



Universidade Federal do Rio Grande  
Instituto de Ciências Biológicas  
Pós-graduação em Biologia de  
Ambientes Aquáticos Continentais



**Relação entre o uso antrópico do solo e a  
ocorrência de metais-traço em serpentes  
simpátricas da Planície Costeira do Rio Grande do  
Sul**

**Vinícius Mendes**

Orientador: Daniel Loebmann  
Coorientador: Fernando Marques Quintela

Rio Grande  
2022



Universidade Federal do Rio Grande  
Instituto de Ciências Biológicas  
Pós-graduação em Biologia de Ambientes  
Aquáticos Continentais



## **Relação entre o uso antrópico do solo e a ocorrência de metais-traço em serpentes simpátricas da Planície Costeira do Rio Grande do Sul**

**Aluno:** Vinícius Mendes

**Orientador:** Daniel Loebmann

**Coorientador:** Fernando Marques Quintela

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

Rio Grande  
2022

## Ficha Catalográfica

M538r Mendes, Vinícius.

Relação entre o uso antrópico do solo e a ocorrência de metais-traço em serpentes simpátricas da Planície Costeira do Rio Grande do Sul / Vinícius Mendes. – 2022.

72 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Rio Grande/RS, 2022.

Orientador: Dr. Daniel Loebmann.

Coorientador: Dr. Fernando Marques Quintela.

1. Ecotoxicologia 2. Répteis 3. Contaminação ambiental  
4. Unidade de conservação I. Loebmann, Daniel II. Quintela, Fernando Marques III. Título.

CDU 574.64(816.5)

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE AMBIENTES  
AQUÁTICOS CONTINENTAIS



**ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIOLOGIA DE  
AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS – Nº 005/2022**

Às 14h00 (quatorze horas) do dia 27 (vinte e sete) do mês de junho de 2022 (dois mil e vinte e dois), via Webconferência no endereço eletrônico: (<https://conferenciaweb.rnp.br/webconf/leonardo-emendoerfer-mello>) reuniram-se docentes, discentes e comunidade em geral, para a Defesa Pública da Dissertação de Mestrado do acadêmico **Vinícius Mendes Menezes**. A Dissertação intitulada **“Relação entre o uso antrópico do solo e a ocorrência de metais-traço em serpentes simpátricas da Planície Costeira do Rio Grande do Sul”** foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelo Orientador: Prof. Dr. Daniel Loebmann (Orientador e Presidente da Banca); Prof<sup>o</sup> Dr. Fernando Marques Quintela (Co-orientador); Prof<sup>o</sup> Dr. Leonardo Maltchik Garcia (FURG); Prof<sup>a</sup> Dra Raquel Fernanda Salla Jacob (UFSCAR). Após a defesa e arguição pública, a Banca Examinadora reuniu-se, para deliberação final, e considerou o acadêmico **APROVADO**. Desta forma, o acadêmico concluiu mais uma das etapas necessárias para a obtenção do grau de **MESTRE EM BIOLOGIA DE AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS**. Nada mais havendo a tratar, às 17h00 (dezessete horas) foi lavrada a presente ata, que lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Banca Examinadora, pelo Acadêmico e pelo Coordenador do Curso.

Documento assinado digitalmente

gov.br

DANIEL LOEBMANN  
Data: 28/06/2022 15:52:19-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Daniel Loebmann

Prof<sup>o</sup> Dr. Fernando Marques Quintela

Prof<sup>o</sup> Dr. Leonardo Maltchik Garcia

Prof<sup>a</sup> Dra Raquel Fernanda Salla Jacob

Vinícius Mendes Menezes

Prof. Dr. Rogério Tubino Vianna  
Coordenador do Curso

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a minha mãe Rosane por ter me dado todo o apoio do mundo em cada uma das minhas escolhas (fossem pessoais ou profissionais). Tu é incrível, minha *véia*, te amo!

Ao restante da minha família (avós, tias, irmã) por também terem prestado muito apoio nos meus estudos e terem me incentivado a continuar sempre.

Agradeço demais a minha namorada por estar do meu lado inclusive quando eu precisei de ajuda a campo ou em laboratório, além de todo o apoio emocional que me prestou. Te amo!

A todos os amigos que fiz dentro da FURG, em especial Saulo, Felipe, Francisco, Andréa, Juliana, Patrícia, Omar e Raíssa. Sem estes e todos os momentos que passamos (entre cafés no lab, bolos de pote, lamentações na sala de permanência e conversas nos grupos de whatsapp) eu definitivamente não teria conseguido.

Aos meus amigos de Santa Maria, em especial Ytalo, Fernanda, Ricardo, Tailan e Dalvan por também prestarem um importante apoio emocional nessa caminhada.

Aos amigos feitos durante minha carreira como biólogo, em especial Caroline, Bruno e Guillermo, por todos os ensinamentos e auxílios prestados.

A minha psicóloga Daniela, por ter ajudado a vencer as pressões sentidas em uma pós-graduação realizada durante uma pandemia e sob um (des)governo anti-ciência.

Agradeço novamente a Saulo e Felipe pelas ajudas práticas, tanto a campo quanto em laboratório.

Ao prof. Adalto e à dra. Patrícia pelos auxílios referentes a todo o processo de determinação das concentrações de metais.

Por fim agradeço muito aos meus orientadores e amigos Daniel e Fernando. Além do aprendizado científico que tive, agradeço por todas as vezes que estiveram dispostos a auxiliar em tudo o que precisei.

## RESUMO

As áreas úmidas são ecossistemas de suma importância biológica e econômica, tornando-as atrativas para as populações humanas. Entretanto estas áreas sofrem com pressões antrópicas, em especial a introdução de contaminantes. Elementos como os metais pesados e metaloides frequentemente exibem grandes danos à biota e, quando as atividades antrópicas elevam suas concentrações em ambientes naturais, podem ser incorporados pela cadeia trófica e muitas vezes são bioacumulados por organismos que ocupam níveis tróficos mais elevados. Dentre estes elementos, destacam-se o arsênio (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e mercúrio (Hg), os quais são frequentemente encontrados em efluentes industriais e defensivos agrícolas. Serpentes já foram indicadas como potenciais bioindicadores para a situação dos elementos-traço em ambientes naturais, dada sua posição na cadeia trófica, sua história natural e outras características. Dito isso, o presente estudo teve com objetivos: (1) Verificar a relação entre a concentração de As, Hg, Pb e Cd nos tecidos de *Helicops infrataeniatus* e o uso do solo em três áreas distintas: o Distrito Industrial de Rio Grande, área sob influência da atividade industrial; a localidade de Santa Izabel do Sul, sob influência agrícola; e uma unidade de conservação, a Estação Ecológica do Taim; (2) verificar a variação interespecífica das concentrações de As, Hg, Pb e Cd em quatro espécies de serpentes coletadas no município de Rio Grande e (3) avaliar a correlação entre o tamanho corporal dos indivíduos e as concentrações de As, Hg, Pb e Cd encontradas nos mesmos. Os metais foram mensurados em amostras de fígado e tecido muscular. As concentrações dos metais-traço em *H. infrataeniatus* não variaram significativamente entre as diferentes localidades. Como estas estão inseridas em uma mesma formação, a Planície Costeira do Rio Grande do Sul, é possível que a composição geoquímica da formação seja um fator mais importante do que o uso antrópico do solo para as concentrações de elementos-traço. Quanto ao estudo interespecífico, também não houve variação significativa entre as espécies, indicando que a comunidade estaria exposta de maneira uniforme. No entanto, três correlações negativas foram encontradas em serpentes do gênero *Erythrolamprus*. Portanto, uma potencial variação ontogenética na dieta ou uso de habitat poderia ter certa influência na exposição aos elementos.

**Palavras-chave:** Ecotoxicologia; répteis; contaminação ambiental; unidade de conservação.

## ABSTRACT

Wetlands are ecosystems of great biological and economic importance, making them attractive to human populations. However, these areas suffer from anthropogenic pressures, especially the contaminant dumping. Elements such as heavy metals and metalloids often exhibit great damage to biota and, when anthropic activities increase their concentrations in natural environments, they can be incorporated into the trophic chain and are often bioaccumulated by organisms occupying higher trophic levels. Among these elements we can highlight the arsenic (As), cadmium (Cd), lead (Pb), and mercury (Hg), which are often found in industrial effluents and agricultural pesticides. Snakes have already been indicated as potential bioindicators for the status of trace elements in natural environments, given their position in the food chain, their natural history, and other characteristics. That said, the present study aimed to: (1) verify the relationship between the concentration of As, Hg, Pb and Cd in *Helicops infrataeniatus* tissues and land use in three different areas: the Industrial District of Rio Grande, an area under the influence of industrial activity; the Santa Izabel do Sul region, under agricultural influence; and a conservation unit, the Taim Ecological Station; (2) verify the interspecific variation of As, Hg, Pb and Cd concentrations in four snake species collected in the municipality of Rio Grande and (3) evaluate the correlation between the body size of individuals and the concentrations of As, Hg, Pb and Cd. The metals were measured in liver and muscle tissue samples. The trace metals concentrations in *H. infrataeniatus* did not vary significantly among the different locations. As they are inserted in the same formation, the Coastal Plain of Rio Grande do Sul, it is possible that the geochemical composition of the formation is a more important factor than the anthropic use of the soil for the concentrations of trace elements. As for the interspecific study, there was also no significant variation among the species, indicating that the community would be uniformly exposed. However, three negative correlations were found in snakes of the genus *Erythrolamprus*. Therefore, potential ontogenetic variation in diet or habitat use could have some influence on element exposure.

**Key-words:** Ecotoxicology; reptiles; environmental contamination; conservation unit

## APRESENTAÇÃO

Esta dissertação está dividida em quatro partes, sendo elas introdução geral, dois capítulos formatados sob normas de revistas científicas, e considerações finais. A introdução geral apresenta informações sobre as pressões sofridas pelas regiões formadas principalmente por áreas úmidas, incluindo a deposição de contaminantes. São apresentados também conceitos e informações acerca destes contaminantes, em especial aqueles conhecidos como “elementos-traço”. É abordada ainda a absorção desses elementos por animais e o eventual uso destes como ferramentas de biomonitoramento. O capítulo 1 se trata de um manuscrito seguindo o padrão de um periódico científico, analisando a concentração de quatro elementos-traço em tecidos de uma espécie de serpente em três pontos da planície costeira do sul do Brasil. O capítulo 2, também padronizado segundo periódico científico, aborda a concentração de metais-traço em quatro espécies de serpentes coletadas em uma região urbanizada, buscando compreender a importância do fator “espécie” nessas concentrações. Por fim, a quarta parte da dissertação apresenta as considerações finais sobre a dissertação apresentada, indicando as perspectivas e desafios futuros no tema abordado

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	11
Poluição, contaminação e a presença de metais-traço em ambientes naturais.....	12
As serpentes como bioindicadores .....	15
Área de Estudo .....	17
As espécies .....	19
Determinação das concentrações de As, Hg, Pb e Cd.....	20
OBJETIVO GERAL .....	20
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
HIPÓTESES.....	20
REFERÊNCIAS .....	22
CAPÍTULO 1 .....	31
Resumo.....	32
1. Introdução.....	33
2. Materiais e métodos .....	36
2.1. Área de Estudo .....	36
2.2. Amostragem .....	38
2.3. Determinação das concentrações de As, Hg, Pb e Cd.....	38
2.4. Análise dos dados.....	39
3. Resultados .....	39
4. Discussão.....	40
4.1. Arsênio .....	40
4.2. Cádmio .....	42
4.3. Chumbo .....	42
4.4. Mercúrio.....	43
5. Conclusões .....	45
6. Referências.....	46
7. Figuras e Tabelas.....	52
CAPÍTULO 2 .....	56
Resumo.....	57
1. Introdução.....	58
2. Materiais e métodos .....	60
3. Resultados .....	62
4. Discussão.....	62

5. Referências.....	65
6. Figuras e tabelas.....	68
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
ANEXOS.....	70

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa dos pontos amostrais do presente estudo. RG: Município de Rio Grande; S.IZA: Localidade de Santa Izabel; TAIM: Estação Ecológica do Taim (em amarelo a área total da unidade de conservação). .....	18
Figura 2 - Mapa dos pontos amostrais do presente estudo. RG: Município de Rio Grande; S.IZA: Localidade de Santa Izabel; TAIM: Estação Ecológica do Taim (em amarelo a área total da unidade de conservação). .....	52
Figura 3 - Correlações lineares de Pearson entre o comprimento rostro-cloacal dos indivíduos e a concentração de cada metal estudado.....	53
Figura 4 - Concentrações de metais e metalóides por tecido amostrado, e respectivo valor de significância da diferença destes, segundo teste de Wilconxon.....	54

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores padrões utilizados para a calibração do equipamento espectrofotômetro. ....	54
Tabela 2 - Valores de concentração de arsênio, cádmio, mercúrio e chumbo em <i>Helicops infrataeniatus</i> . .....	55
Tabela 3 - média e desvio padrão em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ das concentrações de metais-traço por espécie e por tecido. ....	68
Tabela 4 - Valor de $p$ do teste de Wilcoxon, indicando a significância das diferenças entre as concentrações dos metais entre tecidos.....	68

## INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil possui uma região costeira de aproximadamente 8.500 quilômetros de extensão, transpassando 16 estados e cinco das seis maiores regiões metropolitanas do país (Jablonski e Filet, 2008). Essa porção do território brasileiro, além de acomodar uma enorme densidade demográfica, compreende também diversos ambientes naturais diferentes. É na região costeira do país que se encontram a maior parte dos remanescentes da Mata Atlântica *stricto sensu* (Ribeiro *et al.* 2009). Além de ambientes florestados, a região abriga também restingas, mangues e demais áreas úmidas, muitas dessas formadas através do sucessivo avanço e recuo do oceano sobre a plataforma continental.

As áreas úmidas são ecossistemas onde o solo se mantém saturado por água durante ao menos algum período, ocorrendo uma flutuação dos níveis de água (Mitsch e Gosselink, 2015) e, conseqüentemente, abrigando uma biota adaptada a seu regime hídrico (Junk *et al.*, 2018). Esses ambientes são reconhecidos pela sua importância tanto do ponto de vista biológico quanto econômico, promovendo, por exemplo, armazenamento e purificação da água; regulação do microclima; retenção de carbono; armazenamento de sedimentos e nutrientes; entre outros (Fletcher *et al.*, 2011; Kingsford *et al.*, 2016). Áreas úmidas são frequentemente utilizadas inclusive para a irrigação agrícola, como por exemplo a orizicultura, a qual depende fortemente de grandes volumes hídricos (Mitra *et al.*, 2017). Além disso, as áreas úmidas são consideradas de suma importância para a biodiversidade, pois promovem regiões de especiação, endemismo e oferecem diversos suportes a espécies direta e indiretamente relacionadas a elas (Junk *et al.*, 2014).

No entanto, tais ecossistemas merecem especial atenção em relação a pressões antrópicas. A produtividade e a variedade de recursos disponíveis nas áreas úmidas as tornam atrativas para as populações humanas. A demanda por recursos hídricos, em especial pela agricultura, pecuária e produção de energia, é responsável por uma considerável degradação das áreas úmidas (Kingsford, 2015). Alterações no curso dos rios (*e.g.*: barragens, retificações, desvios) e a extração de água para irrigação promovem mudanças nos regimes hídricos e no aporte de sedimento e nutrientes de áreas úmidas, planícies de inundação e afins. Em regiões de grande atividade agrícola, a drenagem dessas áreas para irrigação é destacada como um dos principais motivos de perda de habitat, podendo causar erosão, lixiviação e alterações químicas inclusive em regiões adjacentes (Zedler e Kercher, 2005).

## **Poluição, contaminação e a presença de metais-traço em ambientes naturais**

Dentre os vários danos causados aos ambientes aquáticos pela antropização podemos destacar ainda a poluição, que pode trazer consequências como eutrofização e o aumento das concentrações de compostos nocivos para a biota. Muitos elementos conhecidos por causarem danos aos seres vivos possuem ampla utilização tanto na indústria quanto na agricultura (Machado *et al.*, 2017), sendo que a entrada destes contaminantes em áreas úmidas e ambientes aquáticos pode ocorrer tanto pelo despejo direto de efluentes quanto por deposição atmosférica. Estes contaminantes, quando liberados no ambiente natural, podem se dispersar tanto espacialmente nos respectivos ambientes quanto através da cadeia trófica, contaminando diversos grupos taxonômicos e colocando em risco inclusive as populações humanas (Chen e Folt, 2000). Alguns elementos contaminantes dos ambientes aquáticos se mostram tóxicos inclusive em baixas concentrações (Alam *et al.*, 2011). Ingestão de água e alimentos contaminados são importantes vias de absorção de elementos tóxicos pela fauna. Eventualmente, os contaminantes podem ser bioacumulados pelos organismos (Ali e Khan, 2018a; Rahman *et al.*, 2012), ou seja, ocorre um aumento das concentrações destes elementos ao longo do tempo. Este processo impacta em especial espécies que ocupam níveis tróficos mais elevados (Burger *et al.*, 2017; Hopkins *et al.*, 2001). No sul do Brasil, ambientes aquáticos naturais inseridos em região com forte atividade agrícola já se encontraram impactados, sendo constatada a presença de diversos pesticidas em tais ambientes (Castro-Lima *et al.*, 2020). Não obstante, contaminantes inorgânicos (incluindo elementos-traço) e compostos orgânicos presentes em agrotóxicos foram encontrados em três diferentes regiões hidrográficas do Rio Grande do Sul, sendo inclusive bioacumulados pelo zooplâncton presente nestas áreas (Zebral *et al.* 2021).

Dentre estes contaminantes estão os metais pesados, que são metais de ocorrência natural, número atômico superior a 20 e densidade acima de  $5 \text{ g/cm}^{-3}$  (Ali e Khan, 2018b), além de metaloides, frequentemente inseridos no mesmo contexto por possuírem características semelhantes aos metais pesados, inclusive em relação à toxicidade. Alguns destes metais e metaloides são comumente chamados de metais traço, por serem elementos encontrados naturalmente em baixas concentrações. A mobilidade e toxicidade destes elementos são influenciadas pela sua especiação, ou seja, a existência de diferentes formas do elemento no ambiente (Bjerregaard *et al.*, 2014). Por sua vez, a especiação é influenciada por diversos fatores físicos do ambiente como pH, temperatura, presença de matéria orgânica, entre outros. A espécie química do elemento também influencia na disponibilidade deste para assimilação

pela biota (Magalhães *et al.*, 2015). Alguns destes metais não participam das rotas metabólicas e não possuem função ou importância conhecida nos organismos, sendo frequentemente denominados “não-essenciais”. Este é o caso do metalóide arsênio (As) e dos metais cádmio (Cd) chumbo (Pb) e mercúrio (Hg), elementos altamente tóxicos e frequentemente encontrados no ambiente (Shakir *et al.*, 2017; Tchounwou *et al.*, 2012).

O arsênio é um elemento químico classificado como metaloide, possui número atômico 33, é altamente tóxico e considerado não-essencial. Ocorre naturalmente em rochas ígneas, metamórficas e sedimentares, sendo encontradas nestas últimas as maiores concentrações (Smedley e Kinniburgh, 2002). No entanto, este elemento é raramente encontrado em forma livre no ambiente (Thompson, 1993). Em águas naturais, o arsênio é mais frequentemente encontrado em formas inorgânicas como os íons As (III) e As (V) (Smedley & Kinniburgh, 2002, Hussain *et al.* 2020), estando estas entre as espécies mais tóxicas do elemento (Thompson, 1993). Quando absorvidas pelos organismos, algumas formas inorgânicas, através do processo de biometilação, podem ser convertidas em formas metiladas (Barra *et al.*, 2000). No entanto, as espécies metiladas trivalentes (DMA(III) e MMA(III)) apresentam maior genotoxicidade do que as formas inorgânicas não-metiladas (Dopp *et al.*, 2004). O As é liberado para a atmosfera de diversas maneiras, porém processos antrópicos são usualmente relacionados a concentrações elevadas do metaloide no ambiente (Kumari *et al.*, 2017). Arsênio é frequentemente utilizado em compostos presentes em inseticidas, herbicidas, fungicidas e outros produtos de uso agrícola (Defarge *et al.*, 2018; Wang e Mulligan, 2006). Kumari e colaboradores (2017), em revisão bibliográfica, mencionaram várias consequências da intoxicação por As em peixes, como alterações comportamentais, lesões no fígado, rins e vesícula biliar, colapso vascular nas brânquias, necrose e danos nas gônadas. Em serpentes foi observado um aumento nas taxas metabólicas de indivíduos coletados em uma região contaminada por arsênio, cádmio, selênio, cromo e cobre, frente a indivíduos coletados em um local de referência (Hopkins *et al.*, 1999).

Mercúrio é um metal de número atômico 80 com usos na indústria, em produtos médicos e em fungicidas, podendo ter efeitos carcinogênicos (Tchounwou *et al.*, 2012). A forma elementar do mercúrio é a mais comum na atmosfera. Entretanto, é nos ambientes aquáticos que ocorre em maior intensidade o processo de metilação do mercúrio elementar/inorgânico (Schneider *et al.*, 2013), dando origem ao metilmercúrio (MeHg), uma forma orgânica altamente tóxica e perigosa para a biota devido ao seu potencial de bioacumulação e biomagnificação (Pouilly *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2018). Consequentemente, o MeHg tende a ser a forma mais abundante deste elemento em áreas úmidas. O vulcanismo, volatilização no

oceano e intemperismo de solos com a presença do mercúrio são processos que mobilizam esse elemento (Pirrone *et al.*, 2010). Já entre as fontes antropogênicas estão emissões através da queima de combustíveis fósseis, produção de soda cáustica, presença em pesticidas, fungicidas e nos processos de extração e fundição de outros metais (Bjerregaard *et al.*, 2014; Pirrone *et al.*, 2010; Tchounwou *et al.*, 2012). O consumo de frutos do mar contaminados são vias de exposição para humanos. Em aves piscívoras expostas ao Hg foram observadas alterações neurológicas, levando inclusive a uma diminuição da performance reprodutiva dos indivíduos contaminados (Chan *et al.*, 2003). Para répteis, efeitos como diminuição da taxa de crescimento, afinidade do Hg com eritrócitos e impactos negativos ao sistema imune já foram observados (Schneider *et al.*, 2013).

O chumbo (Pb) é um metal de número atômico 82, não-essencial e tóxico. Deposições naturais de Pb estão relacionadas a vulcanismo e intemperismo. Encontrado em pesticidas à base de glifosato (Defarge *et al.*, 2018), o chumbo também está presente em pigmentos, baterias, processos de fundições de minerais e emissões resultantes da queima de combustíveis fósseis. Por muito tempo o chumbo também esteve presente na gasolina, estando nesta na forma de chumbo tetraalquila. Durante a queima da gasolina, aproximadamente 70 a 75% do chumbo era lançado à atmosfera (Hoffman *et al.*, 2002), além das contaminações através do derramamento do combustível no ambiente. No entanto, a adição de chumbo à gasolina está proibida no Brasil desde 1989. Há registros de altas concentrações de chumbo no ambiente em regiões próximas a fábricas de baterias (Yabe e Oliveira, 1998). Em relação aos efeitos da contaminação no organismo, o Pb está associado a disfunções no sistema nervoso, imunológico e problemas na reprodução (Araújo *et al.*, 2016). Em estudo experimental, lagartos (*Sceloporus occidentalis*) receberam, por via oral, doses agudas, subagudas e subcrônicas de acetato de chumbo (Salice *et al.*, 2009). Todos os indivíduos expostos a concentrações agudas superiores a 2000 mg/kg foram a óbito, enquanto efeitos como diminuição do peso corporal, alterações hematológicas, histopatológicas e comportamentais foram observados nos lagartos expostos a doses subletais. No sul do Brasil, a contaminação por chumbo em répteis foi verificada apenas recentemente em ambientes naturais (Quintela *et al.*, 2019).

Também considerado altamente tóxico e sem função biológica conhecida, o cádmio (Cd) possui número atômico 48. O vulcanismo é a principal fonte de mobilização natural do metal, enquanto o intemperismo é responsável pelas maiores deposições de Cd para solos e ambientes aquáticos (WHO, 2003). Dentre as fontes antropogênicas de cádmio destacam-se a liberação de efluentes industriais, mineração, produção e uso de baterias e uso de fertilizantes. Além de se mostrar genotóxico e carcinogênico, o Cd compete com elementos essenciais em

rotas metabólicas, como o selênio e o cálcio (Wang e Shi, 2001), sendo inclusive acumulado em ossos. A exposição aguda em humanos pode levar a efeitos como irritação pulmonar e gastrointestinal, ocasionando diversos sintomas e inclusive podendo levar a óbito (Tchounwou *et al.*, 2012). Em revisão sobre danos em testículos de mamíferos e aves, Maretov e colaboradores (2015) mencionam efeitos como danos em vasos sanguíneos e epitélio espermatogênico, destruição de túbulos seminíferos e necrose, comprometendo fortemente a função testicular e, conseqüentemente, a reprodução de indivíduos afetados. Em lagartos, danos e alterações hepáticas, alterações no epitélio ovariano e degeneração de ovócitos foram observados em indivíduos adultos. Já no estágio embrionário, anomalias graves como exencefalia e anencefalia foram reportados para indivíduos oriundos de ovos incubados em solos contaminados por Cd (Scudiero *et al.*, 2011). Exposições agudas em quelônios causaram uma diminuição na performance locomotora, entretanto os indivíduos utilizados no estudo mostraram uma aclimatação frente aos efeitos causados pelo contaminante durante experimento de exposição crônica ao cádmio.

### **As serpentes como bioindicadores**

Dada a importância destes elementos devido a sua toxicidade, tanto as vias de exposição quanto seus efeitos em humanos são frequentemente abordados. Também não são raros os estudos que tratam sobre as concentrações de contaminantes em quelônios (Finlayson *et al.*, 2016) e especialmente em peixes (Ali e Khan, 2018a), uma vez que estes últimos comumente compõem parte da dieta humana. Porém, ainda que a contaminação ambiental esteja entre as principais causas de declínio de populações de répteis (Todd *et al.* 2010), artigos que abordam essa temática em serpentes são ainda escassos (Burger *et al.*, 2017) e em sua maioria focam exclusivamente em espécies de hábito aquático (Burger *et al.*, 2006; Campbell *et al.*, 2005). Serpentes exibem grande variabilidade tanto em seus hábitos alimentares quanto no uso do habitat e substrato. Quanto à dieta, as espécies podem ser especialistas (batracófagas, ofiófagas, piscívoras, etc.) ou generalistas. Em relação ao uso do habitat, as espécies podem ser terrícolas, fossoriais, arborícolas ou aquáticas, havendo ainda espécies que se utilizam de mais de um substrato. Por se tratarem de animais exclusivamente carnívoros, as serpentes tendem a ocupar níveis tróficos mais elevados e, conseqüentemente, possuem maior risco de biomagnificação de elementos e compostos tóxicos (Todd *et al.*, 2010). Além disso, fatores como a variedade de dieta e hábitos entre diferentes espécies, bem como a área de vida relativamente pequena, coloca estes animais como potenciais bioindicadores de exposição a tais elementos (Grillitsch &

Schiesari, 2010; Haskins *et al.*, 2019). Diferenças espaciais e interespecíficas foram encontradas nas concentrações de mercúrio em quatro espécies de serpentes simpátricas, coletadas ao longo de um gradiente de contaminação em um rio na costa leste dos Estados Unidos (Drewett *et al.*, 2013). Neste estudo, as serpentes aquáticas piscívoras se mostraram mais expostas a contaminação, indicando uma influência dos aspectos ecológicos das espécies sobre sua exposição a elementos nocivos. O mesmo padrão havia sido observado em quatro espécies de quelônios na mesma área de estudo (Bergeron *et al.*, 2007). A relação entre a dieta de diferentes espécies e sua influência sobre a exposição a metais também foi observada por Mirlean e colaboradores (2005) em peixes no Rio Grande do Sul. Neste estudo, os autores associaram as variações na concentração de mercúrio nos tecidos de quatro espécies com seus respectivos hábitos alimentares, a precipitação nos pontos de coleta e a distância de fontes emissoras do metal.

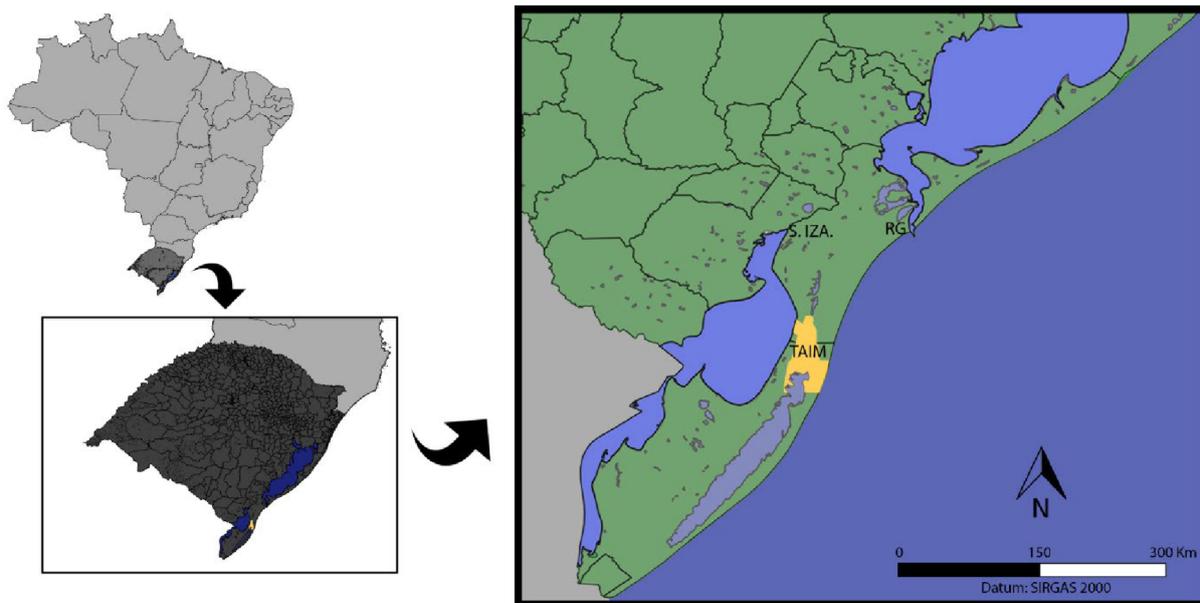
O Brasil possui uma grande diversidade de serpentes, superando 400 espécies (Costa et al. 2022). No entanto, abordagens ecotoxicológicas envolvendo este grupo mostram-se escassas no país. No Espírito Santo foram mensuradas as concentrações de metais e metalóides em indivíduos de *Boa constrictor* e *Bothrops jararaca* (Frossard *et al.*, 2017), entretanto dentre os elementos analisados apenas Pb e Cd correspondiam a metais não-essenciais. Além disso, as duas espécies presentes no estudo supracitado foram coletadas em regiões distintas, impossibilitando a avaliação interespecífica das concentrações dos metais sob influência das mesmas fontes emissoras. Frossard e colaboradores (2019) também realizaram experimentos controlados e sugeriram que *B. jararaca* possa ser um potencial bioindicador para a contaminação ambiental de cádmio, inclusive bioacumulando o elemento. No Rio Grande do Sul, o único estudo a abordar contaminação por metais e metaloides em serpentes foi realizado por Quintela e colaboradores (2019), que mensuraram as concentrações de arsênio e chumbo em espécimes da serpente aquática *Helicops infrataeniatus* procedentes da Estação Ecológica do Taim. Dentre os grupos abordados neste estudo (peixes, *H. infrataeniatus*, *Trachemys dorbigni* e *Caiman latirostris*), as maiores concentrações de As foram encontradas em espécimes de *H. infrataeniatus*, que também correspondem aos maiores valores já encontrados em serpentes. Mesmo tratando-se de um estudo realizado em unidade de conservação, as concentrações de As observadas se mostraram superiores quando comparadas a trabalhos realizados tanto em ambientes pouco perturbados quanto naqueles altamente impactados. Estes dados evidenciam a extensão dos impactos antrópicos na região. No entanto, nenhum estudo foi ainda realizado em locais situados nos perímetros ou próximos às áreas consideradas como potenciais fontes de emissão.

Ainda que serpentes possuam características que as tornam organismos de interesse para a determinação de contaminantes, este grupo encontra-se ainda subamostrado (Campbell & Campbell, 2002), uma vez que mesmo estudos pontuais e de curto prazo exibem dados de grande relevância no contexto ecotoxicológico. Além disso, existem lacunas quanto à influência dos aspectos ecológicos da biota e do uso antrópico da paisagem sobre a contaminação por metais e metaloides especialmente em serpentes, mesmo que essa abordagem tenha gerado resultados interessantes em estudos anteriores (Bergeron *et al.*, 2007; Drewett *et al.*, 2013).

Compreender como a biologia e ecologia das espécies influencia na absorção de contaminantes é importante para apontar potenciais organismos bioindicadores para os ambientes. Concomitantemente, verificar a influência do uso do solo sobre as concentrações de elementos nocivos nos organismos, auxilia na detecção de regiões que necessitam de atenção do ponto de vista conservacionista. Portanto, ainda existem hiatos no conhecimento sobre a contaminação por metais-traço, em especial em regiões e *taxa* negligenciados. Nesse contexto, o presente estudo mensurou a presença de arsênio, chumbo, cádmio e mercúrio em cinco espécies de serpentes simpátricas em três regiões amostrais com distintos usos do solo (unidade de conservação, agricultura extensiva e indústrias), verificando assim a ocorrência e as variações nos níveis de contaminação entre as espécies analisadas e as regiões de suas coletas.

## **Área de Estudo**

O estudo foi realizado em três regiões amostrais localizadas na Planície Costeira do Rio Grande do Sul: o Distrito Industrial de Rio Grande; a localidade de Santa Isabel do Sul e a Estação Ecológica do Taim (Figura 1). A Planície Costeira se estende por aprox. 620km, compreendendo um grande número de ambientes aquáticos, como ambientes de áreas úmidas, canais naturais e artificiais e grandes corpos d'água, como a Laguna dos Patos e a Lagoa Mirim (Tomazelli *et al.*, 2000). O processo de formação da região ocorreu através de avanços e recuos do mar. O último ciclo desse processo, ocorrido a partir do Holoceno (aprox. 5 mil anos), é denominado sistema Laguna-Barreira IV (Tomazelli *et al.* 2006), e foi responsável pela formação da região do presente estudo. Na atualidade, períodos de cheias e alagamentos podem promover uma conectividade temporária entre diferentes ambientes aquáticos da região, possibilitando o carreamento de sedimentos, nutrientes e afins, de um ambiente para outro.



**Figura 1 - Mapa dos pontos amostrais do presente estudo. RG: Município de Rio Grande; S.IZA: Localidade de Santa Izabel; TAIM: Estação Ecológica do Taim (em amarelo a área total da unidade de conservação).**

Ao sul da Lagoa dos Patos está localizado o município de Rio Grande, abrangendo o canal estuarino da Lagoa. O município tem sua economia voltada especialmente para a exploração pesqueira e a atividade portuária. Estas, por sua vez, fomentam a presença estratégica de indústrias na região, incluindo aquelas voltadas para a produção e distribuição de produtos alimentícios, fertilizantes e tratamento de madeira, influenciando a qualidade ambiental da região devido a emissão de efluentes industriais (Mirlean *et al.*, 2005). Grande parte destas indústrias estão presentes na região conhecida como Distrito Industrial de Rio Grande. Esta área possui ainda remanescentes de ambientes naturais, tais como campos secos e alagadiços, banhados permanentes e intermitentes, arroios e fragmentos de mata de restinga paludosa e arenosa. Mesmo sofrendo grande pressão antrópica, estes remanescentes abrigam a biota do distrito, caracterizando, portanto, a região de influência industrial a ser amostrada durante a execução do estudo.

O segundo ponto amostral está localizado próximo a localidade de Santa Izabel do Sul, pertencente ao município de Arroio Grande e localizada ao norte da Lagoa Mirim. A Lagoa Mirim é o segundo maior corpo d'água presente na planície costeira, apresenta mais de 170 quilômetros de extensão e possui conexão com a Lagoa dos Patos através do canal São Gonçalo. O canal São Gonçalo é um corpo d'água natural e tem início na Lagoa dos Patos ao lado do município de Pelotas, recebendo efluentes de origem urbana. Este ainda recebe as águas oriundas do rio Piratini e possui uma larga planície de inundação ao longo de sua extensão,

formando uma região de áreas úmidas ao norte da Lagoa Mirim, próximo a localidade de Santa Izabel do Sul. Além da área inundável, a região de Santa Izabel do Sul é caracterizada também pela forte atividade agrícola, em especial os cultivos de arroz irrigado e soja, que ocupam grande parte da região entre a rodovia BR-471 e a planície de inundação do canal São Gonçalo.

A Estação Ecológica do Taim é segunda maior unidade de conservação do bioma Pampa. Está localizada entre o Oceano Atlântico e a Lagoa Mirim. Sua paisagem é caracterizada principalmente por áreas úmidas, canais naturais e lagoas, como a Lagoa Mangueira (Marques *et al.*, 2013). Em períodos de cheia, os diversos corpos hídricos da região podem ficar temporariamente conectados, havendo, portanto, um fluxo de sedimentos e nutrientes entre eles. Áreas adjacentes a ESEC do Taim possuem a presença do cultivo de arroz irrigado, qual utiliza os corpos d'água do próprio Taim para sua irrigação, influenciando tanto os regimes hidrológicos quanto a composição química das águas do sistema (Villanueva *et al.*, 2000).

### As espécies

As concentrações de As, Hg, Pb e Cd foram mensuradas em quatro espécies simpátricas de serpentes: *Erythrolamprus jaegeri*, *E. poecilogyrus*, *Helicops infrataeniatus* e *Philodryas patagoniensis*. *Erythrolamprus jaegeri* (Günther, 1858) é uma serpente de pequeno porte, dificilmente excedendo 600 mm de comprimento rostro-cloacal (CRC). Exibe preferência por forragear em ambientes aquáticos e proximidades. Anfíbios anuros compõem a maior parte da dieta desta espécie, porém eventualmente também pode preda lagartos e artrópodes (Corrêa *et al.*, 2016). *Erythrolamprus poecilogyrus* (Cope, 1860) é uma espécie de pequeno porte, não excedendo 750 mm de CRC. Esta espécie se mostra generalista em relação ao seu uso de habitat, bem como em sua dieta, a qual é composta por anuros, lagartos, pequenos roedores, peixes e até mesmo outras serpentes. *Helicops infrataeniatus* Jan, 1865 é a espécie mais relacionada a ambientes aquáticos presente no presente estudo, possuindo inclusive adaptações morfológicas típicas de espécies aquáticas (Aguiar & Di-Bernardo, 2004). A dieta da espécie é predominante piscívora e os indivíduos podem chegar a 1000 mm de CRC. Por último, *Philodryas patagoniensis* (Girard, 1858) a maior dentre as espécies a serem analisadas, excedendo 1500mm de CRC. Também se apresenta como generalista em relação a seu uso de habitat, apresentando hábito terrestre, arborícola e eventualmente utilizando-se de corpos hídricos. Sua dieta também é generalista, predando pequenos mamíferos, aves, répteis e peixes (Hartmann & Marques, 2005).

## **Determinação das concentrações de As, Hg, Pb e Cd**

As concentrações de As, Hg e Pb, Cd foram determinadas em amostras de fígado e tecido muscular. As amostras serão secas a 60°C, pesadas, digeridas em 4ml de HNO<sub>3</sub> a 60°C durante uma noite e diluídas em água deionizada, chegando ao volume final de 5 ml por amostra. As análises dos elementos arsênio, chumbo, cádmio e mercúrio serão realizadas em espectrofotômetro de absorção atômica. Para a calibração do equipamento foram utilizados os padrões DOLT-5 (Dogfish Liver Certified Reference Material for Trace Metals and other Constituintes) e DORM-4 (Fish Protein Certified Reference Material for Trace Metals).

## **OBJETIVO GERAL**

Avaliar os níveis de concentração de As, Hg, Pb e Cd em diferentes espécies de serpentes e investigar a influência do uso antrópico da paisagem e de características ecológicas das espécies nas concentrações encontradas.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Verificar a existência de relações entre a concentração de As, Hg, Pb e Cd nos tecidos de *Helicops infrataeniatus* e o uso do solo em três áreas inseridas na Planície Costeira do Rio Grande do Sul: o Distrito Industrial de Rio Grande, área sob influência da atividade industrial; a localidade de Santa Isabel do Sul, sob influência agrícola; e uma unidade de conservação, a Estação Ecológica do Taim;
- Verificar a variação interespecífica das concentrações de As, Hg, Pb e Cd em quatro espécies de serpentes coletadas no município de Rio Grande.
- Avaliar a correlação entre o tamanho corporal dos indivíduos e as concentrações de As, Hg, Pb e Cd encontradas nos mesmos.

## **HIPÓTESES**

- O uso antrópico dos ambientes influencia nas concentrações de As, Hg, Pb e Cd, sendo as regiões amostrais onde predominam atividades industriais e agrícolas as que apresentarão maiores concentrações dos elementos;
- Todas as espécies estudadas sofrem contaminação pelos elementos analisados, havendo diferenças interespecíficas nas concentrações influenciadas pelos hábitos alimentares e

uso do habitat/substrato, sendo as espécies mais intimamente relacionadas com o ambiente aquático as que apresentarão maiores concentrações de metas-traço.

- Indivíduos de maior comprimento rostro-cloacal apresentarão maiores concentrações dos elementos analisados, indicando uma possível bioacumulação.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, L. F. S. DE; DI-BERNARDO, M. Diet and feeding behavior of *Helicops infrataeniatus* (Serpentes: Colubridae: Xenodontinae) in southern Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 39, n. 1, p. 7–14, 2004.
- ALAM, M. Z. ALI, M. P., AL-HARBI, N. A. CHOUDHURY, T. R. Contamination status of arsenic, lead, and cadmium of different wetland waters. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v. 93, n. 10, p. 1934-1945, 2011.
- ALI, H.; KHAN, E. Bioaccumulation of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in freshwater fish. Risk to human health. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, n. 3, p. 903–917, 2018a.
- ALI, H.; KHAN, E. What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of the term ‘heavy metals’—proposal of a comprehensive definition. **Toxicological and Environmental Chemistry**, v. 100, n. 1, p. 6–19, 2 jan. 2018b.
- ARAÚJO, C. F. S., LOPES, M. V., VASQUEZ, M. R., PORCINO, T. S., RIBEIRO, A. S. V., RODRIGUES, J. L. G., OLIVEIRA, S. S. P., MENEZES-FILHO, J. A. Cadmium and lead in seafood from the Aratu Bay, Brazil and the human health risk assessment. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 4, 2016.
- BARRA, C. M., SANTELLI, R. E., ABRÃO, J. J., & GUARDIA, M. D. L. Especificação de Arsênio - uma revisão. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 58–70, 2000.
- BERGERON, C. M., HUSAK, J. F., UNRINE, J. M., ROMANEK, C. S., & HOPKINS, W. A. Influence of feeding ecology on blood mercury concentrations in four species of turtles. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n. 8, p. 1733–1741, 2007.
- BJERREGAARD, P.; ANDERSEN, C. B. I.; ANDERSEN, O. Ecotoxicology of Metals-Sources, Transport, and Effects on the Ecosystem. In: **Handbook on the Toxicology of Metals (Fifth Edition)**, v. 1, p. 593-627. 2022.

BURGER, J., MURRAY, S., GAINES, K. F., NOVAK, J. M., PUNSHON, T., DIXON, C., & GOCHFELD, M. Element levels in snakes in South Carolina: Differences between a control site and exposed site on the Savannah River Site. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 112, n. 1–3, p. 35–52, 2006.

BURGER, J., GOCHFELD, M., JEITNER, C., ZAPPALORTI, R., PITTFIELD, T., & DEVITO, E. Arsenic, Cadmium, Chromium, Lead, Mercury and Selenium Concentrations in Pine Snakes (*Pituophis melanoleucus*) from the New Jersey Pine Barrens. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 72, n. 4, p. 586–595, 2017.

BURGER, J.; GOCHFELD, M. Effects of lead on learning in herring gulls: an avian wildlife model for neurobehavioral deficits. **Neurotoxicology**, v. 26, n. 4, p. 615-624, 2005.

CAMPBELL, K. R., CAMPBELL, T. S. A logical starting point for developing priorities for lizard and snake ecotoxicology: a review of available data. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 21, n. 5, p. 894-898, 2002.

CAMPBELL, K. R.; CAMPBELL, T. S.; BURGER, J. Heavy metal concentrations in northern water snakes (*Nerodia sipedon*) from East Fork Poplar Creek and the Little River, East Tennessee, USA. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 49, n. 2, p. 239–248, 2005.

CASTRO-LIMA, J. A. M., LABANOWSKI, J., BASTOS, M. C., ZANELLA, R., PRESTES, O. D., VARGAS, J. P. R. *et al.* “Modern agriculture” transfers many pesticides to watercourses: a case study of a representative rural catchment of southern Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 10, p. 10581-10598, 2020.

CHAN, H. M., SCHEUHAMMER, A. M., FERRAN, A., LOUPELLE, C., HOLLOWAY, J., & WEECH, S. Impacts of mercury on freshwater fish-eating wildlife and humans. **Human and Ecological Risk Assessment**, v. 9, n. 4, p. 867–883, 2003.

CHEN, C. Y.; FOLT, C. L. Bioaccumulation and diminution of arsenic and lead in a freshwater food web. **Environmental Science and Technology**, v. 34, n. 18, p. 3878–3884, 2000.

CORRÊA, D. N.; QUINTELA, F. M.; LOEBMANN, D. Feeding ecology of *Erythrolamprus jaegeri jaegeri* (Günther, 1858) and *Erythrolamprus poecilogyrus sublineatus* (Cope, 1860) in the coastal zone of Subtropical Brazil (Serpentes, Dipsadidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 1, p. 293–308, 2016.

COSTA, H. C.; GUEDES, T. B.; BÉRNILS, R. S. Lista de répteis do Brasil: padrões e tendências. **Herpetologia Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 110-279, 2022.

DEFARGE, N.; VENDÔMOIS, J. S.; SÉRALINI, G. E. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. **Toxicology Reports**, v. 5, p. 156–163, 2018.

DOPP, E., HARTMANN, L. M., FLOREA, A. M., VON RECKLINGHAUSEN, U., PIEPER, R., SHOKOUHI, B., RETTENMEIER, A. W. & OBE, G. Uptake of inorganic and organic derivatives of arsenic associated with induced cytotoxic and genotoxic effects in Chinese hamster ovary (CHO) cells. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 201, n. 2, p. 156-165, 2004

DREWETT, D. V., WILLSON, J. D., CRISTOL, D. A., CHIN, S. Y., & HOPKINS, W. A. Inter- and intraspecific variation in mercury bioaccumulation by snakes inhabiting a contaminated river floodplain. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 32, n. 5, p. 1178-1186, 2013.

FINLAYSON, K. A.; LEUSCH, F. D. L.; VAN DE MERWE, J. P. The current state and future directions of marine turtle toxicology research. **Environment International**, v. 94, p. 113–123, 2016.

FLETCHER, S.; KAWABE, M.; REWHORN, S. Wetland conservation and sustainable coastal governance in Japan and England. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 5, p. 956–962, 2011.

FROSSARD, A., CARNEIRO, M. T. W. D., SILVA, E. L. D. F. D., CAMARGO, C. B., & ROSSI, J. L. Concentração de elementos traços em serpentes do litoral e da região serrana do

Espírito Santo. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 37, n. 10, p. 1146–1152, 2017.

FROSSARD, A., LEITE, F. L., SILVA, E. L., CARNEIRO, M. T., JÚNIOR, J. L., GOMES, L. C., & ENDRINGER, D. C. The snake *Bothrops jararaca* (Squamata: Viperidae) is a suitable bioindicator of environmental exposure to cadmium: An experimental study. **Ecological Indicators**, v. 104, p. 166–171, 2019.

GRILLITSCH, B.; SCHIESARI, L. The Ecotoxicology of Metals in Reptiles. In: **Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles**. 2<sup>a</sup> ed., CRC Press, Nova Iorque, p. 337–448. 2010

HARTMANN, P. A.; MARQUES, O. A. V. Diet and habitat use of two sympatric species of *Philodryas* (Colubridae), in south Brazil. **Amphibia Reptilia**, v. 26, n. 1, p. 25–31, 2005.

HASKINS, D. L.; GOGAL, R. M.; TUBERVILLE, T. D. Snakes as novel biomarkers of mercury contamination: a review. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 249, p. 133-152, 2019.

HOFFMAN, D. J., RATTNER, B. A., BURTON JR, G. A., & CAIRNS JR, J. **Handbook of Ecotoxicology**. 2<sup>a</sup> ed. CRC press, Nova Iorque, 2002.

HOPKINS, W. A., ROE, J. H., SNODGRASS, J. W., JACKSON, B. P., KLING, D. E., ROWE, C. L. Nondestructive indices of trace element exposure in squamate reptiles. **Environmental Pollution**, v. 115, n. 1, p. 1-7, 2001.

HOPKINS, W. A.; ROWE, C. L.; CONGDON, J. D. Elevated trace element concentrations and standard metabolic rate in banded water snakes (*Nerodia fasciata*) exposed to coal combustion wastes. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 18, n. 6, p. 1258-1263, 1999.

HUSSAIN, M. M., WANG, J., BIBI, I., SHAHID, M., NIAZI, N. K., IQBAL, J. et al. Arsenic speciation and biotransformation pathways in the aquatic ecosystem: The significance of algae. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, p. 124027, 2021.

JABLONSKI, S., FILET, M. Coastal management in Brazil—A political riddle. **Ocean & Coastal Management**, v. 51, n. 7, p. 536-543, 2008.

JUNK, W. J., PIEDADE, M. T. F., LOURIVAL, R., WITTMANN, F., KANDUS, P., LACERDA, L. D. et al., Brazilian wetlands: Their definition, delineation, and classification for research, sustainable management, and protection. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 24, n. 1, p. 5–22, 2014.

JUNK, W. J., PIEDADE, M. T. F., SCHOENGART, J., WITTMANN, F. K., & CUNHA, C. N. D. Brazilian wetlands: Classification. In: **The Wetland Book: I: Structure and Function, Management, and Methods**. Dordrecht: Springer Netherlands. p. 1569–1575. 2018

KINGSFORD, R. T. Conservation of floodplain wetlands - out of sight, out of mind? **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 25, n. 6, p. 727–732, dez. 2015.

KINGSFORD, Richard T.; BASSET, Alberto; JACKSON, Leland. Wetlands: conservation's poor cousins. **Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems**, v. 26, n. 5, p. 892-916, 2016.

KUMARI, B., KUMAR, V., SINHA, A. K., AHSAN, J., GHOSH, A. K., WANG, H., & DEBOECK, G. Toxicology of arsenic in fish and aquatic systems. **Environmental Chemistry Letters**, v. 15, n. 1, p. 43–64, 2017.

MACHADO, C. S., FREGONESI, B. M., ALVES, R. I., TONANI, K. A., SIERRA, J., MARTINIS, B. S et al. Health risks of environmental exposure to metals and herbicides in the Pardo River, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 25, p. 20160–20172, 2017.

MAGALHÃES, D. P., MARQUES, M. R. C., BAPTISTA, D. F., BUSS, D. F. Metal bioavailability and toxicity in freshwaters. **Environmental Chemistry Letters**, v. 13, n. 1, p. 69–87, 2015.

MARETTOV, E.; MARETTA, M.; LEGÁTH, J. Toxic effects of cadmium on testis of birds and mammals: A review. **Animal Reproduction Science**, v. 155, p. 1–10, abr. 2015.

MARQUES, D. M. L. D. M., RODRIGUES, L. H. R., FRAGOSO JÚNIOR, C. R., CROSSETTI, L. O., CARDOSO, L. D. S., COLLISCHONN, W. *et al.* O Sistema Hidrológico do Taim. **PELD-CNPq: dez anos do Programa de Pesquisas Ecológicas de Longa Duração do Brasil: achados, lições e perspectivas.** cap. 9, p. 200-224, 2013.

MIRLEAN, N., LARNED, S. T., NIKORA, V., & KÜTTER, V. T. Mercury in lakes and lake fishes on a conservation-industry gradient in Brazil. **Chemosphere**, v. 60, n. 2, p. 226–236, 2005.

MITRA, A., CHATTERJEE, S., MOOGOUEI, R., GUPTA, D. K. Arsenic Accumulation in Rice and Probable Mitigation Approaches: A Review. **Agronomy**, v. 7, n. 4, p. 67, 2017.

MITSCH, W. J.; GOSSELINK, J. G. **Wetlands**. John Wiley & Sons, 5<sup>a</sup> ed., 2015.

PIRRONE, N., CINNIRELLA, S., FENG, X., FINKELMAN, R. B., FRIEDLI, H. R., LEANER, J., et al. Global mercury emissions to the atmosphere from anthropogenic and natural sources. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 10, n. 13, p. 5951-5964, 2010.

POUILLY, M., REJAS, D., PÉREZ, T., DUPREY, J. L., MOLINA, C. I., HUBAS, C., & GUIMARÃES, J. R. D. Trophic Structure and Mercury Biomagnification in Tropical Fish Assemblages, Iténez River, Bolivia. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, p. e65054, 2013.

QUINTELA, F. M., LIMA, G. P., SILVEIRA, M. L., COSTA, P. G., 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**, v. 660, p. 1004-1014, 2019.

RAHMAN, M. A.; HASEGAWA, H.; LIM, R. P. Bioaccumulation, biotransformation and trophic transfer of arsenic in the aquatic food chain. **Environmental Research**, v. 116, p. 118–135, 2012.

RIBEIRO, M. C., METZGER, J. P., MARTENSEN, A. C., PONZONI, F. J., HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest

distributed? Implications for conservation. **Biological conservation**, v. 142, n. 6, p. 1141-1153, 2009.

SALICE, C. J., SUSKI, J. G., BAZAR, M. A., & TALENT, L. G. Effects of inorganic lead on Western fence lizards (*Sceloporus occidentalis*). **Environmental Pollution**, v. 157, n. 12, p. 3457–3464, 2009.

SCHNEIDER, L., MAHER, W., GREEN, A., & VOGT, R. C. Mercury contamination in reptiles: an emerging problem with consequences for wild life and human health. **Mercury: Sources, Applications and Health Impacts**. Nova Science Publishers, Hauppauge, Nova Iorque. p. 173-232, 2013.

SCUDIERO, R., FILOSA, S., MOTTA, C. M., SIMONIELLO, P., TRINCHELLA, F. Cadmiun in the wall lizard *Podarcis sicula*: Morphological and Molecular Effects on embrionic and Adult Tissues. In: **Reptiles : Biology , Behavior and Conservation**. Nova Science Publishers, Hauppauge, Nova Iorque. p. 147–162. 2011

SHAKIR, S. K., AZIZULLAH, A., MURAD, W., DAUD, M. K., NABEELA, F., RAHMAN, H., & HÄDER, D. P. Toxic metal pollution in Pakistan and its possible risks to public health. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 242, p. 1–60, 2017.

SMEDLEY, P. L.; KINNIBURGH, D. G. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. **Applied geochemistry**, v. 17, n. 5, p. 517-568, 2002.

TCHOUNWOU, P. B., YEDJOU, C. G., PATLOLLA, A. K., & SUTTON, D. J. Heavy Metals Toxicity and the Environment. **Choice Reviews Online**, v. 47, n. 10, p. 133–164, 2012.

THOMPSON, D. J. A chemical hypothesis for arsenic methylation in mammals. **Chemico-biological interactions**, v. 88, n. 2–3, p. 89–14, set. 1993a.

TODD, B.; WILLSON, J.; GIBBONS, J. The Global Status of Reptiles and Causes of Their Decline. **Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles**. 2<sup>a</sup> ed., CRC Press, Nova Iorque p. 47–67.

TOMAZELLI, L. J.; DILLENBURG, S. R.; VILLWOCK, J. A. Late Quaternary geological history of Rio Grange do Sul coastal plain, southern Brazil. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 30, n. 3, p. 474–476, 2000.

TOMAZELLI, L. J.; DILLENBURG, S. R.; VILLWOCK, J. A. Geological evolution of Rio Grande do Sul coastal plain, southern Brazil. **Journal of Coastal Research**, p. 275-278, 2006.

VILLANUEVA, A. O. N.; MARQUES, D. DA M.; TUCCI, C. E. M. The taim wetland conflict: A compromise between environment conservation and irrigation. **Water International**, v. 25, n. 4, p. 610–616, 2000.

WANG, S.; MULLIGAN, C. N. Occurrence of arsenic contamination in Canada: Sources, behavior and distribution. **Science of the Total Environment**, v. 366, n. 2–3, p. 701–721, 2006.

WANG, S.; SHI, X. Molecular mechanisms of metal toxicity and carcinogenesis. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 222, n. 1–2, p. 3–9, 2001.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cadmium Review**. 2003. Disponível em: <<https://cdn.who.int/media/docs/default-source/chemical-safety/cadmium/nmr-cadmium.pdf>>. Acesso em: 1 dez. 2020.

YABE, M. J. S.; OLIVEIRA, E. Metais pesados em águas superficiais como estratégia de caracterização de bacias hidrográficas. **Química Nova**, v. 21, n. 5, p. 551–556, 1998.

ZEBRAL, Y. D., RIGHI, B. D. P., ABOU ANNI, I. S., ESCARRONE, A. L. V., ROZA, M., VIEIRA, C. E. D. *et al.* Pollution levels and biomarker responses in zooplankton from three hydrographic regions of southern Brazil: an integrated approach for water quality monitoring. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 5, p. 106180, 2021.

ZEDLER, J. B.; KERCHER, S. Wetland Resources: Status, Trends, Ecosystem Services, and Restorability. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 30, n. 1, p. 39–74, 2005.

ZHU, S.; ZHANG, Z.; ŽAGAR, D. Mercury transport and fate models in aquatic systems: A review and synthesis. **Science of the Total Environment**, v. 639, p. 538–549, 2018.

## CAPÍTULO 1

**Avaliação espacial de concentrações de metais-traço em fígado e tecido muscular da cobra d'água *Helicops infrataeniatus* (Serpentes: Dipsadidae) na planície costeira do sul do Brasil**

Vinícius Mendes, Fernando M. Quintela, Saulo R. Pino, Patrícia G. Costa, Adalto Bianchini & Daniel Loebmann

Manuscrito a ser submetido ao periódico "Science of The Total Environment"

## 1 **Resumo**

2 Regiões de áreas úmidas são ambientes de suma importância para a biota, em especial por serem  
3 regiões diversas e de grande especiação. Porém, quando impactados pela entrada de  
4 contaminantes, esses ambientes podem levar a aumentos na toxicidade dos mesmos. Elementos  
5 como os metais-traço podem inclusive estarem entre tais contaminantes, e costumam apresentar  
6 diversos danos a fauna, incluindo os répteis. Serpentes já foram indicadas como potenciais  
7 bioindicadores para a situação dos elementos-traço em ambientes naturais. Dito isso, o presente  
8 estudo mensurou as concentrações de quatro metais-traço: arsênio, cádmio, chumbo e mercúrio,  
9 em amostras de fígado e tecido muscular de *Helicops infrataeniatus*, quais foram coletadas em  
10 três pontos amostrais distintos. Os pontos eram caracterizados respectivamente como  
11 industrializado, agrícola e unidade de conservação. Não foram observadas diferenças  
12 significativas entre as concentrações encontradas nos diferentes pontos amostrais. Também não  
13 foi detectada uma correlação significativa entre o tamanho corporal do indivíduo e as  
14 concentrações de metal. Porém, os tecidos muscular e de fígado divergiram em concentrações  
15 de arsênio e mercúrio. A ausência de diferenças entre os locais indica que a evolução  
16 geomorfológica da região pode ser um fator preponderante na exposição da fauna a metais-  
17 traço, uma vez que os três pontos amostrais se encontram na mesma formação geológica.

## 18 **1. Introdução**

19 A poluição ambiental já é facilmente reconhecida como uma das principais ameaças à  
20 biodiversidade (Dudgeon et al. 2006). Alguns grupos possuem maior suscetibilidade à presença  
21 de elementos e compostos tóxicos no ambiente, como anfíbios (Sievers et al. 2019) e répteis  
22 (Grillitsch e Schiesari, 2010). Muitos elementos conhecidos por causarem danos aos seres vivos  
23 possuem ampla utilização tanto na indústria quanto na agricultura (Machado et al., 2017).

24 Regiões como as áreas úmidas merecem atenção especial em relação a presença de  
25 contaminantes. Tais ambientes promovem diversos serviços ecossistêmicos como  
26 armazenamento e purificação da água; regulação do microclima; retenção de carbono;  
27 armazenamento de sedimentos e nutrientes; entre outros (Fletcher et al., 2011; Kingsford et al.,  
28 2016). Além disso, do ponto de vista da biodiversidade, estas áreas são conhecidas por  
29 promover especiação, endemismo e oferecem diversos suportes a espécies direta e  
30 indiretamente relacionadas a elas (Junk et al., 2014). No entanto, devido a abrigar uma grande  
31 biodiversidade e possuir conectividade com outros ambientes, a poluição nas áreas úmidas  
32 possui um potencial especialmente negativo. O aporte de contaminantes nesses ambientes pode  
33 reduzir de maneira significativa a sobrevivência e capacidade reprodutiva de sua biota (Sievers  
34 et al. 2018)

35 Dentre esses elementos estão os metais-traço, elementos encontrados naturalmente em  
36 baixas concentrações. Alguns destes elementos não participam das rotas metabólicas e não  
37 possuem função ou importância conhecida nos organismos, sendo frequentemente  
38 denominados “não-essenciais”. Este é o caso do metalóide arsênio (As) e dos metais cádmio  
39 (Cd) chumbo (Pb) e mercúrio (Hg), elementos altamente tóxicos e frequentemente encontrados  
40 no ambiente (Shakir et al., 2017; Tchounwou et al., 2012).

41 O arsênio é um elemento químico altamente tóxico e considerado não-essencial. Apesar  
42 de ser um elemento de ocorrência natural, é raramente encontrado em forma livre no ambiente

43 (Thompson, 1993). Quando absorvidas pelos organismos, algumas formas inorgânicas, através  
44 do processo de biometilação, podem ser convertidas em formas metiladas (Barra *et al.*, 2000),  
45 as quais apresentam maior genotoxicidade do que as formas inorgânicas não-metiladas (Dopp  
46 *et al.*, 2004). Arsênio é frequentemente utilizado em compostos presentes em inseticidas,  
47 herbicidas, fungicidas e outros produtos de uso agrícola (Defarge *et al.*, 2018; Wang &  
48 Mulligan, 2006). Em serpentes foi observado um aumento nas taxas metabólicas de indivíduos  
49 coletados em uma região contaminada por arsênio, frente a indivíduos coletados em um local  
50 de referência (Hopkins *et al.*, 1999).

51 Mercúrio é um metal com usos na indústria em produtos médicos e em fungicidas,  
52 podendo ter efeitos carcinogênicos (Tchounwou *et al.*, 2012). Sua ocorrência em ambientes  
53 aquáticos é especialmente perigosa. Nestes ocorre em maior intensidade o processo de  
54 metilação do mercúrio inorgânico (Schneider *et al.*, 2013). Tal processo gera o MeHg, forma  
55 orgânica altamente tóxica para a biota, possuindo potencial de bioacumulação e  
56 biomagnificação (Pouilly *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2018). Conseqüentemente, o MeHg tende a  
57 ser a forma mais abundante deste elemento em áreas úmidas. Entre as fontes antropogênicas do  
58 mercúrio estão emissões através da queima de combustíveis fósseis, produção de soda cáustica,  
59 presença em pesticidas, fungicidas e nos processos de extração e fundição de outros metais  
60 (Bjerregaard *et al.*, 2014; Pirrone *et al.*, 2010; Tchounwou *et al.*, 2012). Para répteis, efeitos  
61 como diminuição da taxa de crescimento, afinidade do Hg com eritrócitos e impactos negativos  
62 ao sistema imune já foram observados (Schneider *et al.*, 2013).

63 O chumbo (Pb) é um metal não-essencial e tóxico comumente encontrado em pesticidas  
64 à base de glifosato (Defarge *et al.*, 2018). Ainda, está presente em pigmentos, baterias,  
65 processos de fundições de minerais e emissões resultantes da queima de combustíveis fósseis.  
66 Há registros de altas concentrações de chumbo no ambiente em regiões próximas a fábricas de  
67 baterias (Yabe & Oliveira, 1998). Em relação aos efeitos da contaminação no organismo, o Pb

68 está associado a disfunções no sistema nervoso, imunológico e problemas na reprodução  
69 (Araújo *et al.*, 2016). Em estudo experimental, lagartos (*Sceloporus occidentalis*) receberam,  
70 por via oral, doses agudas, subagudas e subcrônicas de acetato de chumbo (Salice *et al.*, 2009).  
71 Todos os indivíduos expostos a concentrações agudas superiores a 2000 mg/kg foram a óbito,  
72 enquanto efeitos como diminuição do peso corporal, alterações hematológicas, histopatológicas  
73 e comportamentais foram observados nos lagartos expostos a doses subletais. No sul do Brasil,  
74 a contaminação por chumbo em répteis foi verificada apenas recentemente em ambientes  
75 naturais (Quintela *et al.*, 2019).

76 Por fim, o cádmio também é um elemento não essencial e altamente tóxico. Esse  
77 elemento pode ser encontrado em efluentes industriais, zonas de mineração, produção e uso de  
78 baterias e uso de fertilizantes. Dentre seus principais danos, o Cd compete com elementos  
79 essenciais em rotas metabólicas, como o selênio e o cálcio (Wang & Shi, 2001), sendo inclusive  
80 acumulado em ossos. Em lagartos, danos e alterações hepáticas, alterações no epitélio ovariano  
81 e degeneração de ovócitos foram observados em indivíduos adultos. Já no estágio embrionário,  
82 anomalias graves como exencefalia e anencefalia foram reportados para indivíduos oriundos de  
83 ovos incubados em solos contaminados por Cd (Scudiero *et al.*, 2011). Exposições agudas em  
84 quelônios causaram uma diminuição na performance locomotora, entretanto os indivíduos  
85 utilizados no estudo mostraram uma aclimatação frente aos efeitos causados pelo contaminante  
86 durante experimento de exposição crônica ao cádmio.

87 Dadas as diferentes fontes antropogênicas de cada elemento, regiões com diferentes  
88 usos poderão apresentar concentrações distintas desses metais. Conseqüentemente, uma mesma  
89 espécie que habite diferentes locais poderá estar exposta a quantidades variadas dos elementos  
90 ao longo de sua distribuição. Nesse sentido, estudos que buscam encontrar variações em  
91 concentrações de metais em répteis que habitavam locais contaminados já sugeriram que  
92 diversos fatores podem estar envolvidos nessas contaminações. Grandes fontes antrópicas de

93 contaminantes podem resultar na presença de metais nos tecidos dos animais (Bergeron *et al.*,  
94 2007; Drewett *et al.*, 2013). No entanto, a ocorrência natural dos metais-traço não pode ser  
95 desconsiderada, uma vez que, em determinados casos, essa pode se mostrar um fator-chave na  
96 detecção destes na biota (Quintela et al., 2019).

97 Sendo assim, buscamos verificar a presença de metais-traço em animais habitantes da  
98 Planície Costeira do Rio Grande do Sul. Essa região abriga aglomerados industriais, extensas  
99 áreas de agricultura e importantes unidades de conservação, se tornando uma região útil para a  
100 observação da influência da ação humana na biota. Para tal, se faz importante o uso de espécies  
101 que possuam ampla distribuição na região alvo, assim como tenha sua biologia  
102 consideravelmente conhecida. *Helicops infrataeniatus* Jan, 1865 é uma espécie de serpente  
103 relacionada a ambientes aquáticos. Conhecida popularmente como cobra d'água (Gonzalez et  
104 al. 2020), possui adaptações morfológicas típicas de espécies aquáticas (Aguiar & Di-Bernardo,  
105 2004). A dieta da espécie é predominante piscívora e os indivíduos chegam a 1000mm de CRC.  
106 A espécie está distribuída desde o nordeste argentino (próx. ao sul do Uruguai) até o centro-  
107 oeste brasileiro (Nogueira *et al.* 2019), sendo relativamente comum no Rio Grande do Sul,  
108 incluindo a Planície Costeira.

109 O objetivo do presente estudo, portanto, foi determinar as concentrações de arsênio,  
110 cádmio, chumbo e mercúrio presentes em músculo e fígado de *Helicops infrataeniatus*, em uma  
111 região com diferentes usos do solo e graus de antropização. Ainda, foi verificada a correlação  
112 entre o comprimento rostro-cloacal dos indivíduos e as concentrações dos respectivos metais.

113

## 114 **2. Materiais e métodos**

### 115 *2.1. Área de Estudo*

116 A formação da planície costeira é formada especialmente por deposições recentes de  
117 sedimentos (Lopes et al. 2010) com regiões entre dunas caracterizadas pelo acúmulo de matéria

118 orgânica. Toda a região foi formada a partir de sucessivos avanços e recuos do mar, conhecido  
119 como sistema laguna-barreira (Tomazelli e Villwock, 2005) sendo que a área de estudo está no  
120 último ciclo dessa formação, denominada Barreira 4, formada a partir do Holoceno (ca. 5 mil  
121 anos) (Tomazelli et al. 2006). O estudo foi realizado em três áreas (Figura 1): o Distrito  
122 Industrial de Rio Grande; a localidade de Santa Izabel do Sul e a Estação Ecológica do Taim.  
123 O município de Rio Grande tem sua economia voltada especialmente para a exploração  
124 pesqueira e a atividade portuária. Estas, por sua vez, fomentam a presença estratégica de  
125 indústrias na região, incluindo aquelas voltadas para a produção e distribuição de produtos  
126 alimentícios, fertilizantes e tratamento de madeira, influenciando a qualidade ambiental da  
127 região devido a emissão de efluentes industriais (Mirlean *et al.*, 2005). Ainda, a região possui  
128 ainda remanescentes de ambientes naturais, tais como campos secos e alagadiços, banhados  
129 permanentes e intermitentes, arroios e fragmentos de mata de restinga paludosa e arenosa.

130 O segundo ponto amostral está localizado próximo a localidade de Santa Izabel do Sul,  
131 pertencente ao município de Arroio Grande. A área de coleta transpassa a planície alagável  
132 oriunda do canal São Gonçalo. Esse é um corpo d'água natural e tem início na Lagoa dos Patos  
133 ao lado do município de Pelotas, recebendo efluentes de origem urbana. Além da área úmida,  
134 a região de Santa Izabel do Sul é caracterizada também pela forte atividade agrícola, em especial  
135 os cultivos de arroz irrigado e soja, que ocupam grande parte da região entre a rodovia BR-471  
136 e a planície de inundação do canal São Gonçalo.

137 A Estação Ecológica do Taim é segunda maior unidade de conservação do bioma  
138 Pampa. Está localizada entre o Oceano Atlântico e a Lagoa Mirim. Sua paisagem é  
139 caracterizada principalmente por áreas úmidas, canais naturais e lagoas, como a Lagoa  
140 Mangueira (Marques *et al.*, 2002). Em períodos de cheia, os diversos corpos hídricos da região  
141 podem ficar temporariamente conectados, havendo, portanto, um fluxo de sedimentos e  
142 nutrientes entre eles. Áreas adjacentes a ESEC do Taim possuem a presença do cultivo de arroz

143 irrigado, qual utiliza os corpos d'água do próprio Taim para sua irrigação, influenciando tanto  
144 os regimes hidrológicos quanto a composição química das águas do sistema (Villanueva *et al.*,  
145 2000).

146

## 147 *2.2. Amostragem*

148 Parte dos espécimes utilizados no estudo são oriundos de animais atropelados entre os  
149 anos de 2015 e 2019. Além disso, foi empregado um esforço de coleta nas três áreas de estudo,  
150 sob a licença SISBIO nº 69640. As coletas foram realizadas através de busca ativa e utilização  
151 de abrigos artificiais, sendo os indivíduos eutanasiados e posteriormente tombados na Coleção  
152 Herpetológica da Universidade Federal do Rio Grande. Um total de 30 indivíduos foram  
153 utilizados no estudo. Todos os 30 indivíduos forneceram amostras de tecido muscular.  
154 Amostras de fígado foram coletadas em 25 indivíduos. Destes 30, 13 foram coletados no  
155 Distrito Industrial de Rio Grande, 12 na localidade de Santa Izabel e cinco na Estação Ecológica  
156 do Taim.

157

## 158 *2.3. Determinação das concentrações de As, Hg, Pb e Cd*

159 As concentrações de As, Hg e Pb, Cd foram determinadas em amostras de fígado e  
160 tecido muscular. As amostras foram secas a 60°C, pesadas, digeridas em 4ml de HNO<sub>3</sub> a 60°C  
161 durante uma noite e diluídas em água deionizada, chegando ao volume final de 5ml por amostra.  
162 As análises dos elementos arsênio, chumbo, cádmio e mercúrio serão realizadas em  
163 espectrofotômetro de absorção atômica. Para a calibração do equipamento foram utilizados os  
164 padrões DOLT-5 (Dogfish Liver Certified Reference Material for Trace Metals and other  
165 Constituintes) e DORM-4 (Fish Protein Certified Reference Material for Trace Metals). Tais  
166 padrões possuem os valores certificados conforme a Tabela 1.

167

168 2.4. *Análise dos dados*

169 Após a obtenção das concentrações dos metais nos tecidos foi realizado o teste de  
170 Shapiro-Wilk, qual mostrou uma distribuição não-normal no conjunto de dados. Foram  
171 calculadas a média e o desvio padrão das concentrações de cada elemento em cada tecido,  
172 expressos em  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . A fim de verificar a correlação entre as concentrações dos elementos e o  
173 tamanho corporal dos indivíduos (CRC) foi performada uma correlação linear de Pearson.  
174 Diferenças nas concentrações entre tecidos foram analisadas através do teste de Wilcoxon para  
175 amostras dependentes. Por fim, a comparação entre os diferentes pontos amostrais foi realizada  
176 através do teste de Kruskal-Wallis e, após este, foi performado ainda o teste *post-hoc* de Dunn  
177 (com correção de Bonferroni para múltiplas comparações). As análises aplicadas foram  
178 executadas no ambiente estatístico R

179

180 **3. Resultados**

181 O comprimento rostro-cloacal foi obtido de 28 indivíduos, alcançando a média de 326.35  
182 ( $\pm 92.2\text{mm}$ ). As concentrações de arsênio, cádmio, chumbo e mercúrio, tanto no tecido muscular  
183 quanto no fígado, são apresentadas na tabela 2 em  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (peso seco). Os valores individuais  
184 absolutos das concentrações de elementos variaram de 0.0021 a 0.5658  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (As), 0.0137 a 3.5877  
185  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (Cd), 0.0008 a 0.2754  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (Hg) e 0.0015 a 0.6508  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (Pb). Todas as amostras  
186 apresentaram concentrações acima do limite de detecção. Não foi observada correlação  
187 significativa entre a concentração dos metais presentes no estudo e o comprimento rostro-cloacal  
188 dos indivíduos (Figura 2).

189 As diferenças na concentração de As, Cd, Pb e Hg entre fígado e tecido muscular mostraram  
190 diferenças significativas para os elementos arsênio e mercúrio ( $p = 0.0346$  e  $p = 0.0451$   
191 respectivamente) (Figura 3). Não foram encontradas diferenças significativas na concentração de

192 nenhum dos elementos supracitados entre as localidades das coletas ( $p > 0.05$ ). Conseqüentemente,  
193 o teste *post-hoc* também mostrou valores não significativos ao comparar as localidades.

194

#### 195 4. Discussão

196 Este foi o segundo estudo a utilizar *H. infrataeniatus* como espécie-alvo ao analisar  
197 concentrações de metais-traço e o primeiro a realizar uma comparação entre áreas amostrais com  
198 características diferentes em relação ao uso do solo. O fato de as áreas amostradas estarem sobre a  
199 mesma formação geomorfológica parece ter sido fator predominante sobre as concentrações de  
200 metais no modelo de estudo e não o uso do solo como hipotetizado nesse estudo. Além disso, a  
201 matéria orgânica costuma realizar interações com os metais presentes no ambiente, alterando sua  
202 forma e, conseqüentemente, suas características de biodisponibilidade e afins (Groenenberg e Lofts,  
203 2014). Portanto, é importante considerar que as características geoquímicas da região podem ser  
204 um fator de grande influência em estudos ecotoxicológicos com elementos de ocorrência natural.  
205 Quintela e colaboradores (2020) verificaram que a composição geoquímica das regiões amostradas  
206 levou a um resultado oposto ao postulado na sua hipótese, em que se esperava concentrações  
207 superiores na região com forte influência antrópica. Tal resultado corrobora a importância da  
208 presença natural dos elementos no ambiente sobre a contaminação dos animais. Apesar disso, os  
209 autores destacaram a necessidade de um estudo detalhado das concentrações dos metais no  
210 ambiente para elucidar por completo essa questão.

211 A ausência de correlação entre o comprimento rostro-cloacal dos indivíduos e os respectivos  
212 metais estudados vai ao encontro dos resultados exibidos por Quintela e colaboradores (2019). Estes  
213 também não observaram correlações entre o CRC e as concentrações de As e Pb em *H.*  
214 *infrataeniatus*. Ou seja, na espécie, tais metais possivelmente não tem sua toxicodinâmica  
215 influenciada por fatores como tamanho corporal e/ou estágio de desenvolvimento dos indivíduos.

##### 216 4.1. Arsênio

217 Os valores encontrados de arsênio em tecido muscular no presente estudo foram  
218 conspicuamente inferiores ao encontrado por Quintela e colaboradores (2019), tanto para  
219 indivíduos oriundos da região da ESEC do Taim quanto para as outras duas localidades. Em relação  
220 a esse mesmo elemento houve diferenças significativas entre os valores obtidos entre as amostras  
221 de fígado e de tecido muscular. As amostras de fígado possuíam concentrações inferiores do metal.  
222 Campbell e colaboradores (2005) verificaram as concentrações de metais em *Nerodia sipedon*,  
223 serpente norte-americana com características ecológicas semelhantes a *H. infrataeniatus*. Neste  
224 estudo, as concentrações (peso úmido) de As encontradas em amostras de fígado de indivíduos  
225 oriundos de local impactado ( $0.171 \pm 0.058 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) foram semelhantes ao encontrado em *H.*  
226 *infrataeniatus*. Já as concentrações nos fígados coletados em ambiente pristino foram menores se  
227 comparadas ao presente estudo ( $0.037 \pm 0.007 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Porém tal valor, se apresentado em peso  
228 seco, poderia trazer resultado sensivelmente diferente. As concentrações em tecidos musculares de  
229 *N. sipedon*, entretanto, foram menores para ambos os ambientes ( $0.037 \pm 0.008 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  em ambiente  
230 impactado e  $0.033 \pm 0.009 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  no ambiente pristino). Assim como no presente estudo, Campbell  
231 e colaboradores (2005) encontraram concentrações de arsênio significativamente maiores no fígado  
232 do que no tecido muscular estudado. Burger et al 2006 encontraram em tecido muscular de *Nerodia*  
233 *fasciata*, *N. taxispilota* e *Agkistrodon piscivorous*, três espécies de hábitos aquáticos, concentrações  
234 (peso seco) superiores no ambiente contaminado ( $0.4 \pm 0.04$ ,  $0.7 \pm 0.09$  e  $7 \pm 0.09 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  
235 respectivamente). *Pituophis melanoleucus*, serpente estritamente terrestre, apresentou  
236 concentrações de As semelhantes do que no presente estudo, tanto no tecido muscular quanto fígado  
237 ( $0.125 \pm 0.031$  e  $0.156 \pm 0.027 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de peso úmido, respectivamente). A dieta de *H. infrataeniatus*  
238 é composta em sua maior parte por peixes, incluindo o gênero *Astyanax* (Aguiar, Di-Bernardo  
239 2004). Esse, por sua vez, apresentou uma grande concentração de As em estudo previamente  
240 realizado na ESEC Taim, de  $19.461 \pm 4.046 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (Quintela et al. 2019). No entanto,  
241 diferentemente do exposto pelo estudo supracitado, as concentrações das serpentes do presente

242 estudo foram muito menores, não corroborando uma possível bioacumulação. Mesmo a espécie  
243 com a menor concentração de arsênio encontrada por Quintela e colaboradores apresentou  
244 concentração maior do que a encontrada atualmente em *H. infrataeniatus* ( $3.551 \pm 2.363 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ).

#### 245 4.2. Cádmio

246 Um menor número de estudos mensurou as concentrações do respectivo metal em tecidos  
247 de serpentes. Segundo Campbell et al 2005, no tecido muscular de *N. sipedon* não houve diferenças  
248 significativas entre o ambiente impactado e não impactado ( $0.0162 \pm 0.0031$  e  $0.0143 \pm 0.0143$   
249  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de peso úmido), estando estes valores abaixo do encontrado em *H. infrataeniatus*, qual  
250 também não apresentou diferenças significativas entre os ambientes. Já nas amostras de fígado,  
251 tanto houve uma diferença significativa entre os ambientes, quanto o valor de Cd do ambiente  
252 impactado se mostrou bastante próximo aos valores encontrados em nosso estudo ( $0.118 \pm 0.017$  e  
253  $0.0411 \pm 0.006$ , peso úmido), considerando a diferença entre valores de peso úmido e seco. No  
254 entanto, o ambiente contaminado estudado por Campbell et al 2005 sofreu lançamento direto de  
255 contaminantes por mais de uma década. Conseqüentemente, divergências significativas entre os  
256 ambientes seriam esperadas na maioria dos cenários estudados. Apesar das pressões nas áreas aqui  
257 estudadas também serem distintas entre si, as três localidades possuem atividades antrópicas ou ao  
258 menos a influência destas, como no caso da ESEC Taim. Em Campbell et al 2005, músculo e fígado  
259 apresentaram diferenças significantes apenas no ambiente contaminado. Burguer et al. 2017  
260 também encontraram concentração de Cd significativamente maior no fígado de *Pituophis*  
261 *melanoleucus* ( $0.128 \pm 0.03 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  peso úmido) do que no tecido muscular ( $0.027 \pm 0.008 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$   
262 peso úmido). Porém, nesse caso todos os espécimes são oriundos do ambiente pristino. Tal padrão  
263 não ocorreu com *H. infrataeniatus*, não havendo diferenças significativas no cádmio encontrado.

#### 264 4.3. Chumbo

265 A maioria dos estudos que analisaram as concentrações de chumbo em serpentes  
266 encontraram valores semelhantes a o que encontramos na Planície Costeira do Rio Grande do Sul.

267 *Pituophis melanoleucus* apresentou, em fígado e músculo,  $0.140 \pm 0.039$  e  $0.393 \pm 0.131 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de  
268 peso úmido, respectivamente (Burger et al. 2017). A concentração no tecido muscular foi  
269 significativamente maior nessa espécie, diferentemente do que encontramos em *H. infrataeniatus*,  
270 não havendo diferença entre tecidos para concentrações de chumbo. Já em *Nerodia sipedon* as  
271 concentrações foram novamente aproximadas a o que encontramos, independentemente do  
272 ambiente ou tecido (músculo em ambiente pristino:  $0.0585 \pm 0.0169 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ; músculo em ambiente  
273 contaminado:  $0.0602 \pm 0.0081 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ; fígado em ambiente pristino:  $0.026 \pm 0.0042 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ; fígado  
274 em ambiente contaminado:  $0.0504 \pm 0.0054 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de peso úmido) (Campbell et al. 2005). Na  
275 própria *H. infrataeniatus*, Quintela e colaboradores (2019) encontraram uma concentração  
276 consideravelmente baixa do elemento no tecido muscular dos indivíduos coletados na ESEC Taim  
277 ( $0.00258 \pm 0.00214 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). O mesmo padrão se repetiu naquele estudo para todas as outras  
278 espécies, incluindo os peixes comumente predados pela cobra d'água. No entanto, o estudo com  
279 três espécies aquáticas mostrou concentrações de Pb expressivamente altos no ambiente impactado  
280 (Burger et al. 2006) frente ao presente trabalho. No estudo supracitado, as concentrações de chumbo  
281 em *Nerodia fasciata*, *N. taxispilota* e *Agkistrodon piscivorous* foram de, respectivamente,  $2 \pm 0.2$ ,  
282  $32 \pm 0.5$  e  $3 \pm 1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de peso seco de tecido muscular. O local de coleta destas espécies foi  
283 severamente impactado por mais de três décadas de atividades relacionadas a obtenção de matéria  
284 prima para armas nucleares. O chumbo foi um dos principais elementos depositados na região.  
285 Ademais, essas concentrações foram significativamente maiores do que as encontradas, no mesmo  
286 estudo, no sangue das três espécies ( $0.1 \pm 0.01$ ,  $0.04 \pm 0.01$  e  $0.04 \pm 0.02 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectivamente),  
287 indicando o acúmulo do elemento no tecido muscular do animal.

#### 288 4.4. Mercúrio

289 A maior parte dos estudos ecotoxicológicos com répteis trouxe análises de concentrações  
290 de Hg. Praticamente todos principais estudos com serpentes apresentaram concentrações médias de  
291 mercúrio maiores do que as encontradas nas cobras d'água dos três pontos amostrais da Planície

292 Costeira do Rio Grande do Sul. Em *Pituophis melanoleucus* foram encontradas concentrações de  
293 Hg de, em média,  $0.459 \pm 0.078 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  no fígado e  $0.0758 \pm 0.012 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  no tecido muscular  
294 (Burger et al 2017). O ambiente de coleta dos animais era pouco antropizado, não havendo  
295 deposições diretas do elemento no local. Assim como em nosso estudo, o fígado apresentou  
296 concentração significativamente maior do que o músculo dos indivíduos. Já as espécies aquáticas  
297 *Nerodia fasciata*, *N. taxispilota* e *Agkistrodon piscivorous* exibiram  $0.6 \pm 0.05$ ,  $0.7 \pm 0.1$  e  $0.9 \pm$   
298  $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de mercúrio em tecido muscular (Burguer et al 2006). Estas foram coletadas em ambiente  
299 impactado, porém sem clara introdução do respectivo elemento. Por sua vez, *N. sipedon*, em  
300 ambiente preservado, apresentou concentrações de Hg (peso úmido) de  $1.403 \pm 0.214 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  em  
301 tecido muscular e  $0.582 \pm 0.0474 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  no fígado. A diferença entre os tecidos nesse cenário foi  
302 significativa, porém oposta ao ocorrido no presente estudo e no estudo com *P. melanoleucus*. Já no  
303 ambiente impactado, as concentrações nos dois tecidos foram consideravelmente próximas ( $0.75 \pm$   
304  $0.0762 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  em tecido muscular e  $0.741 \pm 0.0493 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  em fígado). Drewett e colaboradores  
305 2013 também estudaram a serpente aquática *N. sipedon* e outras três espécies de serpentes: *Regina*  
306 *septemvittata*, espécie semiaquática que se alimenta especialmente de lagostim; *Pantherophis*  
307 *obsoletus*, uma serpente com hábitos preferencialmente arborícolas e que preda aves e pequenos  
308 mamíferos; e *Thamnophis sirtalis*, espécie terrícola generalista, predando principalmente anfíbios  
309 e invertebrados. Os animais foram coletados ao longo da planície de inundação de um rio  
310 contaminado por mercúrio. As análises foram realizadas em pedaços da ponta da cauda das  
311 serpentes, contendo pele, tecido muscular e ósseo. Destas espécies, as menores concentrações de  
312 Hg foram encontradas em *P. obsoletus* ( $0.26 \pm 0.09 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de peso seco). Mesmo essa já foi superior  
313 ao encontrado em nosso estudo, no entanto tal espécie teria o menor contato direto com o ambiente  
314 contaminado. *T. sirtalis* e *R. septemvittata* apresentaram, respectivamente,  $4.59 \pm 0.38$  e  $1.28 \pm 0.32$   
315  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (peso seco) de Hg. *N. sipedon* foi a espécie com maior concentração de mercúrio,  $5.6 \pm 0.4$   
316  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , valor muito superior ao encontrado por Campbell e colaboradores (2005). Ainda, a espécie

317 apresentou uma relação significativamente positiva entre o comprimento rostro-cloacal e a  
318 concentração de mercúrio e, portanto, a espécie apresenta um bom biomarcador para o respectivo  
319 metal, algo não encontrado em nossas análises para qualquer metal.

320

## 321 **5. Conclusões**

322 De modo geral, concentrações marcadamente altas de elementos-traço em tecidos de  
323 serpentes só foram encontradas em ambientes seriamente contaminados com os respectivos  
324 elementos. No entanto, apesar da atividade agrícola na região de entorno, a ESEC Taim não  
325 aparenta apresentar contaminação comparável com alguns dos estudos supracitados, nos quais as  
326 amostragens ocorreram em locais com mais de três décadas de despejo de metais. Ainda assim,  
327 Quintela e colaboradores (2019) encontraram valores altos de arsênio, elemento comumente  
328 associado a atividade agrícola (Defarge et al., 2018; Wang e Mulligan, 2006). Curiosamente,  
329 utilizando a mesma espécie modelo e mesma região de coleta, os valores encontrados foram  
330 conspicuamente menores. O tamanho das amostras de ambos os estudos pode ser um dos fatores  
331 determinantes para essa diferença. Tal fato alerta para a necessidade de se conhecer as  
332 concentrações dos metais nos sedimentos locais, ao mesmo tempo em que se realizam as análises  
333 nos tecidos animais.

334 **6. Referências**

- 335 Aguiar L.F.S, Di-Bernardo M. Diet and Feeding Behavior of *Helicops infrataeniatus*  
336 (Serpentes: Colubridae: Xenodontinae) in Southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna*  
337 *and Environment* 2004; 39:7–14. <https://doi.org/10.1080/01650520412331270927>.
- 338 Alam M.Z, Ali M.P, Al-Harbi N.A, Choudhury T.R. Contamination status of arsenic, lead,  
339 and cadmium of different wetland waters. *Toxicological & Environmental*  
340 *Chemistry* 2011; 93:1934–1945. <https://doi.org/10.1080/02772248.2011.622073>.
- 341 Ali H, Khan E. Bioaccumulation of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in  
342 freshwater fish. Risk to human health. *Environ Chem Lett* 2018a; 16:903–17.  
343 <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0734-7>.
- 344 Ali H, Khan E. What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of  
345 the term ‘heavy metals’ – proposal of a comprehensive definition. *Toxicological &*  
346 *Environmental Chemistry* 2018b; 100:6–19. [doi.org/10.1080/02772248.2017.1413652](https://doi.org/10.1080/02772248.2017.1413652).
- 347 Araújo CFS, Lopes MV, Vasquez MR, Porcino TS, Ribeiro ASV, Rodrigues JLG, et al.  
348 Cadmium and lead in seafood from the Aratu Bay, Brazil and the human health risk  
349 assessment. *Environ Monit Assess* 2016;188. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5262-y>.
- 350 Barra C.M, Santelli R.E, Abrão J.J, Guardia M. Especificação de Arsênio - uma revisão. *Quím*  
351 *Nova* 2000; 23:58–70. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422000000100012>.
- 352 Bergeron C.M, Husak J.F, Unrine J.M, Romanek C.S, Hopkins W.A. Influence of feeding  
353 ecology on blood mercury concentrations in four species of turtles. *Environ Toxicol*  
354 *Chem* 2007; 26:1733. <https://doi.org/10.1897/06-594r.1>.
- 355 Bjerregaard P, Andersen, C.B.I, Andersen O. Ecotoxicology of metals—sources, transport,  
356 and effects on the ecosystem. *Handbook on the Toxicology of Metals* 2022:593–627.  
357 <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-823292-7.00016-4>.

358 Burger J, Murray S, Gaines K.F, Novak J.M, Punshon T, Dixon C, et al. Element Levels in  
359 Snakes in South Carolina: Differences Between a Control Site and Exposed Site on the  
360 Savannah River Site. *Environ Monit Assess* 2006; 112:35–52.  
361 <https://doi.org/10.1007/s10661-006-0695-3>.

362 Burger J, Gochfeld M, Jeitner C, Zappalorti R, Pittfield T, DeVito E. Arsenic, Cadmium,  
363 Chromium, Lead, Mercury and Selenium Concentrations in Pine Snakes (*Pituophis*  
364 *melanoleucus*) from the New Jersey Pine Barrens. *Arch Environ Contam Toxicol* 2017;  
365 72:586–95. <https://doi.org/10.1007/s00244-017-0398-5>.

366 Burger J, Gochfeld M. Effects of Lead on Learning in Herring Gulls: An Avian Wildlife  
367 Model for Neurobehavioral Deficits. *NeuroToxicology* 2005; 26:615–24.  
368 <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2005.01.005>.

369 Campbell K.R, Campbell T.S. A logical starting point for developing priorities for lizard and  
370 snake ecotoxicology: A review of available data. *Environ Toxicol Chem* 2002; 21:894–8.  
371 <https://doi.org/10.1002/etc.5620210502>.

372 Campbell K.R, Campbell T.S, Burger J. Heavy Metal Concentrations in Northern Water  
373 Snakes (*Nerodia sipedon*) from East Fork Poplar Creek and the Little River, East  
374 Tennessee, USA. *Arch Environ Contam Toxicol* 2005; 49:239–48.  
375 <https://doi.org/10.1007/s00244-004-0200-3>.

376 Chan H.M, Scheuhammer A.M, Ferran A, Loupelle C, Holloway J, Weech S. Impacts of  
377 Mercury on Freshwater Fish-Eating Wildlife and Humans. *Human and Ecological Risk*  
378 *Assessment: An International Journal* 2003; 9:867–883.  
379 <https://doi.org/10.1080/713610013>.

380 Chen C.Y, Folt C.L. Bioaccumulation and Diminution of Arsenic and Lead in a Freshwater  
381 Food Web. *Environ Sci Technol* 2000; 34:3878–3884. <https://doi.org/10.1021/es991070c>.

382 Corrêa D.N, Quintela F.M, Loebmann D. Feeding ecology of *Erythrolamprus jaegeri jaegeri*  
383 (*Günter, 1858*) and *Erythrolamprus poecilogyrus sublineatus* (*Cope, 1860*) in the coastal  
384 zone of Subtropical Brazil (*Serpentes, Dipsadidae*). *An Acad Bras Ciênc* 2016; 88:293–  
385 308. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201520140570>.

386 Defarge N, Spiroux de Vendômois J, Séralini GE. Toxicity of formulants and heavy metals in  
387 glyphosate-based herbicides and other pesticides. *Toxicology Reports* 2018; 5:156–163.  
388 <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.025>

389 Dopp E, Hartmann L.M, Florea A.M, von Recklinghausen U, Pieper R, Shokouhi B, et al.  
390 Uptake of inorganic and organic derivatives of arsenic associated with induced cytotoxic  
391 and genotoxic effects in Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Toxicology and Applied*  
392 *Pharmacology* 2004; 201:156–165. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.05.017>.

393 Drewett D.V.V, Willson J.D, Cristol D.A, Chin S.Y, Hopkins WA. Inter- and intraspecific  
394 variation in mercury bioaccumulation by snakes inhabiting a contaminated river  
395 floodplain. *Environ Toxicol Chem* 2013; 32:1178–1186. <https://doi.org/10.1002/etc.2157>.

396 Fletcher S, Kawabe M, Rewhorn S. Wetland conservation and sustainable coastal governance  
397 in Japan and England. *Marine Pollution Bulletin* 2011; 62:956–62.  
398 <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.02.048>.

399 Gonzalez, R. C. et al. Lista dos Nomes Populares dos Répteis no Brasil–Primeira Versão.  
400 *Herpetologia Brasileira*, 2020;9(2):121-214.

401 Grillitsch, B.; Schiesari, L. The Ecotoxicology of Metals in Reptiles. In: *Ecotoxicology of*  
402 *Amphibians and Reptiles*. 2<sup>a</sup> ed., CRC Press, Nova Iorque, 2010; 337–448.

403 Groenenberg J.E, Lofts S. The use of assemblage models to describe trace element  
404 partitioning, speciation, and fate: A review. *Environ Toxicol Chem* 2014; 33:2181–96.  
405 <https://doi.org/10.1002/etc.2642>.

406 Hopkins W.A, Rowe C.L, Congdon J.D. Elevated trace element concentrations and standard  
407 metabolic rate in banded water snakes (*Nerodia fasciata*) exposed to coal combustion  
408 wastes. *Environ Toxicol Chem* 1999; 18:1258–63.  
409 <https://doi.org/10.1002/etc.5620180627>.

410 Junk W.J, Piedade M.T.F, Lourival R, Wittmann F, Kandus P, Lacerda L.D, et al. Brazilian  
411 wetlands: their definition, delineation, and classification for research, sustainable  
412 management, and protection. *Aquatic Conserv: Mar Freshw Ecosyst* 2013; 24:5–22.  
413 <https://doi.org/10.1002/aqc.2386>.

414 Kingsford R.T, Basset A, Jackson L. Wetlands: conservation’s poor cousins. *Aquatic  
415 Conserv: Mar Freshw Ecosyst* 2016; 26:892–916. <https://doi.org/10.1002/aqc.2709>.

416 Lopes R.P, Oliveira L.C, Figueiredo A.M.G, Kinoshita A, Baffa O, Buchmann F.S. ESR  
417 dating of pleistocene mammal teeth and its implications for the biostratigraphy and  
418 geological evolution of the coastal plain, Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Quaternary  
419 International* 2010; 212:213–22. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2009.09.018>.

420 Machado C.S, Fregonesi B.M, Alves R.I.S, Tonani K.A.A, Sierra J, Martinis B.S, et al.  
421 Health risks of environmental exposure to metals and herbicides in the Pardo River,  
422 Brazil. *Environ Sci Pollut Res* 2017; 24:20160–72. [https://doi.org/10.1007/s11356-017-  
9461-z](https://doi.org/10.1007/s11356-017-<br/>423 9461-z).

424 Nogueira C.C, Argôlo A.J.S., Arzamendia V., Azevedo J.A., Barbo F.E., Bérnils R.S., et al.  
425 Atlas of Brazilian Snakes: Verified Point-Locality Maps to Mitigate the Wallacean  
426 Shortfall in a Megadiverse Snake Fauna. *S. Am. J. Herpetol.* 2019; 14(Special Issue 1):1-  
427 274. <https://doi.org/10.2994/sajh-d-19-00120.1>.

428 Quintela F.M, Lima G.P, Silveira M.L, Costa P.G, Bianchini A, Loebmann D, et al. High  
429 arsenic and low lead concentrations in fish and reptiles from Taim wetlands, a Ramsar

430 site in southern Brazil. *Science of The Total Environment* 2019; 660:1004–14.  
431 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.031>.

432 Quintela F.M, Pino S.R, Silva F.C, Loebmann D, Costa P.G, Bianchini A, et al. Arsenic, lead  
433 and cadmium concentrations in caudal crests of the yacare caiman (*Caiman yacare*) from  
434 Brazilian Pantanal. *Science of The Total Environment* 2020; 707:135479.  
435 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135479>.

436 Salice C.J, Suski J.G, Bazar M.A, Talent L.G. Effects of inorganic lead on Western fence  
437 lizards (*Sceloporus occidentalis*). *Environmental Pollution* 2009; 157:3457–3464.  
438 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.06.013>.

439 Schneider, L., Maher, W., Green, A., & Vogt, R. C. Mercury contamination in reptiles: an  
440 emerging problem with consequences for wild life and human health. in: *Mercury:  
441 Sources, Applications and Health Impacts*. Nova Science Publishers, Hauppauge, Nova  
442 Iorque. 2013; 173-232.

443 Scudiero, R., Filosa, S., Motta, C. M., Simoniello, P., Trinchella, F. Cadmiun in the wall  
444 lizard *Podarcis sicula*: Morphological and Molecular Effects on embrionic and Adult  
445 Tissues. In: *Reptiles : Biology , Behavior and Conservation*. Nova Science Publishers,  
446 Hauppauge, Nova Iorque. 2011; 147–162.

447 Shakir S.K, Azizullah A, Murad W, Daud M.K, Nabeela F, Rahman H, et al. Toxic Metal  
448 Pollution in Pakistan and Its Possible Risks to Public Health. *Reviews of Environmental  
449 Contamination and Toxicology* 2016:1–60. [https://doi.org/10.1007/398\\_2016\\_9](https://doi.org/10.1007/398_2016_9).

450 Sievers M, Hale R, Parris K.M, Melvin S.D, Lanctôt C.M, Swearer S.E. Contaminant-induced  
451 behavioural changes in amphibians: A meta-analysis. *Science of The Total Environment*  
452 2019; 693:133570. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.376>.

453 Sievers M, Hale R, Parris K.M, Swearer S.E. Impacts of human-induced environmental  
454 change in wetlands on aquatic animals. *Biol Rev* 2017; 93:529–54.  
455 <https://doi.org/10.1111/brv.12358>.

456 Tchounwou P.B, Yedjou C.G, Patlolla A.K, Sutton D.J. Heavy Metal Toxicity and the  
457 Environment. *Experientia Supplementum* 2012:133–64. [https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6).

459 Thompson DJ. A chemical hypothesis for arsenic methylation in mammals. *Chemico-*  
460 *Biological Interactions* 1993; 88:89–114. [https://doi.org/10.1016/0009-2797\(93\)90086-e](https://doi.org/10.1016/0009-2797(93)90086-e).

461 Tomazelli, L. J., Dillenburg, S. R., & Villwock, J. A. Geological evolution of Rio Grande do  
462 Sul coastal plain, southern Brazil. *Journal of Coastal Research*, 2006; 275-278.

463 Tomazelli, L. J., & Villwock, J. A. (2005). Mapeamento geológico de planícies costeiras: o  
464 exemplo da costa do Rio Grande do Sul. *Gravel*, 2005; 3(1), 110-115.

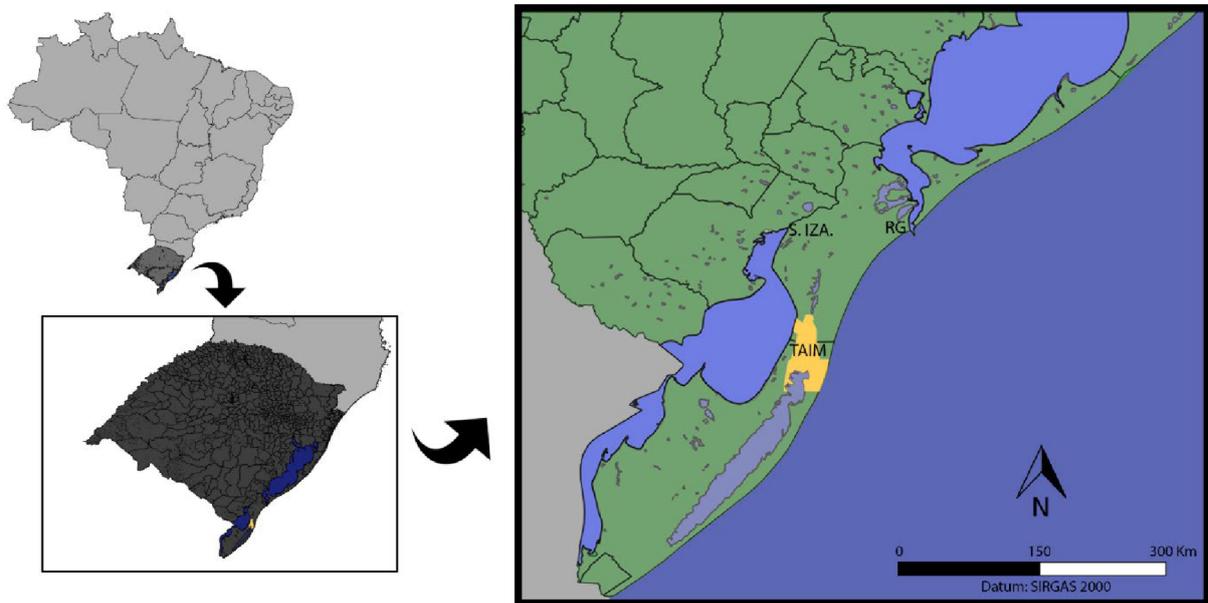
465 Yabe M.J.S, Oliveira E. Metais pesados em águas superficiais como estratégia de  
466 caracterização de bacias hidrográficas. *Quím Nova* 1998; 21:551–6.  
467 <https://doi.org/10.1590/s0100-40421998000500003>.

468 Wang S, Mulligan C.N. Occurrence of arsenic contamination in Canada: Sources, behavior  
469 and distribution. *Science of The Total Environment* 2006; 366:701–21.  
470 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.09.005>.

471 Wang S, Shi X. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2001; 222:3–9.  
472 <https://doi.org/10.1023/a:1017918013293>.

473 7. Figuras e Tabelas

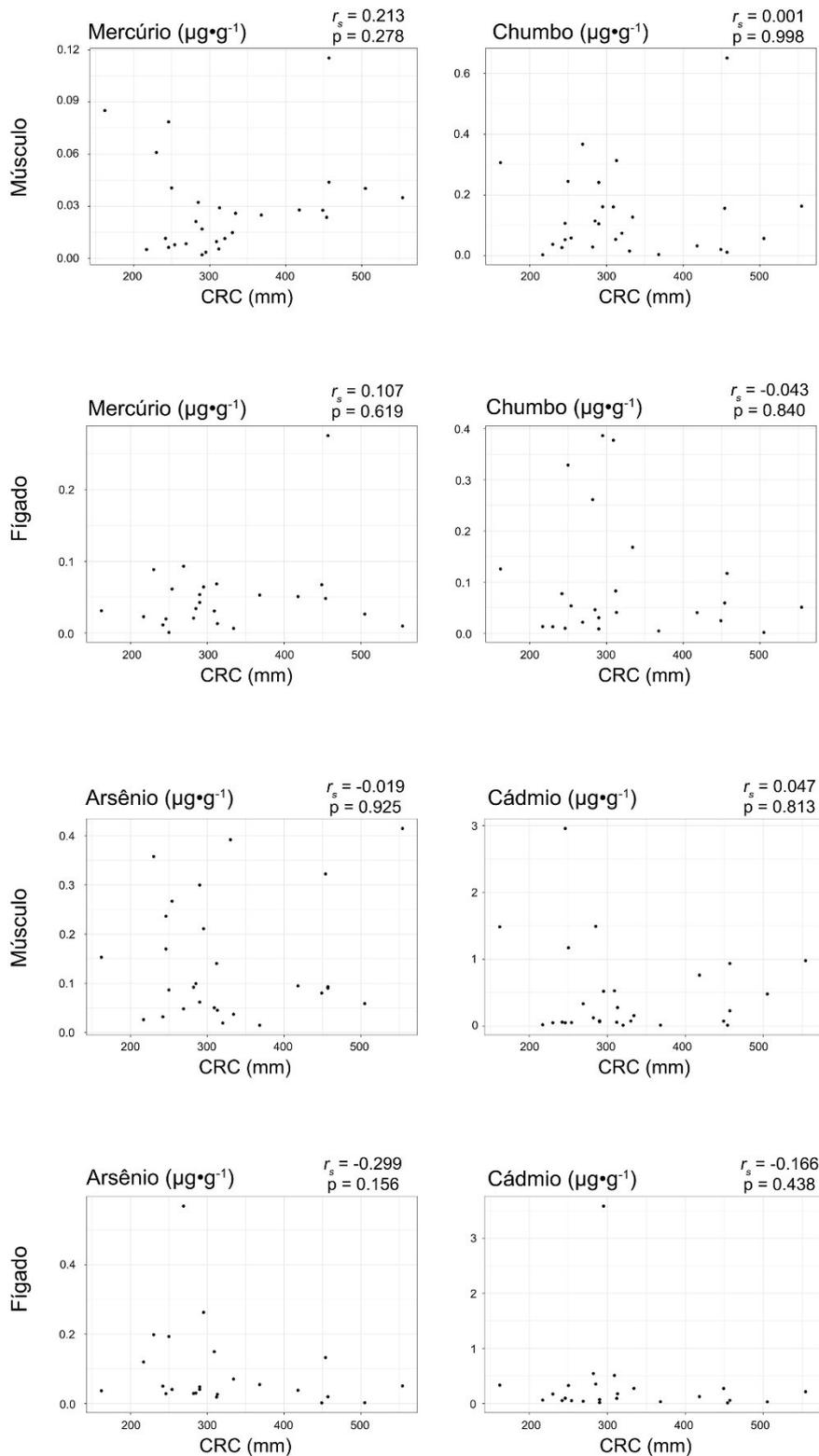
474



475

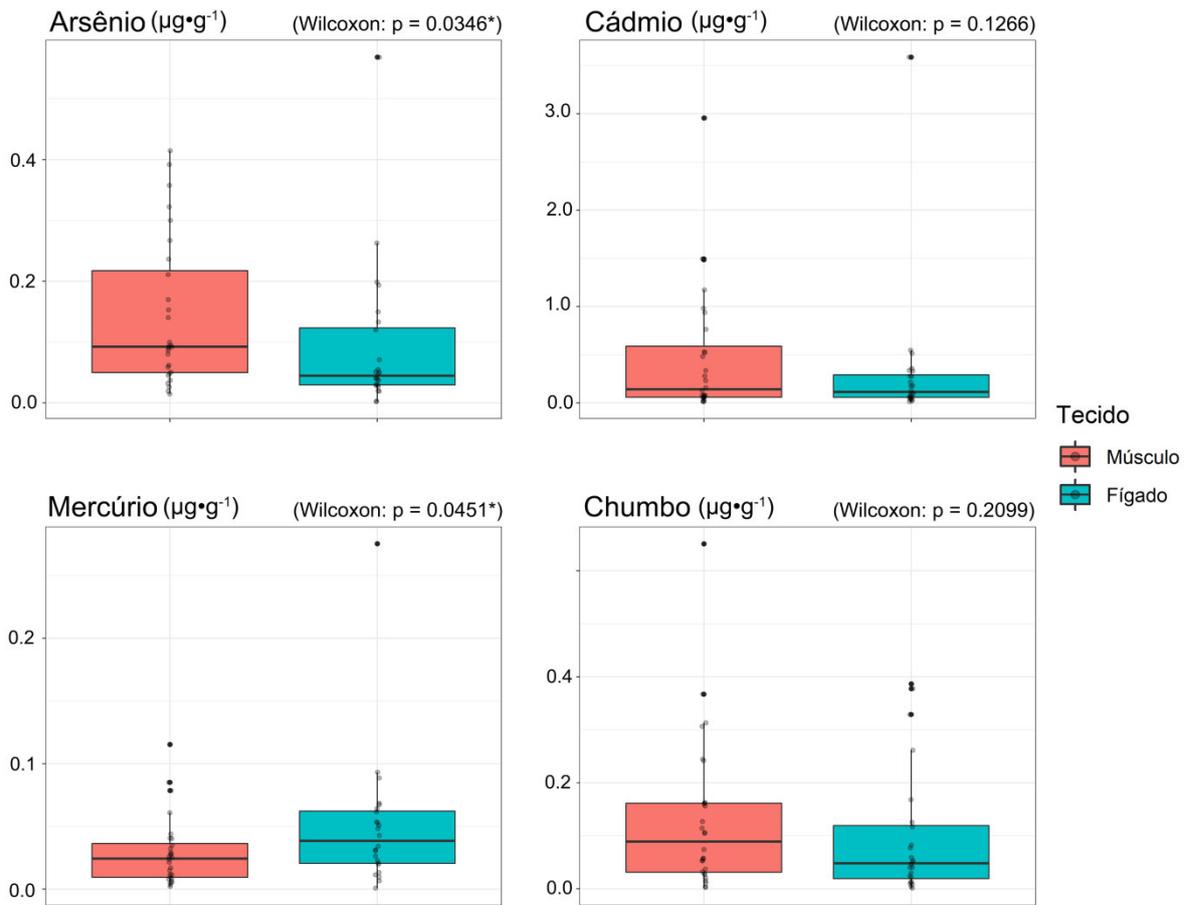
476 **Figura 2 - Mapa dos pontos amostrais do presente estudo. RG: Município de Rio Grande; S.IZA: Localidade**  
477 **de Santa Izabel; TAIM: Estação Ecológica do Taim (em amarelo a área total da unidade de conservação).**

478



479

480 **Figura 3 - Correlações lineares de Pearson entre o comprimento rostro-cloacal dos indivíduos e a**  
 481 **concentração de cada metal estudado.**



482

483 **Figura 4 - Concentrações de metais e metalóides por tecido amostrado, e respectivo valor de significância**  
 484 **da diferença destes, segundo teste de Wilconxon.**

485

486 **Tabela 1 - Valores padrões utilizados para a calibração do equipamento espectrofotômetro.**

	DOLT-5		DORM-4	
	Valor certificado $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	incerteza	Valor certificado $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	incerteza
<b>Arsênio</b>	34.6	$\pm 2,4$	6.87	$\pm 0,44$
<b>Cádmió</b>	14.5	$\pm 0,6$	0.299	$\pm 0,018$
<b>Mercúrio</b>	0.44	$\pm 0,18$	0.412	$\pm 0,036$
<b>Chumbo</b>	0.162	$\pm 0,032$	0.404	$\pm 0,062$

487

488

489 Tabela 2 - Valores de concentração de arsênio, cádmio, mercúrio e chumbo em *Helicops infrataeniatus*,  
 490 expressos em  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de peso seco de tecido muscular e fígado. RG = Distrito Industrial de Rio Grande; S.  
 491 IZA = Santa Izabel do Sul; TAIM = Estação Ecológica do Taim.

Tecido	Localidade	N	Arsênio	Cádmio	Mercúrio	Chumbo
Músculo	RG	13	$0.1436 \pm 0.113$	$0.3636 \pm 0.472$	$0.0191 \pm 0.018$	$0.1217 \pm 0.11$
	S. IZA	12	$0.1564 \pm 0.144$	$0.3752 \pm 0.359$	$0.0368 \pm 0.027$	$0.1432 \pm 0.192$
	TAIM	5	$0.1220 \pm 0.093$	$0.9138 \pm 1.301$	$0.0386 \pm 0.04$	$0.1133 \pm 0.112$
Fígado	RG	12	$0.1439 \pm 0.156$	$0.446 \pm 1.001$	$0.0512 \pm 0.027$	$0.1139 \pm 0.153$
	S. IZA	10	$0.0416 \pm 0.041$	$0.1926 \pm 0.165$	$0.0576 \pm 0.084$	$0.0849 \pm 0.083$
	TAIM	3	$0.0387 \pm 0.011$	$0.1653 \pm 0.151$	$0.0208 \pm 0.01$	$0.071 \pm 0.058$

492

## **CAPÍTULO 2**

### **Concentrações de arsênio, cádmio, chumbo e mercúrio em serpentes simpátricas de uma região urbanizada no extremo sul do Brasil**

Vinícius Mendes, Fernando M. Quintela, Saulo R. Pino, Patrícia G. Costa, Adalto Bianchini & Daniel Loebmann

Manuscrito a ser submetido ao periódico “Environmental Science and Pollution Research”

## Resumo

Elementos-traço, costumeiramente utilizados na indústria e em produtos agrícolas, são conhecidos por diversos efeitos danosos em animais, incluindo a redução das capacidades de sobrevivência das populações. Devido a sua história natural, serpentes possuem potencial para serem utilizadas como bioindicadores de contaminações. Portanto, este estudo buscou mensurar as concentrações de quatro elementos em *Erythrolamprus jaegeri*, *E. poecilogyrus*, *Helicops infrataeniatus* e *Philodryas patagoniensis*, serpentes simpátricas em área urbanizada no extremo sul do Brasil. As concentrações dos elementos foram determinadas em amostras de fígado e tecido muscular analisadas em espectrofotômetro. Não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações de metais entre as espécies. No entanto, os dados indicam que fígado e tecido muscular retém metais de maneira diferente. Ainda, possíveis variações ontogenéticas podem ser um fator importante nas concentrações de metais em serpentes.

## 1 **1. Introdução**

2 A expansão de centros urbanos acarreta diversos riscos à fauna silvestre, incluindo a  
3 exposição a contaminantes (Murray et al. 2019). Elementos-traço, (*i.e.*, elementos de ocorrência  
4 em baixas concentrações nos ambientes naturais) podem representar perigos a biota, em  
5 especial em eventuais situações de deposição antropogênica (Shakir et al., 2017; Tchounwou  
6 et al., 2012). O uso de alguns desses elementos em agrotóxicos (Defarge et al., 2018) e  
7 polímeros de origem industrial (Yabe & Oliveira, 1998) podem ser fatores chaves para a entrada  
8 desses elementos nos ambientes naturais. A deposição de compostos tóxicos, mesmo em locais  
9 já impactados, podem levar a contaminação de ambientes prístinos, especialmente os aquáticos  
10 (Dudgeon et al. 2006). Conseqüentemente, a biota desses ambientes, frente a eventuais grandes  
11 contaminações, pode sofrer danos significativos a nível populacional. Estudos já indicaram  
12 depreciação no *fitness* de espécies habitantes de locais impactados (Sievers et al. 2018).

13 Diversos estudos abordam danos a répteis marinhos frente a contaminações (Grillitsch e  
14 Schiesari, 2010; Komoroske et al., 2012). Apesar de bem conhecidos os efeitos dos poluentes  
15 em tartarugas marinhas, recentemente foi reportada a mortandade de serpentes marinhas em  
16 ambiente altamente contaminado pelo derrame de óleo (Yagmour et al., 2022). Já em ambiente  
17 continental, alguns estudos indicaram diferenças espaciais ao longo de gradientes de  
18 contaminação. Também foram observadas diferenças em ambientes antropizados e/ou  
19 contaminados em relação a regiões prístinas e naturais. Em relação aos efeitos destes elementos,  
20 em serpentes foi observado um aumento nas taxas metabólicas de indivíduos coletados em uma  
21 região contaminada por arsênio, cádmio, selênio, cromo e cobre, frente a indivíduos coletados  
22 em um local de referência (Hopkins et al., 1999). Mercúrio já foi indicado como responsável  
23 pela diminuição da taxa de crescimento, afinidade com eritrócitos e impactos negativos ao  
24 sistema imune (Schneider et al., 2013).

25 No Brasil, poucos estudos buscaram verificar a presença de elementos-traço em répteis.  
26 Quintela e colaboradores (2019) mensuraram as concentrações de arsênio e chumbo em  
27 espécimes da serpente aquática *Helicops infrataeniatus*, o quelônio *Trachemys dorbigni* e o  
28 jacaré-do-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) na Estação Ecológica do Taim, unidade de  
29 conservação com status de sítio Ramsar. Tal estudo revelou altos níveis de arsênio,  
30 especialmente na serpente. No Espírito Santo, as serpentes *Boa constrictor* e *Bothrops jararaca*  
31 foram utilizadas para a verificação de diversos elementos, incluindo chumbo e cádmio  
32 (Frossard *et al.*, 2017). Ainda, um estudo experimental com *B. jararaca* verificou um potencial  
33 de bioacumulação de cádmio na espécie (Frossard *et al.* 2019). Tal estudo também indicou que  
34 diferentes órgãos e tecidos podem acumular concentrações distintas dos elementos. Portanto,  
35 estes podem apresentar diferentes potenciais para o estudo de absorção, acúmulo ou mesmo  
36 danos oriundos da presença de elementos tóxicos na biota.

37 Devido a sua história natural, serpentes possuem potencial para serem utilizadas como  
38 bioindicadores de contaminações (Haskins *et al.* 2019). Além disso, existem lacunas quanto à  
39 influência dos aspectos ecológicos da biota e do uso antrópico da paisagem sobre a  
40 contaminação por metais e metalóides especialmente em serpentes, mesmo que essa abordagem  
41 tenha gerado resultados interessantes em estudos anteriores (Bergeron *et al.*, 2007; Drewett *et*  
42 *al.*, 2013).

43 Sendo assim, o presente estudo buscou mensurar as concentrações de arsênio, mercúrio,  
44 chumbo e cádmio em quatro espécies simpátricas de serpentes (*Erythrolamprus jaegeri*, *E.*  
45 *poecilogyrus*, *Helicops infrataeniatus* e *Philodryas patagoniensis*) no município de Rio  
46 Grande, área antropizada localizada na planície costeira do extremo sul do Brasil. Ainda, foram  
47 verificadas as correlações entre o tamanho corporal (comprimento rostro-cloacal) dos  
48 espécimes e as concentrações destes metais, bem como a diferença entre as concentrações  
49 encontradas em tecido muscular e tecido hepático.

50

## 51 **2. Materiais e métodos**

52 As coletas foram realizadas no município de Rio Grande, um dos maiores municípios  
53 inseridos na Planície Costeira do Rio Grande do Sul. O município possui população estimada  
54 em 212 mil habitantes (IBGE, 2021), e sua economia é majoritariamente voltada às atividades  
55 pesqueira e portuária, uma vez que o porto do município está entre os principais do país. A  
56 região abriga, ainda, diversos empreendimentos industriais. Tais empreendimentos aproveitam  
57 a proximidade do porto para o recebimento de insumos e escoamento de produção. Dentre essas  
58 indústrias, estão aquelas voltadas para a produção e distribuição de fertilizantes e tratamento de  
59 madeira, influenciando a qualidade ambiental da região devido a emissão de efluentes  
60 industriais (Mirlean et al., 2005). A forte presença industrial nas áreas de entorno ao Porto de  
61 Rio Grande tornou a região conhecida como Distrito Industrial. O Distrito industrial, apesar de  
62 altamente antropizado, possui remanescentes de ambientes naturais, como campos secos e  
63 alagadiços, banhados permanentes e intermitentes, arroios e fragmentos de mata de restinga  
64 paludosa e arenosa. Conseqüentemente, mesmo ambientes sem uso antrópico direto ainda  
65 sofrem com a deposição e dispersão de efluentes industriais e afins.

66 *Erythrolamprus jaegeri* (Günther, 1858) é uma serpente de pequeno porte, dificilmente  
67 excedendo 600 mm de comprimento rostró-cloacal (CRC). Exibe preferência por forragear em  
68 ambientes aquáticos e proximidades. Anfíbios anuros compõem a maior parte da dieta desta  
69 espécie, porém eventualmente também pode predar lagartos e artrópodes (Corrêa et al., 2016).

70 *Erythrolamprus poecilogyrus* (Cope, 1860) é uma espécie de pequeno porte, não excedendo  
71 750 mm de CRC. Esta espécie se mostra generalista em relação ao seu uso de habitat, bem  
72 como em sua dieta, a qual é composta por anuros, lagartos, pequenos roedores, peixes e até  
73 mesmo outras serpentes. *Helicops infrataeniatus* Jan, 1865 é a espécie mais relacionada a  
74 ambientes aquáticos presente no presente estudo, possuindo inclusive adaptações morfológicas

75 típicas de espécies aquáticas (Aguiar & Di-Bernardo, 2004). A dieta da espécie é predominante  
76 piscívora e os indivíduos podem chegar a 1000 mm de CRC. Por último, *Philodryas*  
77 *patagoniensis* (Girard, 1858) a maior dentre as espécies a serem analisadas, excedendo  
78 1500mm de CRC. Também se apresenta como generalista em relação a seu uso de habitat,  
79 apresentando hábito terrestre, arborícola e eventualmente utilizando-se de corpos hídricos. Sua  
80 dieta também é generalista, predando pequenos mamíferos, aves, répteis e peixes (Hartmann &  
81 Marques, 2005). Ao todo, foram coletados 29 indivíduos de *E. jaegeri*, 11 de *E. poecilogyrus*,  
82 13 de *H. infrataeniatus* e seis de *P. patagoniensis*.

83 As concentrações dos elementos-traço As, Hg e Pb, Cd foram mensuradas em amostras  
84 em todas as espécies, a partir de amostras de tecido muscular e hepático. Tais amostras foram  
85 retiradas dos indivíduos eutanasiados, secas em estufa a 60°C durante 12h, pesadas e digeridas  
86 em 4ml de HNO<sub>3</sub> a 60°C durante novas 12h. e diluídas em água deionizada, chegando ao  
87 volume final de 5 ml por amostra. As análises dos elementos arsênio, chumbo, cádmio e  
88 mercúrio serão realizadas em espectrofotômetro de absorção atômica. Para a calibração do  
89 equipamento foram utilizados os padrões DOLT-5 (Dogfish Liver Certified Reference Material  
90 for Trace Metals and other Constituents) e DORM-4 (Fish Protein Certified Reference Material  
91 for Trace Metals).

92 Os resultados das análises de concentração foram obtidos em  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Após, foi calculada  
93 a média e o desvio padrão das concentrações de cada elemento em cada tecido de cada espécie.  
94 Para a detecção da normalidade dos dados foi realizado o teste de Shapiro-Wilk, qual mostrou  
95 uma distribuição não-normal. Diferenças nas concentrações entre tecidos foram analisadas  
96 através do teste de Wilcoxon. A correlação entre as concentrações dos elementos e o tamanho  
97 corporal dos indivíduos foi verificada através da correlação linear de Pearson. Para comparar  
98 os resultados entre as espécies, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. As análises aplicadas  
99 foram executadas no ambiente estatístico R.

100

### 101 3. Resultados

102 As concentrações de metais encontradas no presente estudo se encontram evidenciadas na  
103 Tabela 1, expostas em média e desvio-padrão ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) para cada elemento, espécie e tecido.  
104 Através do teste de Kruskal-Wallis, não foram encontradas diferenças significativas nas  
105 concentrações de metais entre as espécies, portanto, não havendo variação interespecífica em  
106 nenhuma das variáveis estudadas (elemento e tecido). Diferenças significativas entre as  
107 concentrações dos tecidos foram encontradas para cádmio em *E. jaegeri* ( $p = 0,01474$ ) e  
108 mercúrio novamente em *E. jaegeri* ( $p = 0,004757$ ) e *H. infrataeniatus* ( $p = 0,009277$ ). Através  
109 do teste de correlação de Spearman, foram detectadas correlações em apenas três situações:  
110 arsênio e chumbo em fígado de *E. jaegeri* ( $p = 0.000335$ ,  $\rho = -0.8$ ; e  $p = 0.012$ ,  $\rho = -$   
111  $0.631$ , respectivamente) e cádmio em fígado de *E. poecilogyrus* ( $p = 0.008$ ,  $\rho = -0.81$ ).

112

### 113 4. Discussão

114 O presente estudo é o primeiro a realizar uma avaliação interespecífica de elementos traços em  
115 serpentes no sul do Brasil. O município de Rio Grande, apesar de urbanizado, ainda apresenta  
116 remanescentes de áreas naturais, mesmo que estas estejam sob influência da antropização. Os  
117 padrões de correlações negativas para arsênio e chumbo em fígado de *E. jaegeri* e cádmio em  
118 fígado de *E. poecilogyrus* pode indicar uma eventual variação ontogenética, qual já foi  
119 documentada para uma espécie congênere (Eisfield et al., 2021). A ausência de diferenças  
120 interespecíficas em serpentes ocorreu em outras situações descritas na literatura (Burguer et al.,  
121 2006, Drewett et al., 2013).

122 Burger e colaboradores (2006) realizaram a aferição das concentrações de chumbo, arsênio e  
123 mercúrio em três serpentes de hábitos aquáticos: *Nerodia fasciata*, *N. taxispilota* e *Agkistrodon*  
124 *piscivorous*. Neste estudo, houve variação significativa para arsênio (Sendo *A. piscivorous* a

125 espécie com maior concentração, e as demais com concentrações semelhantes) e chumbo  
126 (sendo, nesse caso, *N. taxispilota* a espécie com concentração conspicuamente superior às  
127 demais). As concentrações supracitadas foram verificadas em tecido muscular, sendo os  
128 indivíduos oriundos de um ambiente contaminado. Frente ao fato de que as espécies presentes  
129 no estudo possuem hábitos semelhantes, tanto alimentares quanto em uso de habitat, os autores  
130 não inferem sobre o que levou a tais diferenças.

131 No entanto, em um estudo tratando exclusivamente de concentrações de mercúrio, espécies com  
132 história natural consideravelmente distinta entre si exibiram diferenças interespecíficas  
133 significantes (Drewett et al. 2013). Neste estudo foram utilizadas as espécies *Nerodia sipedon*  
134 e *Regina septemvittata*, espécies semiaquáticas; *Pantherophis obsoletus*, uma serpente com  
135 hábitos preferencialmente arborícolas; e *Thamnophis sirtalis*, espécie terrícola generalista.  
136 Ainda, foi realizada análise isotópica para diferenciar as espécies em relação aos seus recursos  
137 alimentares. No caso, as espécies relacionadas a ambientes aquáticos apresentaram  
138 concentrações de mercúrio conspicuamente superiores as duas outras espécies. Tal padrão,  
139 portanto, indica que o ambiente aquático e os hábitos alimentares das espécies que o utilizam  
140 podem ser fatores importantes para a absorção de elementos-traço. No presente estudo, apesar  
141 de não observadas diferenças interespecíficas, é importante ressaltar que as espécies não  
142 passaram por análise isotópica. Portanto, a diferenciação dos recursos das espécies é menos  
143 clara do que a apresentada por Drewett e colaboradores (2013).

144 Variações intraespecíficas entre as concentrações de tecidos já foram documentadas em outros  
145 estudos com serpentes. *Pituophis melanoleucus* apresentou concentrações de cádmio e  
146 mercúrio significativamente maiores no fígado em relação tecido muscular, porém o inverso  
147 ocorreu nas análises com chumbo (Burger et al. 2017). Tanto em ambiente contaminado quanto  
148 pristino, *N. sipedon* apresentou concentrações de cádmio significativamente superiores no  
149 fígado (Campbell et al. 2005). No mesmo estudo, uma maior concentração de arsênio foi

150 encontrada em fígado apenas no ambiente pristino. Já para mercúrio, o tecido muscular continha  
151 maior concentração frente ao fígado, também apenas em ambiente preservado.  
152 Em estudos relativos a diferenças interespecíficas, a presença de dados isotópicos sobre os  
153 animais pode ser um fator decisivo na compreensão dos demais resultados (Drewett et al.,  
154 2013). Não obstante, a análise dos sedimentos locais, respeitando a temporalidade das coletas  
155 de amostras biológicas, também fomentará as respostas ao objetivo do estudo. Ainda assim, o  
156 presente estudo contribui para a compreensão dos fatores que influem nas concentrações de  
157 elementos-traço em serpentes, especialmente no tocante a relação entre tais concentrações e o  
158 tamanho corporal dos indivíduos.  
159

160 **5. Referências**

161

162 Bergeron, C. M., Husak, J. F., Unrine, J. M., Romanek, C. S., & Hopkins, W. A. (2007).  
163 Influence of feeding ecology on blood mercury concentrations in four species of turtles.  
164 *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 26(8), 1733-1741.

165

166 Bjerregaard, P., Andersen, C. B., & Andersen, O. (2022). Ecotoxicology of metals—sources,  
167 transport, and effects on the ecosystem. In *Handbook on the Toxicology of Metals*, Academic  
168 Press. 593-627.

169

170 Burger, J., Murray, S., Gaines, K. F., Novak, J. M., Punshon, T., Dixon, C., & Gochfeld, M.  
171 (2006). Element levels in snakes in South Carolina: differences between a control site and  
172 exposed site on the Savannah River site. *Environmental monitoring and assessment*, 112(1),  
173 35-52.

174

175 Burger, J., Gochfeld, M., Jeitner, C., Zappalorti, R., Pittfield, T., & DeVito, E. (2017).  
176 Arsenic, cadmium, chromium, lead, mercury and selenium concentrations in pine snakes  
177 (*Pituophis melanoleucus*) from the New Jersey Pine Barrens. *Archives of environmental  
178 contamination and toxicology*, 72(4), 586-595.

179

180 Burger, J., & Gochfeld, M. (2005). Effects of lead on learning in herring gulls: an avian  
181 wildlife model for neurobehavioral deficits. *Neurotoxicology*, 26(4), 615-624.

182

183 Campbell, K. R., & Campbell, T. S. (2002). A logical starting point for developing priorities  
184 for lizard and snake ecotoxicology: a review of available data. *Environmental Toxicology and  
185 Chemistry: An International Journal*, 21(5), 894-898.

186

187 Campbell, K. R., Campbell, T. S., & Burger, J. (2005). Heavy metal concentrations in  
188 northern water snakes (*Nerodia sipedon*) from East Fork Poplar Creek and the Little River,  
189 East Tennessee, USA. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 49(2), 239-  
190 248.

191

192 Drewett, D. V., Willson, J. D., Cristol, D. A., Chin, S. Y., & Hopkins, W. A. (2013). Inter-and  
193 intraspecific variation in mercury bioaccumulation by snakes inhabiting a contaminated river  
194 floodplain. *Environmental toxicology and chemistry*, 32(5), 1178-1186.  
195

196 Dudgeon, D., Arthington, A. H., Gessner, M. O., Kawabata, Z. I., Knowler, D. J., Lévêque,  
197 C., ... & Sullivan, C. A. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and  
198 conservation challenges. *Biological reviews*, 81(2), 163-182.  
199

200 Frossard, A., Carneiro, M. T. W. D., Silva, E. L. D. F. D., Camargo, C. B., & Rossi, J. L.  
201 (2017). Concentração de elementos traços em serpentes do litoral e da região serrana do  
202 Espírito Santo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37, 1146-1152.  
203

204 Frossard, A., Leite, F. L., Silva, E. L., Carneiro, M. T., Júnior, J. L., Gomes, L. C., &  
205 Endringer, D. C. (2019). The snake Bothrops jararaca (Squamata: Viperidae) is a suitable  
206 bioindicator of environmental exposure to cadmium: an experimental study. *Ecological*  
207 *Indicators*, 104, 166-171.  
208

209 Frossard, A., Leite, F. L., Silva, E. L., Carneiro, M. T., Júnior, J. L., Gomes, L. C., &  
210 Endringer, D. C. (2019). The snake Bothrops jararaca (Squamata: Viperidae) is a suitable  
211 bioindicator of environmental exposure to cadmium: an experimental study. *Ecological*  
212 *Indicators*, 104, 166-171.  
213

214 Komoroske, L. M., Lewison, R. L., Seminoff, J. A., Deustchman, D. D., & Deheyn, D. D.  
215 (2012). Trace metals in an urbanized estuarine sea turtle food web in San Diego Bay, CA.  
216 *Science of The Total Environment*, 417, 108-116.  
217

218 Murray, M. H., Sánchez, C. A., Becker, D. J., Byers, K. A., Worsley-Tonks, K. E., & Craft,  
219 M. E. (2019). City sicker? A meta-analysis of wildlife health and urbanization. *Frontiers in*  
220 *Ecology and the Environment*, 17(10), 575-583.  
221

222 Quintela, F. M., Lima, G. P., Silveira, M. L., Costa, P. G., Bianchini, A., Loebmann, D., &  
223 Martins, S. E. (2019). High arsenic and low lead concentrations in fish and reptiles from Taim  
224 wetlands, a Ramsar site in southern Brazil. *Science of The Total Environment*, 660, 1004-  
225 1014.

226 Ribeiro, R., Santos, X., Sillero, N., Carretero, M. A., & Llorente, G. A. (2009). Biodiversity  
227 and land uses at a regional scale: is agriculture the biggest threat for reptile assemblages?.  
228 *Acta Oecologica*, 35(2), 327-334.  
229

230 Schneider, L., Maher, W., Green, A., & Vogt, R. C. (2013). Mercury contamination in  
231 reptiles: an emerging problem with consequences for wild life and human health. *Mercury:  
232 Sources, Applications and Health Impacts*. Nova Science Publishers., Hauppauge, Nova  
233 Iorque, USA, 173-232.  
234

235 Sievers, M., Hale, R., Parris, K. M., & Swearer, S. E. (2018). Impacts of human-induced  
236 environmental change in wetlands on aquatic animals. *Biological Reviews*, 93(1), 529-554.  
237

238 Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal  
239 toxicity and the environment. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*, 133-164.  
240

241 Yabe, M. J. S., & Oliveira, E. D. (1998). Metais pesados em águas superficiais como  
242 estratégia de caracterização de bacias hidrográficas. *Química Nova*, 21, 551-556.  
243

244 Yaghmour, F., Els, J., Maio, E., Whittington-Jones, B., Samara, F., El Sayed, Y. et al., (2022).  
245 Oil spill causes mass mortality of sea snakes in the Gulf of Oman. *Science of The Total  
246 Environment*, 825, 154072.  
247

248 **6. Figuras e tabelas**

249

250 **Tabela 3 - média e desvio padrão em  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  das concentrações de metais-traço por espécie e por tecido.**

<b>Espécie</b>	<b>Tecido</b>	<b>N</b>	<b>Arsênio</b>	<b>Cádmio</b>	<b>Mercúrio</b>	<b>Chumbo</b>
<i>E. jaegeri</i>	Músculo	29	0,4538±0,662	0,2105±0,449	0,0284±0,02	0,1481±0,153
	Fígado	27	0,2460±0,233	0,0719±0,086	0,0513±0,032	0,1326±0,169
<i>E. poecilogyrus</i>	Músculo	11	0,2882±0,315	0,531±0,665	0,05±0,049	0,3812±0,476
	Fígado	10	0,1375±0,187	0,388±0,565	0,0345±0,027	0,2061±0,2
<i>H. infrataeniatus</i>	Músculo	13	0,1436±0,113	0,3636±0,472	0,0191±0,018	0,1217±0,11
	Fígado	12	0,1439±0,156	0,446±0,101	0,0512±0,027	0,1139±0,153
<i>P. patagoniensis</i>	Músculo	6	0,323±0,188	0,2962±0,303	0,0385±0,034	0,1526±0,15
	Fígado	4	0,3119±0,546	0,1318±0,112	0,0288±0,017	0,0188±0,024

251

252

253 **Tabela 4 - Valor de  $p$  do teste de Wilcoxon, indicando a significância das diferenças entre as concentrações**  
 254 **dos metais entre tecidos.**

	<b>Arsênio</b>	<b>Cádmio</b>	<b>Mercúrio</b>	<b>Chumbo</b>
<i>E. jaegeri</i>	0.1111	<b>0.01474</b>	<b>0.004757</b>	0.2291
<i>E. poecilogyrus</i>	0.08398	0.1602	0.4922	0.1602
<i>P. patagoniensis</i>	0.875	1	0.625	0.125
<i>H. infrataeniatus</i>	0.791	0.9097	<b>0.009277</b>	0.9097

255

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo foram avaliadas as concentrações de metais-traço em serpentes da planície costeira. As espécies *Erythrolamprus jaegeri*, *E. poecilogyrus*, *Philodryas patagoniensis* e *Helicops infrataeniatus* foram coletadas em uma região urbanizada com grande presença industrial: o município de Rio Grande, objetivando verificar a existência de diferenças interespecíficas nas concentrações dos elementos estudados. *H. infrataeniatus* foi coletada também em mais dois pontos amostrais na planície costeira do Rio Grande do Sul: a localidade de Santa Izabel, com predomínio de agricultura; e a Estação Ecológica do Taim, unidade de conservação formada por áreas úmidas, porém sob impactos de áreas agrícolas adjacentes. As concentrações dos metais arsênio, cádmio, chumbo e mercúrio foram mensuradas nos tecidos musculares e no fígado dos indivíduos.

As hipóteses postuladas indicando a existência de diferenças intra e interespecíficas nessas concentrações não foram corroboradas. A inexistência de variação significativa intraespecífica permite supor que, independentemente das pressões antrópicas, as características geoquímicas da formação Planície Costeira podem ter um papel importante nos metais absorvidos pela fauna. O fato de não haver diferenças interespecíficas indica que as espécies sofrem suscetibilidade semelhante a absorção de metais. No entanto, sugere-se que análises isotópicas sejam realizadas para verificar diferenças na utilização de recursos. Ainda, algumas correlações negativas entre o tamanho corporal e a concentração dos metais foram encontradas. Nesses casos, é possível que variações ontogenéticas na dieta ou uso do habitat possa ter promovido uma exposição maior de indivíduos jovens aos elementos traço.

Sendo assim, sugerimos que estudos futuros relacionados a concentrações de metais-traço na fauna realizem também a mensuração dos mesmos elementos nos substratos utilizados pelas espécies. Desse modo, é possível compreender com mais facilidade o papel das fontes antrópicas destes elementos, bem como discutir sobre os modos de absorção desses pela fauna. Não obstante, em estudos interespecíficos, análises de isótopos estáveis também podem ser ferramentas para a compreensão da importância dos recursos alimentares das espécies na exposição aos elementos-traço. Além disso, tais análises também podem facilitar a compreensão de variações ontogenéticas e a importância dessas no contexto ecotoxicológico.

## ANEXOS

### COMISSÃO DE ÉTICA EM USO ANIMAL

Universidade Federal do Rio Grande  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação - PROPESP  
[ceua@furg.br](mailto:ceua@furg.br) <http://www.propesp.furg.br>



### CERTIFICADO Nº P011/2021

Certificamos que o projeto intitulado "Relação entre o uso antrópico do solo e a ocorrência de metais-traço em serpentes simpátricas da Planície Costeira do Rio Grande do Sul", protocolo nº 23116.000900/2021-98, sob a responsabilidade de Daniel Loebmann - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi APROVADO pela COMISSÃO DE ÉTICA EM USO ANIMAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE (CEUA-FURG), em reunião de 01 de setembro de 2021 (Ata 008/2021).

A CEUA lembra aos pesquisadores que qualquer alteração no protocolo experimental ou na equipe deve ser encaminhada à comissão para avaliação e aprovação. Um relatório final deve ser enviado à CEUA no término da vigência do seu projeto.

CEUA Nº	Pq003/2021
FINALIDADE	Pesquisa
COLABORADORES AUTORIZADOS A MANIPULAR OS ANIMAIS	Vinicius Mendes Meneses
VIGENCIA DO PROJETO	
ESPECIE / GRUPOS TAXONOMICOS	<i>Erythrolamprus poecilogyrus</i> , <i>E. jaegeri</i> , <i>E. semiaureus</i> , <i>Helicops infrataeniatus</i> , <i>Philodryas patagoniensis</i>
NUMERO DE ANIMAIS	25 animais (5 de cada espécie)
Nº SOLICITAÇÃO / AUTORIZAÇÃO SISBIO	69640
ATIVIDADE(S)	(X) CAPTURA (X) COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO ( ) MARCAÇÃO (X) OUTRAS:
LOCAL(is) REALIZAÇÃO ATIVIDADES	Distrito Industrial, Rio Grande; Estação Ecológica do Taim, Rio Grande; Santa Izabel do Sul, Arroio Grande.
ENVIO DO RELATORIO PARCIAL	
ENVIO DO RELATORIO FINAL	

Rio Grande, 06 de setembro de 2021.

Med. Vet. Alice T. Meirelles Leite  
Coordenadora da CEUA-FURG

Controle da CEUA - Parecer(es) prévio(s) relacionado(s) ao processo: P006/2021

Página 1/1