A); Largura da Cabeça (B); Pesagem de filhote (C); Comprimento Total e Rostro-Cloacal (D); Pesagem de adulto (E).

APÊNDICE

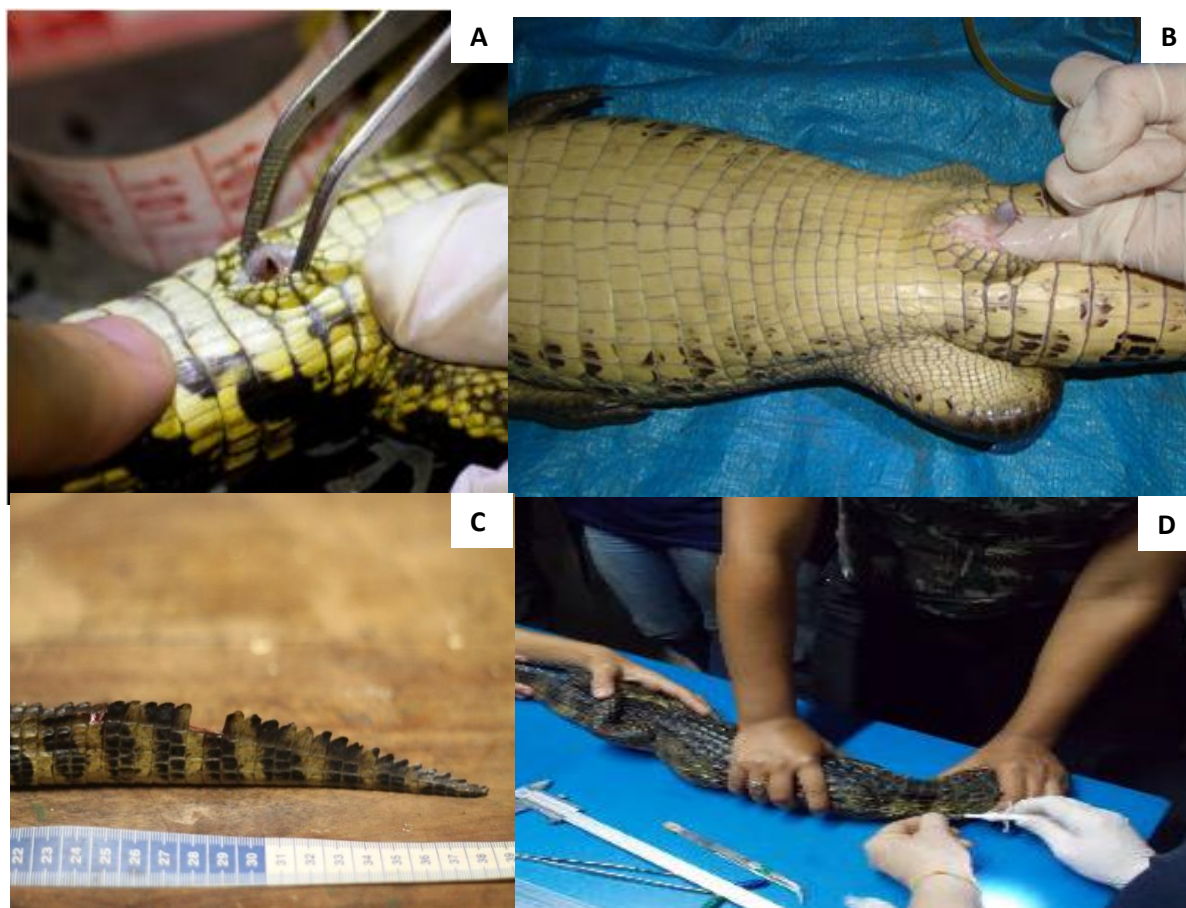


Figura 6. Sexagem de *C. latirostris* considerando a observação dos órgãos genitais (A) e (B); Marcação através do recorte das escamas caudais e microchip (C) e (D).

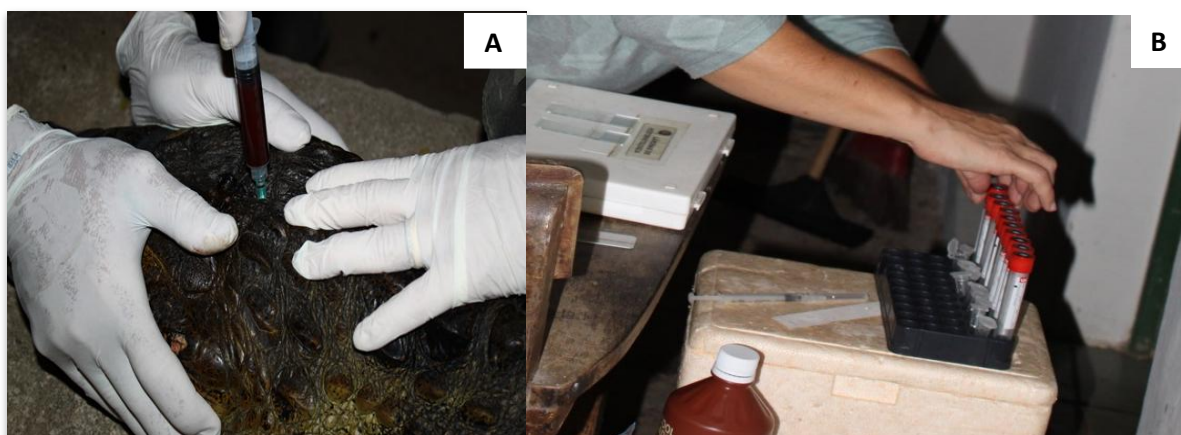


Figura 7. Coleta de sangue através do acesso ao seio occipital de *C. latirostris* capturados no reservatório do Tapacurá (A) e armazenamento das amostras (B).

APÊNDICE



Figura 8. Um dos pontos de coleta para busca passiva de Testudines e Crocodilianos (A). Captura de um indivíduo de *K. scorpioides* em uma das armadilhas na margem do reservatório do Tapacurá, São Lourenço da Mata, Pernambuco (B).

APÊNDICE

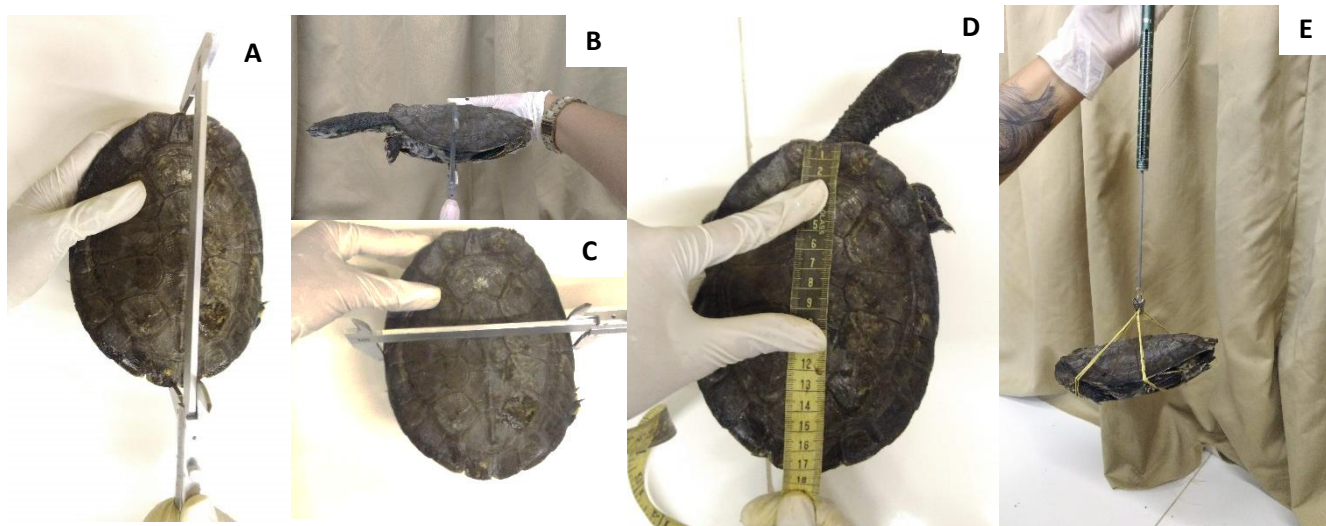


Figura 9. Etapas do processamento de *P. geoffroanus* capturado no reservatório do Tapacurá, São Lourenço da Mata, Pernambuco, Brasil. **A.** Comprimento Total (CT), **B.** Altura da Carapaça, **C.** Largura da Carapaça (LC), **D.** Comprimento Retilíneo da Carapaça (CRC), **E.** Pesagem.

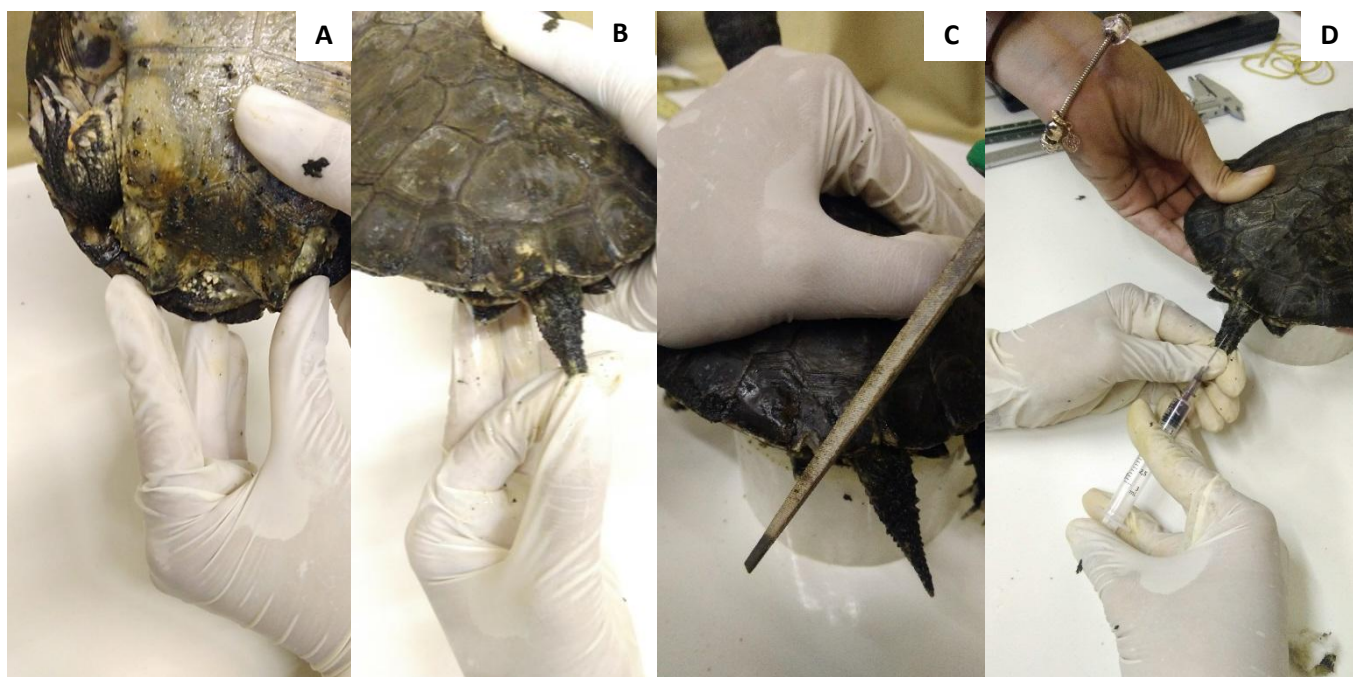


Figura 10. Etapas do processamento de *P. geoffroanus* capturado no reservatório do Tapacurá, São Lourenço da Mata, Pernambuco Brasil. **A.** e **B.** Sexagem, **C.** Marcação da Carapaça, **D.** Coleta de sangue a partir do acesso a veia caudal.

APENDICE



Figura 11. Preparo das amostras para digestão (A), filtração e diluição (B) no Laboratório de Química Aplicada a Fitoterápicos (LaqaF) da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

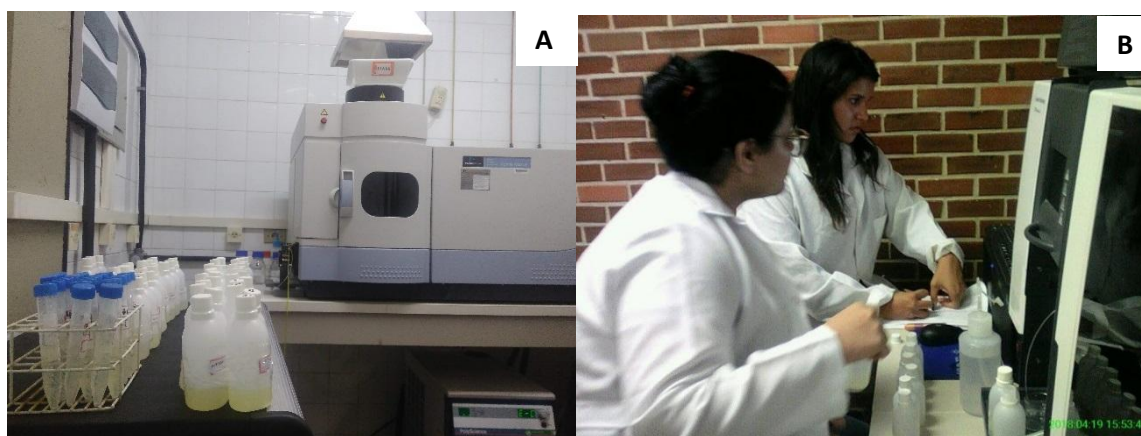


Figura 12. Leitura das amostras em ICP-OES (A) na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco (DQF/UFPE) e em EAA-Chamas (B), no Departamento de Tecnologia Rural da Universidade Federal Rural de Pernambuco (DTR/UFRPE).

