SETAC – Brazil

J. Braz. Soc. Ecotoxicol., v. 1, n. 2, 2006, 177-183

JBSE

Impacto Automotivo em Populações de *Ctenomys minutus* na Planície Costeira do RS: Avaliação do Teor de Metais Tóxicos e Medição de Lipoperoxidação

M. T. Raya-Rodriguez,[1*] C. J. S. Ferreira[2] & J. C. F. Moreira[3]

[1]Centro de Ecologia e PPG em Ecologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

[2]PPG em Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

[3]PPG em Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

RESUMO

O objetivo deste trabalho é verificar o impacto ambiental causado pelo tráfego automotivo através da determinação de metais tóxicos em diferentes compartimentos ambientais em áreas próximas a estradas e a sua correlação com a formação de lipoperóxidos na população de *Ctenomys minutus* (tuco-tucos). Foram capturados indivíduos em três locais de diferente impacto automotivo nas quatro estações do ano. De cada animal foi retirado sangue para quantificação do índice de lipoperoxidação, através do ensaio bioquímico TBARs (espécies reativas ao ácido barbitúrico). Em cada ponto de amostragem foram retiradas alíquotas de pêlos e pelotas fecais dos animais, da vegetação fonte alimentar e do solo para determinação de Cd, Ni, Pb e Zn. Esta análise verificou diferença significativa em relação aos metais nos compartimentos ambientais de pontos próximos à estrada em relação à área controle. O teste TBARs indicou forte diferença sazonal, e no verão, com maior pressão de tráfego, o índice de dano foi maior em todas as áreas e os animais mais próximos à estrada apresentaram maior nível de dano.

Palavras-chave: *Ctenomys minutus*, impacto automotivo, metais tóxicos, lipoperoxidação.

ABSTRACT

Automotive impact in populations of *Ctenomys minutus* in the coastal plain in southern Brasil: evaluation of heavy metal contents and quantification of lipoperoxidation levels

The present work aims to check the automotive traffic impact caused by analyze toxic metal concentration in environmental samples in areas near and far from the road and its correlation with lipoperoxides formation in population of *Ctenomys minutus* (tuco-tucos). Individuals were captured seasonally in three different traffic impact area. From each individual were collected blood to quantify lipoperoxidation by the biochemical assay TBARs (Tiobarbituric acid reactive). In samples of fur, spraints, soils and food vegetation were analyzed Cd, Ni, Pb and Zn. This study show significant difference of toxic metals in areas near the traffic road. The TBARs assay indicates strong seasonal differences. In summer, when the traffic road increase, the index injury was biggest in all the study areas and even greater near the road.

Key words: *Ctenomys minutus*, automotive impact, toxic metals, lipoperoxidation.

INTRODUÇÃO

A exposição às emissões provenientes dos veículos tem sido considerada preocupante pelos seus efeitos na saúde humana. Alguns estudos experimentais e evidências epidemiológicas indicam que a gasolina e o óleo diesel têm efeito mutagênico e/ou carcinogênico em animais e no homem (Lonnrot *et al*., 1996).

Os efeitos de poluentes ambientais podem ser estimados através do uso de bioindicadores, que são organismos que refletem o estado do ambiente, podendo indicar poluição por sua presença ou ausência, freqüência, distribuição, abundância,

*Corresponding author: Maria Teresa Raya-Rodriguez, e-mail: mayte@ecologia.ufrgs.br.

sobrevivência e respostas a determinadas condições ambientais. Processos bioquímicos são usados para bioindicação, pois permitem o reconhecimento precoce de danos causados aos bioindicadores.

Uma provável maneira de os metais causarem carcinogênese é através da formação de radicais livres. Cádmio e níquel são classificados como carcinogênicos pela Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC).

A lipoperoxidação é uma evidência da injúria causada pelos radicais livres nos sistemas biológicos (Zwart *et al.*, 1999). O nível de lipoperoxidação (dano oxidativo em lipídios) pode ser estimado pela determinação de espécies reativas de ácido tiobarbitúrico (TBAR).

Os tuco-tucos são pequenos roedores fossoriais, do gênero *Ctenomys*, que vivem em tocas individuais no solo e nestas desenvolvem todas as atividades biológicas. Neste trabalho estudaram-se indivíduos da espécie *Ctenomys minutus* (Freitas, 1995), que são herbívoros, têm ampla distribuição na Planície Costeira do Rio Grande do Sul e ocorrem em áreas relativamente povoadas ou de intensa atividade humana, inclusive próximo a rodovias. Essas características qualificam-no para este estudo como um potencial organismo bioindicador.

Este trabalho pretende avaliar o impacto causado pelo tráfego automotivo através de bioindicação ambiental e verificar se o aumento do tráfego de veículos na estrada relaciona-se com o aumento do dano nos bioindicadores utilizados.

MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo deste trabalho situa-se na Planície Costeira do Rio Grande do Sul (Brasil), compreendida entre os paralelos 29°45'S e 30°15'S e os meridianos 50°00 e 50°30'W', onde se encontra o sistema lagunar da região Osório–Tramandaí, às margens da estrada RS 030. O fluxo de veículos nesta estrada é relativamente baixo, porém aumenta significativamente nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro, período de veraneio.

Foram selecionadas três áreas de coleta considerando os ventos predominantes na região (Hasenack & Ferraro, 1989). Dois pontos margeiam a estrada e um terceiro foi selecionado em área a cerca de 2000 m da rodovia mais próxima, representando o controle. A Fazenda Maribo representa o ponto menos impactado; as Fazendas Weber e Amaral nas margens da rodovia representam pontos de impacto direto.

A amostragem dos bioindicadores foi realizada em cada área de coleta nas quatro estações climáticas entre julho de 2000 e junho de 2001. O Quadro 1 apresenta as datas das coletas e o fluxo de veículos correspondente a cada ponto de amostragem.

Foram capturados em todo o período de avaliação 108 indivíduos de *Ctenomys minutus* com auxílio de armadilha do tipo Oneida-Victor nº zero. Os animais, anestesiados com Zoletil, tiveram retiradas alíquotas de pêlos para dosagem de metais. Coletou-se também 0,5 a 1,5 ml de sangue imediatamente armazenado a –40ºC em gelo seco por aproximadamente seis horas. Posteriomente foram transferidos em laboratório para freezer a –70ºC até os procedimentos dos testes bioquímicos; 79 amostras foram testadas e consideradas válidas para análise estatística.

Em cada área de amostragem foram retiradas três alíquotas de solo superficial, vegetação e pelotas fecais ao redor da toca de cada animal capturado, a fim de compor uma amostra composta para a dosagem de metais.

Quadro 1 — Fluxo de veículos e datas de captura.

Estação	Fazenda	Data coleta	Veículos/dia
Inverno	Maribo	17/8/2000	4900
	Weber	25/7/2000	5000
	Amaral	1/8/2000	4600
Primavera	Maribo	17/11/2000	6200
	Weber	21/11/2000	8200
	Amaral	28/11/2000	7400
Verão	Maribo	19/3/2001	6400
	Weber	13/3/2001	8300
	Amaral	6/3/2001	8900
Outono	Maribo	21/5/2001	5500
	Weber	4/6/2001	5700
	Amaral	24/5/2001	4800

Para a quantificação de metais em pêlos, solo e gramíneas, as amostras foram digeridas com ácido nítrico em microondas (CEM – MDS 2000). A determinação de Pb, Ni e Cd foi realizada por forno de grafite no Espectrofotômetro de Absorção Atômica SIMAA 6000 e a determinação de Zn, por chama no modelo 3300 (Perkin-Elmer, 1982).

O índice de peroxidação de lipídios usado foi o TBARs – Espécies Reativas de Ácido Tiobarbitúrico (Dal-Pizzol, 2001). Para esta determinação as amostras de sangue foram homogeneizadas em solução tampão e ácido tricloroacético 10% foi adicionado a cada amostra padronizada para precipitação de proteínas. Após a centrifugação, ao sobrenadante foi adicionado ácido tiobarbitúrico e incubado em banho-maria. O resultado foi obtido por espectrofotometria a 535 nm.

Utilizaram-se os programas Estatística for Windows, SPSS e SAS, e a análise de componentes principais foi realizada utilizando-se a "carga" conjunta dos metais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de metais está apresentada nos Quadros 2 a 5.

A Figura 1 apresenta o gráfico de escores fatoriais para solo. Observa-se tendência de baixos valores na fazenda Maribo para o conjunto integrado dos quatro metais analisados nos compartimentos solo em relação aos valores apresentados nas fazendas Amaral e Weber. A vegetação apresentou o mesmo comportamento.

Esse comportamento evidencia estatisticamente que diferentes cargas de metais atuam no ponto controle (Maribo) e nas duas áreas marginais à estrada (Amaral e Weber). Nos compartimentos ambientais (pêlos e pelotas fecais) este comportamento não foi evidenciado.

Analisando-se as concentrações de cada metal isoladamente nos compartimentos ambientais dos três locais avaliados, verifica-se, através da variância, comportamento diferente entre o ponto controle (Maribo), sempre associado a baixos escores, e as Fazendas Amaral e Weber, associadas a altos escores, Quadro 6.

A análise estatística indicou que maiores concentrações de Pb, Ni e Zn nos diferentes compartimentos estão associadas à proximidade da estrada, sendo que Ni (solo, vegetação e pêlos) é o que mais está associado à proximidade da estrada.

Os valores do índice de peroxidação de lipídios (nmol TBA/mg de proteína) sazonal sugerem diferença entre a estação do verão e as demais estações do ano, Quadro 7. Já o resultado da análise multivariada, apresentado no Quadro 8, indica não haver diferença significativa entre os locais de coleta dentro de uma mesma estação. Porém, quando se compara o dano em um mesmo local de coleta nas diferentes estações, o Verão mostra-se significativamente diferente das demais estações para os pontos de impacto direto da estrada.

O coeficiente de Pearson (r), considerando todo o período avaliado, apresenta o valor de 0,667, indicando correlação positiva, ou seja, quanto maior o fluxo de veículos, maior o dano oxidativo. Já para a situação de verão, o coeficiente de Pearson (r) apresenta o valor de 0,836, indicando ser este o período de correlação entre o dano oxidativo e o fluxo de veículos, pois para as demais estações a correlação é nula.

Quadro 2 — Concentração de cádmio ($\mu g.kg^{-1}$) nos compartimentos ambientais dos locais avaliados da Planície Costeira, RS – 2000/2001.

Estação	Local	Solo	Vegetação	Pêlos	Pelotas fecais
Inverno	Maribo	6,35	29,5	39,4	78,2
	Weber	5,91	51,3	28,2	25,4
	Amaral	6,85	14,7	50,8	75,5
Primavera	Maribo	2,84	23,4	24,8	46,1
	Weber	8,31	9,03	43,6	41,9
	Amaral	3,82	22,1	28,2	81,8
Verão	Maribo	2,10	19,9	8,96	36,1
	Weber	2,02	30,7	23,0	33,4
	Amaral	2,41	21,0	22,1	48,7
Outono	Maribo	nd	33,0	nd	89,0
	Weber	1,0	54,0	20,0	42,0
	Amaral	nd	72,0	2,00	26,0

Quadro 3 — Concentração de chumbo (μg.g^{-1}) nos compartimentos ambientais dos locais avaliados da Planície Costeira, RS – 2000/2001.

Estação	Local	Solo	Vegetação	Pêlos	Pelotas fecais
Inverno	Maribo	1,93	1,36	3,01	2,32
	Weber	3,09	3,38	2,16	1,65
	Amaral	3,87	2,21	1,21	2,98
Primavera	Maribo	1,75	1,73	5,60	1,96
	Weber	3,45	1,77	7,95	2,14
	Amaral	2,98	1,01	7,87	3,95
Verão	Maribo	1,26	1,44	0,32	0,39
	Weber	2,14	2,05	1,17	0,64
	Amaral	2,70	0,62	0,82	1,59
Outono	Maribo	1,26	0,78	1,22	2,11
	Weber	2,74	1,98	1,08	1,30
	Amaral	4,23	1,74	1,27	2,53

Quadro 4 — Concentração de níquel (μg.g^{-1}) nos compartimentos ambientais dos locais avaliados da Planície Costeira, RS – 2000/2001.

Estação	Local	Solo	Vegetação	Pêlos	Pelotas fecais
Inverno	Maribo	0,38	0,42	1,05	0,88
	Weber	0,94	1,89	1,96	3,25
	Amaral	1,67	2,11	1,66	3,84
Primavera	Maribo	0,24	0,55	1,30	0,87
	Weber	0,98	0,62	3,16	1,66
	Amaral	1,45	1,35	1,91	2,23
Verão	Maribo	0,24	0,40	0,32	0,82
	Weber	1,67	2,35	1,50	2,08
	Amaral	1,51	1,29	0,83	2,08
Outono	Maribo	0,16	0,16	0,57	0,19
	Weber	1,18	1,06	1,36	0,93
	Amaral	1,64	1,20	1,24	1,98

Quadro 5 — Concentração de zinco (μg.g^{-1}) nos compartimentos ambientais dos locais avaliados da Planície Costeira, RS – 2000/2001.

Estação	Local	Solo	Vegetação	Pêlos	Pelotas fecais
Inverno	Maribo	0,98	56,8	179	194
	Weber	2,92	54,2	144	125
	Amaral	3,92	75,6	131	152
Primavera	Maribo	0,58	54,4	163	116
	Weber	4,20	58,8	148	165
	Amaral	3,68	37,6	161	216
Verão	Maribo	2,69	54,1	212	170
	Weber	6,40	81,8	203	256
	Amaral	7,42	79,8	235	301
Outono	Maribo	1,93	26,4	222	191
	Weber	12,6	81,3	1,64	145
	Amaral	10,2	122	204	459

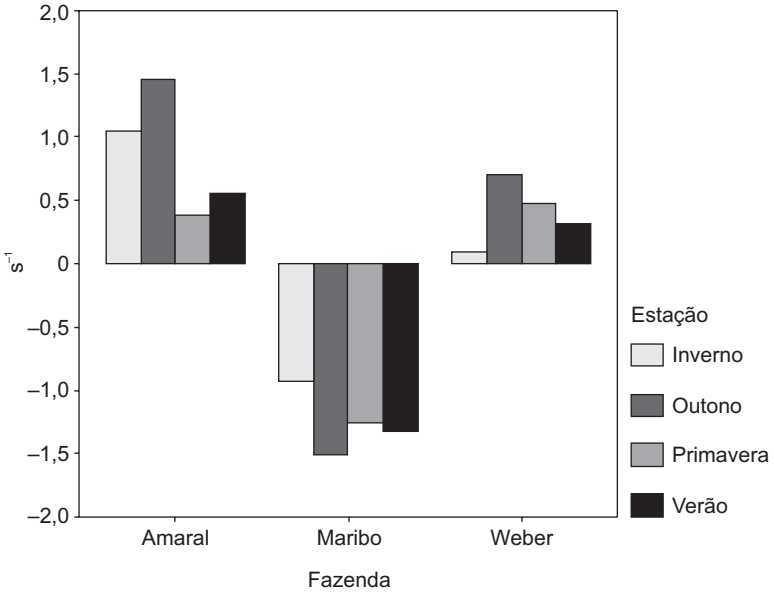

Figura 1 — Escores fatoriais das concentrações dos quatro metais analisados para o compartimento solo, nos três locais de coleta, ao longo das estações do ano.

Os níveis de lipoperoxidação podem ser correlacionados à carga poluente relativa à época de maior fluxo de veículos anterior à semana da coleta. Desta forma, pelo exposto, os níveis aumentados de lipoperóxidos medidos no sangue de *Ctenomys minutus* e expressos por TBARs (Quadro 7) sugerem ser este um potencial e promissor parâmetro de bioindicação ambiental.

Quadro 6 — Escores fatoriais de cada metal nas diferentes áreas avaliadas.

Metal/Compartimento	Fazenda/Escore		
Ni/Solo	M b	W a	A a
Ni/Vegetação	M b	W a	A a
Ni/Pêlos	M b	W a	A ab
Pb/Solo	M b	W a	A a
Pb/Pelotas	M b	W b	A a
Zn/Solo	M b	W a	A a

Fazenda: M = Maribo, W = Weber e A = Amaral.
Escores: a = alto e b = baixo. Para caracteres iguais na mesma linha não existe diferença significativa; Diferença significativa entre a e b na mesma linha para um $\alpha = 5\%$.

Quadro 7 — Índice médio de peroxidação de lipídios (nmol TBA/mg proteína) e erro-padrão em sangue de *Ctenomys minutus* por estação do ano nas áreas avaliadas.

Fazendas	Estações			
	Verão	Outono	Inverno	Primavera
Maribo	0,0378 ± 0,0037	0,0097 ± 0,0058	0,0133 ± 0,0008	0,0144 ± 0,0029
Weber	0,0501 ± 0,0071	0,0156 ± 0,0034	–	0,0139 ± 0,0017
Amaral	0,0882 ± 0,0136	0,0155 ± 0,0041	0,0124 ± 0,0007	0,0105 ± 0,0011

Quadro 8 — Escores médios com os resultados da comparação múltipla do nível de peroxidação de lipídios, por estação do ano, no sangue de *Ctenomys minutus* nas diferentes áreas avaliadas.

Fazendas	Estações			
	Verão	Outono	Inverno	Primavera
Maribo	61,75 a A	15,90 a B	35,75 a AB	27,21 a B
Weber	65,50 a A	31,56 a B	NA	33,50 a B
Amaral	73,57 a A	32,10 a B	30,20 a B	22,33 a B

Os ranks seguidos pela mesma letra não diferem significativamente com um $\alpha = 0,05$.
Letras minúsculas consideram linhas dentro das colunas (a).
Letras maiúsculas consideram colunas dentro das linhas (A).
Tabela de comparação múltipla de Kruskal Wallis Rank Test, $\alpha = 0,05$ e $p < 0,0001$.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A quantificação e a análise dos metais nos compartimentos ambientais das três áreas mostram claramente que há diferença significativa entre os locais mais próximos à estrada (Amaral e Weber) em relação à área controle (Maribo) mais distante da mesma.

Os compartimentos solo e vegetação indicaram que a área Maribo apresenta tendência diferenciada em relação às outras duas áreas, quando avaliado o conjunto da carga de metais presentes.

Com relação ao teste bioquímico para TBARs, há tendência diferente entre as áreas avaliadas. No verão, observa-se comportamento diferenciado nas áreas que margeiam a estrada, tendo os animais desses locais apresentado maior nível de dano.

O teste bioquímico para TBARs indicou forte diferença sazonal, sendo que no verão o índice de dano obtido foi maior nas três áreas avaliadas.

As avaliações bioquímicas empregadas foram mais sensíveis que a quantificação de metais para indicar dano recente nos tuco-tucos, salientando as diferenças entre as três áreas avaliadas com diferente impacto de tráfego.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DALL PIZZOL, F., 2001, *Estresse oxidativo e suplementação com retinol em células de Sertoli cultivadas*. Tese de Doutorado, UFRGS.

FREITAS, T. R. O., 1995, Geographic distribution and conservation of four species of the genus *Ctenomys* in southern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, *30*: 53-59.

HASENACK, H. & FERRARO, L. W., 1989, Considerações sobre o clima da região de Tramandaí, RS. *Pesquisas*, *22*: 53-70.

LONNROT, K., METSA-KETELA, T., MOLNAR, G., AHONEN, J., LATVALA, M., PELTOLA, J., PIETILA, T. & ALHO, H., 1996, The effect of ascorbate and ubiquinone suplementation on plasma and csf total antioxidant capacity. *Free Radical Biology and Medicine*, *21*(2): 211-217.

PERKIN-ELMER, 1982, *Analytical methods for atomic absorption spectroscopy*. n. 332. West Germany.

ZWART, L. L., MEERMAN, J. N. H., COMMANDEUR, J. M. N. & VERMEULEN, N. P. E., 1999, Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radicals and Medicine.*, *26*: 202-226.