

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Metais pesados: prejuízos causados e répteis como bioindicadores de
monitoramento**

Amanda Andersson Pereira Stark

Pelotas, 2022

Amanda Andersson Pereira Stark

Metais pesados: prejuízos causados e répteis como bioindicadores de monitoramento

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Carine Dahl Corcini

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S795m Stark, Amanda Andersson Pereira

Metais pesados : prejuízos causados e répteis como bioindicadores de monitoramento / Amanda Andersson Pereira Stark ; Carine Dahl Corcini, orientadora ; Raqueli Teresinha França, coorientadora. – Pelotas, 2022.

70 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Ação antrópica. 2. Contaminação ambiental. 3. Danos celulares. 4. Estresse oxidativo. 5. *Trachemys dorbigni*. I. Corcini, Carine Dahl, orient. II. França, Raqueli Teresinha, coorient. III. Título.

CDD : 636.0896

Amanda Andersson Pereira Stark

Metais pesados: prejuízos causados e répteis como bioindicadores de monitoramento

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 04/03/2022

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Carine Dahl Corcini (Orientador)
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dr^a. Raqueli Teresinha França
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof^a. Dr^a. Cassia Bagolin da Silva
Doutor em Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof^a. Dr^a. Luciana Laitano Dias de Castro
Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Paraná

**Para meus pais, Marcia Christina Stark Andersson
e Eracy Lafuente Pereira.**

Agradecimentos

Agradeço aos que me acolheram na tranquilidade do mar. Aos que me abriram e mostraram o caminho na mata escura. Aos que me ensinaram sobre justiça. Aos que curaram meus males de corpo e alma. Aos que me trouxeram motivação e coragem. Aos que amenizaram meus medos. Aos que me proporcionaram novos fluxos de energia. Aos que me ensinaram sobre paciência e compreensão. Aos que me cobriram de amor e levaram minhas lágrimas. Aos que me protegeram. Axé!

À mãe natureza e, especialmente, aos tigrinhos, pela realização desse projeto.

À minha orientadora, prof. Carine Dahl Corcini, pela oportunidade de executar esse trabalho e pela confiança depositada em mim.

À prof. Raqueli Teresinha França, por sua generosidade em me ensinar, pela incansável ajuda e disponibilidade. Tuas orientações foram essenciais para essa conquista.

À minha família, pelo amor e apoio incondicional por toda vida. Obrigada por acreditarem em meu potencial.

Aos meus amigos tão fiéis, por me acompanharam em todo percurso do mestrado. Vocês foram essenciais para minha saúde emocional e tornaram tudo mais leve.

Ao meu parzinho, pelo apoio e compreensão nas horas mais difíceis. Teu incentivo, ajuda e carinho fizeram toda a diferença.

Aos meus amores peludos, minhas fontes de felicidade.

Aos colaboradores do Núcleo de Reabilitação da Fauna Silvestre – NURFS, Grupo de Estudos em Animais Selvagens – GEAS, Reprodução Animal Comparada - RAC, por imensa disponibilidade e ajuda nas coletas.

À UFPel e Pós-Graduação em Veterinária, pela oportunidade de pós-graduação e à Capes/CNPq pela concessão da bolsa. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul - FAPERGS por apoio financeiro.

Minha eterna gratidão.

***“Some people never go crazy, what truly horrible lives they must lead”
- Charles Bukowski***

Resumo

STARK, Amanda Andersson Pereira. **Metais pesados: prejuízos causados e répteis como bioindicadores de monitoramento.** 2022. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

Vários metais são essenciais para a saúde animal, pois fazem parte de funções fisiológicas, estruturais e reguladoras do organismo. Entretanto, enquanto alguns metais em determinadas concentrações são necessários ao metabolismo celular, outros podem ser potencialmente tóxicos. Diversos elementos circulam rapidamente por níveis tróficos, acumulando-se em tecidos animais os quais atingem concentrações deletérias para predadores, incluindo os seres humanos. Os répteis possuem propriedades biológicas interessantes para monitorar a qualidade de ambientes aquáticos em zona urbana, sendo considerados bons bioindicadores. Dessa forma, a dissertação teve como objetivo abordar a relação de metais pesados com répteis e determinar níveis de Cádmio em populações de *Trachemys dorbigni*, além de expor um conjunto de biomarcadores celulares promissores para avaliar efeitos tóxicos em nível celular nesta espécie. O artigo 1 aborda uma revisão publicada a respeito da relação entre metais pesados e estresse oxidativo em répteis, explorando tópicos a respeito de ação antrópica, bioindicadores ambientais, radicais livres e sistema antioxidante. A revisão foi concluída validando consequências negativas de atividades antrópicas com prejuízos no ecossistema como um todo. No artigo 2, realizou-se pesquisa referente à utilização de *T. dorbigni* como bioindicador de poluição ambiental por cádmio. A hipótese era de que os animais estivessem refletindo os danos causados por ambiente aquático potencialmente poluído. Constatou-se que os animais de zona urbana estão inseridos em uma biota aquática contaminada por este metal e sofrem com lesões em nível celular, refletindo possíveis danos hepáticos e musculares a partir de exposição crônica ao cádmio. Esta dissertação demonstra a importância da conscientização ambiental para prevenir e diminuir futuros danos à saúde de animais silvestres e seres humanos.

Palavras-chave: ação antrópica; contaminação ambiental; danos celulares; estresse oxidativo; *Trachemys dorbigni*.

Abstract

STARK, Amanda Andersson Pereira. **Heavy metals: damage caused and reptiles as monitoring bioindicators**. 2022. 68f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

A variety of metals are essential for animal health, as they are part of the body's physiological, structural and regulatory functions. However, while some metals in specific concentrations are necessary for cellular metabolism, others can be potentially toxic. Several elements circulate rapidly through trophic levels, accumulating in animal tissues that reach concentrations harmful to predators, including humans. Reptiles have interesting biological properties to monitor the quality of aquatic environments in urban areas, being considered good bioindicators. Therefore, the dissertation aimed to address the relationship of heavy metals with reptiles and determine Cadmium levels in populations of *Trachemys dorbigni*, in addition to exposing a set of promising cellular biomarkers to assess toxic effects at the cellular level in this species. Article 1 addresses a published review that investigated heavy metal exposure and the associated oxidative stress in reptiles, exploring topics about anthropic action, environmental bioindicators, free radicals and the antioxidant system. The review was concluded by validating the negative consequences of anthropic activities with damage to the ecosystem. In article 2, the research used *T. dorbigni* as a bioindicator of environmental pollution by cadmium. The hypothesis was that the animals reflected the damage caused by a potentially polluted aquatic environment. It was found that animals from urban areas are inserted in an aquatic biota contaminated by this metal and suffer from injuries at the cellular level, reflecting possible liver and muscle damage from chronic exposure to cadmium. This dissertation demonstrates the importance of environmental awareness to prevent and reduce future damage to the health of wild animals and humans.

Keywords: anthropic action; environmental contamination; cell damage; oxidative stress; *Trachemys dorbigni*.

Lista de Figuras

Figura 1	Exemplar filhote de <i>Trachemys dorbigni</i>	19
Figura 2	Tabela periódica com elementos de relevância ecotoxicológica, adaptada de Grillitsch e Schiesari (2010).....	21

Artigo 2

Figura 1	Mapa demonstrativo das áreas de coleta em zona urbana (Ponto A) e zona rural (Ponto B) da cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul	48
----------	--	----

Lista de Tabelas

Tabela 1	Média \pm EP de parâmetros biométricos obtidos de captura de <i>Trachemys dorbigni</i> na zona urbana e zona rural na cidade de Pelotas em 2021.....	49
Tabela 2	Níveis de Cd (média \pm EP) em amostras de água do habitat e de sangue e carapaça de <i>Trachemys dorbigni</i> de zona urbana e zona rural na cidade de Pelotas em 2021.....	49
Tabela 3	Média \pm EP de parâmetros hematológicos e bioquímicos obtidos de captura de <i>Trachemys dorbigni</i> na zona urbana e zona rural na cidade de Pelotas em 2021.....	49
Tabela 4	Média \pm EP de parâmetros obtidos por citometria de fluxo: índice de fragmentação de DNA (DFI), peroxidação lipídica (LPO), fluidez de membrana (FLU), espécies reativas de oxigênio (ROS) e necrose de <i>Trachemys dorbigni</i> na zona urbana e zona rural na cidade de Pelotas em 2021.....	49

Lista de Abreviaturas e Siglas

(CHOH) _n	Açúcares
ACAP	Capacidade Antioxidante Contra Radicais Peroxil
ALT	Alanina Aminotransferase
Art	Artigo
As	Arsênio
AST	Aspartato Aminotransferase
CAT	Catalase
Cd	Cádmio
CK	Creatinofosfoquinase
Co	Cobalto
COMPAM	Conselho Municipal de Proteção Ambiental de Pelotas
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
Cr	Cromo
CLC	Comprimento de Largura da Carapaça
Cu	Cobre
dL	Decilitro
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DNPH	2,4- Dinitrofenilhidrazina
ER	Espécies Reativas
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
FDI	Índice de Fragmentação de DNA
Fe	Ferro
FMC	Frequência de Células Micronucleadas
g	Gramas
GR	Glutathione Redutase
GSH	Glutathione
GSH-Px	Glutathione peroxidase

GST	Glutathione-S-transferase
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
Hg	Mercúrio
HMGR	3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase
HT	Hematócrito
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
ICMBIO-RAN	Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IgM	Imunoglobulina M
L	Litro
LPO	Peroxidação Lipídica
MDA	Malondialdeído
mg	Miligrama
mL	Mililitros
mm	Milímetros
Mn	Manganês
Ni	Níquel
nm	Nanômetro
NO ₂	Nitritos
NO ₃ ⁻	Nitratos
O ₂	Oxigênio
O ₂ ^{*-}	Superóxido
O ₃	Ozônio
OH	Hidroxila
PAHs	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

Pb	Chumbo
PC	Proteína Carbonil
pH	Potência de Hidrogênio
PIB	Produto Interno Bruto
PPT	Proteína Plasmática Total
RAMB	Relatório Anual de Qualidade Ambiental do Município de Pelotas
RPM	Rotações por minuto
S	South
Se	Selênio
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SOD	Superóxido Dismutase
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
UFPEL	Universidade Federal de Pelotas
UV	Ultravioleta
W	West
Zn	Zinco
ZnO	Óxido de zinco
µL	Microlitro

Lista de Símbolos

α	Alfa
β	Beta
©	Copyright
°	Graus
\geq	Maior ou igual a
$<$	Menor
'	Minutos
%	Porcentagem
®	Registered Symbol
”	Segundos

Sumário

1 Introdução.....	16
1.1 Répteis como bioindicadores.....	16
1.1.2 <i>Trachemys dorbigni</i> como bioindicador de poluição.....	18
1.2 Metais pesados.....	20
1.3 Marcadores de metabolismo oxidativo.....	22
1.4 Ações antrópicas na cidade de Pelotas.....	23
2 Artigos.....	25
2.1 Artigo 1.....	25
2.2 Artigo 2.....	40
3 Considerações Finais.....	50
Referências.....	51
Anexos.....	66

1 Introdução

Os ecossistemas estão sujeitos a uma grande variedade de contaminantes, entre eles os metais. A remediação da poluição dos metais se torna difícil devido a sua alta persistência e sua baixa degradabilidade no ambiente (ADEL et al., 2015), sendo propagados no mesmo como efluentes, poluentes industriais e veiculares, além do descarte incorreto de resíduos sólidos, afetando e lesando a qualidade de solos e águas superficiais e subterrâneas (BISINOTI et al, 2004; CASTRO, 2007). Em ambiente aquático, os metais potencialmente tóxicos ameaçam a saúde humana e animal por seus impactos na qualidade das águas, alimentos e ecossistemas. Estes, por não serem biodegradáveis, têm a tendência de se acumularem em organismos vivos aos quais ocasionam diversos distúrbios metabólicos e doenças.

Os organismos vivos elencados como bioindicadores respondem à face de contaminante com reações comportamentais ou metabólicas mensuráveis, os quais elucidam alguma mudança no habitat. Os biomarcadores informam sobre as alterações em nível celular e podem fornecer previsões sobre as consequências ecológicas, desde níveis mais baixos até poluentes em concentrações subletais (ANDREA, 2010). Entretanto, a qualidade ambiental não é uma virtude apenas para fauna e flora que ali habitam, pois engloba elementos da atividade humana com reflexos diretos na vida do homem (BURTON, 1968).

1. 1 Répteis como bioindicadores

Os répteis são um grupo de animais, composto por lagartos, serpentes, anfisbenas, quelônios e jacarés (ICMBio, 2018), que possuem características distintas de outros, como a capacidade de utilizar fontes externas de calor para regular a temperatura corporal (ectotermia) e a pele recoberta por escamas. Estes animais estão dispersos em diversas biotas, os quais desempenham papéis importantes em sistemas naturais. Possuem características de predadores e presas, hábitos carnívoros, herbívoros ou onívoros, dispersores de sementes e espécies comensais.

Além disso, ainda servem como bioindicadores ambientais, e, desta forma, fornecem informações singulares e específicas para elucidar os processos biológicos nos sistemas em que estão inseridos (READ, 1998; RAXWORTHY et al., 2008).

Estes animais possuem algumas vias de exposição importantes, sendo usualmente a ingestão voluntária de alimentos ou ingestão acidental de solo ou sedimentos, as quais são geogenicamente ou antropogenicamente ricas em metais (WINGS, 2007). Ainda há a via respiratória (pulmonar), através da inalação e expiração de elementos tóxicos, e, por fim, a absorção e eliminação através do sistema tegumentar, característica particular de répteis com troca transcutânea de água e gases (LILLYWHITE, 2006). Metais que não são absorvidos no intestino dos vertebrados são eliminados através das fezes, podendo ser uma amostra orgânica com elevada concentração de metais pesados (XU et al., 2006).

Dessa forma, os répteis aquáticos e semiaquáticos demonstraram ser úteis para monitorar a contaminação por metais pesados em habitats de água doce e salgada, dado que esses elementos possuem capacidade de bioacumulação variada em diferentes tecidos, assim, considerados bons bioindicadores de contaminação ambiental (BURGER et al. 2009; ADEL et al., 2015). A par de elevados níveis tróficos, citam-se répteis classificados em Squamata, Crocodilia e Chelonia, tais ordens que proporcionam um largo perfil de contaminação no fluxo alimentar. Em ambiente aquático, em adição às relações predatórias, ainda há o comportamento migratório, o qual pode oferecer informações de diferentes regiões geográficas a respeito da poluição em corpos d'água (SILVA, 2011; SILVA, 2020). Assim, répteis terrestres, aquáticos e semiaquáticos ilustram a realidade do cenário nocivo por contaminação de metais, presentes em todo panorama ambiental com atividades antrópicas. Estas podem influenciar diretamente no comportamento dos animais de vida livre, atingindo todo aspecto ecológico desses, visto que acometem negativamente a nível celular provocando danos à saúde, e, conseqüentemente, redução da taxa de reprodução e sobrevivência da espécie (HUEZA et al., 2008).

1.1.2 *Trachemys dorbigni* como bioindicador de poluição

A Ordem Chelonia é composta por animais que possuem características únicas em sua morfologia e fisiologia. Estes dispõem de um corpo na face interior de uma estrutura óssea, sendo revestida externamente por um mosaico de escudos córneos epidérmicos. Essa característica faz parte da morfologia de 14 famílias e, aproximadamente, 330 espécies de quelônios à nível mundial. Esta particularidade é extremamente conservativa, com poucas mudanças em cerca de 200 milhões de anos (PRITCHARD, 1979; IVERSON, 1992; POUGH et al., 1996; DUPRE et al., 2007; FRITZ & HAVAS, 2007; BOUR, 2008; POUGH et al., 2008). Os exemplares desta Ordem estão dispersos em escalas geográficas distintas, isto devido às características comportamentais e fatores antrópicos globais. Fragmentação de habitat, poluição ambiental, mudanças climáticas, introdução de espécies invasoras e superexploração para comercialização no mercado pet e consumo são fatores que levam estes animais ao declínio de população (ERNEST; BARBOUR, 1989; GIBBONS et al., 2000; BUJES, 2010).

No Estado do Rio Grande do Sul ocorrem um total de onze espécies de quelônios, sendo cinco marinhas e seis de água doce. As espécies dulcícolas notificadas e encontradas são: *Phrynops geoffroanus*, *P. hillarii*, *P. williamsi*, *Hidromedusa tectifera*, *Acanthochelys spixii* e *Trachemys dorbigni*. (LEMA & FERREIRA, 1990). O gênero *Trachemys* contempla espécies pontualmente distribuídas em território Sul-Americano. Na Colômbia e Venezuela foi identificada a espécie *T. callirostris* (PRITCHARD & TREBBAU, 1984), *T. dorbigni* (Figura 1) na Argentina, Brasil e Uruguai (FREIBERG, 1967), e *T. adiutrix* somente no Brasil (VANZOLINI, 1995), esta é localizada estritamente no nordeste do país, no Maranhão e Piauí (BATISTELLA et al., 2008).



Figura 1 - Exemplar filhote de *Trachemys dorbignii*

A espécie *T. dorbignii* conhecida popularmente como Tigre d'água (português); Brazilian slider, D'Orbigny slider turtle (inglês); morrocoyo, tortuga pintada (espanhol) (BUJES & VERRASTRO, 2007) é um dos quelônios dulcícolas mais abundantes no Sul do Brasil, presente em diversos ecossistemas aquáticos (BUJES & VERRASTRO, 2008). São animais de até 267 mm de comprimento de largura de carapaça (CLC), carapaça oval a alongada, moderadamente convexa (mais acentuada nas fêmeas), coloração marrom a verde-oliva com manchas de formas variadas e tons avermelhados, alaranjados e/ou amarelos sobre cada escudo. Os exemplares juvenis apresentam inúmeras áreas claras vazias as quais tornam-se progressivamente mais escuras com a idade até que toda a superfície do plastrão se torne escura. Machos apresentam melanização ontogenética: a pele dos membros, cabeça e cauda torna-se enegrecida; os tons coloridos da carapaça e plastrão sofrem despigmentação e/ou esmaecem. Ambos os sexos apresentam membros e pescoço verdes a marrons, com listras amarelas (ERNEST et al., 1989; CABRERA, 1998).

Estes animais ocupam ambientes aquáticos como lagunas, rios, banhados, lagos, açudes com abundância de vegetação, poças e cavas (BUJES; VERRASTRO, 2008); assim como ambientes fortemente antropizados como corpos d'água e locais com drenagem de água das plantações de arroz com deposição de agrotóxicos (BUJES & VERRASTRO, 2007; FAGUNDES et al., 2010). Em vista dessa diversa área de distribuição, a espécie *T. dorbignii* não se encontra na lista de animais ameaçados

de extinção do Rio Grande do Sul (FONTANA et al., 2003). Porém, estes animais vivem em habitats que são frequentemente acometidos por ações antrópicas, de forma indireta ou direta, em diversos estágios da vida, como desova, hibernação e outros. As contaminações em água, ar, solo, flora e fauna afetam diretamente a espécie com fenômenos de biomagnificação e bioacumulação (SOUZA et al., 2018; MENDONÇA & FERREIRA, 2019). Assim, a degradação da qualidade da água, ocupação indiscriminada em áreas de desova, bem como intervenção humana em consumo de carnes e derivados, e comércio ilegal destinado a animais de estimação, são atividades que atuam diretamente na instabilidade das populações dessa espécie (MOLINA & GOMES, 1998; GIBBS & SHRIVER, 2002; BUJES; VERRASTRO, 2008), dado que, a espécie é considerada o segundo réptil mais comum no comércio ilegal de animais de “pet shop” no Brasil (ICMBIO-RAN, 2011).

1.2 Metais pesados

Os metais pesados são definidos como elementos metálicos que têm uma densidade relativamente alta em comparação com a água. A contaminação ambiental por esses metais pode ocorrer através de fenômenos naturais ou pela ampla atividade industrial (SOUZA et al., 2018). Vários metais são essenciais para o desenvolvimento biológico, no entanto, seu excesso pode trazer prejuízos para a saúde humana e animal. Outros são considerados tóxicos, mesmo em baixas concentrações, destacando-se o arsênio (As), chumbo (Pb), cádmio (Cd) e mercúrio (Hg) (MCKELVEY et al., 2007) como demonstrado na figura 2.

Grupo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18				
Período																						
1																						
2	3 Li	4 Be ⊙																5 B				
3	11 Na ③	12 Mg ③																13 Al ⊙	14 Si			
4	19 K ③	20 Ca ③	21 Sc	22 Ti ⊙	23 V ②	24 Cr !!! ②	25 Mn ! ③	26 Fe !! ③	26 Co ! ②	27 Ni !! ②	28 Cu !!! ③	30 Zn !!! ③	31 Ga	32 Ge	33 As !!! ②	34 Se !!! ②						
5	37 Rb ①	38 Sr ①	39 Y	40 Zr ⊙	41 Nb	42 Mo ③	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag !!! ⊙	48 Cd !!! ①	49 In	50 Sn !!! ⊙	51 Sb !!! ⊙	52 Te						
6	55 Cs ⊙	56 Ba ! ①	La*	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt ⊙			80 Hg !!! ⊙	81 Tl !!! ⊙	82 Pb !!! ①	83 Bi	84 Po	85 At				
7	87 Fr	88 Ra	Ac**																			

Símbolos e abreviações

!!!/!/! - Relevância ecotoxicológica de elementos metálicos: [!!!] elevada; [!!] média; [!] "alguma" (Hellawell 1986; Freedman 1995; Hedgcock 1995).

③②①⊙ - Elementos metálicos essenciais. [3] essenciais para a maioria dos organismos; [2] essenciais para para muitos organismos; [1] talvez sejam essenciais para alguns organismos; [0] não essenciais para todos os organismos (Merian 1991; Siegel 2002; USEPA 2007)

* - Série dos lantanídeos

** - Série dos actinídeos

Figura 2 – Tabela periódica com elementos de relevância ecotoxicológica, adaptada de Grillitsch e Schiesari (2010)

Tratando-se do cádmio (Cd), é um elemento encontrado de forma natural em sedimentos de rochas e fosfatos marinhos. Em indústrias seu uso é focado na produção de ligas, pigmentos e baterias (WILSON, 1988). A exposição do ser humano ao Cd ocorre, principalmente, por meio de tabagismo (IARC, 1993; PASCHAL et al., 2000), ainda, SATARUG et al. (2003) citam alimentos como vegetais folhosos, batata, grãos, sementes, fígado, rim, crustáceos e moluscos como exemplo de pequenas quantidades de Cd que podem ser ingeridas. Este metal, em grandes quantidades, gera uma série de alterações orgânicas graves (BALSET & CRAVEY, 1995), como danos às células através das espécies reativas ao oxigênio (STOHS & BAGCHI, 1995), que lesam o DNA e interrompem a síntese de ácidos nucleicos e proteínas, induzem expressão de metalotioneínas (HWUA & YANG, 1998), heme oxigenase, glutiona transferase, proteínas de choque térmico e DNA polimerase β (LANDOLPH, 1994).

1.3 Marcadores de metabolismo oxidativo

Em sistemas biológicos, sabe-se que metais pesados afetam organelas celulares bem como seus componentes, tais como membrana celular, mitocôndria, lisossomo, retículo endoplasmáticos, núcleos e enzimas envolvidas no metabolismo, desintoxicação e reparo de danos. A nível de DNA e proteínas celulares, verificou-se que íons metálicos causam danos e alterações conformacionais que podem levar a modulação do ciclo celular, carcinogênese ou apoptose (LEAL, 2017).

O organismo produz constantemente diversas espécies reativas (ER), tais como as espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN), entre outras, as quais atuam fisiologicamente em funções como: fagocitose; sinalização celular; controle da pressão sanguínea; apoptose e envelhecimento (FERNANDEZ et al., 2007). O termo “espécies reativas” refere-se a radicais livres e outras moléculas que são igualmente reativas, como por exemplo peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ozônio (O_3), nitritos (NO_2) e nitratos (NO_3^-) (BARREIROS et al., 2006). Os radicais livres são átomos ou moléculas que possuem número ímpar de elétrons em sua última camada, o que confere alta reatividade a esses átomos ou moléculas (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

Quando houver excesso de produção destas ERs e/ou depleção do sistema antioxidante, ocorrerá o estresse oxidativo, o qual resultará em lesões celulares e conseqüentemente no surgimento de doenças (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; FERNANDEZ et al., 2007). O dano celular resulta da ação de ERO sobre as macromoléculas, tais como açúcares $(CHOH)_n$, DNA, proteínas e lipídeos (VASCONCELOS et al., 2007). Todos os organismos aeróbios estão suscetíveis ao estresse oxidativo, pois durante a respiração mitocondrial pequenas porções do oxigênio consumido (aproximadamente 2%) são convertidas em espécies altamente reativas, como superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e H_2O_2 (PAPA e SKULACHEV, 1997).

Marcadores de estresse oxidativo, como a capacidade antioxidante contra radicais peroxil (ACAP), peroxidação lipídica (LPO), proteína carbonil (PC) e frequência de células micronucleadas (FMC), têm sido usados com sucesso como biomarcadores de exposição a contaminantes (inclusive metais) em uma variedade de espécies (VAN DER OOST et al., 2003; VALDIVIA et al., 2007; MACHADO et al.,

2013; MACHADO et al., 2014). Em adição, é possível utilizar dados de hematócrito, triglicerídeos, proteínas séricas totais, colesterol total, número de reticulócitos e as enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), creatinoquinase (CK), catalases e peroxidases para indiretamente avaliar exposição de metais em répteis (ELEZAJ et al., 1983; DAY et al., 2007).

1.4 Ações antrópicas na cidade de Pelotas

A cidade de Pelotas está localizada no Rio Grande do Sul, região Sul do Brasil e, no ano de 2021, apresentou uma população estimada em 343.826 pessoas (IBGE, 2021). As atividades comerciais do município merecem destaque para geração do Produto Interno Bruto (PIB), com notáveis trechos mercatórios e consequente elevado fluxo de automóveis (226.769 veículos) (IBGE, 2020). Há também considerável participação do Setor Secundário e Setor Primário, com ênfase em indústrias de produtos pecuários, e potente cultivo e venda de arroz, respectivamente (CONCEIÇÃO et al., 2009). Em contrapartida, a crescente atividade econômica contribui ativamente com a poluição, sendo agravada pela industrialização e poluentes advindos da queima de combustíveis fósseis (KRÜGER et al., 2021). Além disso, a cidade ainda conta com déficits nas informações referentes ao ambiente, visto que o último dado a respeito de adequação de esgotamento sanitário é de 2010, com 82,4% (IBGE, 2010), sem levar em conta possível aumento de área habitável até o presente momento.

De acordo com o Relatório Anual de Qualidade Ambiental do Município de Pelotas (RAMB), documento elaborado e fornecido pela Secretaria de Qualidade Ambiental com finalidade de informar a situação ambiental do município, no ano de 2019, a fiscalização recebeu denúncias fracionadas por setores, sendo estas: agressão ao meio ambiente (8%), atividade sem licença (3%), disposição de resíduos (9%), podas/supressão arbórea (15%), maus tratos (51%), poluição atmosférica (8%), poluição sonora (4%) e ocupação de área de interesse ambiental (2%). A área de interesse da pesquisa está localizada nos bairros Areal e Laranjal, concentrando 28 processos de licença ambiental, 17 processos de resíduos, 2 de efluentes e 1 para adequar as lixeiras, de um total de 258 processos, procedentes de 12 áreas da cidade. Devido a pandemia de Covid-19, houve uma flexibilização no cumprimento do prazo

para a realização da confecção do documento acerca da qualidade ambiental do Município de Pelotas (COMPAM, 2016; COMPAM, 2018; COMPAM, 2019).

A presente dissertação tem como objetivo abordar a relação dos répteis com o estresse oxidativo por efeito de metais pesados, explorando tópicos a respeito de ação antrópica, bioindicadores ambientais, radicais livres e sistema antioxidante. Por fim, abordar a relação específica de *Trachemys dorbigni* com o Cádmio, demonstrando concentrações do metal em sangue, carapaça e água, com avaliação de biomarcadores de lesão celular em exemplares de zona urbana e rural na cidade de Pelotas, em 2021.

2 Artigos

2.1 Artigo 1

Metais pesados e sua relação com o estresse oxidativo em répteis

Amanda Andersson Pereira Stark, Carolina Oliveira Bonfada, Gabriel da Silva Zani, Lara Silva de Paula, Mariana Accorsi Teles, Antonio Sergio Varela Junior, Carine Dahl Corcini, Raqueli Teresinha França

Aceito para publicação na revista Research, Society and Development

Metais pesados e sua relação com o estresse oxidativo em répteis

Heavy metals and their relation with oxidative stress in reptiles

Metales pesados y su relación com el estrés oxidativo em reptiles

Amanda Andersson Pereira Stark

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6926-2493>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: a.apstark@hotmail.com

Carolina Oliveira Bonfada

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5191-3115>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: carolinabonfada5@gmail.com

Gabriel da Silva Zani

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9707-8183>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: gzani27@gmail.com

Lara Silva de Paula

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6529-8739>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: lsplara@yahoo.com

Mariana Accorsi Teles

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8721-0312>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: mariaccteles@gmail.com

Antonio Sergio Varela Junior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4901-5118>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: varelajras@gmail.com

Carine Dahl Corcini

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5683-7801>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: corcinicd@gmail.com

Raquel Teresinha França

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8452-5490>

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: raquelifranca@gmail.com

Resumo

Diversos metais pesados e metalóides desempenham funções vitais nos organismos vivos. Por outro lado, a exposição excessiva pode provocar possíveis efeitos morfológicos e fisiológicos negativos em répteis. A ação antrópica pode interferir diretamente no desequilíbrio fisiológico desses animais, dado que os xenobióticos presentes em resíduos de atividades humanas acabam por gerar espécies reativas de oxigênio nos organismos, essa condição é estabelecida quando a produção de radicais livres supera as barreiras antioxidantes. É possível realizar monitoramento ambiental para estudos ecotoxicológicos por meio de bioindicadores e biomarcadores moleculares, utilizando técnicas não invasivas para a amostragem, sem prejudicar a vida selvagem. O objetivo desta revisão literária foi averiguar informações sobre a influência de metais pesados e sua relação com o estresse oxidativo, ações antrópicas, bioindicadores ambientais e suas relações com danos metabólicos em répteis. Para realizar essa revisão, foram utilizados artigos em bases científicas PubMed, portal de periódicos CAPES, Google acadêmico e SciELO. A partir desta pesquisa, notou-se que a ação antrópica tem impacto prejudicial tanto para os animais quanto para o homem, visto que diversos metais e metalóides são disseminados através de resíduos de atividades industriais e doméstica, e quando dispostos de forma irresponsável em biota marinha ou terrestre podem ocasionar fenômenos de bioacumulação e biomagnificação. Isto exposto, esse cenário leva a diversos danos metabólicos, resultando em lesões celulares e disfunção orgânica. O impacto que o uso abusivo de metais pesados e contaminantes no geral pode resultar em remodelagem dos ecossistemas, com efeitos diretos na conservação de répteis.

Palavras-chave: Ação antrópica; Antioxidante; Contaminantes; Danos metabólicos; Reptilia.

Abstract

Several heavy metals and metalloids perform vital functions in living organisms. On the other hand, excessive exposure can cause possible negative morphological and physiological effects in reptiles. Anthropogenic action can directly interfere with the physiological imbalance of these animals, given that xenobiotics present in residues of human activities end up generating reactive oxygen species in the animal's organisms, this condition is established when the production of free radicals overcomes antioxidant barriers. It is possible to carry out environmental monitoring for ecotoxicological studies using bioindicators and molecular biomarkers, using non-invasive sampling techniques, without harming the species. The objective of this literature review was to research information about the influence of heavy metals and their relationship with oxidative stress, anthropic actions, environmental bioindicators and their relationship with metabolic damage in reptiles. To carry out this review, articles in the scientific databases PubMed, CAPES journals portal, Google academic and SciELO were used. From this research, it was noted that human action has a harmful impact on both animals and man, since several metals and metalloids are disseminated through residues from industrial and domestic activities, and when discarded irresponsibly in marine or terrestrial biota can cause the bioaccumulation and the biomagnification phenomena. Thus exposed, this scenario leads to several metabolic damages, resulting in cell injury and organ dysfunction. The impact of the abusive use of heavy metals and contaminants in general can result in remodeling ecosystems, with direct effects on the conservation of reptiles.

Keywords: Anthropogenic action; Antioxidant; Contaminants; Metabolic damages; Reptilia.

Resumen

Varios metales pesados y metaloides realizan funciones vitales en los organismos vivos. Por otra parte, una exposición excesiva puede provocar posibles efectos morfológicos y fisiológicos negativos en los reptiles. La acción antrópica puede interferir directamente en el desequilibrio fisiológico de estos animales, dado que los xenobióticos presentes en los residuos de las actividades humanas terminan generando especies reactivas de oxígeno en los organismos, esta condición se establece cuando la producción de radicales libres supera las barreras antioxidantes. Es posible realizar monitoreo ambiental para estudios ecotoxicológicos utilizando bioindicadores y biomarcadores moleculares, utilizando técnicas de muestreo no invasivas, sin dañar la vida silvestre. El objetivo de esta revisión bibliográfica fue investigar información sobre la influencia de los metales pesados y su relación con el estrés oxidativo, acciones antrópicas, bioindicadores ambientales y su relación con el daño metabólico en reptiles. Para realizar esta revisión se utilizaron artículos en bases de datos científicas PubMed, portal de revistas CAPES, Google académico y SciELO. De esta investigación se anotó que el acción humana tiene un impacto nocivo tanto en los animales como el hombre, ya que varios metales y metaloides se diseminan a través de los residuos de las actividades industriales y domésticas, y cuando se desechan irresponsablemente en la biota marina o terrestre pueden causar bioacumulación y fenómenos de biomagnificación. Dicho esto, este escenario conduce a varios daños metabólicos, lo que resulta en daño celular y disfunción orgánica. El impacto que el uso abusivo de metales pesados y contaminantes en general puede ocasionar en la remodelación de los ecosistemas, con efectos directos en la conservación de los reptiles.

Palabras clave: Acción antropogénica; Antioxidante; Contaminantes; Daños metabólicos; Reptilia.

1. Introdução

A Classe Reptilia possui quatro Ordens: Chelonia, Crocodylia, Squamata e Rhynchocephalia. Engloba um grande grupo de animais que possuem características ectotérmicas, ou seja, utilizam de fontes externas de calor para manter sua temperatura, bem como a presença de pele seca queratinizada com escamas ou escudos. Esses animais habitam diferentes ambientes e podem possuir hábitos aquáticos, terrestres, arborícolas ou semifossoriais, dessa forma são constantemente expostos a poluição ambiental através da água, solo e alimentos contaminados (Márquez-Ferrando et al., 2009; ICMBio, 2018; Simonyan et al., 2018).

Os répteis são animais ectotérmicos sensíveis a mudanças de temperatura, possuem metabolismo lento e prolongada recuperação quando expostos a agentes tóxicos e xenobióticos (Schaumburg et al., 2012). Devido sua vulnerabilidade a uma ampla gama de estressores ambientais, é importante ressaltar que as altas temperaturas

induzem o desequilíbrio entre a produção de substâncias oxidantes e defesas antioxidantes, resultando em estresse oxidativo (Han et al., 2020).

A degradação ambiental tem impacto significativo no habitat de répteis terrestres. O avanço da fronteira agropecuária, urbanização e extrativismo afeta intrinsecamente os nichos ecológicos a eles associados e, devido a essas atividades, podem acumular diversos microelementos em seus tecidos orgânicos (Frossard et al., 2017). Os répteis presentes em ambientes aquáticos estão submetidos a condições ambientais distintas às enfrentadas pelos animais terrestres. As problemáticas mais comumente encontradas incluem: alterações climáticas, altas concentrações de compostos orgânicos degradados (como nitrato e nitrito), variações de pH do meio e baixas concentrações de oxigênio, esses fatores são classificados como estressores ambientais, os quais refletem diretamente na saúde destes animais (Trasviña-Arenas et al., 2013).

A perda e fragmentação de habitats naturais pode ter sua origem através de exploração ou incorporação de contaminantes ambientais, tais como: arsênio (As), cádmio (Cd), cobalto (Co), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), níquel (Ni), mercúrio (Hg) e zinco (Zn), os quais estão presentes desde as atividades industriais, como o uso de fertilizantes, pesticidas e herbicidas por expansão agrícola, produção de plásticos e gás, mineração; até produções domésticas, como esgotos e resíduos, estes lançados de forma acidental em corpos d'água, favorecendo a contaminação do ambiente aquático. Por fim, devido à difusão de agentes tóxicos, em algum momento esses xenobióticos acabam entrando em contato com os animais (Rashed, 2001; Chandran et al., 2005; Arias et al., 2007; Varol, 2011; Ortiz-Santaliestra et al., 2019; Stark et al., 2021).

Os efeitos nocivos da exposição e bioacumulação de contaminantes ambientais podem induzir um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, e, por consequência, redução das defesas antioxidantes no organismo. Em virtude desse desequilíbrio, os animais podem apresentar danos morfológicos, alterações genéticas e celulares (Cortés-Gómez et al., 2018; Esposito et al., 2020; Odetti et al., 2020).

2. Metodologia

O estudo trata-se de uma revisão integrativa. Aplicou-se a metodologia de forma qualitativa (Pereira et al., 2018), disposta de maneira que buscou investigar através da literatura a etiologia do estresse oxidativo em répteis, a que versa sobre a interface da temática poluição antrópica, metais pesados e efeitos deletérios. A partir da seleção dos artigos, foram realizadas compilações, recortes, agregações e enumerações destes, permitindo a sintetização das informações, para apresentar resultados já reconhecidos como verdadeiros referentes à ação do homem, bem como buscar explicações para os diversos prejuízos nos animais, seguindo os critérios metodológicos de Cooper (1982).

Este manuscrito é respaldado por documentos científicos indexados nas bases de dados Pubmed, SciELO, portal de periódicos CAPES e Google Acadêmico, no recorte temporal de 2000 a 2022. Como critérios de inclusão, foram adotados artigos originais, completos e com acesso gratuito. Os períodos elencados contam com diversas nacionalidades, conferindo ampla divulgação internacional direcionadas às problemáticas expostas. Sendo assim, a pesquisa foi realizada utilizando termos em inglês e referências por algoritmo {"Heavy Metal" OR "Environmental Contaminants" OR "Oxidative Stress" OR "Free radicals" OR "Wildlife" OR "Anthropic action"} AND {"Reptile" OR "Marine Environment" OR "Reptile Habitat"}."}. Foram aplicados critérios de exclusão

em resumos, monografias, dissertações e teses.

3. Resultados e Discussão

3.1. Ação antrópica e bioindicadores ambientais

Segundo o Art 1 da Resolução do CONAMA n.º 01 de 23/01/86,

“Entende-se como impacto ambiental, qualquer alteração de propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente causada por qualquer forma de matéria ou energia resultante das atividades humanas que, direta ou indiretamente, afetam a saúde, a segurança e o bem-estar da população; as atividades sociais e econômicas; a biota; as condições estéticas e sanitárias do meio ambiente e a qualidade dos recursos ambientais.”

A revolução industrial de 1760 iniciada na Inglaterra foi um marco histórico para o desenvolvimento tecnológico, o qual pontuou a mudança nas atitudes humanas para com a natureza. Esse período fez com que a exploração de recursos ambientais se sobrepusesse em relação à saúde do meio ambiente, tornando-se predatória para a biodiversidade (Alcântara, 2012; Ganzala, 2018). As consequências dessas ações geram impactos significativos na vida dos animais, tais como anormalidades morfológicas (transmitidas pelos genes ou adquiridas por meio de contato com agentes nocivos - “Assimetria flutuante”) (Bagliano, 2012), o que pode afetar a reprodução da espécie, diminuir a oferta alimentar, gerar disputa por alimentos e território, extinguir espécies ou introduzir espécies invasoras, fragmentar e degradar habitats, devido principalmente a atividades agropastoris; mineradoras; poluição atmosférica, hídrica e dos solos; extrativismo; construção de barragens e represas; retificação e desvio do curso natural de rios; lançamento de efluentes domésticos e industriais não tratados; desmatamento e uso inadequado do solo em regiões ripárias e planícies de inundação e exploração de recursos (Goulart & Callisto, 2003).

Bioindicadores de qualidade ambiental são espécies, grupos de espécies ou biomas cuja presença, quantidade e distribuição indicam impactos ambientais nos ecossistemas. Seu uso permite uma avaliação abrangente dos impactos ecológicos de múltiplas fontes de poluição, principalmente antrópica (Prestes & Vincenci, 2019). Essas espécies respondem à contaminação com alterações na fisiologia ou na capacidade para acumular elementos e substâncias. A resposta de cada organismo é influenciada pelas condições fisiológicas, morfológicas, estruturais e nutricionais, assim como pelas condições físicas, químicas e biológicas do ambiente em que estão inseridos (Bagliano, 2012).

As evidências científicas encontradas sobre estresse oxidativo têm maior enfoque em mamíferos e aves, porém notório déficit em répteis, apesar de apresentarem relevância já comprovada como bioindicadores em monitoramento de degradação ambiental (Constantini et al., 2009). O uso de répteis como bioindicadores, além de contribuir para o avanço do conhecimento ecotoxicológico neste grupo pouco estudado, pode ser útil como indicador indireto de exposição de outros grupos faunísticos que habitam áreas de mineração. A implementação, quando possível, de amostragem não invasiva para monitorar a bioacumulação de poluentes, se mostra uma

ferramenta útil para utilização posterior desses animais como sentinelas da poluição ambiental crônica (Ortiz-Santaliestra et al., 2019).

A análise de bioindicadores de poluição é prejudicada em animais que apresentam intenso comportamento migratório, visto que estes podem se contaminar longe do local onde foram originalmente amostrados (Slimani et al., 2017). É possível utilizar animais de áreas impactadas (*in situ*), como bioindicadores, bem como animais expostos a compostos químicos em diferentes concentrações em laboratório (Cogo et al., 2009).

Os quelônios são animais que fazem conexões com diferentes níveis tróficos em ecossistemas aquáticos e terrestres. Dessa forma, contribuem ativamente para o ciclo de nutrientes, vegetações, fluxo de energia e manutenção da qualidade de água (Moll & Moll, 2004). Não somente quelônios semiaquáticos ou terrestres, mas também alguns animais da ordem Squamata, que são indivíduos encontrados em grande quantidade na natureza, possuem área de deslocamento reduzida e baixa capacidade para longas migrações quando comparado a outros animais usualmente selecionados para pesquisa (Zocche et al., 2013; Slimani et al., 2017).

Populações selvagens de serpentes, especialmente *Bothrops jararaca*, são igualmente interessantes para o acompanhamento da exposição de contaminantes metálicos, em virtude de seus hábitos alimentares, sua disposição em cadeia alimentar (predadores de nível médio a superior) e sua ampla distribuição (Frossard et al., 2019). No caso do *Alligator mississippiensis*, considerado um exímio predador, está localizado em ambientes próximos à costa, que podem estar expostos a contaminantes de variadas fontes. Devido à fragmentação do território e à exposição constante a pesticidas, seu desenvolvimento pode ser prejudicado em virtude da proximidade com seu habitat (Wise et al., 2016). Os lagartos são considerados modelos ideais para estudos ecotoxicológicos quando comparados com outros vertebrados, não apenas por restritiva migração, mas em virtude da adaptabilidade da espécie, mesmo em ambientes com características áridas e mudanças climáticas (Silva et al., 2020).

As características comportamentais dos répteis, articuladas à intensidade de ações antrópicas, causam alterações fisiológicas e morfológicas. O impacto destas perturbações resulta em danos metabólicos com alteração em respostas endócrinas e aumento da produção de radicais livres em animais expostos a esses ambientes, e, em seguimento, estresse oxidativo (French et al., 2017) resultado do desequilíbrio fisiológico entre espécies reativas de oxigênio e moléculas de antioxidantes presentes no organismo. A produção de radicais livres durante atividades metabólicas pelas células é considerada fisiológica, entretanto o aumento nos níveis desses radicais gera um acúmulo no sistema biológico, com efeitos nocivos em células estruturais (Machado et al., 2009). Existe relação entre indicadores moleculares de estresse oxidativo e xenobióticos ambientais, como os metais pesados (Cortes-Gomez et al., 2018).

3.2. Radicais livres, estresse oxidativo e antioxidantes

Os radicais livres são produzidos em processos metabólicos no organismo dos seres vivos. Quando estes são produzidos em excesso, acabam causando estresse oxidativo, que ocorre em consequência do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e defesas antioxidantes nos organismos. Foi demonstrado tanto *in vivo* quanto *in vitro* o potencial danoso de EROs em proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, que como consequência resultam em disfunção metabólica e apoptose. É possível identificar diversos fatores que originam

o acúmulo molecular de EROs, dentre eles, exposição a estressores ambientais, como poluentes, que intensificam a instabilidade de defesa antioxidante (Halliwell & Gutteridge, 2015).

A par de alterações fisiológicas por efeito da poluição ambiental, o organismo entra em estado de alerta, sendo assim, é possível amenizar efeitos nocivos através da ativação de enzimas antioxidantes. O organismo possui um sistema antioxidante endógeno capaz de combater radicais livres através da produção enzimática de: Glutationa peroxidase (GSH-Px), Catalase (CAT) e Superóxido dismutase (SOD); e não enzimática: proteínas ligadas ao ferro (transferrina e ferritina), ácido dihidrolipoico, ácido úrico, glutatona e peptídeos de histidina. Além da síntese endógena, ainda há moléculas antioxidantes provenientes da dieta do animal, tais como β -caroteno (pró-vitamina-A), α -tocoferol (vitamina-E), ácido ascórbico (vitamina-C) e compostos fenólicos (Barreiros et al., 2006; Salvarani et al., 2018).

O processo de desintoxicação é composto principalmente por duas etapas, sendo a primeira através da enzima SOD, que realiza a conversão de ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) para peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e, logo após, através da enzima CAT, realiza a conversão de H_2O_2 para água (H_2O) + oxigênio (O_2). O peróxido de hidrogênio não expressa grande reatividade na ausência de metais de transição, entretanto, quando há presença destes (geralmente Cu e o Fe), apresenta uma expressiva reatividade com importante potencial danoso. Dessa forma, quando não convertido em água e oxigênio, é metabolizado através da reação de Fenton e Haber-Weiss na espécie mais nociva possível: radicais hidroxila (OH^{\bullet}), as quais podem reagir com lipídeos nas membranas plasmáticas das células e causar severo dano orgânico. Ainda há o sistema composto pela glutatona (GSH) que, opera em ciclos entre forma oxidativa e reduzida, com a presença do selênio, e catalisa a dismutação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (Pastor et al., 2000; Barreiros et al., 2006; Héritier et al., 2017).

Portanto, as defesas antioxidantes enzimáticas desempenhadas pela SOD, CAT e Glutationa Redutase (GR), atuam como indicadores de defesa celular contra EROs e por isso são consideradas importantes biomarcadores de exposição (Cortes-Gomez et al., 2018).

3.3. Estresse oxidativo causado por metais pesados

A bioacumulação de metais pesados em répteis é afetada por diversos fatores, dentre eles destaca-se o hábito alimentar da espécie, como por exemplo, *Caretta caretta* tende a apresentar maiores concentrações de metais que *Chelonia mydas* tendo em vista que *C. caretta* é uma espécie carnívora de maior nível trófico, o que favorece a biomagnificação desses elementos (Souza et al. 2018). Em contraponto, Quintela et al. (2019) demonstraram que em répteis da região do Taim (sul do Brasil), o acúmulo de arsênio (As) é maior em espécies de níveis tróficos menores. Referente aos níveis de chumbo (Pb), observaram uma correlação positiva com o tamanho corporal em algumas espécies (como por exemplo *Caiman latirostris*), o qual sugere que as concentrações de Pb e tamanho corporal estão relacionadas às exposições contínuas e de longo prazo, mesmo quando há baixas doses do metal.

Em um estudo realizado por Cortes-Gomez et al. (2018) que avaliaram tartarugas *Lepidochelys olivacea* por um período de dois anos, foi constatado que a presença de metais pesados (As, Cd, Cu, Ni, Pb, Se e Zn) reduziu a atividade da SOD nos rins. Tratando-se da exposição ao cádmio (Cd) em *Chinemys reevesii*, Huo et al. (2018) demonstraram que os animais expostos a esse elemento apresentaram atividade da SOD, CAT e de GSH-Px plasmáticas diminuídas, além de aumento de malondialdeído (MDA). Dessa forma, é possível concluir que o Cd tem capacidade de causar estresse oxidativo e diminuir a atividade antioxidante do organismo, visto que o Cd se

liga nos grupamentos sulfidrila da SOD e nos sítios de ação da GSH-Px, inibindo ou diminuindo suas atividades. Como consequência, ocorre aumento das EROs, que podem bloquear as vias de síntese da CAT. Além disso, o aumento de H₂O₂ leva a produção de MDA. Segundo Ortiz-Santaliestra et al. (2019), altas concentrações de MDA em eritrócitos também podem ser decorrentes do acúmulo de Pb, levando ao estresse oxidativo.

3.4. Amostras biológicas

Usualmente estudos relacionados a pesquisa e quantificação de contaminantes podem levar à eutanásia dos indivíduos envolvidos. Contudo, é necessária prudência devido aos riscos de extinção de diversas espécies criticamente ameaçadas, bem como, utilização de espécies raras. Por esse motivo, tornam-se indispensáveis técnicas fiáveis e não letais. As análises menos invasivas, com a obtenção de tecidos queratinizados, como carapaça, escama e garras, pode ser uma das opções como bioindicador não letal devido a resultados favoráveis encontrados em espécies de répteis (Schneider et al., 2010; Rodriguez et al. 2019).

Em relação a espécies ameaçadas, como tartarugas marinhas, a eutanásia não pode ser feita para coleta de amostras. Os resultados de alterações enzimáticas antioxidantes podem ser encontrados no fígado, isso devido ao seu papel de metabolização. Em contraste, esses dados podem ser influenciados pelo momento da coleta e condição do animal (Cortes-Gomez et al., 2018). Entretanto, a técnica de eutanásia, geralmente por aprofundamento anestésico, é utilizada para mensurar estresse oxidativo devido exposição a xenobióticos. Em fragmento hepático é possível avaliar expressão gênica de CAT e SOD por ação de herbicidas em exemplares de *Trachemys scripta elegans* (Héritier et al., 2017); para avaliação de metais pesados, coleta através da extração de rim, fígado e carapaça de *Emys orbicularis persica* (Namroodil et al., 2017), todos da Ordem Chelonia. Entretanto, algumas espécies são facilmente encontradas encalhadas ou desfalecidas à beira mar, sendo viável coletar tecidos hepáticos, renais e musculares para fornecer informação biológica destes animais (Da Silva et al., 2014; Nisa et al., 2019).

Em relação aos animais da ordem Squamata, é possível estimar a presença de metais através da eutanásia. Em *Bothrops jararaca*, o fígado e rins são os órgãos de predileção quando comparado a coleta de coração, vesícula biliar, gordura, glândula de veneno e cauda (Frossard et al., 2019). Em adição, os dados correspondentes a estresse oxidativo em *Eremias multiocellata*, podem ser coletados por meio de fragmentos hepáticos. A confirmação do aumento de MDA é feita através do teste de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) (Han et al., 2020).

Técnicas não invasivas para pesquisa de disfunções orgânicas ou acúmulo de xenobióticos podem ser utilizadas a fim de buscar minimizar o estresse, como também inferir o tempo de exposição. Destas, é possível citar coleta de pequena porção de escamas ou pele, carapaça, garras e sangue em animais das Ordens Chelonia, Crocodylia e Squamata (Reich et al., 2008; Márquez-Ferrando, 2009; Dzul-Caamal et al., 2016; Quintela et al., 2020). Garras em tartarugas aquáticas são indicativas de exposição de médio a longo prazo, enquanto a mensuração de metais através de amostras de sangue e fezes, pode estimar uma exposição de curto prazo (Hopkins et al., 2013; Schneider et al., 2015, Slimani et al., 2017; Beau et al., 2019; Ortiz-Santaliestra et al., 2019).

Amostras biológicas podem ser coletadas de células sanguíneas periféricas com a finalidade de mensurar EROs, enzimas antioxidantes e biomarcadores de dano oxidativo, tais como Capacidade Antioxidante Total Contra Radicais Peroxil (ACAP), TBARS, Proteína Carbonilada (PC), Glutathione-s-transferase (GST) e GR, como

também em esfregaço sanguíneo para contagem de micronúcleos (Dzul-Caamal et al., 2016; Da Silva et al., 2016; Héritier et al., 2017; Salvarani et al., 2018).

3.5. Biomarcadores de estresse oxidativo e sistema antioxidante

É possível mensurar biomarcadores de estresse oxidativo em répteis através de frações sanguíneas para quantificar EROs ($O_2\bullet-$ e H_2O_2), avaliar a oxidação de proteínas e a atividade de enzimas antioxidantes envolvidas SOD, CAT e GSH-Px. Outra forma utilizada para mensurar o estresse oxidativo é em amostras de células sanguíneas, que possibilita a avaliação da biotransformação de Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) (Dzul-Caamal et al., 2016).

Indivíduos habitantes de áreas de mineração com Pb apresentaram aumento nas concentrações de MDA e maior atividade de SOD, enquanto nas áreas com Hg, ocorreu aumento em atividade de GSH-Px e menores concentrações de GSH (Ortiz-Santaliestra et al., 2019). O acúmulo de Pb pode ser uma possível razão para a maior incidência de estresse oxidativo, devido às altas concentrações de MDA nos eritrócitos. A geração de EROs pode ser induzida pela exposição ao Pb, que por consequência afeta a função e integridade das membranas celulares (Ahamed & Siddiqui, 2007).

A avaliação de estresse oxidativo pode ser feita através da pesquisa de PC e o TBARS que tem potencial para marcadores indiretos de danos oxidativos a proteínas e lipídeos. As proteínas que sofrem oxidação por EROs formam derivados carbonílicos, a dosagem pode ser feita através da mensuração por métodos sensíveis de dosagem de proteína carbonilada, como aqueles que utilizam o 2,4- dinitrofenilhidrazina (DNPH) (Levine et al., 1994). A pesquisa em TBARS tem como base a capacidade do ácido tiobarbitúrico de ligação com lipídeos oxidados (Buege & Aust, 1978).

Há uma variedade de testes que podem ser utilizados para avaliar a eficácia do sistema antioxidante no sangue perante estresse oxidativo nos répteis. A capacidade antioxidante não enzimática é um exemplo, esta pode ser mensurada através do teste OXY-adsorbent French et al. (2017). Já a atividade de enzimas como GSH-Px, CAT e SOD pode ser avaliada, respectivamente, pelos métodos de Flohé & Gunzler (1984), Aebi (1984) e Misra & Fridovich (1971). Embora estes testes apresentam alta confiabilidade no que se referem a capacidade antioxidante, existem possíveis vieses à erro de leitura, tais como variações em atividades de enzimas antioxidantes devido a interrupção de alimentação, impossibilidade para nadar devido a baixos níveis de água, ausência de locais para se aquecer e manuseio em tartarugas de água doce *Trachemys scripta elegans* (Héritier et al., 2017).

3.6. Danos metabólicos

A poluição tem relação diretamente proporcional com danos em ar, água, solo, fauna, flora e em organismos, devido às contaminações. É possível qualificar os agravos em relação a estes danos na biosfera, tais como toxicidade de emissão, alteração da capacidade do uso da terra, destruição do monumento ambiental, transformação dos nichos ecológicos com danos individuais e impacto na dinâmica da comunidade de animais. Diversos desses ambientes têm características singulares que podem prejudicar diretamente o organismo dos animais que ali habitam (Mendonça & Ferreira, 2019).

Os contaminantes em ambientes marinhos são relacionados diretamente ao estresse oxidativo, causando efeitos biológicos nocivos, sendo estes, em sua maioria, morfológicos e bioquímicos (Da Silva et al., 2016). Alguns metais e metalóides estão presentes na forma orgânica e inorgânica em oceanos e mares. O mercúrio, por exemplo,

está presente em sua forma metilada, sendo esta a mais tóxica e predominante na cadeia alimentar (Hernández-Fernández et al., 2020).

Existe um vínculo entre a capacidade do sistema imunológico dos répteis e a atividade antrópica. Han et al. (2020) demonstraram a existência de uma correlação entre o aquecimento ambiental e o estresse oxidativo em espécies ectotérmicas, o que resulta em imunossupressão devido a redução na concentração total de leucócitos e expressão de imunoglobulina M (IgM). No que se refere a outros estressores ambientais, os metais Fe e Pb geram subprodutos tóxicos (peróxidos, álcoois, aldeídos, cetonas e óxido de colesterol) para as células sanguíneas (linfócitos e macrófagos). Assim, os animais imunodeprimidos podem ficar suscetíveis a adquirir infecções sistêmicas (Da Silva et al., 2016; French et al., 2017).

De acordo com Da Silva et al. (2016), o aumento de espécies reativas de oxigênio em bioma marinho está fortemente relacionado com fatores ambientais, radiação UV e metais pesados. Logo, uma das possíveis consequências é a proliferação celular com desenvolvimento de tumores. Este estudo demonstrou elevadas concentrações de Cu, Fe e Pb em *Chelonia mydas* com fibropapilomatose. Outro achado foi a diminuição da concentração de colesterol sérico nestes animais, menor atividade de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase (HMGR) e elevados níveis de peroxidação lipídica, possivelmente relacionado com a enfermidade.

Além de alterações imunológicas, é possível observar expressivas alterações a nível reprodutivo. Em um estudo de quantificação de metais pesados em *Caretta caretta* e *Chelonia mydas*, Souza et al. (2018) correlacionaram os níveis de metais como Zn, Cu e Cd encontrados em filhotes com o sucesso de incubação e eclosão de ovo. Os autores apontam que o Cd, elemento não essencial, pode competir com Cu, elemento essencial que participa da formação de ovos, transporte de oxigênio, produção de energia e atividades enzimáticas, reduzindo as chances de nascimento. Além de alterações embrionárias, os metais ainda afetaram o desenvolvimento das tartarugas, concluindo que há uma correlação negativa entre o tamanho das tartarugas e os metais encontrados, principalmente Cu e Cd. Isto ocorre porque os juvenis se alimentam de zooplâncton (água-viva e pólipos de coral, por exemplo) enquanto os adultos são herbívoros. Assim sendo, há uma maior disponibilidade de metais na dieta dos juvenis. Logo, espera-se uma exposição maior no início do ciclo de vida (Da Silva et al., 2016).

O acúmulo de contaminantes ambientais contribui expressivamente para a diminuição de defesas antioxidantes, com acentuado dano oxidativo em moléculas de lipídeos, ácidos nucleicos e proteínas, os quais resultam em disfunção metabólica e lesão celular (Da Silva et al., 2016). Os eritrócitos servem como excelentes modelos para avaliação ecotoxicológica devido à capacidade de expressar grande quantidade de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos que agem no excesso de radicais livres (Hernández-Fernández et al., 2020). O efeito mutagênico e citotóxico causado por nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) foi relatado por Araújo et al. (2019), onde indivíduos de *Podocnemis expansa* submetidos ao composto apresentaram alterações celulares como eritrócitos micronucleados, binucleados e anucleados, o qual pode causar danos cromossômicos indiretamente durante o processo de divisão celular, visto que os autores correlacionaram esse processo com o efeito do ZnO na formação de espécies reativas de oxigênio.

Tal qual previamente exposto, essas alterações celulares são originárias do acúmulo em diversos órgãos, como em rins, fígado, músculo, cérebro, tecido adiposo e outros, os quais têm como consequência alterações morfológicas e bioquímicas (Da Silva et al., 2014; Nisa et al., 2019; Hernández-Fernández et al., 2020; Frossard et al., 2021). A análise realizada por Frossard et al., (2019) sobre contaminação por Cd em *Bothrops jararaca*,

demonstrou que esse elemento tende a ser acumulado em altas concentrações, preferencialmente no fígado, mas pode ser encontrado também nos rins, aparelho glandular de veneno, gordura, vesícula biliar, coração e nas fezes. O Cd também tem ação em células gliais de diversos animais, tendo alterações de acordo com a dose e tempo de exposição. Em répteis, especialmente lagartos, o Cd tende a se acumular em rins e ovários, e depois aumenta gradualmente no fígado, mas também no cérebro, com danos na integridade e funções da barreira hematoencefálica, acúmulo intracelular cerebral, disfunção celular e edema cerebral (Favorito et al., 2017).

4. Considerações Finais

A oxidação é um processo necessário para a vida aeróbica, seja por forma natural ou por exposição a poluentes ambientais. O estresse oxidativo é uma condição gerada pelo desequilíbrio entre compostos oxidantes e sistema de defesa antioxidante. Essa condição é estabelecida quando a produção de radicais livres supera as barreiras antioxidantes.

É possível realizar o acompanhamento ecotoxicológico através do biomonitoramento de diversas espécies, entretanto répteis possuem características singulares que fornecem resultados superiores e fidedignos, quando comparado a outros bioindicadores. Nesse contexto, é possível realizar a coleta de dados de forma não invasiva e resultados precisos.

A degradação ambiental, presença de contaminantes, uso de pesticidas, representam alguns pontos de origem para a manifestação do estresse oxidativo nos animais, em especial os répteis, que acabam sendo frequentemente prejudicados. As adversidades ocasionadas devido ao estresse oxidativo, causam toxicidade sistêmica em diversos órgãos, tais como fígado, rim, coração, além de causarem supressão do sistema imunológico, desenvolvimento de tumores, alterações morfológicas e danos a nível de DNA. Sendo assim, há um expressivo aumento da suscetibilidade à doenças, sendo então um importante fator na conservação de espécies. À vista disso, a dosagem faz-se necessária para melhor monitoramento da qualidade ambiental. A análise enzimática, permite o controle do habitat e funciona como sinalizador para a contaminação, e esse monitoramento não somente aplica-se aos répteis. Essas informações permitem à vigilância sobre atividade antrópica, diferentes ações prejudiciais ao ambiente e espécies que ali habitam, bem como o ser humano, com possibilidade de atividades preventivas.

Perante a poluição ambiental como fator de risco à saúde, esse monitoramento reflete nos seres humanos, especialmente em populações ribeirinhas. As características comportamentais e reprodutivas de alguns quelônios, como jabutis e tartarugas-da-Amazônia, os tornam alvos fáceis para captura e consumo nestas regiões. Portanto, populações mais carentes ou com hábitos culturais de consumo desta iguaria por pesca indiscriminada, estão mais propensas à bioacumulação de xenobióticos quando não há efetiva biomonitoração. Conclui-se que os répteis ainda refletem a exposição que diversas populações humanas podem sofrer, ciente de múltiplas fontes de poluição intimamente relacionadas à rotina do homem.

Conforme o exposto, o levantamento bibliográfico indica que os dados da pesquisa acabaram por trazer visibilidade às problemáticas presentes ao redor do mundo, a partir dos cenários de expansão e invasão nas comunidades biológicas e, com isso, a remodelagem dos ecossistemas. Como sugestão para trabalhos futuros, envolvendo a saúde animal e do ser humano, os autores propõem estudos com uma correlação direta de marcadores bioquímicos à nível hepático, renal e muscular com o estresse oxidativo. Bem como, estudos que quantifiquem e

qualifiquem os danos antrópicos, e sua correlação com estresse oxidativo e possíveis enfermidades em répteis e seu habitat em longo prazo.

Referências

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105, 121–126

Ahamed, M. & Siddiqui, M. K. (2007). Low level lead exposure and oxidative stress: current opinions. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 383(1-2), 57–64.

Alcantara, V. (2012). Sociedade de consumo e impactos ambientais. *Revista Sociedade de Consumo e Impacto Ambiental*.

Araújo, A. P. C., Lima, V. S., Vieira, J. E. A., Mesak, C. & Malafaia, G. (2019). First report on the mutagenicity and cytotoxicity of Zn nanoparticles in reptiles. *Chemosphere*, 235, 556–564.

Arias, A. R. L., Buss, D. F., Albuquerque, C. de, Inácio, A. F., Freire, M. M., Egler, M., Mugnai, R. & Baptista, D. F. (2007). Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. *Ciência & Saúde Coletiva*, 12(1), 61–72.

Bagliano, R. V. (2012). Principais organismos utilizados como bioindicadores relatados com uso de avaliadores de danos ambientais. *Revista Meio Ambiente E Sustentabilidade*, 2(1), 24 - 40.

Barreiros, A. L. B. S., David, J. M. & David, J. P. (2006). Oxidative stress: Relations between the formation of reactive species and the organism's defense. *Quimica Nova*, 29(1), 113–123.

Beau, F., Bustamante, P., Michaud, B. & Brischoux, F. (2019). Environmental causes and reproductive correlates of mercury contamination in European pond turtles (*Emys orbicularis*). *Environmental Research*, 172, 338-344.

Buege, J. A. & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 52, 302-310.

Chandran, R., Sivakumar, A. A., Mohandass, S. & Aruchami, M. (2005). Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in the gastropod, *Achatina fulica*. *Comparative Biochemistry and physiology Part C*, 140, 422-426.

Cogo, A. J. D., Siqueira, A. F., Ramos, A. C., Cruz, Z. M. A. & Silva A. G. (2009). Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais. *Natureza on line*, 7(1), 37-42.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. (1986). Resolução CONAMA nº 1, de 23 de janeiro de 1986. *Publicada no DOU, de 17 de fevereiro de 1986*, Seção 1, 2548-2549.

Cooper, H. M. (1982) Scientific guidelines for conducting integrative research reviews. *Rev Educ Res*, 52(2), 291-302.

Cortés-Gómez, A. A., Morcillo, P., Guardiola, F. A., Espinosa, C., Esteban, M. A., Cuesta, A., Girondot M. & Romero, D. (2018). Molecular oxidative stress markers in olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) and their relation to metal concentrations in wild populations. *Environmental Pollution*, 233, 156–167.

Costantini, D. & Verhulst, S. (2009). Does high antioxidant capacity indicate low oxidative stress? *Functional Ecology*, 23(3), 506-509.

Da Silva, C. C., Klein, R. D., Barcarolli, I. F. & Bianchini, A. (2016). Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 170, 42–51.

- Da Silva, C. C., Varela, A. S., Jr, Barcarolli, I. F. & Bianchini, A. (2014). Concentrations and distributions of metals in tissues of stranded green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the southern Atlantic coast of Brazil. *The Science of the total environment*, 466-467, 109–118.
- Dzul-Caamal, R., Hernández-López, A., Gonzalez-Jáuregui, M., Padilla, S. E., Girón-Pérez, M. I. & Vega-López, A. (2016). Usefulness of oxidative stress biomarkers evaluated in the snout scraping, serum and Peripheral Blood Cells of *Crocodylus moreletii* from Southeast Campeche for assessment of the toxic impact of PAHs, metals and total phenols. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 200, 35–46.
- Esposito, M., De Roma, A., Sansone, D., Capozzo, D., Iaccarino, D., di Nocera, F. & Gallo, P. (2020). Non-essential toxic element (Cd, As, Hg and Pb) levels in muscle, liver and kidney of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) stranded along the southwestern coasts of Tyrrhenian sea. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 231, 108725.
- Favorito, R., Monaco, A., Grimaldi, M. C. & Ferrandino, I. (2017). Effects of cadmium on the glial architecture in lizard brain. *European Journal of Histochemistry*, 61(1).
- Flohé, L. & Günzler, W. A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. *Methods in enzymology*, 105, 114–121.
- French, S. S., Neuman-Lee, L. A., Terletzky, P. A., Kiriazis, N. M., Taylor, E. N. & DeNardo, D. F. (2017). Too much of a good thing? Human disturbance linked to ecotourism has a “dose-dependent” impact on innate immunity and oxidative stress in marine iguanas, *Amblyrhynchus cristatus*. *Biological Conservation*, 210, 37–47.
- Frossard, A., Carneiro, M. T. W. D., Silva, E. L. de F. da, Camargo Filho, C. B. & Rossi Júnior, J. L. (2017). Concentração de elementos traços em serpentes do litoral e da região serrana do Espírito Santo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37(10), 1146–1152.
- Frossard, A., Coppo, G. C., Lourenço, A. T., Heringer, O. A. & Chippari-Gomes, A. R. (2021). Metal bioaccumulation and its genotoxic effects on eggs and hatchlings of giant Amazon river turtle (*Podocnemis expansa*). *Ecotoxicology*, 30(4), 643–657.
- Frossard, A., Leite, F. L. G., Silva, E. L. F., Carneiro, M. T. W. D., Júnior, J. L. R., Gomes, L. C. & Endringer, D. C. (2019). The snake *Bothrops jararaca* (Squamata: Viperidae) is a suitable bioindicator of environmental exposure to cadmium: An experimental study. *Ecological Indicators*, 104, 166–171.
- Ganzala, G. G. (2018). A industrialização, impactos ambientais e a necessidade de desenvolvimento de políticas ambientais sustentáveis no século XXI. <https://repositorio.uninter.com/handle/1/295>
- Goulart, M. & Callisto, M. (2003). Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Revista da FAPAM*, ano 2, 1, 156-164.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Han, X., Hao, X., Wang, Y., Wang, X., Teng, L., Liu, Z., Zhang, F. & Zhang, Q. (2020). Experimental warming induces oxidative stress and immunosuppression in a viviparous lizard, *Eremias multiocellata*. *Journal of Thermal Biology*, 90, 102595.
- Hernández-Fernández, J., López-Barrera, E. A., Mariño-Ramírez, L., Rodríguez-Becerra, P. & Pinzón-Velasco, A. (2020). Oxidative Stress Biomarkers in Erythrocytes of Captive Pre-Juvenile Loggerhead Turtles Following Acute Exposure to Methylmercury. *Applied Sciences*, 10(10), 3602.
- Héritier, L., Duval, D., Galinier, R., Meistertzheim, A.-L. & Verneau, O. (2017). Oxidative stress induced by glyphosate-based herbicide on freshwater turtles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(12), 3343–3350.
- Hopkins, B. C., Hepner, M. J., & Hopkins, W. A. (2013). Non-destructive techniques for biomonitoring of spatial, temporal, and demographic patterns of mercury bioaccumulation and maternal transfer in turtles. *Environmental Pollution*, 177, 164–170.
- Huo, J., Dong, A., Niu, X., Dong, A., Lee, S., Ma, C. & Wang, L. (2018). Effects of cadmium on oxidative stress activities in plasma of freshwater turtle *Chinemys reevesii*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(8), 8027–8034.

- Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. (2018). *Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume IV - Répteis*. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. (Org.). Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Brasília: ICMBio. 252.
- Levine, R. L., Williams, J. A., Stadtman, E. P. & Shacter, E. (1994). Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*, 233, 346–357.
- Machado, L. P., Kohayagawa, A., Saito, M. E., Silveira, V. F. da & Yonezawa, L. A. (2009). Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse em Medicina Veterinária. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 8(1), 84-94.
- Márquez-Ferrando, R., Santos, X., Pleguezuelos, J. M. & Ontiveros, D. (2009). Bioaccumulation of heavy metals in the lizard *Psammotromus algirus* after a tailing-dam collapse in Aznalcóllar (Southwest Spain). *Archives of environmental contamination and toxicology*, 56(2), 276–285.
- Mendonça, M. F. & Ferreira, M. L. (2019). O Uso do Solo Próximo à Reservatórios de Abastecimento Hídrico e suas Implicações com a Prestação por Serviços Ambientais: Uma Abordagem Baseada em Valoração Monetária. Zabotto, A. R. Estudos Sobre Impactos Ambientais: Uma Abordagem Contemporânea. *FEPAF*. Botucatu, Brasil, 25-57.
- Misra, H. P. & Fridovich, I. (1971). The generation of superoxide radical during the autoxidation of ferredoxins. *The Journal of biological chemistry*, 246(22), 6886–6890.
- Moll, D. & Moll, E. O. (2004). *The ecology, exploitation and conservation of river turtles*. Oxford University Press, 393.
- Namroodil, S., Zaccaroni, A., Rezaei, H. & Hosseini, S. M. (2017). European pond turtle (*Emys orbicularis persica*) as a biomarker of environmental pollution in Golestan and Mazandaran provinces, Iran. *Veterinary research forum : an international quarterly journal*, 8(4), 333–339.
- Nisa, Z., Sultana, S., Sultana, T., Al-Ghanim, K. A., Al-Ghanem, M. K., Al-Misned, F. & Mahboob, S. (2019). Environmental Exposure to Metals and Bioaccumulation in the Liver of Three Freshwater Species of Turtles from Two Different Rivers. *Polish Journal of Environmental Studies*, 28(5), 3299-3306.
- Odetti, L. M., López González, E. C., Romito, M. L., Simoniello, M. F. & Poletta, G. L. (2020). Genotoxicity and oxidative stress in *Caiman latirostris* hatchlings exposed to pesticide formulations and their mixtures during incubation period. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 193, 110312.
- Ortiz-Santaliestra, M. E., Rodríguez, A., Pareja-Carrera, J., Mateo, R. & Martínez-Haro, M. (2019). Tools for non-invasive sampling of metal accumulation and its effects in Mediterranean pond turtle populations inhabiting mining areas. *Chemosphere*, 231, 194-206.
- Pastor, N., Weinstein, H., Jamison, E. & Brenowitz, M. (2000). A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding. *Journal of Molecular Biology*, 304(1), 55–68.
- Pereira, A. S., Parreira, F. J., Shitsuka, D. M., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. UFSM. https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.
- Prestes, R. M. & Vincenci, K. L. (2019). Bioindicadores como avaliação de impacto ambiental. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 2(4), 1473-1493.
- Quintela, F. M., Lima, G. P., Silveira, M. L., Costa, P., Bianchini, A., Loebmann, D. & Martins, S. E. (2019). High arsenic and low lead concentrations in fish and reptiles from Taim wetlands, a Ramsar site in southern Brazil. *Science of The Total Environment*, 660, 1004-1014.
- Quintela, F. M., Pino, S. R., Silva, F. C., Loebmann, D., Costa, P. G., Bianchini, A. & Martins, S. E. (2020). Arsenic, lead and cadmium concentrations in caudal crests of the yacare caiman (*Caiman yacare*) from Brazilian Pantanal. *The Science of the total environment*, 707, 135479.

- Rashed, M. (2001). Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environment International*, 27(1), 27–33.
- Reich, K. J., Bjorndal, K. A. & Martínez Del Rio, C. (2008). Effects of growth and tissue type on the kinetics of ¹³C and ¹⁵N incorporation in a rapidly growing ectotherm. *Oecologia*, 155(4), 651–663.
- Rodriguez, C., Bezerra, M. F., Rezende, C. E., Bastos, W. R. & Lacerda, L. D. (2019). Mercury and methylmercury in carapace of the marine turtle *Caretta caretta*, in northeastern Brazil and its potential for environmental monitoring. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91(2).
- Salvarani, P. I., Vieira, L. R., Ku-Peralta, W., Morgado, F. & Osten, J. R. (2018). Oxidative stress biomarkers and organochlorine pesticides in nesting female hawksbill turtles *Eretmochelys imbricata* from Mexican coast (Punta Xen, Mexico). *Environmental Science and Pollution Research*, 25(24), 23809–23816.
- Schaumburg, L. G., Poletta, G. L., Siroski, P. A. & Mudry, M. D. (2012). Baseline values of micronuclei and comet assay in the lizard *Tupinambis merianae* (Teiidae, Squamata). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 84, 99–103.
- Schneider, L., Belger, L., Burger, J., Vogt, R. C., Jeitner, C. & Peleja, J. R. P. (2010). Assessment of non-invasive techniques for monitoring mercury concentrations in species of Amazon turtles. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 93:2, 238-250.
- 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.
- Silva, J. M., Navoni, J. A. & Freire, E. M. X. (2020). Lizards as model organisms to evaluate environmental contamination and biomonitoring. *Environ Monit Assess*, 192, 454.
- Simonyan, A., Hovhannisyán, G., Sargsyan, A., Arakelyan, M., Minasyan, S. & Aroutiounian, R. (2018). DNA damage and micronuclei in parthenogenetic and bisexual Darevskia rock lizards from the areas with different levels of soil pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 154, 13–18.
- Slimani, T., El Hassani, M. S., El Mouden, E. H., Bonnet, M., Bustamante, P., Brischoux, F., Brault-Favrou, M. & Bonnet, X. (2017). Large-scale geographic patterns of mercury contamination in Morocco revealed by freshwater turtles. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(3), 2350–2360.
- Souza, N. L. N., Carneiro, M. T. W. D., Pimentel, E. F., Frossard, A., Freire, J. B., Endringer, D. C. & Ferreira Júnior, P. D. (2018). Trace elements influence the hatching success and emergence of *Caretta caretta* and *Chelonia mydas*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50, 117–122.
- Stark, A. A. P., Bonfada, C. O., Paula, L. S. de, Teles, M. A., Varela Junior, A. S., Corcini, C. D. & França, R. T. (2021). Lead intoxication: environmental conflicts in South America and perspective under the conservation of wild birds. *Research, Society and Development*, 10(2), e42510212701.
- Trasviña-Arenas, C. H., Garcia-Triana, A., Peregrino-Urriarte, A. B. & Yepiz-Plascencia, G. (2013). White shrimp *Litopenaeus vannamei* catalase: Gene structure, expression and activity under hypoxia and reoxygenation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 164(1), 44–52.
- Varol, M. (2011). Assessment of heavy metal contamination in sediments of the Tigris River (Turkey) using pollution indices and multivariate statistical techniques. *Journal of Hazardous Materials*, 195, 355–364.
- Wise, S. S., Wise, C., Xie, H., Guillette, L. J., Zhu, C., Wise, J. P. & Wise, J. P. (2016). Hexavalent chromium is cytotoxic and genotoxic to American alligator cells. *Aquatic Toxicology*, 171, 30–36.
- Zocche, J. J., Damiani, A. P., Hainzenreder, G., Mendonça, R. Á., Peres, P. B., Santos, C. E. I. dos, Debastiani, R., Diaz, J. F. & Andrade, V. M. de. (2013). Assessment of heavy metal content and DNA damage in *Hypsiboas faber* (anuran amphibian) in coal open-casting mine. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 36(1), 194–201.

2.2 Artigo 2

***Trachemys dorbigni* como bioindicador de Cádmiio: análise de poluição antrópica e impactos na saúde animal no município de Pelotas – Rio Grande do Sul, Brasil**

Amanda Andersson Pereira Stark, Gabriel da Silva Zani, Izani Bonel Acosta, Antonio Sergio Varela Junior, Carine Dahl Corcini, Raqueli Teresinha França

Será submetido à revista Pesquisa Veterinária Brasileira

3 Considerações Finais

O presente trabalho tem importância científica e sensibilização ambiental, pois a invasão de habitats naturais intensifica o desequilíbrio na natureza, causando poluição, destruição de ecossistemas e extinção de espécies nativas. As ações antrópicas podem surtir efeito negativo, pois a presença de metais pesados na fauna afeta diretamente a saúde dos animais podendo causar desequilíbrio entre a produção de substâncias oxidantes e defesas antioxidantes, resultando em estresse oxidativo. Nesse contexto, a comprovação de exposição crônica de *Trachemys dorbigni* ao Cd expõe as possíveis ameaças à saúde dos animais, com significativas lesões celulares e mudanças em material genético que podem resultar em diversos efeitos deletérios. Além disso, estes danos gerados em bioindicadores podem refletir em habitantes adjacentes pois expressam a magnitude de impactos ambientais na ecosfera.

Referências

- ADEL, M.; SARAVI H. N.; DADAR, M.; NIYAZI, L.; LEY-QUINONEZ, C.P. Mercury, lead, and cadmium in tissues of the Caspian Pond Turtle (*Mauremys caspica*) from the southern basin of Caspian Sea. **Environmental Science and Pollution Research**, [S.L.], v. 24, n. 4, p. 3244–3250, 2015.
- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods In Enzymology**, [S.L.], p. 121-126, 1984. Elsevier
- AHAMED, M.; SIDDIQUI, M.K.J. Low level lead exposure and oxidative stress: current opinions. **Clinica Chimica Acta**, [S.L.], v. 383, n. 1-2, p. 57-64, 2007.
- ALCANTARA, V. Sociedade de consumo e impactos ambientais. **Revista Sociedade de Consumo e Impacto Ambiental**, 2012.
- ANDRÉA, M.M. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **ACTA ZOOLOGICA MEXICANA (N.S.)**, [S.L.], v. 26, n. 2, 2010.
- ARAÚJO, A. P. da C.; LIMA, V. S.; VIEIRA, J. E. de A.; MESAK, C.; MALAFAIA, G. First report on the mutagenicity and cytotoxicity of ZnO nanoparticles in reptiles. **Chemosphere**, [S.L.], v. 235, p. 556-564, 2019.
- ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C. de; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M. M.; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D. F. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007.
- BAGLIANO, R. V. Principais organismos utilizados como bioindicadores relatados com uso de avaliadores de danos ambientais. **Revista Meio Ambiente e Sustentabilidade**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 24 - 40, 2012.
- BALSET, R.C.; CRAVEY, R.H. **Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man**. 4^a ed; Foster City, CA: Chemical Toxicology Institute, 1995.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, [S.L.], v. 29, n. 1, p.113-123, 2006.

- BATISTELLA, A. M.; CASTRO, C. P.; VOGT, R. C. Geographic Distribution, *Trachemys adiutrix*. **Herpetological Review**, Salt Lake City, v. 39, n. 2, p. 107-108, 2008.
- BEAU, F.; BUSTAMANTE, P.; MICHAUD, B.; BRISCHOUX, F. Environmental causes and reproductive correlates of mercury contamination in European pond turtles (*Emys orbicularis*). **Environmental Research**, [S.L.], v. 172, p. 338-344, 2019.
- BISINOTI, M.C.; YABE, M.J.S.; GIMENEZ, S.M.N. Avaliação da influência de metais pesados no sistema aquático da bacia hidrográfica da cidade de londrina-PR. **Revista Analytica**, [S.L.], v. 3 n. 8, p. 22-27, 2004.
- BOUR, R. Global diversity of turtles (Chelonii; Reptilia) in freshwater. **Hydrobiologia**, [S.L.], v. 595, n. 1, p. 593–598, 2008.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods In Enzymology**, [S.L.], p. 302-310, 1978.
- BUJES, C. Os Testudines continentais do Rio Grande do Sul, Brasil: Taxonomia, História Natural e Conservação. **Iheringia**, Sér Zool, v. 100, n. 4, p. 413–424, 2010.
- BUJES, C. S.; VERRASTRO, L. Quelônios do delta do Rio Jacuí, RS, Brasil: uso de habitats e conservação. **Natureza e Conservação**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 47-60, 2008.
- BUJES, C. S.; VERRASTRO, L. Supernumerary epidermal shields and carapace variation in Orbigny's slider turtles, *Trachemys dorbigni* (Testudines, Emydidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 24, n. 3, p. 666-672, 2007.
- BURGER, J.; JEITNER, C.; SCHNEIDER, L.; VOGT, R.; GOCHFELD, M. 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**, [S.L.], v. 73, n. 1, p. 33-40, 2009.
- BURTON, I. The Quality of the Environment: A Review. **Geographical Review**, [S.L.], v. 58, n. 3, p. 472–481, 1968.
- CABRERA, M. R. **Las tortugas continentales de Sudamerica Austral**. Córdoba, Argentina: Talleres gráficos BR Copias, 1998. 108p.
- CAMPBELL, T. W. Clinical pathology. In: MENDES, D. R. (Ed.), **Reptile medicine and surgery**. W. B. Saunders, Philadelphia, 1996. p. 248-257.
- CASTRO L. M. A. **Proposição de metodologia para a avaliação dos efeitos da urbanização nos corpos de água**. 2007. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. Minas Gerais. 2007.
- CHANDRAN, R.; SIVAKUMAR, A. A.; MOHANDASS, S.; ARUCHAMI, M. Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in the gastropod, *Achatina*

fulica. **Comparative Biochemistry And Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, [S.L.], v. 140, n. 3-4, p. 422-426, 2005.

COGO, A. J. D.; SIQUEIRA, A. F.; RAMOS, A. C.; CRUZ, Z. M. A.; SILVA, A. G. Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais. **Natureza on line**, Santa Teresa, v. 7, n. 1, p. 37-42, 2009.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 1, de 23 de janeiro de 1986. Publicada no DOU, de 17 de fevereiro de 1986, Seção 1, p. 2548-2549, 1986.

CONCEIÇÃO, J. A. da; CARVALHO, M. dos S.; RAMOS, S. M. P.; VIEIRA, S. G. **Espaço e tempo na formação urbana de Pelotas**, Rio Grande do Sul, Brasil. Pelotas: UFPel, 2009.

Conselho Municipal de Proteção Ambiental de Pelotas (COMPAM). Secretaria Municipal de Qualidade Ambiental. Relatório anual da qualidade ambiental do município de Pelotas. Pelotas, 2016.

Conselho Municipal de Proteção Ambiental de Pelotas (COMPAM). Secretaria Municipal de Qualidade Ambiental. Relatório anual da qualidade ambiental do município de Pelotas. Pelotas, 2018.

Conselho Municipal de Proteção Ambiental de Pelotas (COMPAM). Secretaria Municipal de Qualidade Ambiental. Relatório anual da qualidade ambiental do município de Pelotas. Pelotas, 2019.

COOPER, H. M. Scientific Guidelines for Conducting Integrative Research Reviews. **Review Of Educational Research**, [S.L.], v. 52, n. 2, p. 291-302, 1982.

CORTÉS-GÓMEZ, A. A.; MORCILLO, P.; GUARDIOLA, F. A.; ESPINOSA, C.; ESTEBAN, M. A.; CUESTA, A.; GIRONDOT, M.; ROMERO, D. Molecular oxidative stress markers in olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) and their relation to metal concentrations in wild populations. **Environmental Pollution**, [S.L.], v. 233, p. 156-167, 2018.

COSTANTINI, D.; VERHULST, Simon. Does high antioxidant capacity indicate low oxidative stress? **Functional Ecology**, [S.L.], v. 23, n. 3, p. 506-509, 2009.

Da SILVA, C. C.; KLEIN, R. D.; BARCAROLLI, I. F.; BIANCHINI, A. Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean. **Aquatic Toxicology**, [S.L.], v. 170, p. 42-51, 2016.

Da SILVA, C. C.; VARELA, A. S.; BARCAROLLI, I. F.; BIANCHINI, A.. Concentrations and distributions of metals in tissues of stranded green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the southern Atlantic coast of Brazil. **Science Of The Total Environment**, [S.L.], v. 466-467, p. 109-118, 2014.

DAS, S. C.; AL-NAEMI, H. A. Cadmium Toxicity: oxidative stress, inflammation and

tissue injury. **Occupational Diseases And Environmental Medicine**, [S.L.], v. 07, n. 04, p. 144-163, 2019.

DAY, R. D.; SEGARS, A. L.; ARENDT, M. D.; LEE, A. M.; PEDEN-ADAMS, M. M. Relationship of Blood Mercury Levels to Health Parameters in the Loggerhead Sea Turtle (*Caretta caretta*). **Environmental Health Perspectives**, [S.L.], v. 115, n. 10, p. 1421-1428, 2007.

DORES-SILVA, P. R.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. O. O. Acompanhamento químico da vermicompostagem de lodo de esgoto doméstico. **Química Nova**, [S.L.], v. 34, n. 6, p. 956-961, 2011.

DUPRE, A., DEVAUX, B. & BONIN, F. **Turtles of the World**. A & C Black Publishers Ltd, London, p. 416, 2007.

DZUL-CAAMAL, R.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, A.; GONZALEZ-JÁUREGUI, M.; PADILLA, S. E.; GIRÓN-PÉREZ, M. I.; VEGA-LÓPEZ, A. Usefulness of oxidative stress biomarkers evaluated in the snout scraping, serum and Peripheral Blood Cells of *Crocodylus moreletii* from Southeast Campeche for assessment of the toxic impact of PAHs, metals and total phenols. **Comparative Biochemistry And Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, [S.L.], v. 200, p. 35-46, 2016.

ELEZAJ, I.; HALILI, F.; ROZHAJA, D.A. Changes in blood catalase and peroxidase activities of land turtles (*Testudo hermanni* Gmal.) living under conditions of industrial lead contamination. **Acta Biologiae et Medicinae Experimentalis**, [S.L.] v. 8, n. 1, p. 29-31, 1983.

ERNEST, C. H. & R. W. BARBOUR. *Turtles of the World*. Washington D.C., **Smithsonian Institution Press**. p. 313, 1989.

ERNST, C. H.; ALTENBURG, R. G. M. & BARBOUR, R. W. 1989. *Turtles of the World*. ETI, **World Biodiversity Database**. Disponível em: <<http://nlbif.eti.uva.nl/bis/turtles.php>>

ESPOSITO, M.; ROMA, A. de; SANSONE, D.; CAPOZZO, D.; IACCARINO, D.; NOCERA, F. di; GALLO, P. Non-essential toxic element (Cd, As, Hg and Pb) levels in muscle, liver and kidney of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) stranded along the southwestern coasts of Tyrrhenian sea. **Comparative Biochemistry And Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, [S.L.], v. 231, p. 108725, 2020.

EVANS, G. O. **Animal Clinical Chemistry - a Primer for Toxicologists**. Bristol: Taylor and Francis, 1996.

FAGUNDES, C. K.; BAGER, A.; CECHIN, S. T. Z. *Trachemys dorbigni* (Testudines: Emydidae) in an anthropic environment in Southern Brazil: (II) Reproductive Ecology. **The Herpetological Journal, Montrose**, [S.L.], v. 20, n. 3, p. 195-199, 2010.

FAVORITO, R.; MONACO, A.; GRIMALDI, M. C.; FERRANDINO, I. Effects of cadmium on the glial architecture in lizard brain. **European Journal Of Histochemistry**, [S.L.], v. 61, n. 1, p. 2734, 2017.

FERNANDEZ, L. L.; FORNARI, L. H. T.; BARBOSA, M. V.; SCHRODER, N. Ferro e neurodegeneração. **Scientia Medica**, [S.L.], v. 17, n. 4, p. 218-224, 2007.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [S.L.], v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FLOHÉ, L.; GÜNZLER, W. A. Assays of glutathione peroxidase. **Methods In Enzymology**, [S.L.], p. 114-120, 1984.

FONTANA, C. S.; BENCKE, G. A.; REIS, R. E. **Livro Vermelho da fauna ameaçada de extinção no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. 632 p.

FREIBERG, M. A. Una nueva subespecie de *Pseudemys dorbigni* (Duméril et Bibron) (Reptilia, Chelonia, Emydidae). **Physis**. [S.L.], v. 28, n. 77, p. 299-314, 1969.

FRENCH, S. S.; NEUMAN-LEE, L. A.; TERLETZKY, P. A.; KIRIAZIS, N. M.; TAYLOR, E. N.; DENARDO, D. F. Too much of a good thing? Human disturbance linked to ecotourism has a “dose-dependent” impact on innate immunity and oxidative stress in marine iguanas, *Amblyrhynchus cristatus*. **Biological Conservation**, [S.L.], v. 210, p. 37-47, 2017.

FRITZ, U. & P. HAVAS. Checklist of Chelonians of the World. **Vertebrate Zoology**. [S.L.], v. 57, n. 2, p. 149-368, 2007.

FROSSARD, A.; CARNEIRO, M. T. W. D.; SILVA, E. L. de F. da; CAMARGO FILHO, C. B.; ROSSI JÚNIOR, J. L. Concentração de elementos traços em serpentes do litoral e da região serrana do Espírito Santo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.L.], v. 37, n. 10, p. 1146-1152, 2017

FROSSARD, A.; LEITE, F. L.G.; SILVA, E. L.F.; CARNEIRO, M. T. W. D.; L.R. JÚNIOR, J.; GOMES, L. C.; ENDRINGER, D. C.. The snake *Bothrops jararaca* (Squamata: viperidae) is a suitable bioindicator of environmental exposure to cadmium. **Ecological Indicators**, [S.L.], v. 104, p. 166-171, 2019.

GIBBONS, J. W. Variation in Growth Rates in Three Populations of the Painted Turtle, *Chrysemys picta*. **Herpetologica**, [S.L.], v. 23, n. 4, p. 296–303, 1967.

GIBBONS, J.W.; SCOTT, D.E.; AVIS, T.R.; RYAN, J.; BUHLMANN, K. A.; ACEY, T. R.; TUBERVILLE, D.; METTS, B.S.; GREENE, J.L.; MILLS, T.; LEIDEN, Y.; POPPY S. & WINNE, C.T. The global decline of reptiles, déjà vu amphibians. **BioScience**. [S.L.], v. 8, n. 50, p. 653-666, 2000.

GIBBS, J.P. & SHRIVER W.G. Estimating the effects of road mortality on turtle populations. **Conservation Biology**, [S.L.], v. 16, n. 6, p. 1647–1657, 2002.

GOULART, M. & CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Revista da FAPAM**, [S.L.], v. 2, n. 1, 156-164, 2003.

GRILLITSCH, B.; SCHIESARI, L. The Ecotoxicology of Metals in Reptiles. In: SPARLING, D.W.; LINDER, G.; BISHOP, C.A.; KREST, S.K (Eds.). **Ecotoxicology Of Amphibians And Reptiles. 2nd ed. [S.L.]**: CRCPress, 2010. 339-428p.

HAN, X., HAO, X., WANG, Y., WANG, X., TENG, L., LIU, Z., ZHANG, F. & ZHANG, Q. (2020). Experimental warming induces oxidative stress and immunosuppression in a viviparous lizard, *Eremias multiocellata*. **Journal of Thermal Biology**, [S.L.], v.90, p. 102595, 2020.

HAYS, K. A.; MCBEE, K. Flow cytometric analysis of red-eared slider turtles (*Trachemys scripta*) from Tar Creek Superfund Site. **Ecotoxicology**, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 353-361, 2007.

HÉRITIER, L.; DUVAL, D.; GALINIER, R.; MEISTERTZHEIM, A. L.; VERNEAU, O. Oxidative stress induced by glyphosate-based herbicide on freshwater turtles. **Environmental Toxicology And Chemistry**, [S.L.], v. 36, n. 12, p. 3343-3350, 2017.

HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, J.; LÓPEZ-BARRERA, E. A.; MARIÑO-RAMÍREZ, L.; RODRÍGUEZ-BECERRA, P.; PINZÓN-VELASCO, A. Oxidative Stress Biomarkers in Erythrocytes of Captive Pre-Juvenile Loggerhead Turtles Following Acute Exposure to Methylmercury. **Applied Sciences**, [S.L.], v. 10, n. 10, p. 3602, 2020.

HOPKINS, B. C.; HEPNER, M. J.; HOPKINS, W. A. Non-destructive techniques for biomonitoring of spatial, temporal, and demographic patterns of mercury bioaccumulation and maternal transfer in turtles. **Environmental Pollution**, [S.L.], v. 177, p. 164-170, 2013.

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

HUO, J.; DONG, A.; NIU, X.; DONG, A.; LEE, S.; MA, C.; WANG, L. Effects of cadmium on oxidative stress activities in plasma of freshwater turtle *Chinemys reevesii*. **Environmental Science And Pollution Research**, [S.L.], v. 25, n. 8, p. 8027-8034, 2018.

HWUA, Y. & YANG, J. Effect of 3-aminotriazole on anchorage independence and mutagenicity in cadmium- and lead-treated diploid human fibroblasts. **Carcinogenesis**, [S.L.], v. 19, n. 5, p. 881-888, 1998.

ICMBIO-RAN. Quelônios – *Trachemys dorbigni* – Tigre d'água brasileiro. Disponível em: <http://www4.icmbio.gov.br/ran/index.php?id_menu=128&id_arq=66>. Acesso em: 15 fev. 2022

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais, Estimativas da população residente com data de referência 1o de julho de 2021

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Esgotamento sanitário adequado. 2010. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rs/pelotas/panorama>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Frota de veículos. 2020. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rs/pelotas/pesquisa/22/28120>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2022.

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBIO. 2018. **Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção**. Brasília: ICMBio. 4162 p.

International Agency for Research on Cancer (IARC). **Monographs – Cadmium**, Lyon, France, 1993.

IVERSON, J. B. A Revised Checklist with Distribution Maps of the Turtles of the World. **Privately printed**, [S.L.], p.363, 1992

KRÜGER, M. F. D.; RODRIGUES, R. A.; DE ESCOBAR, C. C.; CORREA, ÉRICO, K. Poluição atmosférica: percepção da população de Pelotas\RS – Brasil sobre o tema. **Revista Thema**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 201-209, 2021.

LANDOLPH, J. R. Molecular mechanisms of transformation of C3H/10T1/2 Cl 8 mouse embryo cells and diploid human fibroblasts by carcinogenic metal compounds. **Environmental Health Perspectives**, [S.L.], v. 102, n. 3, p. 119-125, 1994.

LEAL, S. R. M. D. **Estudo genotóxico e carcinogênico da exposição ao pó de cromo trivalente em *Rattus norvegicus***. 2017. Tese (Doutorado em Farmacologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

LEMA, T.; FERREIRA, M. T. S. Contribuição ao conhecimento dos testudines do Rio Grande do Sul (Brasil) – Lista sistemática comentada. **Acta Biológica Leopoldensia**, São Leopoldo, v.12, n.1, p. 125-164, 1990.

LEVINE, R. L.; WILLIAMS, J. A.; STADTMAN, E. P.; SHACTER, E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. **Methods In Enzymology**, [S.L.], p. 346-357, 1994.

LILLYWHITE, H. B. Water relations of tetrapod integument. **Journal of Experimental Biology**, [S.L.] v. 209, p. 202–226, 2006.

LIMA, D. P. de; SANTOS, C.; SILVA, R. de S.; YOSHIOKA, E. T. O.; BEZERRA, R. M. Contaminação por metais pesados em peixes e água da bacia do rio Cassiporé, Estado do Amapá, Brasil. **Acta Amazonica**, [S.L.], v. 45, n. 4, p. 405-414, 2015.

MACHADO, A. A. S.; HOFF, M. L. M.; KLEIN, R. D.; CARDOZO, J. G.; GIACOMIN, M. M.; PINHO, G. L. L.; BIANCHINI, A. Biomarkers of waterborne copper exposure in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to salt water. **Aquatic Toxicology**, [S.L.], v. 138-139, p. 60-69, 2013.

MACHADO, A. A. S.; HOFF, M. L. M.; KLEIN, R. D.; CORDEIRO, G. J.; AVILA, J. M. L.; COSTA, P. G.; BIANCHINI, A. Oxidative stress and DNA damage responses to phenanthrene exposure in the estuarine guppy *Poecilia vivipara*. **Marine Environmental Research**, [S.L.], v. 98, p. 96-105, 2014.

MACHADO, L. P.; KOHAYAGAWA, A.; SAITO, M. E.; SILVEIRA, V. F. da; YONEZAWA, L. A. Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse na Medicina Veterinária. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 84-94, 2009.

MÁRQUEZ-FERRANDO, R.; SANTOS, X.; PLEGUEZUELOS, J. M.; ONTIVEROS, D. Bioaccumulation of Heavy Metals in the Lizard *Psammotomus algirus* After a Tailing-Dam Collapse in Aznalcóllar (Southwest Spain). **Archives Of Environmental Contamination And Toxicology**, [S.L.], v. 56, n. 2, p. 276-285, 2008.

MCKELVEY, W.; GWYNN, R.C.; JEFFERY, N.; KASS, D.; THORPE, L.E.; GARG, R.K.; PALMER, C.D.; PARSONS, P.J. A Biomonitoring Study of Lead, Cadmium, and Mercury in the Blood of New York City Adults. **Environmental Health Perspectives**, [S.L.], v. 115, n. 10, p. 1435-1441, 2007.

MENDONÇA, M. F. & FERREIRA, M. L. O Uso do Solo Próximo à Reservatórios de Abastecimento Hídrico e suas Implicações com a Prestação por Serviços Ambientais: Uma Abordagem Baseada em Valoração Monetária. Zabotto, A. R. Estudos Sobre Impactos Ambientais: Uma Abordagem Contemporânea. **FEPAF**. Botucatu, Brasil, p. 25-57, 2019.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The Generation of Superoxide Radical during the Autoxidation of Ferredoxins. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 246, n. 22, p. 6886-6890, 1971.

MITCHELMORE, C.; ROWE, C.; PLACE, A. Tools for Assessing Contaminant Exposure and Effects in Reptiles. **New Perspectives: Toxicology and the Environment**, [S.L.], p. 63-122, 2005.

MOLINA, F. B. & GOMES, N. Incubação artificial dos ovos e processo de eclosão em *Trachemys dorbigni* (Duméril&Bibron, 1835) (Reptilia, Testudines, Emydidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v.15, p. 135-143, 1998.

MOLL, D. & MOLL, E. O. The ecology, exploitation and conservation of river turtles. **Oxford University Press**, p. 393, 2004.

NAMROODI, S.; ZACCARONI, A.; REZAEI, H.; HOSSEINI, S.M. European pond turtle (*Emys orbicularis persica*) as a biomarker of environmental pollution in Golestan and Mazandaran provinces, Iran. **Veterinary research forum: an international quarterly journal**, [S.L.] v. 8, n. 4 p. 333-339, 2017.

NISA, Z.; SULTANA, S.; SULTANA, T.; AL-GHANIM, K.; AL-GHANEM, M.; AL-MISNED, F.; MAHBOOB, S. Environmental Exposure to Metals and Bioaccumulation

in the Liver of Three Freshwater Species of Turtles from Two Different Rivers. **Polish Journal Of Environmental Studies**, [S.L.], v. 28, n. 5, p. 3299-3306, 2019.

NOVILLO, A., KITANA, N., MARQUEZ, E., CALLARD, I.P. Reptilian genotoxicity. In: GARDNER S.C., OBERDOERSTER E. (Eds.). **Toxicology of reptiles. New perspectives: toxicology and the environment**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. p.241–265.

ODETTI, L.M.; LÓPEZ-GONZÁLEZ, E.C.; ROMITO, M.L.; SIMONIELLO, M.F.; POLETTA, G.L. Genotoxicity and oxidative stress in Caiman latirostris hatchlings exposed to pesticide formulations and their mixtures during incubation period. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [S.L.], v. 193, p. 110312, 2020.

OLIVEIRA, G. M. T. S. de; OLIVEIRA, E. S. de; SANTOS, M. de L. S.; MELO, N. F. A. C. de; KRAG, M. N. Concentrações de metais pesados nos sedimentos do lago Água Preta (Pará, Brasil). **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [S.L.], v. 23, n. 3, p. 599-605, 2018.

ORTIZ-SANTALIESTRA, M. E.; RODRÍGUEZ, A.; PAREJA-CARRERA, J.; MATEO, R. & MARTINEZ-HARO, M. (2019). Tools for non-invasive sampling of metal accumulation and its effects in Mediterranean pond turtle populations inhabiting mining areas. **Chemosphere**, [S.L.], v. 231, p. 194-206, 2019.

PAPA, S.; SKULACHEV, V. P. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. **Molecular and Cellular Biochemistry**, [S.L.], v. 174, n. 1-2, p. 305-319, 1997.

PASCHAL, D. C.; BURT, V.; CAUDILL, S. P.; GUNTER, E. W.; PIRKLE, J. L.; SAMPSON, E. J.; MILLER, D. T.; JACKSON, R. J. Exposure of the U.S. Population Aged 6 Years and Older to Cadmium: 1988-1994. **Archives Of Environmental Contamination And Toxicology**, [S.L.], v. 38, n. 3, p. 377-383, 2000.

PASTOR, N.; WEINSTEIN, H.; JAMISON, E. & BRENOWITZ, M. A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding. **Journal of Molecular Biology**, [S.L.], v. 304, n. 1, p. 55–68, 2000.

PAVANELLO, A. C. L.; MUCINHATO, R. M. D.; YAMAGUCHI, M. M.; BERTOZZI, J.; SILVA, M. G. G.; KLEINERT, J. J.; OLIVEIRA, J. A. de;. Avaliação da bioacumulação de metais em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Tópicos em Ciências e Tecnologia de Alimentos: Resultados de Pesquisas Acadêmicas**, [S.L.], v. 3, p. 349-390, 2017.

PEREIRA, A. S.; PARREIRA, F. J.; SHITSUKA, D. M. & SHITSUKA, R. **Metodologia da pesquisa científica**. UFSM. 2018. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

PINHO, G. L. L.; PEDROSO, M. S.; RODRIGUES, S. C.; SOUZA, S. S. de; BIANCHINI, A. Physiological effects of copper in the euryhaline copepod *Acartia tonsa*:

waterborne versus waterborne plus dietborne exposure. **Aquatic Toxicology**, [S.L.], v. 84, n. 1, p. 62-70, 2007.

PINHO, M. M.; BIANCHINI, G. L. L.; Biomarkers of waterborne copper exposure in the guppy *Poecilia vivipara* acclimated to salt water. **Aquatic Toxicology**, [S.L.], v. 138-139, p. 60-69, 2013.

POUGH, F. H.; HEISER, J. B & MCFARLAN, W. N. 1996. **Vertebrate Life**. New York, Prentice Hall. 752p.

POUGH, F. H.; HEISER, J. B.; JANIS, C. M. **A Vida dos Vertebrados**. 4.ed. São Paulo: Atheneu Editora São Paulo Ltda, p. 750, 2008.

PRESTES, R. M. & VINCENCI, K. L. Bioindicadores como avaliação de impacto ambiental. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, [S.L.], v. 2, n. 4, 1473-1493, 2019.

PRITCHARD, P. C. H. & TREBBAU, P. 1984. **The turtles of Venezuela**. New York, SSAR. 403p.

PRITCHARD, P. C. H. **Encyclopedia of turtles**. T.F.H. Publications Incorporated, Limited. Neptune, New Jersey, p. 859, 1979.

QUINTELA, F. M.; LIMA, G. P.; SILVEIRA, M. L.; COSTA, P.; BIANCHINI, A.; LOEBMANN, D. & MARTINS, S. E. High arsenic and low lead concentrations in fish and reptiles from Taim wetlands, a Ramsar site in southern Brazil. **Science of The Total Environment**, [S.L.], v. 660, p. 1004-1014, 2019.

QUINTELA, F. M.; PINO, S. R.; SILVA, F. C.; LOEBMANN, D.; COSTA, P. G.; BIANCHINI, A. & MARTINS, S. E. Arsenic, lead and cadmium concentrations in caudal crests of the yacare caiman (*Caiman yacare*) from Brazilian Pantanal. **The Science of the total environment**, [S.L.], v. 707, p. 135479, 2020.

RASHED, M. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. **Environment International**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 27–33, 2001.

RAXWORTHY, C. J.; PEARSON, R. G.; ZIMKUS, B. M.; REDDY, S.; DEO, A. J.; NUSSBAUM, R. A.; INGRAM, C. M. Continental speciation in the tropics: contrasting biogeographic patterns of divergence in the uroplatus leaf: tailed gecko radiation of madagascar. **Journal Of Zoology**, [S.L.], v. 275, n. 4, p. 423-440, 2008.

READ, J. L. Are geckos useful bioindicators of air pollution? **Oecologia**, [S.L.], v. 114, n. 2, p. 180-187, 1998.

REICH, K. J.; BJORN DAL, K. A. & MARTÍNEZ DEL RIO, C. Effects of growth and tissue type on the kinetics of ¹³C and ¹⁵N incorporation in a rapidly growing ectotherm. **Oecologia**, [S.L.], v. 155, n. 4, p. 651–663, 2008.

RODRIGUEZ, C.; BEZERRA, M. F.; REZENDE, C. E.; BASTOS, W. R. & LACERDA, L. D. Mercury and methylmercury in carapace of the marine turtle *Caretta caretta*, in

northeastern Brazil and its potential for environmental monitoring. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [S.L.], v. 91, n. 2, 2019.

SAKAI H.; SAEKI K.; ICHIHASHI H.; KAMEZAKI N.; TANABE S.; TATSUKAWA R. Growth-related changes in heavy metal accumulation in green turtle (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Okinawa, Japan. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, [S.L.], v. 39, p. 378–385, 2000.

SALVARANI, P. I.; VIEIRA, L. R.; KU-PERALTA, W.; MORGADO, F. & OSTEN, J. R. Oxidative stress biomarkers and organochlorine pesticides in nesting female hawksbill turtles *Eretmochelys imbricata* from Mexican coast (Punta Xen, Mexico). **Environmental Science and Pollution Research**, [S.L.], v. 25, n. 24, p. 23809–23816, 2018.

SAMPAIO, L. R.; SILVA, M. da C. M. da; OLIVEIRA, A. N. de; SOUZA, C. L. S. de. Avaliação bioquímica do estado nutricional. **Avaliação Nutricional**, [S.L.], p. 49-72, 2012.

SARKAR, A.; RAY, D.; SHRIVASTAVA, A. N.; SARKER, S. Molecular Biomarkers: their significance and application in marine pollution monitoring. **Ecotoxicology**, [S.L.], v. 15, n. 4, p. 333-340, 2006.

SATARUG, S.; BAKER, J. R.; URBENJAPOL, S.; HASWELL-ELKINS, M.; REILLY, P. E. B; WILLIAMS, D. J.; MOORE, M. R. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. **Toxicology Letters**, [S.L.], v. 137, n. 1-2, p. 65-83, 2003.

SCHAFFNER, F. The liver. In: GANS, C.; GAUNT, A.S (Eds.). **Biology of the Reptilia**. Vol.19. Morphology G: Visceral Organs. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. [S.L.]: Ithaca, 1998. p. 485-531.

SCHAUMBURG, L. G.; POLETTA, G. L.; SIROSKI, P. A. & MUDRY, M. D. Baseline values of micronuclei and comet assay in the lizard *Tupinambis merianae* (Teiidae, Squamata). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S.L.], v. 84, p. 99–103, 2012.

SCHNEIDER, L.; BELGER, L.; BURGER, J.; VOGT, R. C.; JEITNER, C. & PELEJA, J. R. P. Assessment of non-invasive techniques for monitoring mercury concentrations in species of Amazon turtles. **Toxicological & Environmental Chemistry**, [S.L.], v. 93, n. 2, p. 238-250, 2010.

SCHNEIDER, L.; EGGINS, S.; MAHER, W.; VOGT, R. C.; KRIKOWA, F.; KINSLEY, L.; EGGINS, S. M. & DA SILVEIRA, R. An evaluation of the use of reptile dermal scutes as a non-invasive method to monitor mercury concentrations in the environment. **Chemosphere**, [S.L.], v. 119, p. 163–170, 2015.

SILVA, J. M.; NAVONI, J. A.; FREIRE, E. M. X. Lizards as model organisms to evaluate environmental contamination and biomonitoring. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 7, p. 454, 2020.

SILVA, L. M. **METAIS PESADOS EM TECIDOS DE *Chelonia mydas* ENCALHADAS NO LITORAL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.** 2011. Monografia (Conclusão do curso de graduação em Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e Costeira) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, 2011.

SIMONYAN, A.; HOVHANNISYAN, G.; SARGSYAN, A.; ARAKELYAN, M.; MINASYAN, S. & AROUTIOUNIAN, R. DNA damage and micronuclei in parthenogenetic and bisexual *Darevskia* rock lizards from the areas with different levels of soil pollution. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S.L.], v. 154, p. 13–18, 2018.

SLIMANI, T.; EL HASSANI, M. S.; EL MOUDEN, E. H.; BONNET, M.; BUSTAMANTE, P.; BRISCHOUX, F.; BRAULT-FAVROU, M. & BONNET, X. (2017). Large-scale geographic patterns of mercury contamination in Morocco revealed by freshwater turtles. **Environmental Science and Pollution Research**, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 2350–2360, 2017.

SOUZA, A. K. R.; MORASSUTI, C. Y.; DEUS, W. B. Poluição do meio ambiente por metais pesados e utilização de vegetais como bioindicadores. **Acta Biomédica Brasiliensia**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 95-106, 2018.

SOUZA, N. L. N.; CARNEIRO, M. T. W. D.; PIMENTEL, E. F.; FROSSARD, A.; FREIRE, J. B.; ENDRINGER, D. C. & FERREIRA JÚNIOR, P. D. Trace elements influence the hatching success and emergence of *Caretta caretta* and *Chelonia mydas*. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, [S.L.], v. 50, p. 117–122, 2018.

STARK, A. A. P.; BONFADA, C. O.; PAULA, L. S. DE; TELES, M. A.; VARELA JUNIOR, A. S.; CORCINI, C. D. & FRANÇA, R. T. Lead intoxication: environmental conflicts in South America and perspective under the conservation of wild birds. **Research, Society and Development**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. e42510212701, 2021.

STOHS, S.; BAGCHI, D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. **Free Radical Biology And Medicine**, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 321-336, 1995.

TCHOUNWOU, P.B.; YEDJOU, C.G.; PATLOLLA, A.K.; SUTTON, D.J. Heavy Metals Toxicity and the Environment. In: LUCH, A. **Molecular, Clinical and Environmental Toxicology**. Basel, Springer Basel: Imprint, 2012.

TRASVIÑA-ARENAS, C. H.; GARCIA-TRIANA, A.; PEREGRINO-URIARTE, A. B. & YEPIZ-PLASCENCIA, G. White shrimp *Litopenaeus vannamei* catalase: Gene structure, expression and activity under hypoxia and reoxygenation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, [S.L.], v. 164, n. 1, p. 44–52, 2013.

VALDIVIA, P. A.; ZENTENO-SAVÍN, T.; GARDNER, S. C.; AGUIRRE, A. A. Basic oxidative stress metabolites in eastern Pacific green turtles (*Chelonia mydas agassizii*). **Comparative Biochemistry And Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, [S.L.], v. 146, n. 1-2, p. 111-117, 2007.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 57-149, 2003.

VANZOLINI, P. E. A new species of turtles, Genus *Trachemys*, from state os Maranhão, Brazil (Testudines, Emydidae). **Revista Brasileira de Biologia**. [S.L.], v. 55, n. 1, p. 111- 125. 1995.

VANZOLINI, P. E. A note on the reproduction of *Trachemys dorbigni* (Testudines, Emydidae). **Revista Brasileira de Biologia**, [S.L.], v. 57, n. 1, p. 111-125, 1997.

VAROL, M. Assessment of heavy metal contamination in sediments of the Tigris River (Turkey) using pollution indices and multivariate statistical techniques. **Journal of Hazardous Materials**, [S.L.], v. 195, p. 355–364, 2011.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. de F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. da S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, [S.L.], v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VENANCIO, L.P.R. **Cágado-de-barbelas (*Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812), Testudines: Chelidae) como modelo para ecotoxicologia evolutiva: relacionamento entre contaminação ambiental, condição e variabilidade genética**. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista. São Paulo, p. 158. 2012.

WANG, Q.; KIM, D.; DIONYSIOU, D. D.; SORIAL, G. A.; TIMBERLAKE, D. Sources and remediation for mercury contamination in aquatic systems—a literature review. **Environmental Pollution**, [S.L.], v. 131, n. 2, p. 323-336, 2004.

WILSON, D. N. Cadmium market trends and influences. In: WILSON, D.N. **Cadmium 87 Proceedings of the 6th International Cadmium Conference**, London, UK: Cadmium Association, 1988.

WINGS, O. A review of gastrolith function with implications for fossil vertebrates and a revised classification. **Acta Palaeontologica Polonica**, v. 52, p.1–16, 2007.

WISE, S. S.; WISE, C.; XIE, H.; GUILLETTE, L. J.; ZHU, C.; WISE, J. P. & WISE, J. P. Hexavalent chromium is cytotoxic and genotoxic to American alligator cells. **Aquatic Toxicology**, [S.L.], v. 171, p. 30–36, 2016.

XU, Q.; FANG, S.; WANG, Z.; WANG, Z. Heavy Metal Distribution in Tissues and Eggs of Chinese Alligator (*Alligator sinensis*). **Archives Of Environmental Contamination And Toxicology**, [S.L.], v. 50, n. 4, p. 580-586, 2006.

ZOCHE, J. J.; DAMIANI, A. P.; HAINZENREDER, G.; MENDONÇA, R. Á.; PERES, P. B.; SANTOS, C. E. I. dos; DEBASTIANI, R.; DIAZ, J. F. & ANDRADE, V. M. de. Assessment of heavy metal content and DNA damage in *Hypsiboas faber* (anuran

amphibian) in coal open-casting mine. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 194–201, 2013.

Anexos

Anexo I - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal

24/03/2021

SEI/UFPEL - 1081415 - Parecer



PARECER N°
PROCESSO N°

123/2020/CEEA/REITORIA
23110.023794/2020-90

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “*Trachemys dorbigni* como bioindicador de metais pesados”, registrada com o n° 23110.023794/2020-90, sob a responsabilidade de **Raquel Teresinha França** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n° 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n° 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **09 de outubro de 2020**.

Finalidade	(x) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	01/11/2020 a 30/04/ 2021
Número da Solicitação ou Autorização SISBIO	76346-2
N° de animais	20
Atividade (s)	Coleta de sangue e fragmento de carapaça
Espécie/Grupos Taxonômicos	<i>Trachemys dorbigni</i>
Local (is)	Centro urbano e zona rural da cidade de Pelotas/RS

Código para cadastro n° **CEEA 23794-2020**

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX, Médico Veterinário**, em 13/10/2020, às 09:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1081415** e o código CRC **C8C4EE0A**.