

Universidade Federal de Juiz de Fora
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas-Comportamento e Biologia Animal

Larissa Cardoso Barbosa

**EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO POR PESTICIDAS EM ÓRGÃOS DO LAGARTO
Tropidurus torquatus (WIED-NEUWIED, 1820) (SQUAMATA, TROPIDURIDAE) DE
JUIZ DE FORA, MINAS GERAIS, BRASIL**

Juiz de Fora
2019

Larissa Cardoso Barbosa

**EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO POR PESTICIDAS EM ÓRGÃOS DO LAGARTO
Tropidurus torquatus (WIED-NEUWIED, 1820) (SQUAMATA, TROPIDURIDAE) DE
JUIZ DE FORA, MINAS GERAIS, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, área de concentração: Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para a obtenção do grau de mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Bernadete Maria de Sousa

Juiz de Fora

2019

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Cardoso Barbosa, Larissa.

Efeitos da Contaminação por Pesticidas em Órgãos do Lagarto *Tropidurus torquatus* (Wied-Neuwied, 1820) (Squamata, Tropiduridae) de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil / Larissa Cardoso Barbosa. -- 2019.

53 p. : il.

Orientador: Bernadete Maria de Sousa

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas: Comportamento Animal, 2019.

1. Ecotoxicologia. 2. Agrotóxicos. 3. Ecologia de lagartos. I. de Sousa, Bernadete Maria, orient. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Aos meus pais, João Augusto e Luzia, por
todo exemplo e apoio. Aos meus irmãos,
João Victor e Louise, por todo incentivo e
carinho. Sem vocês nenhuma conquista
faria sentido!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre comigo, me guiando e mostrando o melhor caminho a seguir. Por ter colocado em minha trajetória pessoas maravilhosas, que sem elas nunca teria chegado até aqui.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo fomento para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas-Comportamento e Biologia Animal, pelo ensino e oportunidade de realização do estudo.

Aos maravilhosos répteis, que me despertaram imensa curiosidade e me ensinaram tantas coisas.

A minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Bernadete Maria de Sousa, por ter me acolhido desde a graduação de braços abertos. Por confiar em cada detalhe do desenvolvimento deste trabalho. Foi um prazer ter você como orientadora, nunca esquecerei da grande amiga que você é. Hoje, o que me torno, é também graças a você!

A Prof^ª. Dr^ª. Maria Christina M. N. Castañon, pela confiança e conhecimentos compartilhados.

Ao Prof. Dr. Rafael Arromba, pela disponibilidade e interesse imediato em colaborar com esse trabalho. Por todas as dicas e ideias para aperfeiçoar nosso estudo!

Ao Prof. Vinícius Rocha, por se mostrar sempre disponível e esclarecer dilemas durante esse percurso. Obrigada pela paciência, pelas ideias e por dividir comigo todo seu conhecimento.

Ao Prof. Jair Aguiar, por ajudar com sua experiência e conhecimento, e por toda atenção.

Aos técnicos administrativos do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas-Comportamento e Biologia Animal, Marlú Carvalho Ferreira e Dayane de Almeida Oliveira Alves, e à técnica administrativa do Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, Gislaíne Matos Bento, pela disposição, atenção e eficiência sem igual.

Aos técnicos de Laboratório de Histologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Lúcia Mara Januário dos Anjos e Carlos Magno, por compartilhar toda a experiência e aprendizado, e por inúmeras vezes me 'socorrer' nos momentos de desespero. A contribuição de vocês foi essencial!

À minha mãe Luzia e meu pai João Augusto, por serem meu porto seguro, meus maiores incentivadores, meus pilares e exemplos e por toda ajuda financeira. Obrigada por todo apoio, amo vocês!

Aos meus irmãos Louise e João Victor, por todo apoio, conselho e amizade! Amo vocês!

À minha avó, tios e primos, por compartilhar meus sucessos e me ampararem nos momentos difíceis.

Aos queridos André Yves e Victor Gomes, por não medirem esforços durante as coletas, sempre se mostrando disponíveis e animados para fazer o necessário. Por dividirem comigo todos os conhecimentos sobre répteis e por serem amigos maravilhosos! Muito sucesso para vocês, espero poder contribuir para os trabalhos de vocês como fizeram no meu!

A doutoranda Paola Rosa de Oliveira, por me ajudar sempre que eu precisava, em todas as etapas do trabalho e da vida. Por dividir comigo as angústias e sucessos durante todo esse período e por ser mais que uma colega de laboratório, uma grande amiga de vida!

As históricas, Alessandra, Paola, Pilar, Sarah e Thaís, por me divertirem todos os dias. Por me aconselharem e por me ajudarem sempre! Muito obrigada, meninas!

Aos amigos do Laboratório de Répteis da Universidade Federal de Juiz de Fora, pela companhia de todos os dias, pelos churrascos, pelos aprendizados e pela amizade! Jamais vou esquecer de vocês!

A doutoranda Náira Campos, por ter aceitado nos ajudar nesse trabalho, fazendo o possível e o impossível para dar tudo certo e pela paciência invejável em me explicar Química Analítica! Desejo muito sucesso para você!

Ao mestrando João Victor Gerheim, por dividir seus conhecimentos de Bioquímica comigo e por oferecer mais do que o necessário para a execução deste trabalho.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente com este trabalho.

Sumário

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS	i
LISTA DE FIGURAS	iii
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
RESUMO PARA DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA	vii
1. INTRODUÇÃO	14
1.1. Agrotóxicos	14
1.2. Espécie estudada	15
2. OBJETIVOS	19
2.1. Objetivo geral	19
2.2. Objetivos específicos	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1. Coleta das amostras	20
3.2. Preparo das amostras e análise de lâminas	22
3.3. Preparo das amostras e análise da atividade enzimática	22
3.4. Preparo das amostras e determinações analíticas	23
4. RESULTADOS	26
4.1. Morfometria linear e massa dos espécimes	26
4.2. Histologia	26
4.3. Atividade enzimática	33
4.4. Determinações analíticas	34
5. DISCUSSÃO	36
5.1. Morfometria linear	36
5.2. Lesões histológicas	36
5.3. Atividade enzimática	40
5.4. Acúmulo de metais tóxicos	41
6. CONCLUSÃO	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

- AAS = Espectrometria de absorção atômica;
- CC = Comprimento caudal;
- Cd = Cádmio;
- CRC = Comprimento rostro-cloacal;
- Ct = Túbulo contornado;
- Det = Túbulo contornado distal;
- F AAS = Espectrometria de absorção atômica em chama;
- GF AAS = Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite;
- H1 = Horta com uso de pesticida;
- H2 = Horta orgânica;
- HE = Hematoxilina e Eosina;
- IUPAC = União Internacional de Química Pura e Aplicada;
- LD = Limite de detecção;
- LQ = Limite de quantificação;
- MC = Massa corpórea;
- MPO = Mieloperoxidade;
- Pb = Chumbo;
- Pct = Túbulo contornado proximal;
- Rc = Corpúsculo renal;
- RSD = Desvio-padrão relativo;
- Ssk = Segmento sexual renal;
- Tc = Túbulo coletor;
- TMAH[®] = Hidróxido de tetrametilamnio.

LISTA DE TABELA

- Tabela 1:** Média, desvio padrão e amplitude do CRC, CC e MC dos indivíduos de *Tropidurus torquatus* coletadas na horta com agrotóxico e na horta orgânica.26
- Tabela 2:** Resultados encontrados em trabalhos de histologia hepática de ectotérmicos.37

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Indivíduos de *Tropidurus torquatus* em troncos (a) e parede (b). Fotos: Larissa Barbosa. 17
- Figura 2:** (a) Armadilha de laço, composta por vara de pesca com laço de fio dental, sendo utilizada para captura de *Tropidurus torquatus*. (b) Espécime de *T. torquatus* capturado com armadilha de laço. Fotos: Larissa Barbosa. 21
- Figura 3:** Secções de fígado de lagartos *Tropidurus torquatus* de horta com uso de pesticidas (H1) coradas com Hematoxilina e Eosina (HE). (a, b) Secções de fígado de machos adultos (100x e 400x, respectivamente). (c, d) Secções do fígado de fêmeas adultas (100x e 400x, respectivamente). (e, f) Secções do fígado de jovens (100x e 400x, respectivamente). Círculos marcam os melanomacrófagos, setas apontam os vacúolos e a cruz marca as áreas de fibrose. Barra = 10 μm 27
- Figura 4:** Secções do fígado de lagartos *Tropidurus torquatus* de horta orgânica (H2) coradas com Hematoxilina e Eosina (HE). (a, b) Secções de fígado de machos adultos (100x e 400x, respectivamente). (c, d) Secções do fígado de fêmeas adultas (100x e 400x, respectivamente). (e, f) Secções do fígado de jovens (100x e 400x, respectivamente). Círculos marcam os melanomacrófagos. Barra = 10 μm 28
- Figura 5:** Secções de rim de lagartos *Tropidurus torquatus* provenientes de horta orgânica (H2) coradas com Hematoxilina e Eosina (HE). (a, b) Secções de rim de machos adultos (100x e 400x, respectivamente). (c, d) Secções do rim de fêmeas adultas (100x e 400x, respectivamente). (e, f) Secções de rim de jovens (100x e 400x, respectivamente). Círculos marcam vesículas coradas em marrons nos túbulos contornados proximais. (Ssk= segmento sexual renal, Tc= túbulo coletor, Ct= túbulo contornado, Pct= túbulo contornado proximal, Dct= túbulo contornado distal e Rc= córpulo renal). Barra = 10 μm 30
- Figura 6:** Secções de rim de lagartos *Tropidurus torquatus* provenientes de horta com uso de pesticida (H1) coradas com Hematoxilina e Eosina (HE). (a, b) Secções de rim de machos adultos (100x e 400x, respectivamente). (c, d) Secções do rim de fêmeas adultas (100x e 400x, respectivamente). (e, f) Secções de rim de jovens (100x e 400x, respectivamente). Círculos marcam vacúolos corados em marrons nos túbulos contornados proximais. (Ssk= segmento sexual renal, Tc= túbulo coletor, Ct= túbulo contornado, Pct= túbulo contornado proximal, Dct= túbulo contornado distal e Rc= córpulo renal). Barra = 10 μm 31
- Figura 7:** Secções de fígado e rim de lagartos *Tropidurus torquatus* provenientes de horta com uso de pesticida (H1) corados com Mallory-Parker. (a, b) Secções de fígado e rim, respectivamente, de machos adultos (400x). (c, d) Secções de fígado e rim, respectivamente, de fêmeas adultas (400x). Círculos amarelos marcam os melanomacrófagos, setas apontam os vacúolos e círculos pretos demarcam vacúolos corados em marrons nos túbulos contornados proximais. (Tc= túbulo coletor, Pct= túbulo contornado proximal e Rc= córpulo renal). Barra = 10 μm 32
- Figura 8:** Secções de fígado e rim de lagartos *Tropidurus torquatus* provenientes de horta com uso de pesticida (H1) corados com Tricrômio de Masson. (a, b) Secções de fígado e rim,

respectivamente, de machos adultos (400x). (c, d) Secções de fígado e rim, respectivamente, de fêmeas adultas (400x). (e, f) Secções de fígado e rim, respectivamente, de jovens (400x). Círculos amarelos marcam os melanomacrófagos, setas apontam os vacúolos e círculos pretos demarcam vacúolos corados em marrons nos túbulos contornados proximais. (Tc= túbulo coletor, Pct= túbulo contornado proximal, Dct= túbulo contornado distal e Rc= córpulo renal). Barra = 10 μ m. 33

Figura 9: Gráfico box-plot da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) no fígado de lagartos *Tropidurus torquatus* coletados em horta com uso de pesticidas próximas a ambiente antropizado (azul) e de horta orgânica próxima a zona rural (verde). UE= quantidade de enzima que degrada 1milimol de substrato/minuto. 34

RESUMO

EFEITOS DA CONTAMINAÇÃO POR PESTICIDAS EM ÓRGÃOS DO LAGARTO *Tropidurus torquatus* (WIED-NEUWIED, 1820) DE JUIZ DE FORA, MINAS GERAIS, BRASIL

O uso de agrotóxicos é crescente, e os compostos químicos presentes neles podem permanecer no solo, água e alimento, podendo contaminar os seres vivos. Tendo em vista que os répteis são os vertebrados menos estudados em ecotoxicologia, e que os lagartos da espécie *Tropidurus torquatus* se alimentam principalmente de insetos e partes de plantas, o presente estudo objetivou avaliar, através de análise histológica do fígado e rim e da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) no fígado, a interferência dos agrotóxicos nestes animais presentes em horta com pesticida e de horta orgânica, ambas em Juiz de Fora, Minas Gerais. Além disso, foi feita a quantificação dos metais chumbo (Pb) e cádmio (Cd) no fígado dos animais da horta com pesticidas. O presente estudo utilizou animais coletados em ambientes naturais e encontrou resultados semelhantes ao visto em trabalhos realizados em laboratório, mesmo sem ser possível controlar a dosagem e tempo de exposição aos pesticidas. Na histologia, o fígado dos animais da horta com agrotóxico se apresentou mais comprometido que o rim, sendo os machos mais afetados que as fêmeas. Nos animais adultos da horta com pesticida o fígado apresentou hepatócitos sem núcleo, com grandes vacúolos e fibrosados, além de inúmeros melanomacrófagos. Os jovens apresentaram as mesmas características, porém menos intensas. O rim dos adultos da horta com agrotóxico apresentou vesículas com coloração diferenciada nos túbulos contornados proximais. Animais da horta com uso de pesticidas apresentaram maior atividade de MPO, revelando inflamação no tecido. Através da espectrometria de absorção atômica em chama, não foi possível afirmar que os indivíduos da horta com agrotóxico possuíam acúmulo de cádmio (Cd) e chumbo (Pb) no fígado. Os agrotóxicos e o ambiente antropizado mostraram afetar, principalmente, o tecido hepático de lagartos.

PALAVRAS-CHAVE: bioacumulação, espectrometria, fígado, histologia, répteis, mieloperoxidase.

ABSTRACT

EFFECTS OF CONTAMINATION BY PESTICIDES IN LIZARD ORGANS *Tropidurus torquatus* (WIED-NEUWIED, 1820) OF JUIZ DE FORA, MINAS GERAIS, BRAZIL

The use of agrochemicals is increasing, and the chemical compounds present in them can remain in soil, water and food, and can contaminate living beings. Considering that reptiles are the least studied vertebrates in ecotoxicology, and that the lizards of the species *Tropidurus torquatus* feed mainly on insects and parts of plants, the present study aimed to evaluate, through histological analysis of the liver and kidney and the activity of the enzyme myeloperoxidase (MPO) in the liver, the interference of pesticides in these animals present in a vegetable garden with pesticide and organic vegetable garden, both in Juiz de Fora, Minas Gerais. In addition, lead (Pb) and cadmium (Cd) metals were quantified in the liver of garden animals with pesticides. The present study used animals collected in natural environments and found results similar to those seen in laboratory studies, even though it was not possible to control the dosage and time of exposure to pesticides. In the histology, the liver of the animals of the garden with pesticides presented more compromised than the kidney, being the males more affected than the females. In the adult animals of the herb garden with pesticide, the liver presented hepatocytes without nucleus, with large vacuoles and fibroses, besides numerous melanomacrophages. Young people presented the same characteristics, but less intense. The adults' kidney in the pesticide garden showed vesicles with differentiated staining in the proximal convoluted tubules. Animals from the vegetable garden with pesticides showed higher MPO activity, revealing inflammation in the tissue. By means of flame atomic absorption spectrometry, it was not possible to state that the individuals in the pesticide garden had accumulation of cadmium (Cd) and lead (Pb) in the liver. Pesticides and the anthropic environment showed mainly the liver tissue of lizards.

KEY WORDS: bioaccumulation, spectrometry, liver, histology, reptiles, myeloperoxidase.

RESUMO PARA DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

O uso de agrotóxicos é crescente, e os compostos químicos presentes neles podem permanecer no solo, água e alimento, podendo contaminar os seres vivos. Tendo em vista que os répteis são os vertebrados menos estudados em relação à contaminação ambiental, e que os lagartos da espécie *Tropidurus torquatus* se alimentam principalmente de insetos e partes de plantas, o presente estudo objetivou avaliar, através de análise histológica do fígado e rim e da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), no fígado, a interferência dos agrotóxicos nesses animais presentes em horta com pesticida e de horta orgânica, ambas em Juiz de Fora, Minas Gerais. Além disso, foi feita a quantificação dos metais chumbo (Pb) e cádmio (Cd) no fígado dos animais da horta com pesticidas. O presente estudo utilizou animais coletados em ambientes naturais e encontrou resultados semelhantes ao visto em trabalhos realizados em laboratório, mesmo sem ser possível controlar a dosagem e tempo de exposição aos pesticidas. Na histologia, o fígado dos animais da horta com agrotóxico se apresentou mais comprometido que o rim, sendo os machos mais afetados que as fêmeas. Nos animais adultos da horta com pesticida o fígado apresentou as células sem núcleo, com vacúolos e fibrosadas, além de inúmeros melanomacrófagos, que ajudam na destruição e desintoxicação. Os jovens apresentaram as mesmas características, porém menos intensas. O rim dos adultos da horta com agrotóxico apresentou vesículas com coloração diferenciada em algumas células. Animais da horta com uso de pesticidas apresentaram maior atividade de MPO, revelando inflamação no tecido. Não foi possível afirmar que os indivíduos da horta com agrotóxico possuíam acúmulo de cádmio (Cd) e chumbo (Pb) no fígado. Os pesticidas e o ambiente antropizado mostraram afetar, principalmente, o tecido hepático de lagartos.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Agrotóxicos

Há várias décadas, os agrotóxicos, também conhecidos como pesticidas, foram introduzidos nas plantações atuando no controle de pragas. Devido à resistência das pestes a esses produtos, a cada ano maiores quantidades são usadas para proteger as plantações. No entanto, os compostos químicos dos pesticidas podem persistir em solos, águas e alimentos, contaminando os seres vivos (Garbellini & Uliana, 2007; Rodrigues, 2005).

Existem dois tipos de pesticidas: os orgânicos e os inorgânicos. Os pesticidas inorgânicos, contêm substâncias altamente tóxicas, como arsênio, chumbo, cobre, cádmio, mercúrio, zinco e cromo. Atualmente, são pouco utilizados, graças às comprovações de altos danos aos animais e ao meio ambiente. Já os pesticidas orgânicos podem ser de origem vegetal ou organo-sintéticos. Os organo-sintéticos são produzidos através de agrupamentos químicos clorados, cloro-fosforados, fosforados ou carbamatos. Acredita-se que os pesticidas orgânicos de origem vegetal, sejam menos prejudiciais ao meio ambiente do que os sintéticos, porém Bahlai *et al.* (2010), mostraram que os pesticidas orgânicos são menos eficazes, sendo necessários em doses mais altas do que os sintéticos, e combatem além da praga, o seu controle biológico.

Apesar da diminuição do uso, a poluição do ambiente natural por metais pesados é um problema mundial que influencia o funcionamento estrutural e funcional dos ecossistemas aquáticos e terrestres (Farkas *et al.*, 2001; Harte *et al.*, 1991).

Esses componentes dos agrotóxicos, inorgânicos ou orgânicos, quando absorvidos pelos animais através da água ou alimentação podem ser excretados ou ficam armazenados em diversos tecidos do corpo (Bernardi *et al.*, 2008; Guaratini *et al.*, 2008). Esse acúmulo, quando acontece por via da alimentação, com transferência de um nível trófico a outro é denominado biomagnificação (Pain, 1995).

Diversos grupos de animais sofrem com o acúmulo de componentes tóxicos no ambiente, sendo esses acumulados em diversas partes do corpo, como músculos, rim, fígado e sangue (Carvalho *et al.*, 2000; Carvalho *et al.*, 2008; Ferreira *et al.*, 2010; Gomes & Sato, 2011; Silva, 2011; Souza *et al.*, 2009; Teixeira *et al.*, 2005; Virga *et al.*, 2007).

1.2. Espécie estudada

São reconhecidas atualmente 10.793 espécies de répteis (Uetz & Hošek, 2018) sendo que o Brasil conta com 795 espécies; dessas, 276 são lagartos (Costa & Bérnils, 2018). Os répteis são essenciais para o equilíbrio ecológico e compreendem 28% das espécies vertebradas conhecidas (Sparling *et al.*, 2010).

Estudos sobre biologia e ecologia de lagartos são realizados há décadas no Brasil (Ávila-Pires, 1995; Castro e Galetti, 2004; Hoogmoed e Ávila-Pires, 1989; Macedo *et al.*, 2008; Novelli *et al.*, 2011; Novelli *et al.*, 2012; Rocha *et al.*, 2009; Sousa *et al.*, 2010; Sousa *et al.*, 2012), pois além de abundantes, são considerados um bom modelo de estudo devido à fácil visualização, captura e manuseio e sua taxonomia é relativamente bem conhecida, o que facilita o estudo de diferentes aspectos desses animais (Rocha, 1994; Silva e Araújo, 2008), sendo propostos como organismos modelos para a avaliação de risco de répteis expostos a contaminantes ambientais (Amaral *et al.*, 2012).

A população mundial de répteis vem declinando (Gibbons *et al.*, 2000) e a contribuição de contaminantes ambientais, especialmente pesticidas, não é bem abordada (Wagner *et al.*, 2015).

Trabalhos sobre a ecotoxicologia são aplicados principalmente para animais que possuem amplo contato com a água (quelônios, crocodilianos, aves aquáticas e peixes), já que esta é um carreador de contaminantes, e animais utilizados para a alimentação humana (Albers *et al.*, 1986; Carvalho *et al.*, 2008; Ferreira *et al.*, 2010; Jeffrey *et al.*, 2010; Meyer *et al.*, 2015;

Rainwater *et al.*, 2007; Souza *et al.*, 2009; Teixeira *et al.*, 2005; Virga, 2007). Com pouca informação sobre ecotoxicologia reptiliana está disponível, as aves são frequentemente usadas, talvez inadequadamente, como substitutos na avaliação de risco (Weir *et al.*, 2015).

Espécies do gênero *Tropidurus* (Tropiduridae) possuem ampla distribuição e diversidade, habitando tanto as restingas brasileiras quanto o interior do continente (Rodrigues, 1987).

O uso de micro-habitat por lagartos tropidurídeos pode ser influenciado por fatores bióticos, como a competição intra/interespecífica (Núñez *et al.*, 1989; Schoener, 1977), evitação de predadores (Vitt & Carvalho, 1995), bem como tamanho e morfologia do indivíduo (Vitt *et al.*, 1997). Eles podem ser encontrados em diversos micro-habitats, porém possuem preferência por superfícies rochosas, onde conseguem se abrigar, termorregular e reproduzir (Faria & Araújo, 2004; Ribeiro *et al.*, 2008; Ribeiro *et al.*, 2009; Rocha & Bergallo, 1990; Van Sluys *et al.*, 2004; Vitt & Carvalho, 1995).

Indivíduos da espécie *Tropidurus torquatus* (Wied, 1820) (Tropiduridae) são saxícolas ou arborícolas (Pinto *et al.*, 2005), vivendo em rochas, ninhos de cupins, troncos, paredes e bromélias (Bergallo & Rocha, 1993; Rocha, 1994; Rodrigues, 1987; Van Sluys, 1992) (Figura 1).

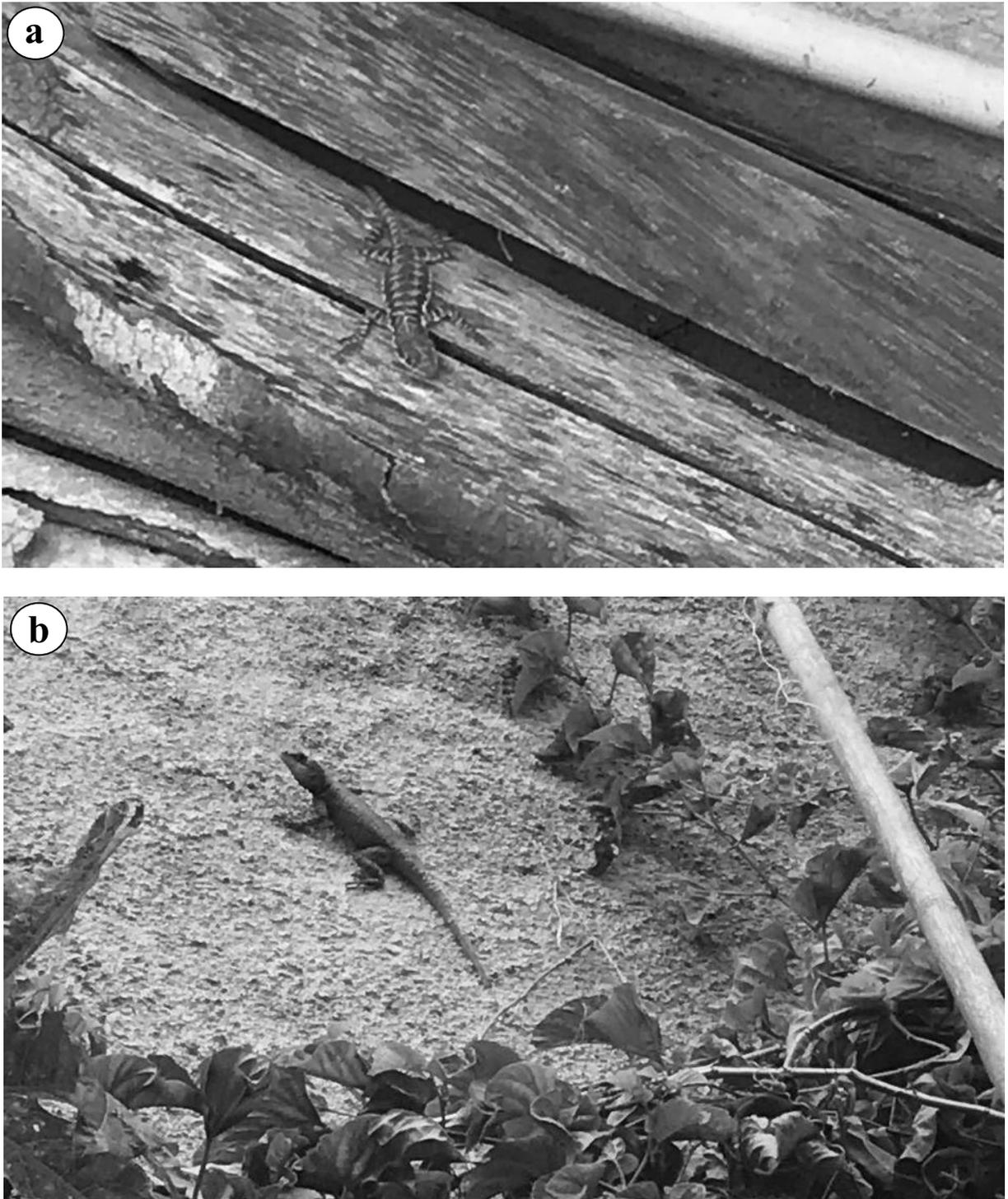


Figura 1: Indivíduos de *Tropidurus torquatus* em troncos (a) e parede (b). Fotos: Larissa Barbosa.

Durante o período reprodutivo, *T. torquatus* utiliza os recursos espaciais mais próximos, apresentando uma menor área de alcance, porém, durante a estação não reprodutiva, que abrange o período seco do ano, estes animais ampliam sua área de alcance, aumentando a chance de encontrar presas (Ribeiro *et al.*, 2009).

Essa espécie é onívora, considerada forrageadora de espreita (*sit-and-wait foragers*) (Araújo, 1987; Rocha, 1994; Schoener, 1971; Van Sluys, 1993, 1995) sendo os principais itens alimentares: invertebrados, principalmente, formigas e coleópteros (Araújo, 1987; Arruda *et al.*, 2007; Carvalho *et al.*, 2007; Teixeira, 1999), e partes vegetais, como encontrado por Araújo (1987) e Gomides *et al.* (2013).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Sabendo que a ingestão e o contato dérmico são as duas principais vias de contaminação em lagartos (Hopkins *et al.*, 2002; Smith *et al.*, 2007), o objetivo do presente estudo é determinar os possíveis efeitos dos metais pesados em espécimes de *T. torquatus* provenientes de horta com uso de agrotóxicos e investigar possíveis alterações histológicas e bioquímicas causadas por esses produtos, contribuindo para o conhecimento do impacto ambiental gerado pelos poluentes nesses animais.

2.2. Objetivos específicos

- 1.** Determinar e comparar as concentrações de Pb (chumbo) e Cd (cádmio) no fígado de indivíduos de *T. torquatus* da horta com pesticida, levando em conta o sexo e a idade dos animais;
- 2.** Analisar se há interferência a nível estrutural no rim e fígado dos espécimes de *T. torquatus* provenientes de horta com uso de pesticidas, quando comparados aos de horta orgânica.
- 3.** Avaliar se os animais apresentam diferentes atividades enzimáticas no fígado devido ao tipo de hortas em que foram coletados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta das amostras

Foram coletados 35 espécimes de *T. torquatus*, em uma horta com uso de pesticidas (formicida e fungicida) (H1 - 12 machos, 13 fêmeas e 10 jovens), e 11 exemplares em uma horta orgânica (H2 - 4 machos, 2 fêmeas e 5 jovens), ambas no município de Juiz de Fora (Minas Gerais, Brasil) de agosto de 2017 a agosto de 2018. O protocolo e licença para captura e manipulação dos animais foram concedidos pela Comissão de Ética no Uso de Animais (Ceua) da Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa/UFJF, sob o número 018/2017 e pelo Sisbio, sob o número 57824.

Os espécimes foram capturados com armadilha de laço, composta por uma vara de pesca com laço de fio dental (Figura 2), e levados para o Laboratório de Herpetologia – Répteis da UFJF onde foram pesados com pesola (MC) e tiveram o comprimento rosto-cloacal (CRC) e comprimento da cauda (CC) medidos com o auxílio de um paquímetro.

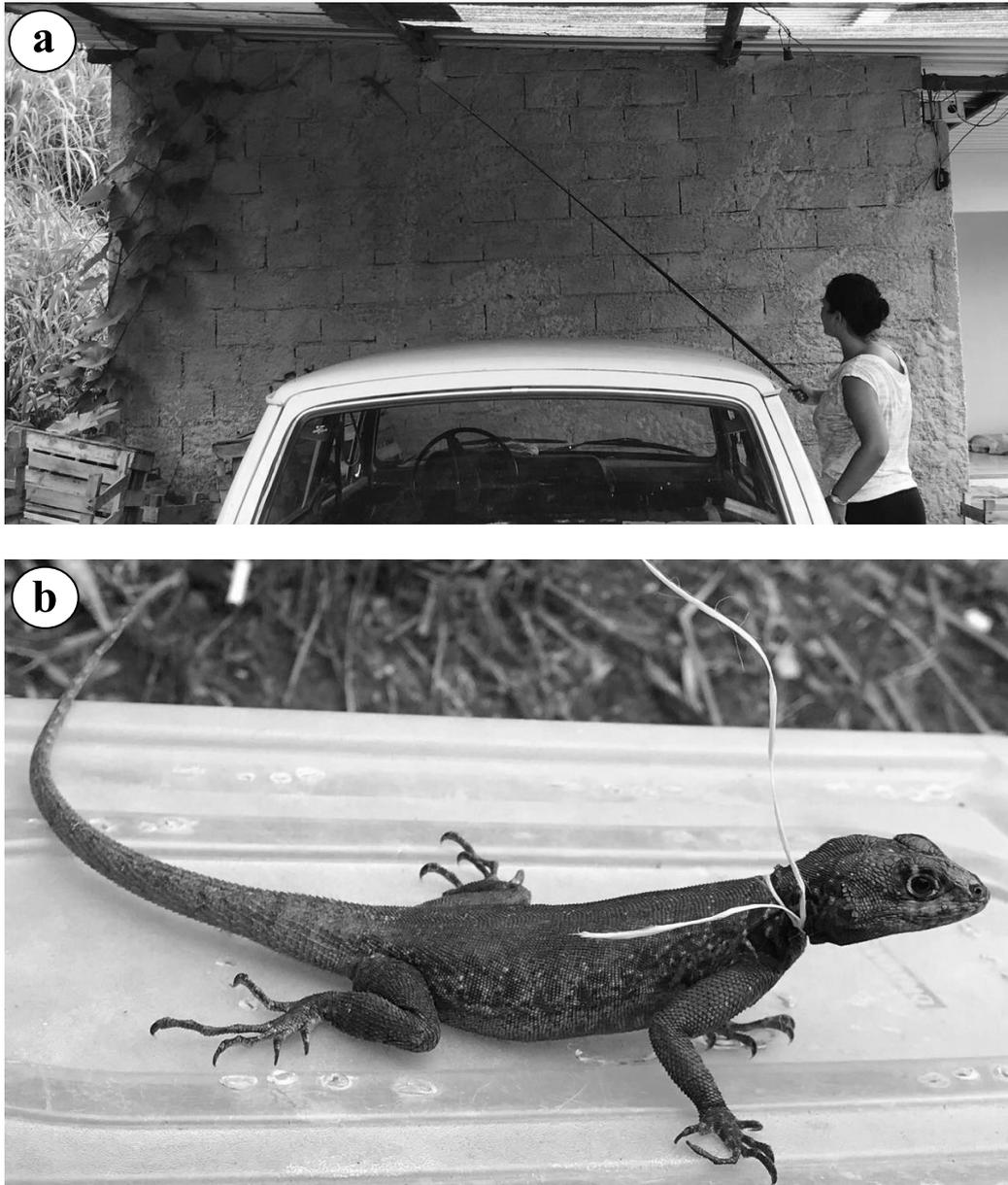


Figura 2: (a) Armadilha de laço, composta por vara de pesca com laço de fio dental, sendo utilizada para captura de *Tropidurus torquatus*. (b) Espécime de *T. torquatus* capturado com armadilha de laço. Fotos: Larissa Barbosa.

Os animais foram eutanasiados por aplicação de pré-anestesia intra-muscular de cloridrato de lidocaína (100mg/ml), seguida da aplicação pela via intra-celomática (latero-ventralmente, logo à frente da inserção do membro posterior) do barbitúrico fenobarbital (40mg/ml) na dose necessária, conforme o peso do espécime (0,5mg/10g). Após a confirmação da ausência total de movimentos respiratórios (apneia) e de batimentos cardíacos (assistolia) os espécimes foram necropsiados.

3.2. Preparo das amostras e análise de lâminas

Foram analisados uma porção do fígado próxima à vesícula biliar e o rim esquerdo dos espécimes. O fígado e o rim foram amostrados porque eles são conhecidos por desempenhar o papel de desintoxicar órgãos e acumular metais pesados (Liu *et al.*, 2000; Sabolic *et al.*, 2001; Trinchella *et al.*, 2006).

As amostras foram fixadas em formalina a 10% por 24 horas. Após o período de fixação, a peça anatômica foi submetida a técnicas de preparação histológica de rotina (desidratadas em álcool, clarificadas com xilol e impregnadas em parafina). Posteriormente, o material foi incluído em parafina e foram obtidos cortes seriados com 4µm de espessura. As lâminas foram confeccionadas e coradas com Hematoxilina e Eosina (HE), Mallory-Parker e Tricrômio de Masson; para análise histoquímica da amostra. A análise e fotodocumentação das lâminas foram feitos em microscópio Olympus BX41 com equipamento fotográfico digital Canon A3100S alocado no Laboratório Avançado de Zoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais.

3.3. Preparo das amostras e análise da atividade enzimática

Dez indivíduos (H1 = cinco e H2 = cinco) tiveram uma porção do fígado retirada, acondicionada em eppendorfs e levada ao ultrafreezer a -80°C. A técnica para extração da enzima mieloperoxidase (MPO) foi desenvolvida no Laboratório de Glicoconjugados da Universidade Federal de Juiz de Fora e foi baseada na metodologia descrita por Bradley *et al.* (1982): as amostras foram trituradas em nitrogênio líquido, suspensas em 6ml de solução tampão (0,5% CTAB em tampão fosfato de potássio 50mM) e centrifugadas a 1500 rpm por 30 minutos a 4°C. Aos precipitados foram adicionados mais 2ml de solução tampão, e foram levados ao sonicador e congelados com nitrogênio líquido (3 vezes). Logo após, foram levados à centrífuga novamente por mais 30 minutos a 1500 rpm e 4°C e congelados a -80°C novamente.

A MPO foi analisada espectrofotometricamente com o comprimento de onda de 492nm. Foram usadas 10 μ L do material e a ele foi adicionadas 190 μ L da seguinte solução: 100 μ L de tampão fosfato de potássio 0,2M, pH 6,0, contendo 10 μ L de cloridrato de o-dianisidina, 4 μ L de peróxido de hidrogênio a 10mM e 76 μ L de água destilada. A diluição da amostras (5 a 0,625 μ l) foi realizada em triplicata e foram feitas 30 leituras com 30 segundos de intervalo cada.

Uma unidade de atividade MPO foi definida como a quantidade de enzima capaz de degradar de 1 milimol de substrato por minuto.

3.4. Preparo das amostras e determinações analíticas

A espectrometria de absorção atômica (AAS, do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*) é uma técnica bem estabelecida empregada para a determinação de elementos metálicos em diferentes matrizes. Seu princípio fundamental envolve a medida da absorção da intensidade da radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte de radiação primária, por átomos gasosos no estado fundamental. A quantidade de radiação absorvida relaciona-se à quantidade de átomos, que é proporcional à concentração do elemento. Dentre as diferentes aplicações, destacam-se amostras como materiais biológicos; como tecidos, sangue, solo, água, plantas e sedimentos (Arromba *et al.*, 2013; Aranha *et al.*, 2016; Oliveira & Mattiazzo, 2001; Souza *et al.*, 2001; Soares *et al.*, 2009).

Os principais modos de atomização do elemento a ser detectado consistem no uso de chama ou atomização eletrotérmica, geralmente em forno de grafite. A espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*) apresenta limites de detecção na faixa de miligramas por litro e com elevada frequência analítica (número de análises/unidade de tempo). Já a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*) apresenta elevada detectabilidade com limites de detecção na faixa de microgramas por litro, usualmente

empregando pequenas quantidades de amostra; porém, apresenta menor frequência analítica (Welz, 1999).

Para a quantificação de chumbo e cádmio foi avaliado uma parte do fígado de 30 espécimes (10 fêmeas, 10 machos e 10 jovens) de H1 através da espectrometria de absorção atômica com chama.

Todos os materiais utilizados nessa etapa do trabalho foram lavados com sabão neutro, levado ao banho de ácido nítrico a 10% (v/v) por 24 horas e lavados com água deionizada antes de usar.

Os teores de cádmio (Cd) e chumbo (Pb) foram determinados em parte do fígado de 30 espécimes (10 fêmeas, 10 machos e 10 jovens) da horta H1 através da espectrometria de absorção atômica em chama após a solubilização das amostras com TMAH[®]. Após a necropsia, a porção do fígado retirada foi colocada em uma placa de Petri e levada a estufa por 72 horas à 70°C. O método de solubilização desenvolvido por Campos *et al.* (2018) foi adaptado e aplicado para o conjunto de amostras coletado. Para as amostras de lagartos jovens, que apresentaram baixa massa dos tecidos, preparou-se uma amostra mistura com os tecidos dos 10 indivíduos, que foi denominada MJ. Em tubos tipo Falcon de 15mL, 30mg do tecido seco foram misturados com 210µL de solução de TMAH[®] (25% m/m) e deixados em repouso por 8h, em temperatura ambiente (~25°C). Após este tempo, os extratos obtidos foram diluídos com 3mL de água deionizada (Elga Veolia, PureLab Option-Q). Obtiveram-se soluções amarronzadas, como reportado na literatura (Campos *et al.*, 2018) que foram armazenadas em temperatura ambiente até o momento das análises (24h). Um ensaio em branco, com adição apenas do agente de solubilização e água, também foi realizado.

Para as determinações por F AAS, empregou-se o espectrômetro de absorção atômica Thermo Scientific, modelo SOLAAR M5, equipado com lâmpadas de catodo oco monoelementares dos analitos Cd (228,8nm) e Pb (283,3nm), usadas como fonte de radiação.

Outras condições instrumentais usadas nas determinações de ambos os analitos foram: abertura da fenda de 0,5nm, chama de ar/acetileno com vazão de acetileno (combustível) igual a 1,1mL min⁻¹ e altura do queimador igual a 7mm. Para calibração, preparou-se curvas analíticas no mesmo meio das amostras solubilizadas (TMAH[®] 1,75 % m/v) a partir de soluções estoque monoelementares de Cd e Pb 1000mgL⁻¹ (Qhemis, Jundiaí, SP, Brasil). Para Cd empregou-se a faixa de 0,5 – 2mg L⁻¹ e para Pb a faixa de 2 – 10mg L⁻¹. Para avaliar a detectabilidade do método de preparo, calculou-se os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) de acordo com as recomendações da IUPAC (do inglês, *International Union of Pure and Applied Chemistry*) (Thompson *et al.*, 2002; IUPAC, 2014) onde LD = 3sB/S e LQ = 10sB/S, em que sB é o desvio-padrão de 10 leituras do branco do método e S é o coeficiente angular das curvas analíticas. A precisão foi monitorada através do valor de desvio-padrão relativo (RSD, do inglês *Relative Standard Deviation*).

4. RESULTADOS

4.1. Morfometria linear e massa dos espécimes

Os animais foram classificados como adultos ou jovens de acordo com as características morfológicas (tamanho e coloração).

Foram calculadas a média, desvio padrão e amplitude do CRC, CC e da massa corpórea (MC) dos indivíduos coletados de *T. torquatus* (Tabela 1).

Tabela 1: Média, desvio padrão e amplitude do comprimento rostro-cloacal (CRC), comprimento caudal (CC) e massa corpórea (MC) dos indivíduos de *Tropidurus torquatus* coletadas na horta com agrotóxico e na horta orgânica.

Sexo	Medida	Média	Desvio Padrão	Amplitude (M = máximo, m = mínimo)
Macho adulto	CRC	121,37mm	±13,07mm	M = 137,79mm e m = 97,49mm
	CC	179,05mm	±38,90mm	M = 225,57mm e m = 83,09mm
	MC	62,26g	±22,64g	M = 100,00g e m = 28,00g
Fêmea adulta	CRC	101,21mm	±6,44mm	M = 115,53mm e m = 90,72mm
	CC	136,41mm	±20,23mm	M = 173,49mm e m = 103,61mm
	MC	32,06g	±07,15g	M = 47,00g e m = 23,00g
Jovens	CRC	78,00mm	±22,66mm	M = 97,72mm e m = 63,26mm
	CC	125,78mm	±26,13mm	M = 175,38mm e m = 78,38mm
	MC	16,33g	±08,44g,	M = 33,00g e m= 06,00g

4.2. Histologia

Os fígados dos lagartos adultos de H1 apresentaram arquitetura hepática alterada, com hepatócitos retraídos e citoplasma vacuolizado e aumento no número e tamanho dos melanomacrófagos, assim como áreas de fibrose. Os machos apresentaram maiores alterações histológicas do que as fêmeas, apresentando maior número de melanomacrófagos e maiores

áreas de vacuolização e fibrose. Já os jovens apresentaram menores danos nas células e em menor intensidade (Figura 3). No grupo H2 os animais mostraram uma seção hepática normal, com hepatócitos em forma polidérica com núcleos bem delimitados e citoplasma acidofílico e pouca presença de melanomacrófaos (Figura 4).

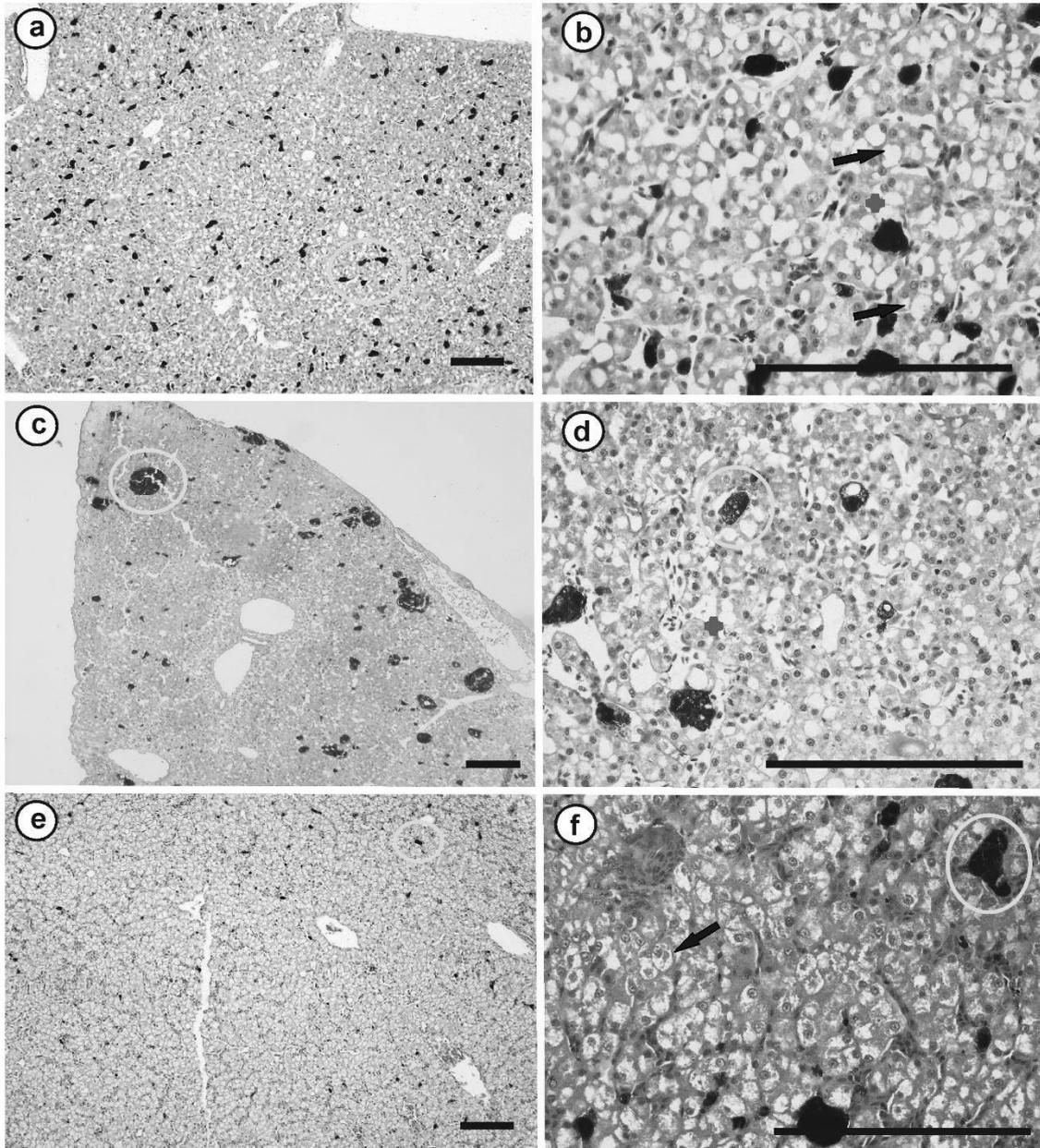


Figura 3: Secções de fígado de lagartos *Tropidurus torquatus* de horta com uso de pesticidas (H1) coradas com Hematoxilina e Eosina (HE). (a, b) Secções de fígado de machos adultos (100x e 400x, respectivamente). (c, d) Secções de fígado de fêmeas adultas (100x e 400x, respectivamente). (e, f) Secções de fígado de jovens (100x e 400x, respectivamente). Círculos marcam os melanomacrófaos, setas apontam os vácúolos e a cruz marca as áreas de fibrose. Barra = 10 μ m.

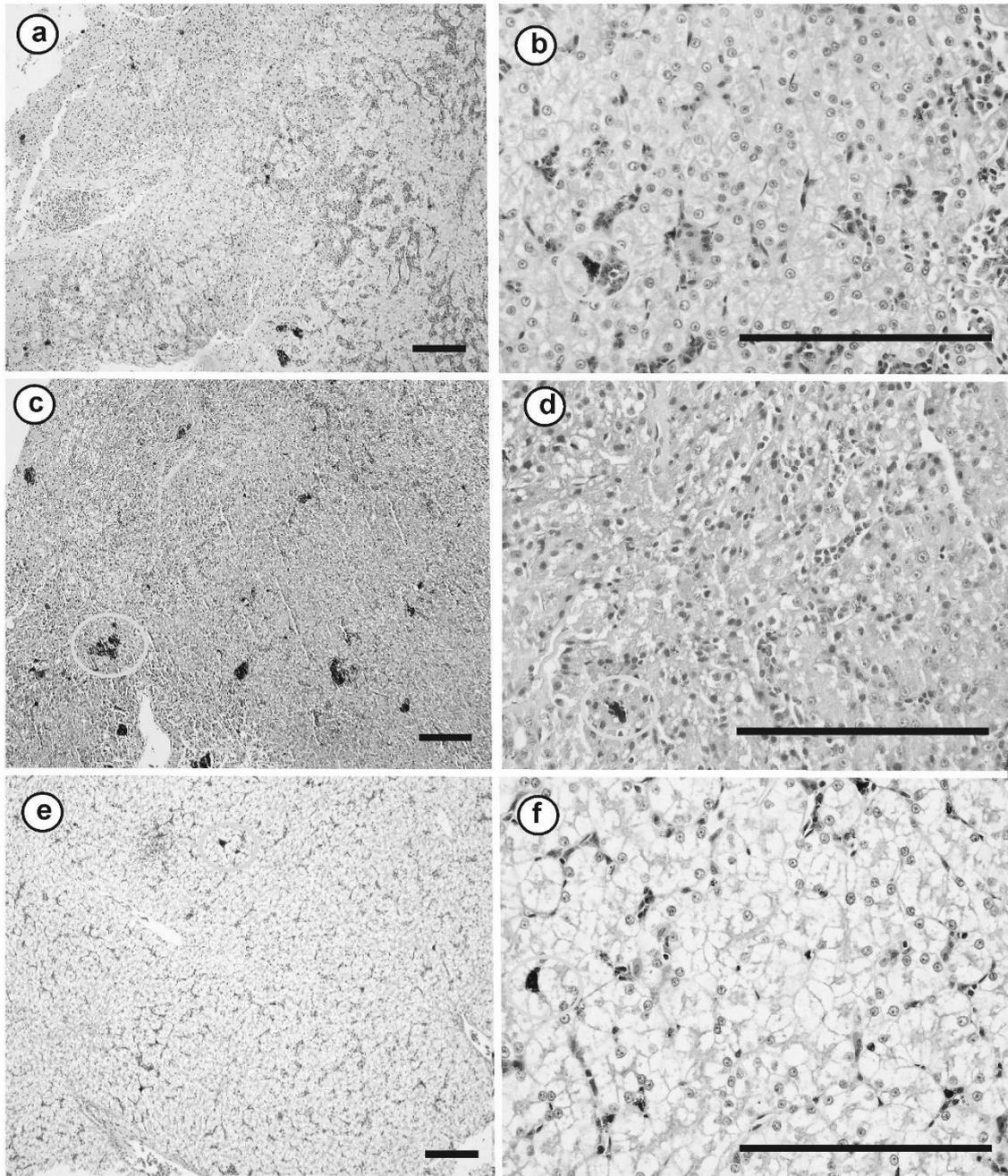


Figura 4: Secções de fígado de lagartos *Tropicurus torquatus* de horta orgânica (H2) coradas com Hematoxilina e Eosina (HE). (a, b) Secções de fígado de machos adultos (100x e 400x, respectivamente). (c, d) Secções de fígado de fêmeas adultas (100x e 400x, respectivamente). (e, f) Secções de fígado de jovens (100x e 400x, respectivamente). Círculos marcam os melanomacrófagos. Barra = 10 μ m.

Nos lagartos provenientes da horta orgânica, o rim também apresentou morfologia típica, com o parênquima renal apresentando todos os componentes do néfron bem definidos (corpúsculos renais, túbulos contornados proximais e distais e túbulo coletor). Nos corpúsculos renais identificou-se o glomérulo (contendo capilares preenchidos por hemácias nucleadas, típicas do grupo Reptilia) e o espaço corpuscular (revestido por epitélio pavimentoso simples).

Os túbulos contornados proximais apresentaram epitélio cúbico simples, com células fortemente acidófilas e com bordas mais intensamente coradas (borda estriada ou borda em escova) consistente com a presença de microvilos. Os túbulos contornados distais se destacaram dos proximais por apresentarem diâmetros menores e revestimento epitelial cúbico simples, fracamente acidófilas. Os túbulos coletores estavam revestidos por epitélio colunar, com células baixas, e leve indício de atividade secretória. Nos machos, observou-se o segmento sexual nos animais adultos, caracterizado por ser revestido por um epitélio de células cilíndricas altas e providas de grânulos intensamente corados em sua porção apical pela Eosina, indicando uma possível concentração de proteínas (Figura 5).

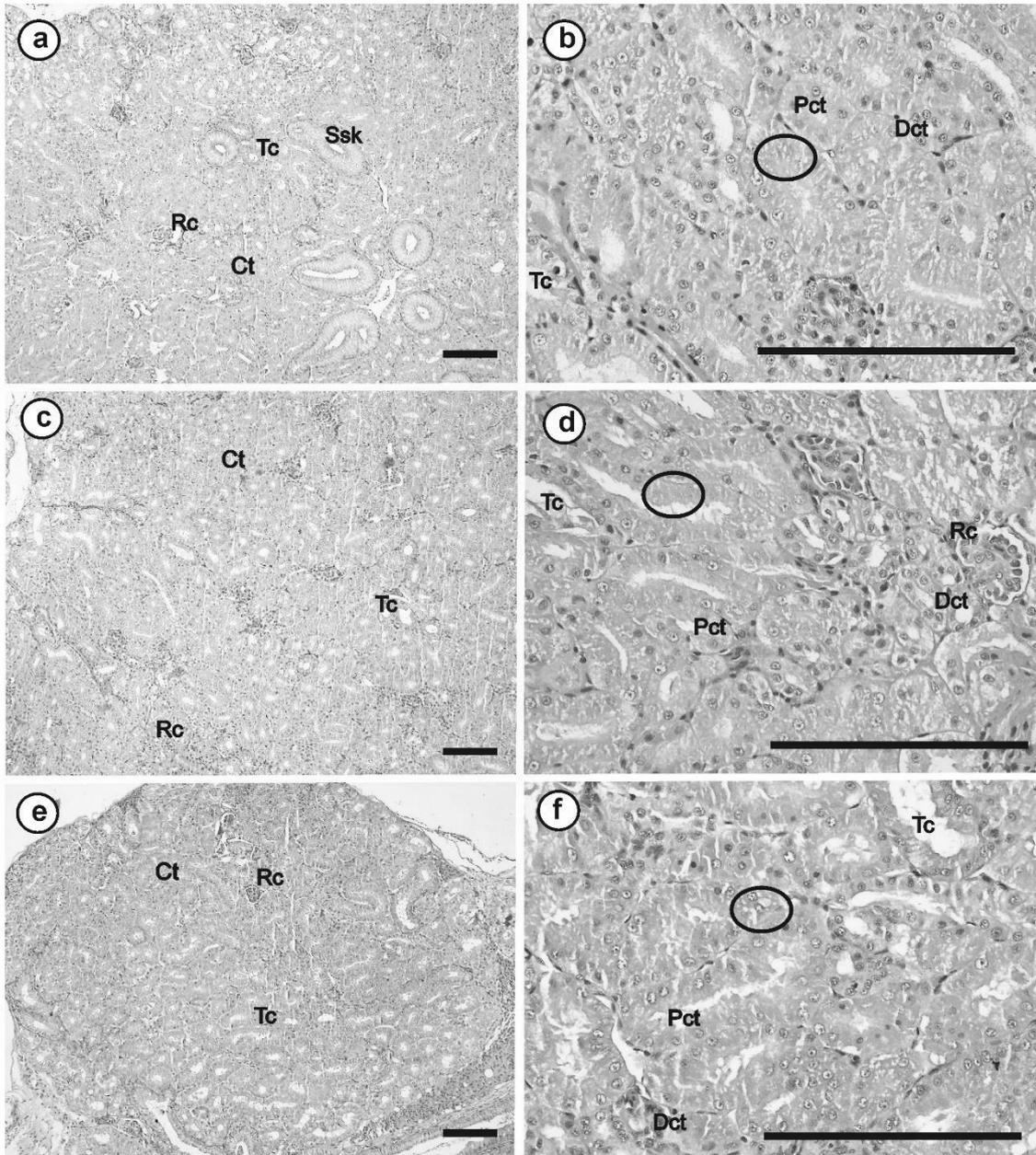


Figura 5: Secções de rim de lagartos *Tropidurus torquatus* provenientes de horta orgânica (H2) coradas com Hematoxilina e Eosina (HE). (a, b) Secções de rim de machos adultos (100x e 400x, respectivamente). (c, d) Secções de rim de fêmeas adultas (100x e 400x, respectivamente). (e, f) Secções de rim de jovens (100x e 400x, respectivamente). Círculos marcam vesículas corados em marrons nos túbulos contornados proximais. (Ssk= segmento sexual renal, Tc= túbulo coletor, Ct= túbulo contornado, Pct= túbulo contornado proximal, Dct= túbulo contornado distal e Rc= córpusulo renal). Barra = 10 µm.

Em geral, os espécimes de H1 e H2 não apresentaram o rim com modificações nos cortes histológicos, apenas a presença de vesículas de cor amarronzada nos túbulos contornados. No entanto, observou-se uma diferença na quantidade das vesículas descritas: os adultos de H1 apresentaram um número relativamente maior de vesículas quando comparados aos jovens e aos espécimes de H2 (Figura 6).

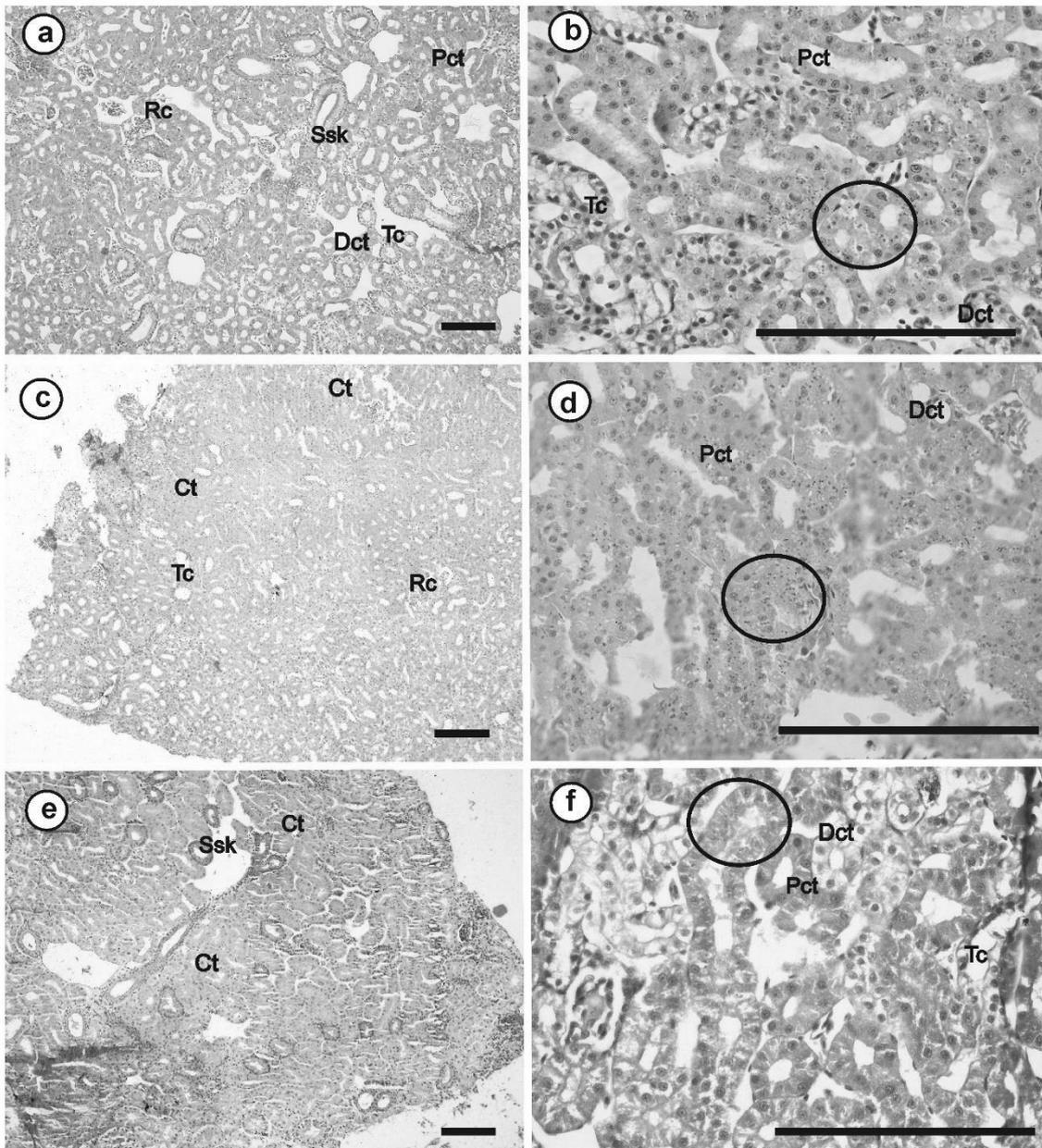


Figura 6: Secções de rim de lagartos *Tropidurus torquatus* provenientes de horta com uso de pesticida (H1) coradas com Hematoxilina e Eosina (HE). (a, b) Secções de rim de machos adultos (100x e 400x, respectivamente). (c, d) Secções de rim de fêmeas adultas (100x e 400x, respectivamente). (e, f) Secções de rim de jovens (100x e 400x, respectivamente). Círculos marcam vacúolos corados em marrons nos túbulos contornados proximais. (Ssk= segmento sexual renal, Tc= túbulo coletor, Ct= túbulo contornado, Pct= túbulo contornado proximal, Dct= túbulo contornado distal e Rc= córpulo renal). Barra = 10 μ m.

Tanto na coloração de Mallory-Parker (detecção de chumbo na amostra) quanto na de Tricrômio de Masson (detecção de fibrose na amostra) foram observadas respostas negativas no rim e no fígado de H1 (Figuras 7 e 8).

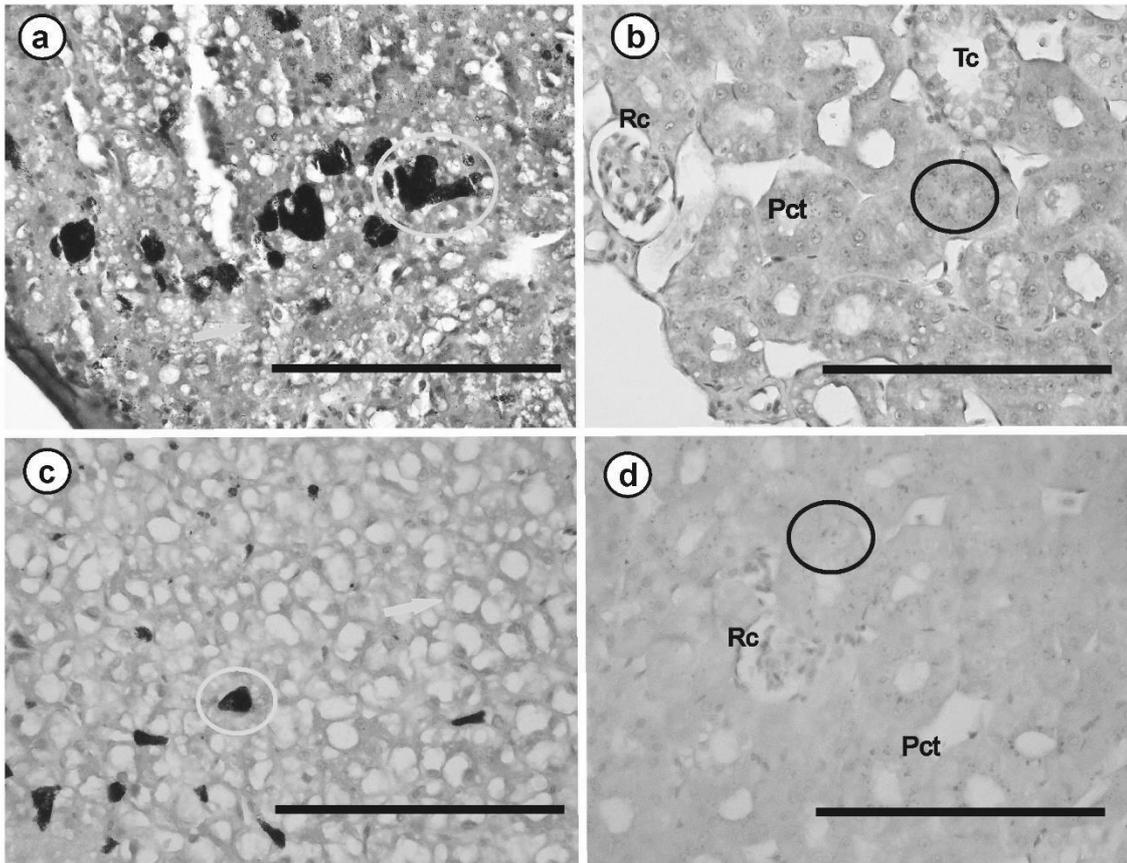


Figura 7: Secções de fígado e rim de lagartos *Tropidurus torquatus* provenientes de horta com uso de pesticida (H1) corados com Mallory-Parker. (a, b) Secções de fígado e rim, respectivamente, de machos adultos (400x). (c, d) Secções de fígado e rim, respectivamente, de fêmeas adultas (400x). Círculos amarelos marcam os melanomacrófagos, setas apontam os vacúolos e círculos pretos demarcam vacúolos corados em marrons nos túbulos contornados proximais. (Tc= túbulo coletor, Pct= túbulo contornado proximal e Rc= córpulo renal). Barra = 10 μ m.

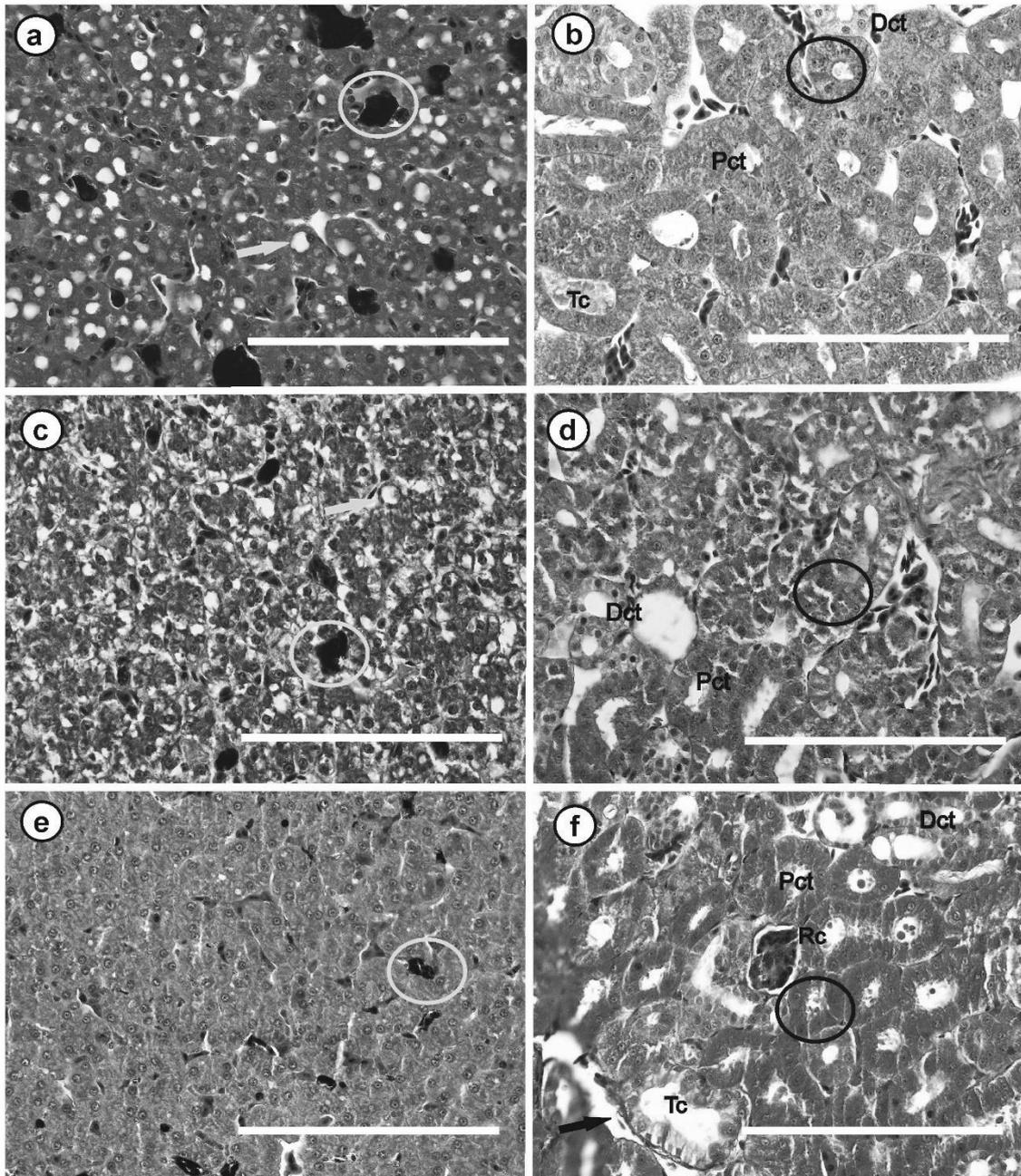


Figura 8: Secções de fígado e rim de lagartos *Tropidurus torquatus* provenientes de horta com uso de pesticida (H1) corados com Tricrômio de Masson. (a, b) Secções de fígado e rim, respectivamente, de machos adultos (400x). (c, d) Secções de fígado e rim, respectivamente, de fêmeas adultas (400x). (e, f) Secções de fígado e rim, respectivamente, de jovens (400x). Círculos amarelos marcam os melanomacrófagos, setas apontam os vacúolos e círculos pretos demarcam vacúolos corados em marrons nos túbulos contornados proximais. (Tc= túbulo coletor, Pct= túbulo contornado proximal, Dct= túbulo contornado distal e Rc= corpúsculo renal). Barra = 10 μ m.

4.3. Atividade enzimática

Os animais da horta com uso de pesticidas próximas ao ambiente antropizado apresentaram maior atividade da enzima MPO no fígado, do que os animais da horta orgânica.

Os indivíduos de H1 apresentaram atividade de MPO variando de $3,29\text{E-}02$ a $7,04\text{E-}03$. E os espécimes de H2 tiveram a atividade enzimática variando de $3,35\text{E-}02$ a $1,56\text{E-}03$ (Figura 9).

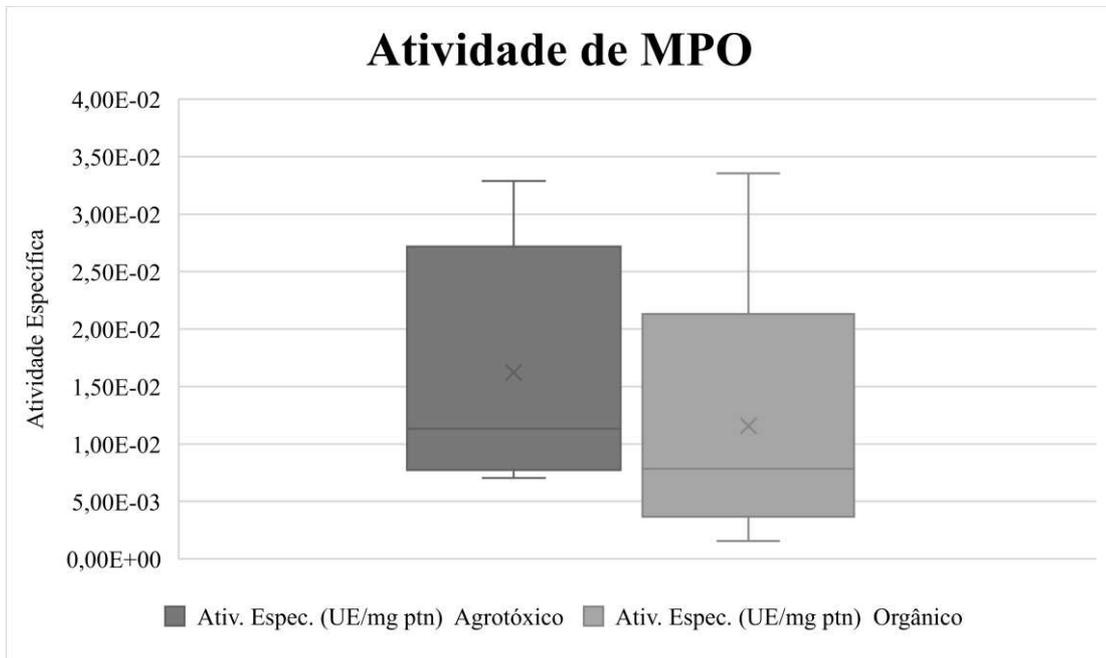


Figura 9: Atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) no fígado de lagartos *Tropidurus torquatus* coletados em horta com uso de pesticidas próximas a ambiente antropizado (azul) e de horta orgânica próxima a zona rural (verde). EU (unidade enzimática) = quantidade de enzima que degrada 1 milimol de substrato/minuto.

4.4. Determinações analíticas

As curvas analíticas obtidas para as determinações de Cd e Pb apresentaram valores de coeficiente de determinação R^2 iguais a 0,9965 e 0,9968, respectivamente, próximos da unidade (1,00), o que indica boa linearidade (Thompson *et al.*, 2002). Os valores obtidos para RSD ficaram abaixo de 16% indicando boa precisão do método. Os limites de detecção instrumental foram de 0,13 e $0,50\text{mg L}^{-1}$, para Cd e Pb, respectivamente. Os limites de detecção do método foram iguais a 0,0135 e $0,0518\mu\text{gkg}^{-1}$, para Cd e Pb, respectivamente, enquanto os limites de quantificação foram de 0,0450 e $0,1728\mu\text{gkg}^{-1}$, para Cd e Pb, respectivamente. Estes valores indicam boa detectabilidade.

Os teores de Cd e Pb encontrados em todas as amostras ficaram abaixo dos limites de quantificação do método; logo não é possível afirmar, com precisão e exatidão, que há indícios de contaminação dos tecidos. Contudo, seis amostras (3 fêmeas, 2 machos e MJ) apresentaram

teores de Cd acima do limite de detecção instrumental e uma das amostras de fígado de macho apresentou teor de Pb acima deste valor, ou seja, houve sinal para esses elementos nessas amostras, porém ele não pode ser quantificado.

5. DISCUSSÃO

5.1. Morfometria linear

Tropidurus torquatus apresenta dimorfismo sexual, sendo os machos, na maior parte das vezes, maiores que as fêmeas (Giaretta, 1996). Os indivíduos jovens e as fêmeas apresentam manchas amarelas em seu ventre e os machos apresentam manchas pretas (Pinto *et al.*, 2005).

Os animais coletados para esse trabalho apresentaram variação de tamanho maior do que os encontrados em outros trabalhos com a espécie. Vieira *et al.* (2011) em populações de *T. torquatus* de Alegrete, Rio Grande do Sul, Brasil, encontrou CRC médio para as fêmeas de $88,0\text{mm} \pm 9,0\text{mm}$ e a maior amostra medindo $101,6\text{mm}$, e para machos o CRC médio de adultos foi de $110,9\text{mm} \pm 11,9\text{mm}$ e a maior amostra medida $130,5\text{mm}$. Os autores consideraram jovens indivíduos sexualmente imaturos, e encontraram CRC médio de $46,8\text{mm} \pm 10,4\text{mm}$ e o menor indivíduo capturado com média de $30,6\text{mm}$. Vitt & Goldberg (2012) encontraram fêmeas adultas da mesma espécie em Exu, Pernambuco, Brasil, variando o CRC de $70,0\text{-}107,0\text{mm}$ e machos adultos variando de $71,0\text{-}109,0\text{mm}$.

5.2. Lesões histológicas

O fígado é a maior glândula e o segundo maior órgão do corpo, ficando atrás somente da pele (Junqueira e Carneiro, 2013). É considerado um dos órgãos mais sensíveis para mostrar alteração bioquímica, fisiológica e estrutural após exposição a vários tipos de poluentes ambientais (Giari *et al.*, 2007).

As células do fígado de répteis são equivalentes às células dos outros vertebrados, exceto pelo melanomacrófago, que não estão presentes em aves e mamíferos, ocorrendo apenas em animais ectotérmicos (Gans e Gaunt, 1998).

Melanomacrófagos são macrófagos portadores de pigmento que desempenham papel na destruição, detoxificação e reciclagem de materiais endógenos e exógenos, sendo excelentes biomarcadores ambientais. (Franco-Belussi *et al.*, 2012; Passantino *et al.*, 2014).

A melanina presente nos melanomacrófagos possui função antioxidante, auxiliando na proteção dos lipídios das membranas celulares de ataques de radicais livres (Garcia *et al.*, 1997), dessa forma é esperado que, em ambientes antropizados, tais substâncias sejam mais abundantes e/ou maiores, se comparadas com indivíduos de reservas ecológicas ou áreas rurais, onde há menor interferência de poluentes.

O estudo de lesões ou anormalidades nos níveis celular e tecidual, pela Histologia, representa uma ótima ferramenta para monitoramento da qualidade ambiental, já que pode apresentar alterações que muitas vezes não são percebidas através do comportamento ou fisiologia do animal (Au, 2004; Schwaiger *et al.*, 1997).

Diversos trabalhos utilizando histologia em órgãos de animais ectotérmicos (anfíbios, répteis e peixes), notaram o efeito de substâncias pesticidas em órgãos dos mesmos. Os resultados observados em trabalhos com animais ectotérmicos em comparação ao do presente estudo são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados encontrados em trabalhos de histologia hepática de ectotérmicos.

Espécie e autor	Fígado de animais contaminados com pesticidas e/ou próximos ao ambiente antropizado
<i>Tropidurus torquatus</i> (Reptilia) (Presente trabalho)	- Citoplasma dos hepatócitos com vacúolos; - Fibrose tecidual; - Grande quantidade de melanomacrófagos.
<i>Eremias argus</i> (Reptilia) (Chang <i>et al.</i>, 2017)	- Hepatócitos com núcleos ausentes; - Citoplasma dos hepatócitos com vacúolos; - Sinusoides estreitos.

<p><i>Eremias argus</i> (Reptilia) (Chang <i>et al.</i>, 2016)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Hepatócitos encolhidos e com núcleos ausentes; - Citoplasma dos hepatócitos com vacúolos; - Fibrose tecidual; - Sinusoides estreitos.
<p><i>Eremias argus</i> (Reptilia) (Chen <i>et al.</i>, 2017)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Citoplasma dos hepatócitos com vacúolos; - Fibrose tecidual; - Sinusoides estreitos e congestionados; - Melanomacrófagos (depósito de melanina).
<p><i>Eremias argus</i> (Reptilia) (Chen <i>et al.</i>, 2016)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Hepatócitos com núcleos pequenos ou ausentes; - Citoplasma dos hepatócitos com vacúolos; - Sinusoides estreitos.
<p><i>Podarcis bocagei</i> (Reptilia) (Amaral <i>et al.</i>, 2012)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Hepatócitos encolhidos; - Fibrose no tecido; - Citoplasma do hepatócito com vacúolos; - Melanomacrófagos.
<p><i>Eupemphix nattereri</i> (Amphibia) (Franco-Belussi <i>et al.</i>, 2013)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Melanomacrófagos.
<p><i>Oreochromis niloticus</i> (Actinopterygii) (Abdel-Moneim <i>et al.</i>, 2016)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Citoplasma do hepatócito com vacúolos; - Sinusoides estreitos e congestionados; - Fibrose tecidual; - Melanomacrófagos.

A maior incidência de vacuolização de hepatócitos, encontrados na maioria dos trabalhos citados na Tabela 2, pode ser consequência do acúmulo de lipídios e carboidratos

(Abdel-Moneim *et al.*, 2016; Amaral *et al.*, 2012). Este pode ser um mecanismo de defesa contra contaminantes lipossolúveis, embora o acúmulo de lipídios também seja considerado um armazenamento fisiológico normal (Sylvie *et al.*, 1996).

Com exceção do presente estudo e dos realizados por Abdel-Moneim *et al.* (2016) e Amaral *et al.* (2012), todos os autores induziram a contaminação dos indivíduos com algum xenobiótico (substância química nociva ao organismo) e assim conseguiram controlar o tempo e a dosagem em que o animal era exposto ao contaminante. Dessa forma, perceberam que o tempo de exposição e a dosagem influenciam diretamente nas modificações histopatológicas encontradas nas amostras. Como este estudo utilizou animais coletados em ambientes naturais, não foi possível controlar o tempo e dosagem dos contaminates, porém, os resultados encontrados mostram que indivíduos adultos e, portanto, que estão há mais tempo em contato com o xenobiótico em relação ao indivíduos jovens, apresentam maiores danos nos órgãos analisados.

Carrasco *et al.* (2016), utilizando duas espécies de anuros de locais distintos (reserva ecológica e propriedades agrícolas), observaram que o ambiente antropizado também promoveu alterações no metabolismo hepático dos animais, sendo notado pelo maior número de melanomagrófagos encontrados no fígado dos animais das propriedades agrícolas, o que corrobora o resultado encontrado neste trabalho, já que os animais da horta com uso de controladores de pragas estavam próximos ao centro urbano, diferentemente dos animais da horta orgânica, que se encontravam afastados da antropização.

A coloração de Mallory-Parker localiza acúmulos de chumbo, cobre e ferro nos tecidos (Tolosa *et al.*, 2003). Foi usada pela primeira vez em histologia de lagartos neste estudo, porém teve reação negativa para detecção desses metais. Isso pode ter ocorrido, devido ao baixo uso de metais nos agrotóxicos, que atualmente e na maioria das vezes, são agrotóxicos orgânicos

orgâno-sintéticos (organoclorados, organoclorofosforados, organofosforados e organocarbamatos).

No trabalho desenvolvido por Amaral *et al.* (2012) e no presente estudo, além da coloração de rotina (HE), foram utilizadas também colorações especiais. Amaral *et al.* (2012), usando Tricrômio de Masson, conseguiram localizar áreas de fibrose no fígado dos animais das áreas de cultivo de milho que recebiam um conjunto de pesticidas, o que não foi observado nos animais da área tratada com pesticidas utilizados neste trabalho.

Trabalhos com histologia do rim, envolvendo ecotoxicologia, são escassos. Nesse trabalho foi observado que os rins dos indivíduos adultos apresentaram vesículas que coraram em cor marrom na coloração HE, nos túbulos contornados proximais.

A função do túbulo contornado proximal é extremamente importante, sendo que, segundo Banks (1991), é o segmento mais facilmente afetado pelos processos patológicos e pelas substâncias tóxicas.

O citoplasma das células dos túbulos proximais possui canalículos que têm capacidade de absorver macromoléculas. Nesses canalículos formam-se vesículas de pinocitose, que jogam na célula macromoléculas que atravessaram a barreira de filtração glomerular. Essas vesículas se fundem com lisossomos e digerem as moléculas (Junqueira & Carneiro, 2013).

As vesículas observadas na presente pesquisa podem ser substâncias filtradas no sangue dos animais, porém são necessários estudos mais aprofundados para a confirmação.

5.3. Atividade enzimática

A inflamação é reconhecida como um processo bioquímico e celular que acontece no tecido conjuntivo e é considerada, na maioria das vezes, uma resposta protetora cuja função é livrar o organismo da causa inicial da lesão celular e das consequências dessa lesão (Collins, 1999; Rote, 1998).

No presente trabalho, animais de horta com uso de pesticidas próxima a ambientes antropizados apresentaram maior atividade da enzima MPO do que os animais da horta orgânica próxima à zona rural. A enzima MPO é encontrada predominantemente em grânulos azurófilos de leucócitos polimorfonucleares. Bradley *et al.* (1982), mostraram que o número de enzimas MPO está diretamente ligado ao número de neutrófilos no tecido, ou seja, quanto maior o número de MPO, maior o grau da inflamação tecidual.

O número de trabalhos relacionando o atividade da MPO e agrotóxicos são escassos, porém sabe-se que diversos autores utilizam a atividade dessa enzima para quantificar inflamação no sangue, pele, fígado e rim (Takahara *et al.*, 1997; Miliani *et al.*, 1994; Murphy *et al.*, 2002; Takahara *et al.*, 1995; Cruz-Baquero *et al.*, 2017).

Os resultados encontrados na bioquímica reforçam os encontrados na histologia, porém são necessários maiores estudos sobre a relação da MPO e os pesticidas e poluentes ambientais.

5.4. Acúmulo de metais tóxicos

Apesar de alguns trabalhos terem encontrados cádmio e/ou chumbo nos tecidos de lagartos contaminados com agrotóxico (Avery *et al.*, 1983; Burguer *et al.*, 2004; Campbell & Campbell, 2000; Márquez-Ferrando *et al.*, 2009), no presente trabalho, os teores de acúmulo de chumbo e cádmio no fígado dos animais da horta com agrotóxico ficaram abaixo do limite de quantificação do método, ou seja, não pode ser afirmado que houve acúmulo no órgão analisado.

Porém, estudos anteriores revelaram que o fígado tem um alto potencial de acumulação de cádmio (Campbell *et al.*, 2005; Loumbourdis, 1997; Mann *et al.*, 2007; Trinchella *et al.*, 2006).

Como grande parte dos agrotóxicos utilizados atualmente não possuem metais, o nível de acúmulo destes elementos pode ser baixo nos animais, por isso, a utilização de uma metodologia mais sensível se torna necessária, como a GF AAS.

6. CONCLUSÃO

A contaminação por pesticidas pode estar contribuindo para o declínio dos répteis (Gibbons *et al.*, 2000), no entanto, em pesquisas sobre ecotoxicologia de vertebrados, os répteis continuam a ser os menos estudados (Sparling *et al.*, 2010). Essa falta de estudos pode implicar que as populações selvagens não estejam sendo adequadamente protegidas (Banks & Stark, 1998). Neste contexto, são de suma importância estudos que mostrem o efeito de pesticidas nesses animais.

O presente estudo avaliou o efeito dos agrotóxicos nos lagartos *T. torquatus* em ambiente natural, levando em conta a histologia do fígado e rim, e a atividade da enzima mieloperoxidase e a concentração de metais pesados no fígado dos animais, contribuindo assim para o conhecimento do impacto gerado por poluentes em animais selvagens, em especial aos répteis.

Além do tipo, o ambiente em que as hortas se localizavam também variaram: a horta orgânica estava localizada em um lugar afastado da zona urbana, e a horta com agrotóxico em um ambiente antropizado. Como visto em outros trabalhos já citados, áreas próximas a ambiente antropizado, com grande tráfego de carros, podem alterar o metabolismo hepático e promover maior acúmulo de componentes tóxicos nos animais (Carrasco *et al.*, 2012; Nasri *et al.*, 2015; Saltavor *et al.*, 2018).

Foram encontrados resultados semelhantes aos vistos em outros trabalhos, tanto para histologia, quanto para a bioquímica.

Nas análises histológica, os animais adultos da horta com uso de controladores de pragas próximo ao centro urbano apresentaram patologias no fígado. Os machos apresentaram mais danos do que as fêmeas. Já os jovens apresentaram o fígado com patologias menos acentuadas e o rim com arquitetura típica. O fígado mostrou ser menos tolerante ao uso de controladores de pragas e antropização do que o rim.

Para a atividade enzimática da mieloperoxidase foi visto que, os animais da horta com uso de pesticidas próximo a ambiente antropizado apresentaram maior atividade de MPO no fígado do que os animais da horta orgânica próximos a zona rural, sugerindo que os primeiros apresentavam inflamação no tecido.

Como não foi possível afirmar que houve acúmulo de cádmio (Cd) e chumbo (Pb) nos fígados dos animais da horta com agrotóxico, utilizando a espectrometria de absorção atômica em chama. Como etapas futuras deste estudo, pretende-se determinar os teores dos analitos nestas amostras empregando GF AAS, visto que esta técnica apresenta menores limites de detecção e melhor sensibilidade, ou seja, capaz de quantificar com precisão e exatidão aceitáveis os teores dos metais nas amostras.

Dessa forma, pode-se concluir que os agrotóxicos e o ambiente antropizado geram danos fisiológicos aos répteis, e que a histologia hepática juntamente com a quantificação da atividade da MPO são biomarcadores úteis que podem indicar os efeitos desses contaminantes e da bioacumulação em lagartos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-MONEIM, A. M., ESSAWY, A. E., BADR EL DIN, N. K. & EL NAGGAR, N. M. 2016. Biochemical and histopathological changes in liver of the Nile tilapia from Egyptian polluted lakes. *Toxicology and Industrial Health*, v. 32, p. 457-467.
- ALBERS, R. H.; SILEO, L. & MULHERN, B. M. 1986. Effects of Environmental Contaminants on Snapping Turtles of a Tidal Wetland. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 15, p. 39-49.
- AU, D. W. T. 2004. The application of histo-cytopathological biomarkers in marine pollution monitoring: a review. *Marine Pollution Bulletin*, v. 48, p. 817-834.
- AMARAL, M. J., BICHO, R. C., CARRETERO, M. A., SANCHEZ HERNANDEZ, J. C., FAUSTINO, A. M. R., SOARES, A. & MANN, R. M. 2012. The use of a lacertid lizard as a model for reptile ecotoxicology studies: Part 2-Biomarkers of exposure and toxicity among pesticide exposed lizards. *Chemosphere*, v. 87, p. 765-774.
- ARANHA, T. S. C. P.; OLIVEIRA, A.; QUAIROZ, H. M. & CADORE, S. 2016. A fast alkaline treatment for cadmium determination in meat samples. *Food Control*, v. 57, p. 447-453.
- ARAÚJO, A. F. B. 1987. Comportamento alimentar dos lagartos: o caso do *Tropidurus* do grupo *torquatus* da Serra de Carajás, Pará (Sauria: Iguanidae). *Revista Brasileira de Biologia*, v. 59, n. 1, p. 11-18.
- ARRUDA, D. A.; ARRUDA, J. L. S.; AUED, A. W. & CECHIN, S. T. Z. 2007. A dieta de *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae) reflete a disponibilidade de presas do meio? *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*, Caxambu.
- ÁVILA-PIRES, T. C. S. 1995. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). *Zoologische Verhandelingen*, Leiden, p. 704.
- AVERY, R. A. WHITE, A. S.; MARTIM, M. H. & HOPKIN, S. P. 1983. Concentrations of Heavy Metals in Common Lizards (*Lacerta vivipara*) and their Food and Environment. *Amphibia-Reptilia*, v. 4, p. 205-213.
- BAHLAI, C. A.; XUE, Y.; MCCREARY, C. M.; SCHAAFSSMA, A. W. & HALLETT, R. H. 2010. Choosing Organic Pesticides over Synthetic Pesticides May Not Effectively Mitigate Environmental Risk in Soybeans. *PLoS ONE*, v. 5, n. 6.
- BANKS, W. J. 1991. *Histologia Veterinária Aplicada*. 2ª ed. Editora Manole, São Paulo, p. 481-490.
- BANKS, J. E. & STARK, J. D. 1998. What is ecotoxicology? An ad-hoc grab bag or an interdisciplinary science? *Integrative Biology*, v. 5, p. 195-204.
- BERGALLO, H. G. & ROCHA, C. F. D. 1993. Activity patterns and body temperatures of two sympatric lizards with different foraging tactics in southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*, v. 14, p. 312-315.

- BERNARDI, M. M. *et al.* 2008. Ecotoxicologia. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; PALERMO-NETO, J. (Ed.). *Toxicologia aplicada à medicina veterinária*. São Paulo: Manole, p. 815-858.
- BRADLEY, P. P.; PRIEBAT, D. A.; CHRISTENSEN, R. D. & ROTHSTEIN, C. 1982. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with a enzyme marker. *The Journal of Investigative Dermatological*. v. 78, n. 3, p. 206-209.
- BURGUER, J.; CAMPBELL, K. R. & CAMPBELL, T. S. 2004. Gender and spatial patterns in metal concentrations in brown anoles (*Anolis sagrei*) in Southern Florida, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 23, n. 3, p. 712-718.
- CAMPBELL, K. R. & CAMPBELL, T. S. 2001. The accumulation and effects of environmental Contaminants on snakes: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 70, p. 253-301.
- CAMPBELL, K. R.; CAMPBELL, T. S. & BURGER, J. 2005. 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, p. 239–248.
- CAMPOS, N. S., OLIVEIRA, M. A. L., IZUMI, C. M. S., SOUSA, R. A. 2018. Alkaline Solubilization of Chicken Tissues Monitored by Raman Spectroscopy Followed by Pb Determination by GF AAS. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29(2):353-362.
- CARRASCO, H. G.; FRANCO-BELUSSI, L.; BORGES, R. E.; REZENDE, W. R.; OLIVEIRA, C. & SANTOS, L. R. S. 2012. Biomarcadores hepáticos como Indicativo de Qualidade Ambiental. *XVII Simpósio de Biologia do Campos de Quirinópolis*.
- CARVALHO, C. E. V.; FARIA, V. V.; CAVALCANTE, M. P. O.; GOMES, M. P. & REZENDE, C. E. 2000. Distribuição de Metais Pesados em Peixes Costeiros Bentônicos da Região de Macaé, R.J., Brasil. *Ecotoxicology and Environmental Restoration*. v. 3, n. 2.
- CARVALHO, A. L. G.; SILVA, H. R., ARAUJO, A. F. B., ALVES-SILVA, R. & SILVA-LEITE, R. R. 2007. Feeding ecology of *Tropidurus torquatus* (Wied) (Squamata, Tropiduridae) in two areas with different degrees of conservation in Marambaia Island, Rio de Janeiro, Southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, Curitiba, v. 24, n. 1.
- CARVALHO, C. E. V.; BENEDITTO, A. P. M.; SOUZA, C. M. M.; RAMOS, R. M. A. & REZENDE, C. E. 2008. Heavy metal distribution in two cetacean species from Rio de Janeiro State, south-eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 88, n. 6, p. 1117–1120.
- CASTRO, E. R. & GALETTI, M. 2004. Frugivoria e dispersão de sementes pelo lagarto teiú *Tupinambis merianae* (Reptilia: Teiidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 44, p. 91-97.
- CHANG, J.; LI, W.; XU, P.; GUO, B.; WANG, Y.; LI, J. & WANG, H. 2017. The tissue distribution, metabolism and hepatotoxicity of benzoylurea pesticides in male *Eremias argus* after a single oral administration. *Chemosphere*. v. 183, p. 1-8.

- CHANG, J.; LI, J.; WANG, H.; WANG, Y.; GUO, B.; YIN, J.; HAO, W.; LI, W.; LI, W. & XU, P. 2016. Tissue distribution, metabolism and hepatic tissue injury in Chinese lizards (*Eremias argus*) after a single oral administration of lambda-cyhalothrin. *Environmental Pollution*, v. 218, p. 265-972.
- CHEN, L.; WANG, D.; TIAN, Z.; DI, S.; ZHANG, W.; WANG, F.; ZHOU, Z. & DIAO, J. 2017. Comparative toxic responses of male and female lizards (*Eremias argus*) exposed to (S)-metolachlor-contaminated soil. *Environmental Pollution*, v. 221, n. 476-483.
- CHEN, L.; XU, P.; DIAO, J.; DI, S.; LI, R. & ZHOU, Z. 2016. Distribution, metabolism and toxic effects of beta-cypermethrin in lizards (*Eremias argus*) following oral administration. *Journal of Hazardous Materials*, v. 306, p. 87-94.
- COLLINS, T. 1999. Acute and chronic inflammation. In: COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T (Eds.). Robbins pathologic basis of disease. 6th ed. Philadelphia: Saunders. cap. 3, p. 50-88.
- COSTA, H. C. & BÉRNILS, R. S. 2018. Répteis do Brasil e suas Unidades Federativas: Lista de espécies. *Herpetologia Brasileira*, v. 7, n. 1.
- CRUZ-BAQUERO, A.; CÁRDENAS JARAMILLO, L. M.; GUTIÉRREZ-MEZA, M.; JARILLO-LUNA, R. A.; CAMPOS-RODRÍGUEZ, R. & RIVERA-AGUILAR, V. 2017. Different behavior of myeloperoxidase in two rodent amoebic liver abscess models. *PLoS ONE*, v. 12, n. 8.
- DE SOUSA, R. A.; SABARENSE, C. M.; PRADO, G. L. METZE, K. & CADORE, S. 2013. Lead biomonitoring in diferente organs of lead intoxicated rats employing GF AAS and diferente sample preparations. *Talanta*, v. 104, p. 90–96.
- FARKAS, A.; SALANKI, J.; SPECZIAR, A. & VARANKA, I. 2001. Metal pollution as health indicator of lake ecosystems. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, v. 14, p. 163–170.
- FARIA, R. G. & ARAÚJO, A. F. B. 2004. Sintopy of two *Tropidurus* lizard species (Squamata: Tropiduridae) in a rocky cerrado habitat in central Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v. 64, p. 775-786.
- FERREIRA, A. P.; HORTA, M. A. P. & CUNHA, C. L. N. 2010. Avaliação das concentrações de metais pesados no sedimento, na água e nos órgãos de *Nycticorax nycticorax* (Garça-da-noite) na Baía de Sepetiba, RJ, Brasil. *Revista da Gestão Costeira Integrada*, v. 10, n. 2, p. 229-241.
- FRANCO-BELUSSI, L.; CASTRUCCI, A. M. L. & OLIVEIRA, C. 2013. Responses of melanocytes and melanomacrophages of *Eupemphix nattereri* (Anura: Leiuperidae) to Nle4, D-Phe7- α -melanocyte stimulating hormone and lipopolysaccharides. *Zoology*, v. 116, p. 316-324.

- FRANCO-BELUSSI, L.; SANTOS, L. R. S.; ZIERI, R.; *et al.* 2012. Liver Anatomy, Histochemistry, and Ultrastructure of *Eupemphix nattereri* (Anura: Leiuperidae) During the Breeding Season. *Zoological Science*, v. 29, n. 12, p. 844-848.
- GANS, C & GAUNT, A. S. 1998. Biology of the Reptilia: Morphology G. Visceral Organs. Society for the Study of Amphibians and Reptiles. v. 19, p. 485-525.
- GARBELLINI, G. S. & ULIANA, C. V. 2007. Toxidez, degradação no meio ambiente e *Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, Curitiba, v. 17, p. 29-36.
- GARCIA, J.; REITER, R. J.; GUERRERO, J. M.; *et al.* 1997. Melatonin prevents changes in microsomal membrane fluidity during induced lipid peroxidation. *FEBS Letters*, v. 408, Issue 3, p. 297-300.
- GIARETTA, A. A. *Tropidurus torquatus* (NCN): home range. *Herpetological Review*. v. 27, p. 80-81. 1996.
- GIARI, L.; MANERA, M.; SIMONI, E. & DUFULI, B.S. 2007. Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to cadmium. *Chemosphere*. v. 67, p. 1171-1181.
- GIBBONS, J. W.; SCOTT, D. E.; RYAN, T. J.; BUHLMANN, K. A.; TUBERVILLE, T. D.; METTS, B. S.; GREENE, J. L.; MILLS, T.; LEIDEN, Y.; POPPY, S. & WINNE, C. T. 2000. The global decline of reptiles, Deja Vu amphibians. *Bioscience*. v. 50, p. 653-666.
- GOMES, M. V. T. & SATO, Y. 2011. Avaliação da contaminação por metais pesados em peixes do rio São Francisco à jusante da represa de Três Maria, Minas Gerais, Brasil. *Saúde & Ambiental em Revista.*, Duque de Caxias, v. 6, n. 1, p. 24-30.
- GOMIDES, S. C.; RIBEIRO, L. B. ; PETERS, V. M. & SOUSA, B. M. 2013. Feeding and reproduction ecology of the lizard *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae) in a rock outcrop area in southeastern Brazil. *Revista Chilena de Historia Natural* (Impresa). v. 86, p. 137-151.
- GUARATINI, T. C. *et al.* 2008. Ecotoxicologia. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. *Fundamentos de toxicologia*. São Paulo: Atheneu. p. 125-142.
- HARTE, J.; HOLDREN, C.; SCHNEIDER, R. & SHIRLEY, C. 1991. Toxics A to Z: a guide to everyday pollution hazards. University of California Press, Berkeley, USA, p 480.
- HOOGMOED, M. S. & ÁVILA-PIRES, T. C. S. 1989. Observations on the nocturnal activity of lizards in a marshy area in Serra do Navio, Brazil. *Tropical Zoology*. v. 2, p. 165-173.
- IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology*. IUPAC. Prague: IUPAC 2014.
- JEFFREE, R. A.; MARKICH, S. J. & TWINING, J. R. Element Concentrations in the Flesh and Osteoderms of Estuarine Crocodiles (*Crocodylus porosus*) from the Alligator Rivers Region, Northern Australia: Biotic and Geographic Effects. 2001. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. v. 40, p. 236-245.

- HOPKINSWA, R. A.; ROE, J. H.; SNODGRASS, J. W.; STAUB, B. P.; JACKSON, B. P. & CONGDON, J. D. 2002. Effects of chronic dietary exposure to trace elements on banded water snake (*Nerodia fasciata*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 21, p. 906–913.
- JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. 2013. *Histologia Básica*. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 318-381.
- LIU, Y.; LIU, J.; HABEEBU, S. M.; WAALKES, M. P. & KLAASSEN, C. D. 2000. Metallothionein-I/II null mice are sensitive to chronic oral cadmium induced nephrotoxicity. *Toxicological Sciences*, v. 57, p. 167–176.
- LOUMBOURDIS, N. S. 1997. Heavy metal contamination in a lizard, *Agama stellio stellio*, compared in urban, high altitude and agricultural, low altitude areas of North Greece. *Bull, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 58, p. 945–952.
- MANN, R. M.; SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, J. C.; SERRA, E. A. & SOARES, A. M. V. M. 2007. Bioaccumulation of Cd by a European lacertid lizard after chronic exposure to Cd-contaminated food. *Chemosphere*, v. 68, p. 1525–1534.
- MACEDO, L. C.; BERNARDE, P. S. & ABE, A. S. 2008. Lagartos (Squamata: Lacertilia) em áreas de floresta e de pastagem em Espigão do Oeste, Rondônia, sudoeste da Amazônia, Brasil. *Biota Neotropica*, v. 8, p. 133-139.
- MÁRQUEZ-FERRANDO, R.; SANTOS, X.; PLEGUEZUELOS, J. M. & ONTIVERSOS, D. 2009. Bioaccumulation of Heavy Metals in the Lizard *Psammmodromus algirus* after a Tailing-Dam Collapse in Aznalco'llar (Southwest Spain). *Archives of Environmental Contamination Toxicology*, v. 56, p. 276-285.
- MEYER, E., EAGLES-SMITH, C. A., SPARLING, D., BLUMENSHINE, S. 2014. Mercury exposure associated with altered plasma thyroid hormones in the declining western pond turtle (*Emys marmorata*) from California mountain streams. *Environmental Science & Technology*, v. 48, p. 2989-2996.
- MILIANI, S.; HERBST, H.; SCHUPPAN, D.; GRAPPONE, C.; PELLEGRINI, G.; PINZANI, M.; CASINI, A.; CALABR, A.; CIANCIO, G.; STEFANINI, F.; BURROUGHS, A. F. & SURRENTI, C. 1994. Differential Expression of Matrix-Metalloproteinase-1 and -2 Genes in Normal and Fibrotic Human Liver. *American Journal of Pathology*, v. 144, n. 3, p. 528-537.
- MURPHY, F. R.; ISSA, R.; ZHOU, X.; RATNARAJAH, S.; NAGADE, H.; ARTHUR, M. J. P.; BENVON, C. & IREDALE, J. P. 2002. Inhibition of Apoptosis of Activated Hepatic Stellate Cells by Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 Is Mediated via Effects on Matrix Metalloproteinase Inhibition. *Journal of Biological Chemistry*, v. 277, n. 13, p. 11069-11076.
- NASRI, I.; HAMMOUDA, A.; HAMZA, F.; ZRIG, A. & SELMI, S. 2017. Heavy metal accumulation in lizards living near a phosphate treatment plant: possible transfer of contaminants from aquatic to terrestrial food webs. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, p. 12009-12014.

- NOVELLI, I. A.; LUCAS, P. S. & SANTOS, R. C. 2011. Reptilia, Squamata, Gymnophthalmidae, *Heterodactylus imbricatus* Spix, 1825: filling gaps in Minas Gerais state. *CheckList*, v. 7, p. 30-31.
- NOVELLI, I. A.; LUCAS, P. S.; CARVALHO, R. G.; SANTOS, R. C. & SOUSA, B. M. 2012. Lagartos em áreas de Cerrado na Reserva Biológica Unilavras-Boqueirão, Ingaí, Sul de Minas Gerais, Brasil. *Biota Neotropica*, v. 12, p. 147-153.
- NÚÑEZ, H.; MARQUET, P. A.; MEDEL, R. G. & JAKSIC, R. G. 1989. Niche relationships between two sympatric *Liolaemus* lizards in a fluctuating environment: The “lean” versus “feast” scenario. *Journal of Herpetology*, v. 23, p. 22-28.
- OLIVEIRA, F. C. & MATTIAZZO, M. E. 2001. Metais pesados em latossolo tratado com lodo de esgoto e em plantas de cana-de-açúcar. *Scientia Agricola*, v. 58, n. 3, p. 581-593.
- PAIN, D. J. 1995. Lead in the Environment, *In*: D. J. Hoffman, G. A. Rattner, A. Burton Jr. & J. Cairns Jr. (eds.), *Handbook of Ecotoxicology*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, p. 356-391.
- PASSANTINO L.; SANTAMARIA N.; ZUPA R.; *et al.* 2014. Liver melanomacrophage centres as indicators of Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus* L. well-being. *Journal of Fish Diseases*, v. 37, n. 3, p. 241-250.
- PINTO, A. C. S.; WIEDERHECKER, H. C. & COLLI, G. R. 2005. Sexual dimorphism in the Neotropical lizard, *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae). *Amphibia-Reptilia*, v. 26, p. 127-137.
- RAINWATER, T. R.; WU, T. H., FINGER, A. G.; CAÑAS, J. E.; YU, L.; REYNOLDS, K. D.; COIMBATORE, G.; BARR, B.; PLATT, S. G.; COBB, G. P.; ANDERSON, T. A. & MCMURRY, S. T. 2007. Metals and organochlorine pesticides in caudal scutes of crocodiles from Belize and Costa Rica. *Science of the Total Environment*, p. 146–156.
- REZENDE, M. V. O.; OKANO, W.; JUNIOR, F. A. B.; LOPES, F. G.; JUNIOR, C. K.; SANTANA, E. H. W. & HEADLEY, S. A. 2003. Determinação de resíduo de cipermetrina em fígado bovino por meio de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (lc-ms). *Revista em Agronegócios e Meio Ambiente*, v. 6, n. 2, p. 216-270.
- RIBEIRO, L. B.; GOMIDES, S. C; SANTOS, A. O. & SOUSA, B. M. 2008. Thermoregulatory behavior of the saxicolous lizard, *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae), in a rocky outcrop in Minas Gerais, Brazil. *Herpetological Conservation and Biology*, v. 3, p. 63-70.
- RIBEIRO, L. B.; SOUSA, B. M.; GOMIDES, S. C. 2009. Range structure, microhabitat use, and activity patterns of the saxicolous lizard *Tropidurus torquatus* (Tropiduridae) on a rock outcrop in Minas Gerais, Brazil. *Revista Chilena de Historia Natural*, v. 82, p. 577-588.
- ROCHA, C. F. D. & BERGALLO, H. G. 1990. Thermal biology and flight distance of *Tropidurus oreadicus* (Sauria, Iguanidae) in an area of Amazonian Brazil. *Ethology Ecology & Evolution*, v. 2, p. 263-268.

- ROCHA, C. F. D. 1994. Introdução a Ecologia de Lagartos Brasileiros. *In*: NASCIMENTO, L. B.; BERNARDES, A. T. & COTTA, G. A. eds. Herpetologia no Brasil, 1. Belo Horizonte, PUC-Minas Gerais.
- ROCHA, C. F. D.; VAN SLUYS, M.; VRCIBRADIC, D.; KIEFER, M. C.; MENEZES, V. A. & SIQUEIRA, C. C. 2009. Lagartos (Squamata: Lacertilia) em áreas de floresta e de pastagem em Espigão do Oeste, Rondônia, sudoeste da Amazônia, Brasil. *Oecol. Bras.*, v. 13, p. 115-131.
- RODRIGUES, M. T. 1987. Sistemática, Ecologia, Zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *torquatus* ao Sul do Rio Amazonas (Sauria, Iguanidae). *Arquivos de Zoologia*. v. 31, n. 3, p. 105-230.
- RODRIGUES, M. T. 2005. Conservação dos répteis brasileiros: os desafios para um país megadiverso. *Megadiversidade*, Belo Horizonte, v. 1, n. 1, p. 87-94.
- ROTE, N.S. 1998. Inflammation. *In*: McCANCE, K.L.; HUETHER, S.E. Pathophysiology: the biologic basis for disease in adults and children. Cap. 7, p. 205-236. 3th ed. St. Louis: Mosby.
- SABOLIC, I.; HERAK-KRAMBERGER, C. M. & BROWN, D. 2001. Subchronic cadmium treatment affects the abundance and arrangement of cytoskeletal proteins in rat renal proximal tubule cells. *Toxicology*, v. 165, p. 205–216.
- SALVADOR, R. M. V.; PIM, F.; JÚNIOR, H. A. N.; ABREU, A. T.; PIMENTEL, E. F.; CERQUEIRA, L. O.; JUNIOR, P. D. F. & ENDRINGER, D. C. 2018. *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae) as a bioindicator of heavy metal (aluminum and zinc) pollution in Vila Velha, Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 25, p. 1210–1219.
- SCHOENER, T. W. 1971. Teory of feeding strategies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 2, p. 369-404.
- SCHOENER, T. W. 1977. Competition and the niche. *In*: Gans C & DW Tinkle (eds) *Biology of Reptilia*: 35- 136. Academic Press, New York.
- SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; *et al.* 1997. The use of histopathological indicators to evaluate contaminantrelated stress in fish. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, v. 6, p. 75-86.
- SILVA, V. D. N. & ARAÚJO, A. F. B. 2008. Ecologia dos lagartos brasileiros. Rio de Janeiro: Technical Books Editora. p. 271.
- SILVA, L. M. 2011. Metais pesados em tecidos de *Chelonia mydas* encalhadas no litoral do Rio Grande do Sul, Brasil. Dissertação (Dissertação em Biologia Marinha e Costeira) – UFRS.
- SOARES, C. R. F. S.; ACCIOLY, A. A. M.; MARQUES, T. C. L. L. S. M.; SIQUEIRA, J. O. & MOREIRA, F. M. S. 2001. Acúmulo e distribuição de metais pesados nas raízes, caule e folhas de mudas de árvores em solo contaminado por rejeitos de indústria de zinco. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 13, n. 3, p. 302-315.

- SOUSA, B. M., NASCIMENTO, A. E. R., GOMIDES, S. C., VARELA RIOS, C. H., HUDSON, A. H. & NOVELLI, I. A. 2010. Répteis em fragmentos de Cerrado e Mata Atlântica do Campo das Vertentes, Estado de Minas Gerais, Sudeste do Brasil. *Biota Neotropica*, v. 10, p. 129-138.
- SOUSA, B. M.; GOMIDES, S. C.; HUDSON, A. A.; RIBEIRO, L. B. & NOVELLI, I. A. 2012. Reptiles of the municipality of Juiz de Fora, Minas Gerais State, Brazil. *Biota Neotropica*, v. 12, p. 35-49.
- SOUZA, G. R.; GARCEZ, M. A. P.; SANTOS, V. C. G.; SILVA, D. B.; CAETANO, J. & DRAGUNSKI, D. C. 2009. Quantificação de metais pesados em peixes de um pesqueiro localizado na cidade de Umuarama - Pr. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, Umuarama, v. 12, n. 1, p. 61-66.
- SPARLING, D. W.; LINDER, G.; BISHOP, C. A. & KREST, S. K. 2010. Recent advancements in amphibian and reptile ecotoxicology. In: Sparling, D.W., Linder, G., Bishop, C.A., Krest, S.K. (Eds.), *Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles*. Taylor and Francis, New York.
- SYLVIE, B.R.; PAIRAULT, C.; VERNET, G. & BOULEKBACHE, H. 1996. Effect of lindane on the ultrastructure of the liver of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, sac-fry. *Chemosphere*, v. 33, p. 2065-2079.
- TARAHARA, T.; FURUI, K.; FUNAKI, J.; NAKAYAMA, Y.; ITOH, H.; MIYABAYASHI, C.; SATO, H.; SEIKI, M.; OOSHIMA, A. & WATANABE, A. 1995. Increased Expression of Matrix Metalloproteinase-II in Experimental Liver Fibrosis in Rats. *Hepatology*, v. 21, n. 3. p. 787-795.
- TAKAHARA, T.; FURUI, K.; YATA, Y.; JIN, B.; ZHANG, L. P.; NAMBU, S.; SATO, H.; SEIKI, M. & WATANABE, A. 1997. Dual Expression of Matrix Metalloproteinase-2 and Membrane-Type 1-Matrix Metalloproteinase in Fibrotic Human Livers. *Hepatology*, v. 26, n. 6, p. 1521-1529.
- TEIXEIRA, R. L. & GIOVANELLI, M. 1999. Ecologia de *Tropidurus torquatus* (Sauria: Tropiduridae) da restinga de Guriri, São Mateus, ES. *Revista Brasileira de Biologia*, São Carlos, v. 59, n. 1.
- TEIXEIRA, A. O.; LOPES, D. C.; RIBEIRO, M. C. T.; LOPES, J. B.; FERREIRA, V. P. A.; VITTI, D. M. S. S.; MOREIRA, J. A. & PENA, S. M. 2005. Composição química de diferentes fontes de fósforo e deposição de metais pesados em tecidos de suínos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 57, n. 4, p. 502-509.
- THOMPSON, M.; ELLISON STEPHEN, L. R. & WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*. 74: 835 p. 2002.
- TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A. & NETO, A. G. F. Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica. 2ªed. Ed. Manole, Barueri-São Paulo. 2003.

- TRINCHELLA, F.; RIGGIO, M.; FILOSA, S.; VOLPE, M. G.; PARISI, E. & SCUDIERO, R. 2006. Cadmium distribution and metallothionein expression in lizard tissues following acute and chronic cadmium intoxication. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C*, v. 144, p. 272–278.
- UETZ, P. & HOŠEK, J. 2018. The Reptile Database. Acessado em 20 de janeiro de 2019. www.reptile-database.org.
- VAN SLUYS, M. 1992. Aspectos da ecologia do lagarto *Tropidurus itambere* (Iguanidae) em uma área do sudoeste do Brasil. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 52, p. 181-185.
- VAN SLUYS, M. 1993. Food habits of the lizard *Tropidurus itambere* (Tropiduridae) in southeastern Brazil. *Journal of Herpetology*, v. 27, p. 347-351.
- VAN SLUYS, M. 1995. Seasonal variation in prey choice by the lizard *Tropidurus itambere* (Tropiduridae) in southeastern Brazil. *Ciência e Cultura*, v. 47, n. 1 e 2, p. 61-65.
- VAN SLUYS, M.; ROCHA, C. F.; VRCIBRADIC, D.; GALDINO C. A. B. & FONTES, A. F. 2004. Diet, activity and microhabitat use of two syntopic *Tropidurus* species (Lacertilia: Tropiduridae) in Minas Gerais, Brazil. *Journal of Herpetology*, v. 38, p. 606-611.
- VIEIRA, R. C.; FELAPPI, J. F.; CARUCCIO, R. & VERRASTRO, L. 2011. Population Dynamics of *Tropidurus torquatus* (Wied, 1820) (Squamata, Tropiduridae) in Southern Brazil. *Journal of Herpetology*, v. 6, n. 3, p. 215-222.
- VIRGA, R. H. P.; GERALDO, L. P. & SANTOS, F. H. 2007. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. *Food Science and Technology*, Campinas, v. 27, n. 4, p. 779-785.
- VITT, L. J. & CARVALHO, C. M. 1995. Niche partitioning in a tropical wet season: Lizards in the Lavrado area of northern Brazil. *Copeia*, p. 305-329.
- VITT, L.J.; CALDWELL, J. P.; ZANI, P. A. & TITUS, T. A. 1997. The role of habitat shift in the evolution of lizard morphology: Evidence from tropical *Tropidurus*. *Proceedings of the National Academic of Sciences*, v. 94, p. 3828-3832.
- VITT, L. J. & GOLDBERG, S. R. 2012. Reproductive Ecology of Two Tropical Iguanid Lizards: *Tropidurus torquatus* and *Platynotus semitaeniatus*. *Copeia*, v. 1983, n. 1, p. 131-141.
- WAGNER, N., MINGO, V., SCHULTE, U., LOETTERS, S. 2015. Risk evaluation of pesticide use to protected European reptile species. *Biological Conservation*, v. 191, 667-673.
- WEIR, S. M., TALENT, L. G., ANDERSON, T. A., SALICE, C. J. 2014. Unraveling the relative importance of oral and dermal contaminant exposure in reptiles: insights from studies using the western fence lizard (*Sceloporus occidentalis*). *PLoS One*, v. 9.
- WEIR, S. M., YU, S., TALENT, L. G., MAUL, J. D., ANDERSON, T. A., SALICE, C. J. 2015. Improving reptile ecological risk assessment: oral and dermal toxicity of pesticides to a common lizard species (*Sceloporus occidentalis*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 34, p. 1778-1786.