

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE ANIMAL**

**CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS E NÚMERO
DE MICRONÚCLEOS EM *Cygnus melanocoryphus*
(ANATIDAE) NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DO TAIM,
RS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Eunice Frühling dos Santos

Santa Maria, RS, Brasil

2014

**CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS E NÚMERO DE
MICRONÚCLEOS EM *Cygnus melanocoryphus* (ANATIDAE)
NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DO TAIM, RS**

Eunice Frühling dos Santos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade Animal da Universidade Federal de Santa Maria, como
requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciências
Biológicas – Área Biodiversidade Animal.**

Orientador: Prof. Dr. Demétrio Luis Guadagnin
Co-orientadora: Prof. Dra. Cecilia Irene Pérez Calabuig

Santa Maria, RS, Brasil

2014

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal


A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS E NÚMERO DE
MICRONÚCLEOS EM *Cygnus melanocoryphus* (ANATIDAE) NA
ESTAÇÃO ECOLÓGICA DO TAIM, RS**

elaborada por
Eunice Frühling dos Santos

como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Biológicas – Área Biodiversidade Animal

COMISSÃO EXAMINADORA:


Demétrio Luis Guadagnin, Dr.
(Presidente/Orientador)


Charlene Cavalheiro de Menezes, Dra.
(UFSM)


Marilise Mendonça Krügel, Dra.
(UFSM)

Santa Maria, 21 de março de 2014.

***À Riciéri G.F. Menegat,
pelo amor, apoio e compreensão.***

AGRADECIMENTOS

Muitas pessoas foram importantes nesses dois anos de mestrado, foi um caminho longo e difícil, de muito estudo, viagens, dificuldades, alegrias, descobertas e aventuras. As amizades que fiz vou levar comigo para sempre.

Agradeço imensamente ao meu orientador **Dr. Demétrio Guadagnin**, que desde o início acreditou em mim, pelo apoio e orientação.

À minha co-orientadora **Dra. Cecilia Calabuig**, pela paciência, compreensão, apoio e confiança.

À **Dra. Marilise Krügel**, que me apoiou nos meus primeiros passos no estudo das aves.

Ao **Dr. Adalto Bianchini e Dra. Mariana Basso Jorge** pela parceria e apoio ao trabalho.

À minha amiga querida **Fabiane Bergmann**, por tudo, pela ajuda incondicional, apoio, paciência, compreensão. Foram muitas horas de estudo e campo, além disso, muitas vezes me acolheu na sua casa. Obrigada!

Aos meus colegas, principalmente o **Giliandro e o Dante**, companheiros de guerra.

Aos **professores do PPG em Biodiversidade Animal**, por todo o aprendizado.

Ao secretário **Sidnei Cruz**, por toda ajuda.

Ao **peçoal da Estação Ecológica do Taim**, pelo apoio e companhia.

Aos **meus amigos**, que me suportaram por dois anos, toda loucura, dúvida, excitação, reclusão (aguardem os próximos quatro anos!!!).

À **minha família**, especialmente a minha **mãe Ivete**, que sempre me apoiou e me ensinou que poderia ter um futuro brilhante através do estudo. Ao **meu pai Lanes e minha madastra Lenita**, que me deram apoio, conforto e amor. Aos meus irmãos queridos, amados, **Vinicius e Leonardo**, pelo amor, carinho e compreensão, sem vocês a vida não seria tão boa. E Vini! Obrigada por tudo, por me ouvir quando preciso e pelo apoio. À minha cunhada **Adrieli**, que entrou há pouco tempo nas nossas vidas, mas para mim é como uma irmã.

E finalmente gostaria de agradecer a pessoa mais importante, sem a qual nada disso seria possível, **meu marido Ricieri Menegat** que sempre esteve ao meu lado, nos momentos bons e ruins. Quando pensava em desistir, lá estava ele, dando força, apoio e xingando quando preciso. Obrigada, pela compreensão, paciência (muita), apoio incondicional e pelo amor, você torna a minha vida mais feliz. Eu amo você.

"Não há diferença fundamental entre o homem e os animais nas suas faculdades mentais (...) Os animais, como o homem, demonstram sentir prazer, dor, felicidade e sofrimento."

Charles Darwin

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal
Universidade Federal de Santa Maria

CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS E NÚMERO DE MICRONÚCLEOS EM *Cygnus melanocoryphus* (ANATIDAE) NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DO TAIM, RS

AUTORA: EUNICE FRÜHLING DOS SANTOS

ORIENTADOR: DEMÉTRIO LUIS GUADAGNIN

CO-ORIENTADORA: CECILIA IRENE PÉREZ CALABUIG

Data e local de defesa: Santa Maria, 21 de março de 2014.

O cisne de pescoço preto (*Cygnus melanocoryphus*) pertence à ordem Anseriforme, família Anatidae, da qual fazem parte cisnes, patos e gansos. É endêmico da América do Sul e está presente no Brasil, Paraguai, Uruguai, Argentina e Chile. No Brasil este cisne é encontrado na região sul, permanecendo durante o ano todo na Estação Ecológica do Taim (ESEC Taim). O objetivo do presente estudo foi identificar se as concentrações de cobre (Cu), cádmio (Cd) e chumbo (Pb) em amostras de penas tem relação com o sexo e a idade, determinar se a quantidade de micronúcleos varia com as concentrações de Cu, Cd e Pb e com a idade e sexo. Foram capturados 18 indivíduos de cisne de pescoço preto no verão de 2012 e 39 indivíduos no verão de 2013. Desses, 22 machos adultos, 19 fêmeas adultas, nove machos filhotes, quatro fêmeas filhotes e três filhotes com sexo indeterminado. Foram coletadas amostras de sangue e de penas. As amostras de sangue foram utilizadas para a sexagem molecular e confecção de lâminas citológicas para a análise de micronúcleos. As amostras de penas foram utilizadas para medir a presença dos metais pesados Cu, Cd e Pb. Foram encontradas diferenças significativas entre idades para as concentrações nas penas de Cu, Cd e Pb ($p < 0.05$). Não houve diferenças significativas entre o sexo e as concentrações em penas de Cu, Cd, Pb ($p > 0.05$). Não houve nenhuma relação entre a quantidade de micronúcleos com a concentração desses metais e com a idade e sexo ($p > 0.05$).

PALAVRAS-CHAVE: Anseriforme, cádmio, chumbo, cobre.

ABSTRACT

Master Dissertation
Post-Graduation in Animal Biodiversity
Universidade Federal de Santa Maria

CONCENTRATION OF HEAVY METALS AND NUMBER OF MICRONUCLEUS IN *Cygnus melanocoryphus* (ANATIDAE) OF ECOLOGICAL STATION TAIM, RS

AUTHOR: EUNICE FRÜHLING DOS SANTOS
ADVISOR: DEMÉTRIO LUIS GUADAGNIN
CO-ADVISOR: CECILIA IRENE PÉREZ CALABUIG

The black necked swan (*Cygnus melanocoryphus*) belongs to the Anseriforme order, Anatidae family, which includes swans, ducks and geese. This swan is endemic to South America and it is present in Brazil, Paraguay, Uruguay, Argentina and Chile. In Brazil this swan is found in the southern region, remaining throughout the year in Ecological Station Taim (ESEC TAIM). The objective of this study was to identify the concentrations of copper (Cu), cadmium (Cd) and lead (Pb) in feather samples is related to sex and age and determine the amount of micronuclei varies with the concentration of Cu, Cd and Pb and with age and sex. Were captured 18 individuals of black necked swan in the summer of 2012 and 39 individuals in the summer of 2013. Of these, 22 adult males, 19 adult females, nine chicks males, four chicks females and three chicks with indeterminate sex. Samples of blood and feathers were collected. The blood samples were used for sex molecular and preparation of cytologic slides for analysis of micronucleus. The feather samples were used to measure the presence of heavy metals Cu, Cd and Pb. Significant differences between ages were found for concentrations in feathers of Cu, Cd and Pb ($p < 0.05$). There was no significant differences between sex for concentrations in feathers of Cu, Cd and Pb ($p > 0.05$). There was no relationship between the amount of micronuclei in the concentration of these metals feathers and with age and sex ($p > 0.05$).

KEY-WORDS: Anseriforme, cadmium, copper, lead.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	10
INTRODUÇÃO	11
Áreas úmidas: importância e ameaças.....	11
Metais pesados.....	11
Contaminação das aves por metais pesados.....	12
Teste de micronúcleos.....	15
Cisne de pescoço preto.....	16
Estação Ecológica do Taim.....	17
REFERÊNCIAS	18
ARTIGO: CONCENTRAÇÃO DE METAIS PESADOS E NÚMERO DE MICRONÚCLEOS EM <i>Cygnus melanocoryphus</i> (ANATIDAE) NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DO TAIM, RS	28
RESUMO	28
ABSTRACT	29
INTRODUÇÃO	30
MATERIAL E MÉTODOS	31
Área de estudo.....	31
Captura das aves.....	32
Coleta de amostras.....	33
Sexagem cloacal.....	33
Sexagem molecular.....	34
Determinação da idade.....	34
Contagem de micronúcleos.....	34
Dosagem dos metais pesados em penas.....	35
Análise dos dados.....	36
RESULTADOS	36
DISCUSSÃO	39
Concentrações de metais pesados.....	39
Metais pesados versus idade e sexo.....	41
Contagem de micronúcleos.....	42
CONCLUSÕES	44
REFERÊNCIAS	44
CONCLUSÕES FINAIS	51

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas – Área Biodiversidade Animal está estruturada de acordo com as normas da Universidade Federal de Santa Maria (MDT). Está dividida em Introdução e um Artigo sobre as concentrações de metais pesados e presença de micronúcleos em *Cygnus melanocoryphus*, a saber:

- Introdução: apresenta o referencial teórico sobre a importância e ameaças as áreas úmidas; os metais pesados; a contaminação das aves por metais pesados; o teste de micronúcleos; o Cisne de pescoço preto (*Cygnus melanocoryphus*) e a Estação Ecológica do Taim (ESEC TAIM).
- Artigo: trata das concentrações dos metais pesados cobre, cádmio e chumbo em penas de *Cygnus melanocoryphus*, discutindo as relações entre as concentrações dos metais e a idade e sexo; a relação da quantidade de micronúcleos com a concentrações dos metais pesados e com a idade e o sexo.

INTRODUÇÃO

Áreas úmidas: importância e ameaças

As áreas úmidas compreendem vários habitats com alta diversidade biológica e apresentam uma grande riqueza de espécies animais, além de muitos endemismos (CARVALHO; OZÓRIO, 2007; MOSTARDEIRO, 2008). São ecossistemas de grande importância ecológica, por servirem de habitat para muitas espécies de seres vivos e por constituírem áreas de transição entre ambientes terrestres e aquáticos (PAZ, 2003). Entretanto, os ambientes úmidos estão entre os ecossistemas mais degradados, devido aos impactos causados pelas atividades antrópicas (AMEZAGA et al., 2002; GOULART; CALLISTO, 2003).

O uso acelerado dos recursos naturais e a geração de produtos residuais provenientes das atividades humanas resultam na diminuição e na perda da biodiversidade nesses habitats (MORAES; JORDÃO, 2002; CARVALHO; OZÓRIO, 2007). Além disso, uma série de poluentes é liberada nesses ecossistemas, provenientes da agricultura, indústria ou de origem doméstica, na maioria das vezes sem tratamento e contaminados por metais pesados (LEMOS et al., 2008; FERREIRA et al, 2010).

Metais pesados

Os metais pesados são aqueles cuja densidade relativa é maior que 4g/cm^3 , estando relacionados com uma alta toxicidade (FERREIRA et al., 2010). Os seres vivos necessitam de pequenas quantidades de metais como cobre (Cu) e zinco (Zn), porém, níveis excessivos podem ser tóxicos, além disso, metais como mercúrio (Hg), cádmio (Cd) e chumbo (Pb), não possuem nenhuma função nos organismos e são altamente tóxicos (KOIVULA; EEVA, 2010). Quando não metabolizados os metais

pesados se acumulam nos tecidos moles, uma vez que os seres vivos não são capazes de excretá-los de forma eficaz (LOPES, 2009).

A presença no ambiente de metais pesados ocorre devido à ocorrência natural e também devido as atividades humanas (LUCIA et al., 2010). Lubrificantes e baterias contém chumbo e cádmio, o óleo combustível contém chumbo, cobre, zinco e cromo (BURGER; GOCHFELD, 2000a). Em áreas agrícolas os principais metais pesados incluem cobre, chumbo, cádmio, zinco, manganês e cobalto que surgem dos produtos químicos, como fertilizantes e pesticidas (GIMENO-GARCÍA et al., 1996; SHAHBAZ et al., 2013).

A saúde dos ecossistemas é ameaçada pela contaminação por metais pesados, podendo em alguns casos causar a morte de seres vivos (ADOUT et al., 2007). Nos ambientes úmidos a biota aquática está constantemente exposta a esses tóxicos, no entanto, essas espécies são mais vulneráveis por causa do movimento rápido dos contaminantes na água, em comparação com o terrestre (ARIAS et al., 2007; BURGER et al., 2007). A contaminação dos organismos vivos por substâncias químicas contendo metais pesados pode afetar a sobrevivência, a reprodução e o patrimônio genético (PINHATTI et al., 2006).

As aves são organismos sensíveis e vulneráveis às contaminações ambientais por substâncias tóxicas, podendo ser utilizadas para investigar a presença e os efeitos de contaminantes em ecossistemas aquáticos (DAUWE et al., 2004; VIEIRA, 2006). As aves aquáticas são ótimas bioindicadoras de poluição, pois são suscetíveis a bioacumulação (BURGER et al., 2007).

Contaminação das aves por metais pesados

Em aves os metais pesados podem prejudicar a reprodução e a saúde, sendo bioacumulados no sangue, penas, fígado, rins, ossos e ovos (GOUTNER et al., 2001; DAUWE et al., 2004; HA et al., 2009). Os efeitos dos metais pesados nas aves incluem modificações no crescimento das penas, alterações no sistema imune, diminuição da espessura da casca de ovos, alterações no desenvolvimento testicular e na qualidade do esperma (DAUWE et al., 2004; SNOEIJIS et al., 2005; TALLOEN

et al., 2008). Assim como, podem ter efeitos sobre o seu comportamento, como diminuição na ingestão de alimentos (BURGER et al., 2008).

O cobre é um elemento essencial para sobrevivência dos animais, pois atua como componente de muitas proteínas (ZHANG et al., 2009). Entretanto, em concentrações elevadas é uma das substâncias que causa mais casos de intoxicação em animais (HOOF et al., 1998). Nas aves da ordem Galliformes o cobre em níveis elevados na dieta, de 500 ppm (0,5 µg/g) a 1000 ppm (1,0 µg/g), afetam o consumo alimentar e reduz as concentrações de lipídios no sangue e no fígado (PEARCE et al., 1983). Kim e Koo (2008) encontraram níveis de Cu em penas de 14,3 µg/g PS (peso seco) em borrelho (*Charadrius alexandrinus*) e 13,3 µg/g PS em pilrito-comum (*Calidris alpina*) e afirmam que estas concentrações não chegam a causar efeitos negativos de qualquer tipo.

O cádmio é um dos oligoelementos mais perigosos, pela sua alta toxicidade e resistência, podendo causar efeitos genotóxicos nas aves, mesmo em concentrações pequenas (AYLLON; GARCIA-VASQUEZ, 2000; BATTAGLIA et al., 2005; DAUWE et al., 2005). Além disso, o cádmio pode causar lesões no tecido intestinal, renal e testicular, diminuição da espessura da casca de ovos e alterações no comportamento (FURNESS, 1996; BURGER, 2008). Níveis de cádmio de 100 µg/g em rins de lagópode de cauda branca (*Lagopus leucurus*) causaram danos nos tubos renais (LARISON et al., 2000). Burger (1993) sugere que as concentrações de cádmio em penas que estão associadas a efeitos subletais variam entre 0,1 µg/g e 2,0 µg/g em aves.

A intoxicação por chumbo em aves compromete o sistema neurológico, interferindo na capacidade de voo e na busca por alimento, trazendo graves problemas à saúde das aves, incluindo redução do peso, do crescimento e a função metabólica (BURGER; GOLCHFELD, 2000b; KATAVOLOS et al., 2007). Em aves aquáticas valores de chumbo de 6 ppm (0,006 µg/g) em fígado causam envenenamento, entre 6 ppm a 20 ppm (0,02 µg/g) em fígado indicam exposição aguda (DERELANKO; HOELINGER, 2002). Concentrações de chumbo de 0,5 g/ml em amostras de sangue são diagnósticos de intoxicação subclínica e níveis maiores indicam envenenamento (PAIN, 1996). Segundo Burger e Gochfeld (2000a) e Moreno et al. (2011) concentrações de Pb em penas acima de 4 µg/g estão associadas com envenenamento e intoxicação.

As aves aquáticas são expostas aos metais pesados através dos alimentos e da exposição das penas à contaminação ambiental externa, além disso, ingerem sedimento e solo junto com a comida que contém metais pesados (HERNÁNDEZ et al., 1999; MORENO et al., 2011). Ainda, a contaminação pode ocorrer a partir da deposição de contaminantes nas penas durante o “preening”, quando o animal usa secreção da glândula uropigial para lubrificar as penas (DAUWE et al., 2003).

Os órgãos internos de aves, como rins, fígado, ossos e cérebro, são geralmente usados para análise de contaminação por metais pesados (ADOUT et al., 2007). No entanto, a utilização de penas e sangue em análises é vantajosa porque são indicadores não destrutivos, isto é, não é necessário o sacrifício do animal (BURGER et al., 1993; SCHEIFLER et al., 2006). A utilização de penas para determinar as concentrações de metais pesados é importante, pois as aves sequestram metais através das penas (BURGER et al., 2007). Além disso, os metais pesados podem ligar-se as moléculas de proteína nas penas durante o período de crescimento, quando as penas estão conectadas a corrente sanguínea (DAUWE et al., 2003).

Os metais pesados presentes nas penas representam as concentrações circulantes no sangue durante a formação das penas que demonstram a exposição local como também a mobilização para os tecidos internos (LEWIS e FURNESS, 1991; MONTEIRO, 1996). Além disso, concentrações de metais nas penas refletem uma exposição em longo prazo, durante o crescimento das penas (BURGER, 1993). O chumbo acumula-se nas penas através da difusão do sangue para o folículo da pena e se deposita na matriz proteica durante a sua formação no período de muda, assim, esse material fornece informação sobre a exposição ao Pb durante o crescimento das penas (RATTNER et al., 2008; BURGER et al., 2009; CARDIEL et al., 2011).

Jaspers et al. (2009) afirmam que as penas podem ser utilizadas para o biomonitoramento em áreas contaminadas, pois são de fácil coleta, armazenamento e transporte. Penas têm sido muito utilizadas em estudos e tem se mostrado indicadores adequados de metais pesados, sendo recomendadas como ferramenta de biomonitoramento de metais pesados (DMOWSKI; GOLIMOWSKI, 1993; DAUWE et al., 2000; JANSSENS et al., 2002). Alguns estudos utilizando penas de aves para determinar o nível de contaminação por metais pesados, incluindo cobre, chumbo e

cádmio foram realizados por Burger et al. (2007, 2009), Rattner et al. (2008), Dauwe et al. (2003, 2004, 2006), Adout et al. (2007), Scheifler et al. (2006), Cardiel et al. (2011), entre outros.

Teste de micronúcleos

A integridade genética das populações animais é ameaçada devido à exposição a substâncias químicas tóxicas, como metais pesados, que podem causar danos ao DNA (FENECH, 1993; RIVERO, 2007). O teste de micronúcleos é um método amplamente utilizado para o monitoramento de danos genotóxicos, que pode ser usado para avaliar em animais o efeito de compostos mutagênicos presentes no ambiente (LOPES, 2009).

A avaliação da genotoxicidade de metais pesados em organismos aquáticos é fundamental, devido ao forte impacto na estabilidade dos ecossistemas aquáticos e a bioacumulação em organismos vivos (AYLLON; GARCIA-VASQUEZ, 2000). A quantidade de micronúcleos é induzida por agentes químicos genotóxicos, que pode demonstrar a eficiência do mecanismo de defesa do organismo (MERSCH et al., 1996; KERN, 2006).

A formação de micronúcleos em células animais ocorre devido a eventos clastogênicos ou aneugênicos, como também pela interação de agentes químicos, físicos e biológicos, causando a falha na segregação dos cromossomos (UDROIU, 2006; RIVERO, 2007). Através do teste de micronúcleos é possível detectar o efeito mutagênico de agentes tóxicos no cromossomo (ZÚÑIGA-GONZÁLEZ et al., 2000; LEMOS et al., 2008).

Os micronúcleos são formações globulares de DNA, originados a partir de fragmentos cromossômicos inteiros, não incorporados ao núcleo da célula filha ao final do processo de divisão celular (FENECH et al., 1999; RAMIREZ; SALDANHA, 2002). A presença de micronúcleos serve como parâmetro para determinar a extensão de danos que um agente do ambiente pode estar causando no processo de divisão celular (VINE, 1990).

A metodologia de micronúcleos é simples e permite uma avaliação rápida das células (FENECH,1993). As amostras de sangue periférico são indicadas para estudos de exposição crônica, utilizando espécies *in situ*, e é rápida, confiável e sensível (UDROIU, 2006; LEMOS et al., 2008). Ainda, a análise de micronúcleos utilizando eritrócitos é um dos melhores testes estabelecidos em ensaios *in vivo* no campo da toxicologia genética (FENECH, 2000).

Cisne de pescoço preto

O cisne de pescoço preto (*Cygnus melanocoryphus*) pertence à ordem Anseriformes, família Anatidae, da qual fazem parte cisnes, patos e gansos, todos são aves aquáticas (NAROSKI; IZURIETA, 2010). Existem oito espécies de cisne no mundo, cisne branco (*Cygnus olor*), cisne negro (*Cygnus atratus*), cisne trombeteiro (*Cygnus buccinator*), cisne da tundra (*Cygnus colombianus*), cisne bravo (*Cygnus cygnus*), cisne pequeno (*Cygnus bewickii*), cisne coscoroba (*Coscoroba coscoroba*) e cisne de pescoço preto (*Cygnus melanocoryphus*), sendo *C. melanocoryphus* e *C. coscoroba* endêmicos da América do Sul (CORTI; SCHLATTER, 2002; RYBAK, 2005).

O *C. melanocoryphus* está presente no Brasil, Paraguai, Uruguai, Argentina e Chile, estima-se que a população seja de 100.000 indivíduos, no Brasil este cisne é encontrado na região sul, permanecendo durante o ano todo na Estação Ecológica do Taim - ESEC Taim (SCHLATTER et al., 1991a; GONZÁLEZ-ACUÑA et al., 2010). Vive em banhados extensos e em águas pouco profundas, doces, salobres ou marinhas, com abundante massa vegetal, possuem hábitos diurnos e realizam movimentos locais em resposta aos padrões sazonais do seu habitat (SICK, 2001; SCHLATTER et al., 2002; FIGUEROA-FÁBREGA et al., 2006).

O cisne de pescoço preto é herbívoro e passa a maior parte do tempo forrageando, consumindo cerca de três vezes o seu peso corporal diariamente, por ser pouco eficiente na digestão de vegetais, com cerca de 21%-34% de digestibilidade (CORTI; SCHLATTER, 2002; FIGUEROA-FÁBREGA et al., 2006). De acordo com Schlatter et al. (1991b) a dieta do cisne de pescoço preto é composta

99% pela planta aquática *Egeria densa* (Hydrocharitacea) em áreas úmidas no Chile.

Os machos de *C. melanocoryphus* pesam cerca de 5,3 kg e as fêmeas 4,1 kg, eles constroem o ninho juntos em meio ao junco, colocando de três a sete ovos, que são incubados durante 34 a 36 dias, depois que nascem os filhotes são carregados no dorso da fêmea durante os primeiros dias (CORTI; SCHLATTER, 2002; SICK, 2001). Formam casais monogâmicos e vivem em grupos com indivíduos aparentados, que possivelmente permanecem juntos durante toda a vida (FIGUEROA-FÁBREGA et al., 2006; SCHLATTER et al., 2002).

Entre os estudos publicados, Dias e Fontana (2002) descreveram sobre a distribuição e biologia no Brasil, na Argentina e no Uruguai. Estudos sobre a distribuição e ecologia do cisne de pescoço preto também foram realizados em diversas áreas no Chile por Corti e Schalatter (2002), Schalatter et al. (2002), Figueroa-Fábrega et al. (2006) e Thomson et al. (2009). Aspectos reprodutivos do *C. melanocoryphus* foram objeto de estudo dos trabalhos de Schalatter et al. (1991b) e Silva et al. (2012) no Chile.

Artacho et al. (2007a, 2007b) mediram parâmetros bioquímicos em amostras de sangue, que indicaram desnutrição crônica e redução na massa corporal, demonstrando esse resultado como causa da redução da população devido a deficiências nutricionais e efeitos tóxicos da poluição por ferro no Chile. Norambuena et al. (2009) testaram o efeito da dieta sobre a resposta fisiológica, após um evento que reduziu drasticamente a disponibilidade de *Egeria densa*, principal fonte de alimento do cisne de pescoço preto em áreas úmidas no Chile.

Estação Ecológica do Taim

A Estação Ecológica do Taim (ESEC Taim) é uma Unidade de Conservação Federal com cerca de 11.000 hectares e está localizada nos municípios de Rio Grande e Santa Vitória do Palmar, no sul do estado do Rio Grande do Sul (ICMBio, 2013). O sistema hidrográfico da ESEC Taim é formado pela lagoa dos Patos, lagoa Mirim, lagoa Mangueira e por um sistema de lagoas menores (ARTIOLI et al., 2009).

A fisionomia da região é composta por lagoas costeiras, banhados, matas paludosas e campos (FAGUNDES; BAGER, 2007).

Na área de banhado da ESEC Taim predomina a espécie vegetal junco (*Scirpus californicus*) e as áreas florestadas são dominadas pela figueira (*Ficus organensis*) e corticeiras (*Erithrina* sp). formando áreas sombreadas (CALLIARI, 1998). A lagoa Mangueira fica parcialmente inserida na ESEC Taim, com 92 km de comprimento e de 2 a 6 km de largura, com uma profundidade média de 1,5 a 6 metros (DELANEY, 1965). Uma grande riqueza de aves aquáticas é encontrada nessa lagoa, entre elas, a marreca piadeira (*Dendrocygna viduata*), a tachã (*Chauna torquata*), o biguá (*Palacrocorax brasilianus*), o cisne (*Coscoroba coscoroba*) e a espécie objeto desse estudo o cisne de pescoço preto (*Cygnus melanocoryphus*).

A ESEC Taim está inserida em uma matriz de lavouras de arroz e grande parte da água utilizada na orizicultura é captada da lagoa Mangueira e após é devolvida juntamente com os efluentes agrícolas. O cultivo de arroz é responsável por destruir e fragmentar habitats, além de, requerer um volume de água expressivo para a irrigação, e empregar adubos, inseticidas e herbicidas, que causam impactos negativos nos ecossistemas naturais que ficam ao seu redor (DIAS e BURGER, 2005).

Na lagoa Mangueira a pesca é uma atividade importante e intensiva, pois as populações que vivem no seu entorno dependem da pesca para sua subsistência. Desta forma, derivados do petróleo utilizados como combustíveis para as embarcações podem ser liberados na lagoa durante a pesca.

O presente estudo foi realizado na lagoa Mangueira com a espécie *C. melanocoryphus*, com os objetivos de identificar se as concentrações dos metais pesados cobre, cádmio e chumbo em penas variam conforme o sexo e a idade, se alteram a quantidade de micronúcleos em eritrócitos e se a quantidade de micronúcleos varia conforme o sexo e idade.

REFERÊNCIAS

ADOUT, A. et al. Determination of trace elements in pigeon and raven feathers by ICPMS. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 267, n. 1/3, p. 109-116, 2007.

AMEZAGA, J.M.; SANTAMARÍA, L.; GREEN, A.J. Biotic wetland connectivity-supporting a new approach for wetland policy. **Acta Oecologica**, v. 23, n. 3, p. 213-222, 2002.

ARIAS, A.R.L. et al. Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007.

ARTACHO, P. et al. Blood biochemistry reveals malnutrition in black-necked swans (*Cygnus melanocoryphus*) living in a conservation priority area. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 146, n. 2, p. 283-290, 2007a.

ARTACHO, P. et al. Using haematological parameters to infer the health and nutritional status of an endangered black-necked swan population. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 147, n. 4, p.1060-1066, 2007b.

ARTIOLI, L.G.S. et al. Distribuição, dominância e estrutura de tamanhos da assembleia de peixes na Lagoa da Mangueira, sul do Brasil. **Iheringia: Série Zoologia**, v. 99, n. 4, p. 409-418, 2009.

AYLLON, F.; GARCIA-VAZQUEZ, E. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in European minnow *Phoxinus phoxinus* and mollie *Poecilia latipinna*: an assessment of the fish micronucleus test. **Mutation Research**, v. 467, n. 2, p.177-186, 2000.

BATTAGLIA, A. et al. Heavy metal contamination in little owl (*Athene noctua*) and common buzzard (*Buteo buteo*) from northern Italy. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, n. 1, p. 61-66, 2005.

BURGER, J. Metals in avian feathers: bioindicators of environmental pollution. **Revist Environmental Toxicology**, v. 5, p. 203-311, 1993.

BURGER, J.; GOCHFELD, M. Metals in albatross feathers from midway atoll: influence of species, age and nest location. **Environmental Research**, v. 82, n. 3, p. 207-221, 2000a.

BURGER, J.; GOCHFELD, M. Effects of lead on birds (*Laridae*): a review of laboratory and field studies. **Journal Toxicology Environment Health**, v. 3, p. 59-78, 2000b.

BURGER, J.; GOCHFELD, M. Metals in Laysan Albatrosses from Midway Atoll. **Environmental Contamination and Toxicology**, v. 259, p. 254-259, 2000c.

BURGER, J. et al. Mercury , arsenic , cadmium , chromium, lead and selenium in feathers of pigeon guillemots (*Cephus columba*) from Prince William Sound and the Aleutian Islands of Alaska. **Science of the Total Environment**, v. 387, p. 175-184, 2007.

BURGER, J. et al. Assessment of metals in down feathers of female common eiders and their eggs from the Aleutians: Arsenic, cadmium, chromium, lead, manganese, mercury and selenium. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 143, p. 247-256, 2008.

BURGER, J. et al. Mercury and other metals in eggs and feathers of Glaucous-winged gulls (*Larus glaucescens*) in the Aleutians. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 152. p. 179-194, 2009.

CALLIARI, L.J. O ambiente e a biota do estuário da Lagoa dos Patos. In: SEELIGER, U.; ODEBRECHT, C.; CASTELLO, J.P. (Eds.). Os ecossistemas costeiros e marinhos do extremo sul do Brasil. **Ecocientia**, p. 13-18, 1998.

CARDIEL, I.E.; TAGGART, M.A.; MATEO, R. Using Pb-Alratios to discriminate between internal and external deposition of Pb in feathers. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 4, p. 911-917, 2011.

CARVALHO, A.B.P.; OZORIO, Z.P. Avaliação sobre os banhados do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 1, n. 2, p. 83-95, 2007.

CORTI, P.; SCHLATTER, R.P. Feeding ecology of the Black-necked swan *Cygnus melancoryphus* in two wetlands of southern Chile. **Neotropical Fauna and Environment**, v. 37, n. 1, p. 9-14, 2002.

DAUWE, T. et al. Can excrement and feather of nestling songbirds be used as biomonitors for heavy metal pollution? **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 39, p. 541-546, 2000.

DAUWE, T. et al. The effect of heavy metal exposure on egg size, egg shell thickness and the number of spermatozoa in blue tit *Parus caerulens* eggs. **Environmental Pollution**, v. 129, p. 125-129, 2003.

DAUWE, T. et al. Relationships between metal concentrations in great tit nest lings and their environment and food. **Environmental Pollution**, v. 131, n. 3, p. 373-380, 2004.

DAUWE, T. et al. Heavy-metal concentrations in female laying great tits (*Parus major*) and their clutches. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 49, p. 249-256, 2005.

DAUWE, T. et al. Effects of heavy metal exposure on the condition and health of adult great tits (*Parus major*). **Environmental Pollution**, v. 140, p. 71-78, 2006.

DELANEY, P.J.V. Fisiografia e geologia da superfície da planície costeira do Rio Grande do Sul. **Publicação Especial da Escola de Geologia: UFRGS**, v. 6, p. 191-195, 1965.

DERELANKO, M.; HOLLINGER, M.A. (Eds.) **Hand book of toxicology**. 2. ed. Taylor & Francis, 2002.

DIAS, R.A.; BURGER, I. A assembleia de aves de áreas úmidas em dois sistemas de cultivo de arroz irrigado no extremo sul do Brasil. **Ararajuba**, v. 13, n. 1, p. 63-80, 2005.

DMOWSKI, K.; GOLIMOWSKI, J. Feathers of the magpie (*Pica pica*) as a bioindicator material for heavy metal pollution assessment. **Science Total Environmental**, v. 139-140, p. 251-258, 1993.

FAGUNDES, C.K.; BAGER, A. Ecologia reprodutiva de *Hydromedusa tectifera* (Testudines: Chelidae) no sul do Brasil. **Biota Neotropical**, v. 7, n. 2, 2007.

FENECH, M. The cytokinesis-block micronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. **Mutation Research**, v. 285, p. 35-44, 1993.

FENECH, M. et al. The human micronucleus project-an international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. **Mutation Research**, v. 428, p. 271-283, 1999.

FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research**, v. 455, n. 1/2, p. 81-95, 2000.

FERREIRA, A.P.; HORTA, M.A.P.; CUNHA, C.L.N. 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, 2010.

FIGUEROA-FÁBREGA, L. et al. Conocimiento y conservación del cisne de cuello negro *Cygnus melancoryphus* (MOLINA, 1782) en el humedal del rio Cruces, Valdivia, Chile. **Gestión Ambiental**, v. 12, p. 77-89, 2006.

FURNESS, R.W. Cadmium in birds. In: BEYER, W.N., HEINZ, G.H., REDMON-NORWOOD, A.W. (Eds.). **Environment Contaminants in Wild Life**, p. 389-400, 1996.

GIMENO-GRACÍA, E.; ANDREU, V.; BOLUDA, R. Heavy metals incidence in the application of inorganic fertilizers and pesticides to rice farming soils. **Environmental Pollution**, v. 92, n. 1, p. 19-25, 1996.

GONZÁLEZ-ACUÑA, D. Checklist of the parasites of the black-necked swan, *Cygnus melanocoryphus* (Aves: Anatidae), with new records from Chile. **Zootaxa**, v. 68, p. 532-536, 2010.

GOULART, M.; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Revista da FAPAM**, v. 2, n. 1, p. 1-9, 2003.

GOUTNER, V.; PAPAGIANNIS, I.; KALFAKAKOU, V. Lead and cadmium in eggs of colonially nesting waterbirds of different position in the food chain of Greek wetlands of international importance. **The Science of the Total Environment**, v. 267, n.1/3, p. 169-176, 2001.

HA, M., et al. Low blood levels of lead and mercury and symptoms of attention deficit hyperactivity in children: a report of the children's health and environment research (CHEER). **Neuro Toxicology**, v. 30, p. 31-36, 2009.

HERNÁNDEZ, L. M. et al. Accumulation of heavy metals and As in wetland birds in the area around Doñana National Park affected by the Aznalcollar toxic spill. **The Science of the Total Environment**, v. 242, n. 1/3, p. 293-308, 1999.

HOOF, B.; BOERMANS, H.J; BAIRD, J.D. Retrospective study of toxic metal analyses request at a veterinary diagnostic toxicology laboratory in Ontario (1990-1995). **Canadian Veterinary Journal**, v. 39, n. 1, p. 39-43, 1998.

ICMBio. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/unidades-de-conservacao/biomas-brasileiros/marinho/unidades-de-conservacao-marinho/2257-esec-do-taim.html>>. Acesso em: 12 nov. 2013.

JANSSENS, E. et al. Inter and intra clutch variability in heavy metals in feathers of great tit nestlings (*Parus major*) along a pollution gradient. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 43, p. 323-329, 2002.

JASPERS, V.L.B. et al. Concentrations in bird feathers reflect regional contamination with organic pollutants. **The Science of the Total Environment**, v. 407, n. 4, p. 1447–1451, 2009.

LARISON, J.R. et al. Cadmium toxicity among wild life in the Colorado Rocky Mountains. **Nature**, v. 406, p. 181-183, 2000.

LEMOS, D. et al. Biomonitoring of genotoxicity using micronuclei assay in native population of *Astyanax jacuhiensis* (Characiformes: Characidae) at sites under petrochemical influence. **Science of the total environmental**, v. 6, p. 3-9, 2008.

LEWIS, S.A.; FURNESS, R.W. Mercury accumulation and excretion by laboratory reared black-headed Gulls (*Larus ridibundus*) chicks. **Archives Environmental Contamination Toxicology**, v. 21, p. 316-320, 1991.

LOPES, A.M.A.L. **Avaliação do risco da contaminação ambiental utilizando como bioindicador o ratinho-caseiro (*Mus musculus*)**. 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado em biologia humana e ambiente). Universidade de Lisboa, Lisboa, 2009.

LUCIA, M. Trace Element Concentrations (Mercury , Cadmium , Copper , Zinc , Lead, Aluminium , Nickel , Arsenic , and Selenium) in Some Aquatic Birds of the Southwest Atlantic Coast of France. **Environmental Contaminants Toxicology**, v. 58, p. 844-853, 2010.

KATAVOLOS, P. et al. The effect of lead poisoning on hematologic and biochemical values in trumpeter swans and Canada geese. **Veterinary Clinical Pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n. 4, p. 341-7, 2007.

KERN, R. **Avaliação de micronúcleos em células epiteliais bucais de estudantes de odontologia**. 2006. 66 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006.

KIM, J.; KOO, T. H. Heavy metal concentrations in feathers of Korean shore birds. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 55, n. 1, p. 122-128, 2008.

KOIVULA, M.J.; EEVA, T. Metal-related oxidative stress in birds. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 7, p. 2359-2370, 2010.

MERSCH, J.; BEAUVAIS, M.N.; NAGEL, P. Induction of micronuclei in haemocytes and gillcells of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, exposed to clasto gens. **Mutation Research**, v. 371. p. 47-55, 1996.

MONTEIRO, L. R. Seabirds as monitors of mercury in the marine environment. **Water Air Soil Pollution**, v. 80, p. 851-870, 1996.

MORAES, D.S.L.; JORDÃO, B.Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. **Revista Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 370- 374, 2002.

MORENO, R., et al. Seabird feathers as monitors of the levels and persistence of heavy metal pollution after the Prestige oil spill. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 10, p. 2454-2460, 2011.

MOSTARDEIRO, C.C. **Diversidade e dinâmica de comunidade de esponjas (Porifera, Demospongiae) em sistemas de arroz irrigado na planície costeira do Rio Grande do Sul**. 2008. 36 f. Dissertação (Mestrado em Diversidade e manejo de vida silvestre). Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo. 2008.

NAROSKI, T.; YZURIETA, D. **Aves da Argentina e Uruguay: Guía de identificación**. 16. ed. Buenos Aires, 2010.

NORAMBUENA, M.C.; BOZINOVIC, F. Health and nutritional status of a perturbed black-necked swan (*Cygnus melanocoryphus*) population: diet quality. **Journal of Zoo and Wild life Medicine: Official Publication of the American Association of Zoo Veterinarians**, v. 40, n. 4, p. 607-616, 2009.

PAIN, D. J. Lead in water fowl. In BEYER, W. N., HEINZ, G. H., REDMON-NORWOOD, A. W., (eds). **Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations**, USA, p. 251–264, 1996.

PAZ, A.R. **Análise dos principais fatores intervenientes no comportamento hidrodinâmico do banhado do Taim, RS**. 2003. 172 f. Dissertação (Mestrado em Recursos hídricos e saneamento ambiental), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

PEARCE, J. et al. The effects of dietary intake and of dietary concentration of copper sulphate on the laying domestic fowl: effects on some aspects of lipid, carbohydrate and amino acid metabolism. **British Poultry Science**, v. 24, p. 337-348. 1983.

PINHATTI, V.R. et al. Determinação de danos basais no DNA de araras Canindé (*Ara ararauna*) através do Teste de Micronúcleos: uma ferramenta na avaliação da saúde animal e seu uso no biomonitoramento da poluição ambiental. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, n. 3, p. 313-317, 2006.

RATTNER, B.A. et al. Concentrations of metals in blood and feathers of nestling in preys (*Pandion haliaetus*) in Chesapeake and Delaware Bays. **Archives Environmental Contamination Toxicology**, v. 54, p. 114–122, 2008.

RAMIREZ, A.; SALDANHA, P.H. Análise crítica de grupos controle no teste de micronúcleo em mucosa bucal. **Genética Molecular Biologia**, v. 21, n. 3, p. 140, 2002.

RIBAK, M.A.A. **Descripción de la patología “alas de ángel” en cisne de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*, molina 1782), en el Santuario de la naturaleza e investigación científica Carlos Anwandter, Valdivia, Chile**. 2005. 52 f. Disertación (Título de Médico Veterinário). Universidad Austral de Chile, Valdivia, 2005.

RIVERO, C.L.G. **Perfil da frequência de micronúcleos e dados ao DNA de diferentes espécies de peixes do Lago Paranoá, Brasília – DF, Brasil**. 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Molecular), Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

SCHEIFLER, R. et al. Lead concentrations in feathers and blood of common blackbirds (*Turdus merula*) and in earthworms inhabiting unpolluted and moderately polluted urban areas. **The Science of the Total Environment**, v. 371, n. 1-3, p.197–205, 2006.

SCHLATTER, R.P. et al. Demografy of Black-necked swans *Cygnus melanocoryphus* in three Chilean wetland areas. **Supplement**, n. 1, p. 88-94, 1991a.

SCHLATTER, R.P. et al. Reproductive biology of Black-necked swans *Cygnus melanocoryphus* at three Chilean wetland areas and feeding ecology at Rio Cruces. **Supplement**, n. 1, p. 268-271, 1991b.

SCHLATTER, R.P. et al. Effects of El Nino Southern oscillation on numbers of black-necked swans at Rio Cruces Sanctuary, Chile. **Waterbirds: The International Journal of Waterbird Biology**, v. 25. P.114-122, 2002.

SHAHBAZ, M. et al. Relationship between heavy metals concentrations in egret species, their environment and food chain differences from two head works of Pakistan. **Chemosphere**, v. 93, p. 274–282, 2013.

SICK, H. **Ornitologia Brasileira**. 3ª ed. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, 2001.

SILVA, C.P.; SCHLATTER, R.P.; SOTO-GAMBOA, M. Reproductive biology and pair behavior during incubation of the Black-necked swan (*Cygnus melanocoryphus*). **Ornitologia Neotropical**, v. 23, p. 555–567, 2012.

SNOEIJIS, T. et al. The combined effect of lead exposure and high or low dietary calcium on health and immune competence in the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). **Environmental Pollution**, v. 134, p. 123-132, 2005.

TALLOEN, W. et al. Feather development under environmental stress: lead exposure effects on growth patterns in Great Tits *Parus major*. **Bird Study**, v. 55, p. 108-117, 2008.

THOMSON, R.; VUKASOVIC, M.A.; ESCOBAR, M.A.H. Presencia de cisne de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) em la desembocadura del Río Maule, Chile Central. **Boletin Chileno de Ornitologia**, v. 15, n. 2, p. 94-97, 2009.

UDROIU, I. The micronucleus test in piscine erythrocytes. **Aquatic Toxicology**, v. 79, n. 2, p. 201–4, 2006.

VINE, M.F. Micronuclei. In: HULKA, B.S.; WILCOSKY, T.C. & GRIFFITH, J.D. (eds). **Biological markers in epidemiology**, New York: Oxford University, 1990.

ZHANG, Y. et al. Hepatic distribution of iron, copper, zinc and cadmium containing proteins in normal and iron overload. **Biometals**, v. 22, p. 251-259, 2009.

ZÚÑIGA-GONZÁLEZ, G. et al. Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds): part two. **Mutation Research**, v. 467, n. 1, p. 99–103, 2000.

ARTIGO

RELAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE METAIS PESADOS EM PENAS DE *Cygnus melanocoryphus* (ANATIDAE) COM O SEXO, A IDADE E A FORMAÇÃO DE MICRONÚCLEOS, NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DO TAIM, RS

Eunice Frühling dos Santos, Demétrio Luis Guadagnin, Adalto Bianchini,

Cecilia Irene Pérez Calabuig

RESUMO

O cisne de pescoço preto (*Cygnus melanocoryphus*) pertence à ordem Anseriforme, família Anatidae, da qual fazem parte cisnes, patos e gansos. É endêmico da América do Sul e está presente no Brasil, Paraguai, Uruguai, Argentina e Chile. No Brasil este cisne é encontrado na região sul, permanecendo durante o ano todo na Estação Ecológica do Taim (ESEC Taim). O objetivo do presente estudo foi identificar se as concentrações de cobre (Cu), cádmio (Cd) e chumbo (Pb) em amostras de penas tem relação com o sexo e a idade, determinar se a quantidade de micronúcleos varia com as concentrações de Cu, Cd e Pb e com a idade e sexo. Foram capturados 18 indivíduos de cisne de pescoço preto no verão de 2012 e 39 indivíduos no verão de 2013. Desses, 22 machos adultos, 19 fêmeas adultas, nove machos filhotes, quatro fêmeas filhotes e três filhotes com sexo indeterminado. Foram coletadas amostras de sangue e de penas. As amostras de sangue foram utilizadas para a sexagem molecular e confecção de lâminas citológicas para a análise de micronúcleos. As amostras de penas foram utilizadas para medir a presença dos metais pesados Cu, Cd e Pb. Foram encontradas diferenças significativas entre idades para as concentrações nas penas de Cu, Cd e Pb

($p < 0.05$). Não houve diferenças significativas entre o sexo e as concentrações em penas de Cu, Cd, Pb ($p > 0.05$). Não houve nenhuma relação entre a quantidade de micronúcleos com a concentração desses metais e com a idade e sexo ($p > 0.05$).

PALAVRAS-CHAVE: Anseriforme, cádmio, chumbo, cobre.

ABSTRACT

The black necked swan (*Cygnus melanocoryphus*) belongs to the Anseriforme order, Anatidae family, which includes swans, ducks and geese. This swan is endemic to South America and it is present in Brazil, Paraguay, Uruguay, Argentina and Chile. In Brazil this swan is found in the southern region, remaining throughout the year in Ecological Station Taim (ESEC TAIM). The objective of this study was to identify the concentrations of copper (Cu), cadmium (Cd) and lead (Pb) in feather samples is related to sex and age and determine the amount of micronuclei varies with the concentration of Cu, Cd and Pb and with age and sex. Were captured 18 individuals of black necked swan in the summer of 2012 and 39 individuals in the summer of 2013. Of these, 22 adult males, 19 adult females, nine chicks males, four chicks females and three chicks with indeterminate sex. Samples of blood and feathers were collected. The blood samples were used for sex molecular and preparation of cytologic slides for analysis of micronucleus. The feather samples were used to measure the presence of heavy metals Cu, Cd and Pb. Significant differences between ages were found for concentrations in feathers of Cu, Cd and Pb ($p < 0.05$). There was no significant differences between sex for concentrations in feathers of Cu, Cd and Pb ($p > 0.05$). There was no relationship between the amount of micronuclei in the concentration of these metals feathers and with age and sex ($p > 0.05$).

KEY-WORDS: Anseriforme, cadmium, copper, lead.

INTRODUÇÃO

O cobre (Cu) é um metal pesado essencial para a sobrevivência dos animais, participando como componente de proteínas, no entanto, níveis excessivos podem ser tóxicos (KOIVULA; EVA, 2010; ZHANG et al., 2009). Outros metais, como o cádmio (Cd) e o chumbo (Pb) são altamente tóxicos, mesmo em concentrações pequenas e não possuem nenhuma função nos animais (BATTAGLIA et al., 2005; DAUWE et al., 2005; KOIVULA; EVA, 2010). Os metais pesados se originam de resíduos de fontes antropogênicas, são provenientes principalmente de efluentes agrícolas, industriais e domésticos (FERREIRA et al., 2010; KIM; OH, 2012).

Nas aves os metais pesados podem prejudicar a saúde, afetando a reprodução, o sistema imune, o crescimento, o desenvolvimento do sistema nervoso e o comportamento, levando em casos extremos a morte (BURGER et al., 2008; TALLOEN et al., 2008; HA et al., 2009). Os metais podem ser bioacumulados nas penas, fígado, rins, ossos e ovos (GOUTNER et al., 2001; DAUWE et al., 2004; BURGER et al., 2007). Assim, a utilização de penas para o monitoramento das concentrações de metais pesados no ambiente, é um método adequado e são indicadores não destrutivos, de fácil coleta, armazenamento e transporte (JANSSENS et al., 2002; SCHEIFLER et al., 2006; JASPERS et al., 2009).

Os efeitos da contaminação por metais pesados nas aves podem ser avaliados através do teste de micronúcleos, pois é usado para detectar danos ao DNA induzidos por agentes tóxicos (UDROIU, 2006; LEMOS et al., 2008). Os micronúcleos são formações globulares de DNA, originados a partir de fragmentos cromossômicos inteiros, não incorporados ao núcleo da célula filha ao final do processo de divisão celular (FENECH et al., 1999; RAMIREZ; SALDANHA, 2002).

O cisne de pescoço preto (*Cygnus melanocoryphus*) é uma ave aquática, que pertence à ordem dos Anseriformes, família Anatidae (NAROSKI; IZURIETA, 2010). São animais herbívoros que possuem hábitos diurnos e passam a maior parte do tempo forrageando (CORTI; SCHLATTER, 2002). O cisne de pescoço preto é endêmico da América do Sul, e permanece durante o ano todo na ESEC Taim. (SCHLATTER et al., 1991; GONZÁLEZ-ACUÑA et al., 2010). A Estação Ecológica do Taim (ESEC Taim) é uma Unidade de Conservação Federal, com 11.000 hectares, localizada do sul do estado do Rio Grande do Sul, Brasil (ICMBio, 2013).

Essa região abriga um sistema de lagoas costeiras e ao seu limite norte, regiões adjacentes à Lagoa do Peixe, que são apontadas pela Convenção de Ramsar como uma das cinco áreas brasileiras de relevância internacional do ponto de vista ambiental (RAMSAR, 2006).

O presente estudo foi realizado na lagoa Mangueira, que fica parcialmente inserida na ESEC Taim, local que serve refúgio, nidificação e reprodução para essa espécie. Esse ambiente apresenta risco de contaminação por metais pesados, devido aos efluentes provenientes das lavouras de arroz irrigado que atuam no seu entorno e as descargas de derivados de petróleo de embarcações de pesca que atuam no seu interior. Foram obtidas amostras nos verões de 2012 e 2013 provenientes de indivíduos de *Cygnus melanocoryphus* capturados na Lagoa Mangueira. Os objetivos foram identificar se: a) as concentrações de Cu, Cd e Pb em amostras de penas de *C. melanocoryphus* variam de acordo com o sexo e a idade dos animais; b) a quantidade de micronúcleos varia com as concentrações de Cu, Cd e Pb c) a quantidade de micronúcleos varia com o sexo e a idade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

A Estação Ecológica do Taim (32°32'18,3"S, 52°32'21,8"W) está localizada no sul do Rio Grande do Sul, abrangendo os municípios de Rio Grande e Santa Vitória do Palmar. É uma área de grande importância ecológica, pois abriga uma enorme diversidade de espécies animais e vegetais. O clima é uma transição de subtropical a temperado úmido, apresentando uma média de temperatura anual de 12,1°C a 22°C e o solo arenoso suporta uma vegetação herbácea rasteira (CALLIARI, 1998, MALUF, 2000).

A ESEC Taim está inserida em uma matriz de lavouras de arroz e grande parte dos efluentes provenientes destas lavouras da zona sul é liberada nessa região. A água utilizada na orizicultura é captada da lagoa Mangueira e após é

devolvida juntamente com os defensivos agrícolas, que contém metais pesados. Além disso, na Lagoa Mangureira a pesca é uma atividade importante e intensiva, pois é uma forma de subsistência para as populações ribeirinhas, no entanto, as embarcações utilizadas na pesca liberam derivados do petróleo contendo metais pesados na lagoa.

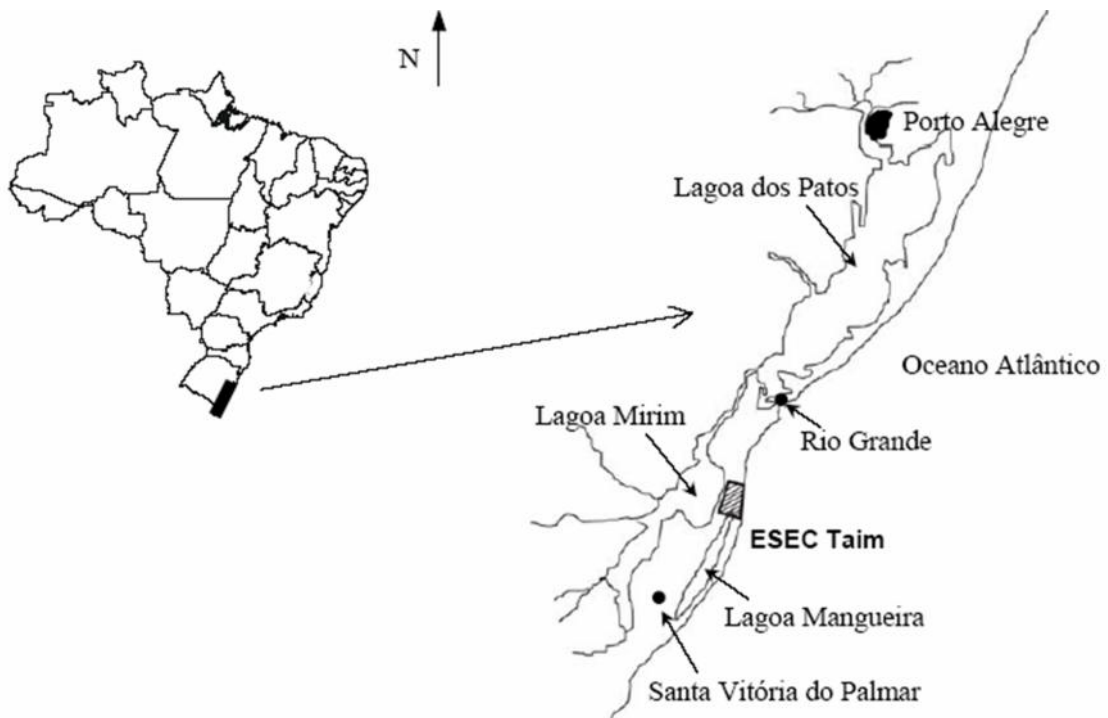


Figura 1. Mapa indicando a localização da ESEC Taim e Lagoa Mangureira.

Captura das aves

As capturas dos indivíduos de cisne de pescoço preto ocorreram nos meses de fevereiro e janeiro de 2012 e 2013, respectivamente. As capturas foram realizadas de forma manual, através de perseguição utilizando um barco, considerando que, no período de muda, os animais não conseguem alçar voo (CALABUIG et al., 2010a). Além disso, foram realizadas em época pós-reprodutiva, tornando-se mais fácil a captura e a amostragem de filhotes. A licença para captura e amostragem dos animais foi emitida pelo SISBIO sob o número 36325-3. Ainda,

para evitar repetições de amostragem por indivíduo, as aves foram anilhadas com anilhas metálicas fornecidas pelo CEMAVE através do número de licença 3407-2.

Foram capturados 18 indivíduos de cisne de pescoço preto em 2012 e 39 indivíduos em 2013. Desses, 22 machos adultos, 19 fêmeas adultas, nove machos filhotes, quatro fêmeas filhotes e três filhotes sem determinação do sexo. Todas as aves adultas capturadas apresentavam estágio avançado de muda (medida da nona pena superior a 80 mm). Após a captura os animais foram acondicionados em sacos de pano, onde permaneceram até a triagem, após a triagem os animais foram devolvidos para a lagoa.

Coleta de amostras

Os animais foram pesados com uma balança de 10 kg, para não ultrapassar o limite de segurança de extração de 1% da sua massa corporal (LUMEIJ, 1997). As amostras de sangue foram coletadas entre 10 h e 16 h para minimizar os efeitos do ciclo circadiano (CALABUIG et al., 2010b). Foram utilizadas seringas de 3 mL e o sangue foi extraído da veia metatarsal medial. O sangue para a sexagem molecular foi acondicionado em tubos eppendorf de 1,5 ml com heparina-lithium. Uma gota de sangue fresco de cada animal foi utilizada para fazer esfregaço em lâminas identificadas, para a análise de micronúcleos em eritrócitos. Foram coletadas penas de várias partes do corpo de forma manual durante a triagem do animal e acondicionadas em sacos plásticos, para a utilização na análise das concentrações de metais pesados.

Sexagem cloacal

O sexo dos animais adultos foi determinado primeiramente através de sexagem cloacal no campo e *a posteriori* através de sexagem molecular. O sexo dos filhotes foi determinado através de sexagem molecular. Todos os indivíduos adultos

foram sexados através da cloaca para a identificação de machos e fêmeas. A sexagem cloacal identifica os machos através de um sulco visível erétil, o pênis, na parede ventral da cloaca (MATHIASSEN, 1980; PROCTOR; LYNCH, 1993; BROWN et al., 2003).

Sexagem molecular

Para sexagem molecular as amostras de sangue foram analisadas no Centro de Biotecnologia (CenBiot), da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). A extração do DNA foi realizada de acordo com os procedimentos realizados por Lahiri e Nurnberger (1991). E o DNA foi amplificado utilizando indicadores descritos por He et al. (2005) para *Cygnus atratus*. As amplificações de PCR foram separadas em um gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio e visualizadas sob luz UV.

Determinação da idade

A idade foi determinada através da plumagem. Filhotes nascem com plumagem branca, passando para uma plumagem castanha acinzentada quando jovens (SCHLATTER et al.,2002). As aves adultas apresentam a plumagem completamente branca, com exceção do pescoço e cabeça que são totalmente de cor preta, e na parte superior da cabeça possuem uma carúncula avermelhada (PÉREZ, 2006, SCHLATTER et al.,2002).

Contagem de micronúcleos

Em laboratório as lâminas de esfregaço foram submetidas a um período de espera *overnight*, secando a temperatura ambiente para a fixação do material. Após,

a lâmina foi submersa em metanol (100%) durante 10 minutos, depois lavada com água destilada e corada com Giemsa (5%) durante 40 minutos, posteriormente foi lavada com água destilada e seca a temperatura ambiente (BÜCKER et al., 2006). As lâminas foram analisadas em microscópio óptico e resolução de 100 x através de teste cego contando-se 2500 células por lâmina, totalizando 5000 células por indivíduo (SOPEZKI et al., 2007).

Dosagem dos metais pesados em penas

As amostras de penas foram pesadas em balança de precisão de 0,01 g (peso úmido), após acondicionadas em tubos falcon. Em seguida foi realizado o processo de lavagem e limpeza das penas. Foram adicionados 5 ml de acetona aos tubos que continham as penas, misturado e depois a acetona foi descartada, esse processo foi repetido três vezes. Em seguida, foram adicionados 5 ml de água destilada aos tubos que foi misturada as penas, esse processo também foi repetido três vezes. Depois, os tubos sem tampa foram colocados na estufa a 50°C durante 48 horas para a secagem do material.

O material após a secagem foi pesado novamente (peso seco), e completamente digerido em 2 mL de HNO³ (65% - Suprapur, Merck, Haar, Germany) por 96 horas. Após esse período as amostras digeridas foram secas novamente em estufa (50°C) por 96 horas para evaporação do ácido e minimização dos possíveis efeito nas leituras. As amostras digeridas e secas foram então diluídas com 5 mL de água Milli-Q para posterior análise de Cu, Cd e Pb por espectrometria de absorção atômica por chama (AAS 932 Plus, GBC, Hampshire, IL, USA), como descrito previamente (BIANCHINI et al., 2003; PINHO et al., 2007; LOPES et al., 2011).

A concentração dos metais nas penas foi expressa em µg/g Peso Seco (PS). A leitura em espectrofotômetro de absorção atômica por chama dos metais pesados foi realizada no laboratório de Absorção atômica da Universidade Federal de Rio Grande (FURG).

Análise dos dados

Foi utilizado o programa STATISTIC 8 da Stat Soft. Os metais Cu, Cd e Pb e os dados de micronúcleos foram transformados em logarítmico para se aproximar de uma distribuição normal. Foi aplicada ANOVA para cada variável dependente (metais e micronúcleos), sendo a idade e o sexo as variáveis explicativas. Também foi aplicada uma ANOVA para cada variável dependente (metais e micronúcleos), sendo o sexo a variável explicativa. Foi feita uma MANOVA para saber se a interação entre sexo e idade influencia a concentração de metais e a quantidade de micronúcleos. Por fim, foi feita uma Regressão Simples para saber se a quantidade de micronúcleos está relacionada com as concentrações de metais, colocando como variável dependente os micronúcleos e variável independente as diferentes concentrações de metais. Após as análises os resíduos foram analisados para verificar a normalidade. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

RESULTADOS

Diferenças significativas foram observadas entre idades (adulto e filhote) para as concentrações nas penas de Cu ($N = 57$, $DF = 55$, $F = 5$, $p < 0,05$), de Cd ($N = 44$, $DF = 42$, $F = 4$, $p < 0,05$) e de Pb ($N = 50$, $DF = 48$, $F = 18,7$, $p < 0,05$). Nas figuras 2, 3 e 4 pode-se observar as concentrações (média \pm SE) de Cu, Cd e Pb em penas conforme a idade com escala de 0,1 $\mu\text{g/g}$. As médias das concentrações de Cu, Cd e Pb em penas de cisne de pescoço preto e as médias da quantidade de micronúcleos estão ilustradas na tabela 1, onde também podem ser observados o tamanho da amostra (N), o desvio, o erro padrão e as concentrações mínimas e máximas encontradas.

Não houve diferenças significativas entre os sexos nas concentrações de Cu, Cd e Pb ($p > 0,05$). Como também, não houve diferenças significativas entre sexo e idade nas concentrações dos metais pesados Cu, Cd e Pb ($p > 0,05$). Ainda, não foram observadas diferenças significativas entre a frequência de ocorrência de micronúcleos e a idade ou o sexo ($p > 0,05$). Não foi encontrada nenhuma relação

entre a frequência de ocorrência de micronúcleos e as concentrações dos metais pesados Cu, Cd e Pb ($p > 0,05$).

Tabela 1. Tamanho das amostras (N), estatísticas descritivas (média, desvio e erro padrão) e valores mínimos e máximos das concentrações de metais pesados Cu, Cd e Pb ($\mu\text{g/g PS}$) em penas de *C. melanocoryphus* e da quantidade de micronúcleos.

	Adulto	Filhote	Macho	Fêmea
	41	16	31	19
Cu				
Média	12,39	15,12	13,4	13,06
Desvio	2,75	6,08	5,11	2,9
Erro	0,43	1,52	0,92	0,67
Min-Max	6,19-20,23	10,47-31,81	6,19-31,81	9,07-20,23
Cd				
Média	0,16	0,33	0,23	0,21
Desvio	0,2	0,46	0,24	0,42
Erro	0,03	0,12	0,04	0,1
Min-Max	0,02-0,64	0,06-1,92	0,03-0,67	0,02-1,92
Pb				
Média	1,49	3,77	1,67	2,22
Desvio	1,51	1,89	1,82	1,66
Erro	0,24	0,47	0,33	0,38
Min-Max	0,24-6,53	0,47-7,25	0,48-6,53	0,24-7,25
Micronúcleos				
N	36	16	27	19
Média	1,88	2,31	2,33	1,57
Desvio	0,3	0,36	0,35	0,39
Erro	1,81	1,44	1,81	1,7

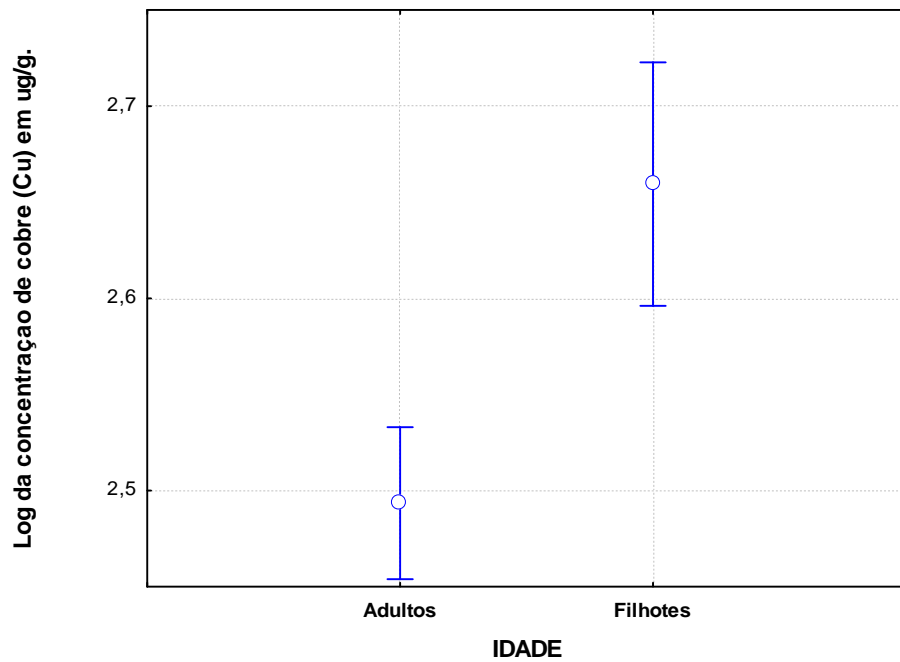


Figura 2. Concentrações de Cu ($\mu\text{g/g}$ PS) em penas de *C. melanocoryphus* em adultos e filhotes (média \pm SE e escala de 0,1 $\mu\text{g/g}$).

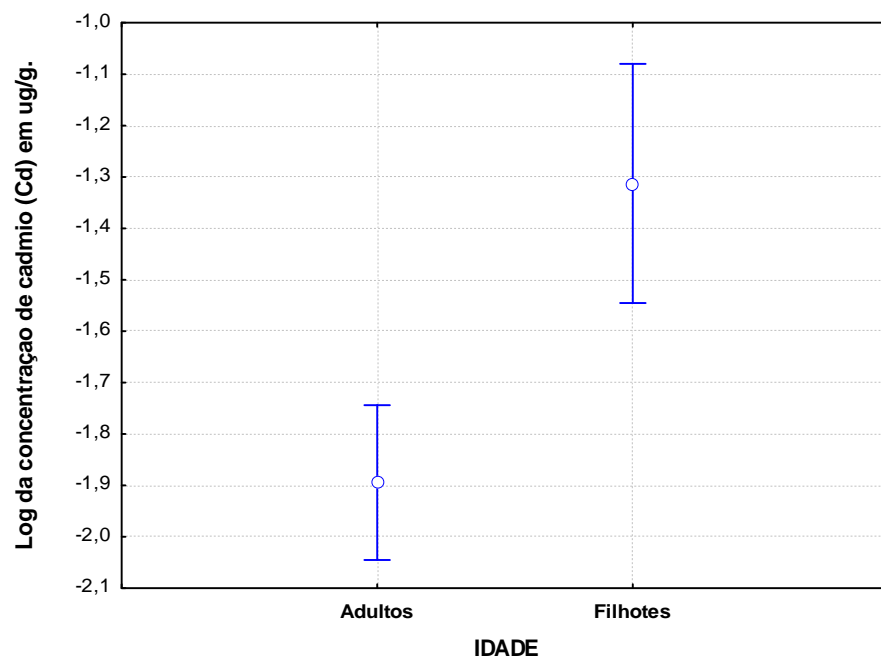


Figura 3. Concentrações de Cd ($\mu\text{g/g}$ PS) em penas de *C. melanocoryphus* em adultos e filhotes (média \pm SE e escala de 0,1 $\mu\text{g/g}$).

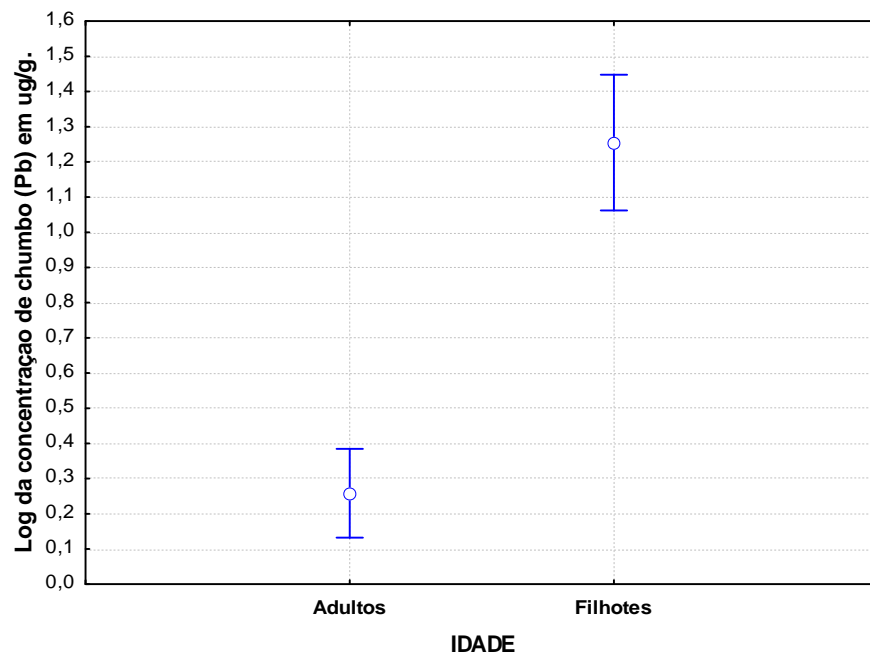


Figura 4. Concentrações de Pb ($\mu\text{g/g}$ PS) em penas de *C. melanocoryphus* em adultos e filhotes (média \pm SE e escala de 0,1 $\mu\text{g/g}$).

Concentração de metais pesado

DISCUSSÃO

Os metais pesados quando ingeridos pelas aves, pode acumular-se nos órgãos ou ser sequestrados pelas penas, ligando-se as moléculas de proteína nas penas durante o período de crescimento, quando estão conectadas a corrente sanguínea, o que demonstra a exposição local (LEWIS; FURNESS, 1991; MONTEIRO, 1996, DAUWE et al., 2003). Dessa forma, como as penas refletem a concentração de metais pesados durante o crescimento, os resultados do presente estudo refletem as concentrações dos metais pesados Cu, Cd e Pb presentes na lagoa. Visto que, os indivíduos de cisne de pescoço preto capturados estavam na lagoa a pelo menos quatro semanas, sendo que os filhotes tinham entre 45 e 75 dias, nasceram e permaneceram nesse local durante esse período. E os adultos

estavam em estado avançado de muda, devido ao tamanho da nona pena (superior a 80 mm), desta forma, não podendo se deslocar através do voo para outro local.

Os resultados deste estudo mostram que a maior concentração de Cu em penas de cisne de pescoço preto em adultos foi 20,23 µg/g PS e em filhotes foi 31,81 µg/g PS (tabela1). Conforme Kim e Koo (2008) concentrações de Cu em penas de 14,3 µg/g PS borrelho (*Charadrius alexandrinus*) e 13,3 µg/g PS pilrito-comum (*Calidris alpina*) não causam efeitos negativos nas aves. Moreno et al. (2011) encontraram concentrações de Cu de 16,7 µg/g PS em gaivota de patas amarelas (*Larus michahelli*) e de 11,5 µg/g PS em corvo marinho de crista (*Phalacrocorax aristotelis*), mas afirmam que os dados disponíveis sobre Cu são insuficientes para avaliar o impactos das concentrações detectados no estudo. Com base nesses dados, podemos inferir que o valor mais alto encontrado em filhotes de cisne de pescoço preto de 31,81 µg/g PS é elevado para esse metal, no entanto, não existem dados disponíveis sobre os efeitos de concentrações elevadas do Cu em penas de aves.

Em relação ao Cd, Burger (1993) sugere que as concentrações em penas que estão associadas a efeitos tóxicos e subletais variam entre 0,1 µg/g e 2,0 µg/g em aves. A maior concentração de Cd em penas de adultos foi de 0,64 µg/g PS e em filhotes foi de 1,92 µg/g PS. Efeitos subletais de chumbo e mercúrio em aves estão associados a concentrações de 4 µg/g a 5 µg/g em penas, entretanto, concentrações inferiores de Cd podem causar efeitos subletais (BURGER; GOCHFELD, 1994). Desta forma, os resultados indicam que as concentrações mais altas de cádmio em penas, encontradas em filhotes e adultos, podem causar efeitos tóxicos e subletais em cisne de pescoço preto. O cádmio em níveis tóxicos nas aves pode causar lesões no tecido intestinal e renal, alterações no comportamento, dano testicular e efeitos genotóxicos (FURNESS, 1996; AYLLON; GARCIA-VASQUEZ, 2000; BURGER et al., 2008).

As concentrações de Pb acima de 4 µg/g PS em penas está associada com envenenamento e intoxicação (BURGER; GOCHFELD, 2000a; MORENO et al., 2011). Concentrações de chumbo de 5 µg/g PS em penas de gaivota prateada (*Larus argentatus*) foram associados com comprometimento do crescimento e sobrevivência dos indivíduos estudados (BURGER; GOCHFELD, 1995). Neste estudo, a maior concentração em penas de Pb em adultos foi de 6,53 µg/g PS e em

filhotes foi de 7,25 µg/g PS (tabela 1). De acordo com a bibliografia, as concentrações mais altas encontradas de Pb em penas de cisne de pescoço preto estão elevadas podendo causar intoxicação e envenenamento, além de efeitos tóxicos. Segundo Burger e Gochfeld (2000b) e Katavolos et al. (2007) o Pb em concentrações elevadas pode afetar o desenvolvimento do sistema nervoso, reduzir o peso, o crescimento e a função metabólica, além de, interferir na capacidade de voo e na busca por alimento.

Metais pesados versus idade e sexo

Segundo Burger e Gochfeld (2000c) é esperado que adultos tenham concentrações maiores de metais pesados em penas do que filhotes, por causa do tempo de exposição e bioacumulação nos tecidos internos, que podem ser mobilizados do sangue para as penas. Entretanto, nossos resultados mostraram que existem diferenças significativas entre a idade (adultos e filhotes) e que as concentrações dos metais pesados Cu, Cd e Pb nas penas de cisne de pescoço preto foram maiores em filhotes (figuras 2,3,4).

Os adultos utilizam a lagoa Mangueira como local de muda. Segundo Dauwe et al. (2004), as penas podem desempenhar o papel tanto de armazenagem quanto de eliminação dos metais pesados. Ainda, as aves eliminam metais pesados do corpo através da plumagem durante o período de muda, podendo explicar a diferença de acumulação nas penas (BURGER, 1993; ELLIOT; SCHEUHAMMER, 1997). Essas informações poderiam explicar porque os adultos apresentam concentrações menores dos três metais pesados estudados. Como todos os indivíduos estavam em avançado estágio de muda, eles podem ter eliminado grande parte dos metais durante a troca de penas. Além disso, as concentrações menores de cádmio encontradas em adultos em relação aos filhotes, podem ser explicadas porque o cádmio é regulado metabolicamente em aves adultas e concentrações não aumentam com a idade (KOJADINOVIC et al., 2007).

Em relação aos filhotes capturados no nosso estudo, eles tinham entre 45 e 75 dias, o que demonstra que eles nasceram e permaneceram na lagoa nesse

período. As concentrações de Cu, Cd e Pb maiores em filhotes comparadas com as concentrações em adultos de cisne de pescoço preto, pode ter ocorrido porque os filhotes receberam parte dessas concentrações de metais ainda no ovo. A concentração de metais pesados em ovos reflete a ingestão de contaminantes pela fêmea um pouco antes da postura dos ovos (LEWIS et al., 1993; MONTEIRO e FURNESS, 1995; FURNESS, 1996; BURGER; GOCHFELD, 2000a). Além disso, concentrações de metais pesados maiores em filhotes podem ser resultado das diferenças das concentrações dos metais pesados nas diferentes proporções de alimentos que os pais e os filhotes consomem (BURGER; GOCHFELD, 2000b). Como também, os filhotes de aves podem acumular e excretar metais de formas diferentes, porque a dieta, metabolismo e fisiologia são diferentes (DAUWE et al., 2002).

No nosso estudo não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações dos metais pesados Cu, Cd e Pb em penas entre os sexos. Apesar das fêmeas de aves excretarem metais através dos ovos e cascas de ovos (BURGER, 1993, BURGER e GOLCHFELD, 1995; TOM et al., 2002; BURGER et al., 2008). Além disso, os indivíduos de cisne de pescoço preto foram capturados no período pós-reprodutivo, assim, as fêmeas já teriam eliminado metais através dos ovos a mais ou menos 60 dias. Ademais, alguns metais como o chumbo podem interagir com o cálcio e o magnésio, que são tratados de forma diferente em machos e fêmeas (DAUWE et al., 2002). Entretanto, como não houve diferenças significativas entre machos e fêmeas neste estudo, a interação entre os metais e o cálcio e magnésio não ocorreu. Ainda, a relação entre sexo e idade não influenciou a concentração dos metais em penas de cisne de pescoço preto.

Contagem micronúcleos

Os agentes genotóxicos causam danos ao DNA e podem acarretar lesões nas células e órgãos (RIVERO, 2007). No nosso estudo não houve diferenças significativas entre a quantidade de micronúcleos e a idade ou sexo, nem entre a

concentração de metais pesados. Desta forma, não se pode afirmar que a quantidade de micronúcleos está relacionada com as concentrações de metais.

Em adultos de cisne de pescoço preto foi encontrada uma média de 1,88 micronúcleos (MNs) (tabela 1) a cada 5.000 células, em filhotes uma média de 2,31 MNs (tabela 1) a cada 5.000 células. Entretanto, apesar dos filhotes terem apresentado uma maior quantidade de micronúcleos, essa diferença entre idades não foi significativa. Além disso, em machos foi encontrada uma média de 2,33 MNs e em fêmeas 1,57 MNs (tabela 1) a cada 5.000 células.

Pinhatti et al. (2006) realizaram um estudo que teve como objetivo determinar a quantidade de micronúcleos na Arara Canindé (*Ara ararauna*), os resultados demonstraram uma média de 0,57 micronúcleos a cada 2000 eritrócitos, concluindo que a espécie pode ser utilizada para o monitoramento de agentes tóxicos no ambiente. Zúñiga-González et al. (2000) realizaram um estudo buscando a quantidade de micronúcleos no sangue periférico de diferentes espécies, entre eles três espécies de *Cygnus* (*C. olor*, *C. buccinator* e *C. atratus*), que apresentaram uma quantidade de 0,2 micronúcleos a cada 10.000 eritrócitos para *Cygnus sp.* Entretanto, estudos utilizando aves como bioindicadores de contaminação ou poluição ambiental através do teste de micronúcleos são escassos.

Em nosso estudo, apesar das concentrações dos metais pesados Cu, Ca e Pb terem sido elevadas na penas de cisne de pescoço preto, a relação dos metais com os micronúcleos não foi significativa. Alguns organismos têm quantidades de micronúcleos próximas à zero em sangue periférico, isso porque, quando expostos a agentes tóxicos, esses organismos podem ser muito eficientes em retirar células com micronúcleos de circulação (ZÚÑIGA-GONZÁLES et al., 2000). Ainda, a perda de sensibilidade a um agente genotóxico pode ocorrer devido ao aumento das respostas fisiológicas a exposição crônica aos poluentes (THOMAS et al., 1999).

Essas informações poderiam explicar porque a frequência de micronúcleos não tem relação com as concentrações dos metais pesados. Além disso, um aumento na capacidade de reparo do DNA pode ocorrer, desta forma, as quebras de DNA não são convertidas em micronúcleos (BARBOSA et al., 2010). E em algumas espécies, o baço ou o retículo endotelial filtra o sangue, eliminando eritrócitos velhos que contenham micronúcleos (RAMÍREZ-MUÑOZ et al., 1999). Ainda, pode ocorrer o desenvolvimento de mecanismos adaptativos de tolerância ao estresse causado

por agentes tóxicos, que promovem o aumento da substituição dos eritrócitos micronucleados, para manter o sistema fisiológico em condições normais (MERSCH et al., 1996).

CONCLUSÕES

Foi observada uma diferença significativa entre as concentrações dos metais pesados Cu, Cd e Pb em penas de adultos e filhotes de cisne de pescoço preto, essas diferenças refletem a concentração desses metais na lagoa Mangueira. Apesar da literatura escassa disponível e da quase inexistência de literatura relacionada à contaminação de aves por metais pesados no Brasil, o presente estudo demonstrou que as concentrações dos metais pesados em penas são consideradas elevadas de acordo com a bibliografia consultada.

O nosso estudo demonstra que os indivíduos de cisne de pescoço preto podem estar sofrendo efeitos negativos, em virtude da exposição aos metais pesados, entretanto, mais estudos são necessários para entender quais os efeitos desses metais nessa população. A utilização de adultos em estágio inicial de muda e filhotes com menos dias de vida ou prestes a voar, poderia demonstrar melhor a relação entre as concentrações dos metais pesados com a idade. Além disso, a utilização de fêmeas em época pré-reprodutiva poderiam explicar melhor a relação entre a concentração de metais com o sexo.

REFERÊNCIAS

AYLLON, F.; GARCIA-VAZQUEZ, E. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in European minnow *Phoxinus phoxinus* and mollie *Poecilia latipinna*: an assessment of the fish micronucleus test. **Mutation Research**, v. 467, n. 2, p.177-186, 2000.

BARBOSA, J.S. et al. Genotoxicity assessment in aquatic environment impacted the presence of heavy metals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 3, p. 320–325, 2010.

BATTAGLIA, A. et al. Heavy metal contamination in little owl (*Athene noctua*) and common buzzard (*Buteo buteo*) from northern Italy. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, n. 1, p. 61-66, 2005.

BIANCHINI, A. et al. Biotic ligand model in fresh and sea water in Brazil. In: LAGOS, G.E.; WARNER, A.E.M.; SÁNCHEZ, M. (Eds.), **Copper 2003 - Health, environment and sustainable development**. Quebec, Canada. p. 43-552, 2003.

BURGER, J. Metals in avian feathers: bioindicators of environmental pollution. **Revist Environmental Toxicology**, v. 5, p. 203-311, 1993.

BURGER, J. et al. Mercury , arsenic , cadmium , chromium, lead and selenium in feathers of pigeon guillemots (*Cephus columba*) from Prince William Sound and the Aleutian Islands of Alaska. **Science of the Total Environment**, v. 387, p. 175-184, 2007.

BURGER, J. et al. Assessment of metals in down feathers of female common eiders and their eggs from the Aleutians: Arsenic, cadmium, chromium, lead, manganese, mercury and selenium. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 143, p. 247-256, 2008.

BURGER, J.; GOCHFELD, M. Lead, mercury, and cadmium in feathers from tropical terns in Puerto Rico and Australia. **Archive Enviromental Contamination e Toxicology**, v.21, p.311–315, 1991.

BURGER, J.; GOCHFELD, M. Behavioral impairments of lead-injected young herring gulls in nature. **Fundamental Applied Toxicology**, v. 23, p. 553-561, 1994.

BURGER, J.; GOCHFELD M. Growth and behavioral effects of early postnatal chromium and manganese exposure in herring gull *Larus argentatus* chicks. **Pharm Biochemical Behavior**, v.50,p.607-612, 1995.

BURGER, J.; GOCHFELD, M. Metals in albatross feathers from midway atoll: influence of species, age and nest location. **Environmental Research**, v. 82, n. 3, p. 207-221, 2000a.

BURGER, J.; GOCHFELD, M. Effects of lead on birds (*Laridae*): a review of laboratory and field studies. **Journal Toxicology Environment Health**, v. 3, p. 59-78, 2000b.

BURGER, J.; GOCHFELD, M. Metals in Laysan Albatrosses from Midway Atoll. **Environmental Contamination and Toxicology**, v. 259, p. 254–259, 2000c.

BROWN, A.W. et al. **Sexing Mute Swans *Cygnus olor* by discriminant analysis**. Ring & Migr. v. 21, p. 174–180, 2003.

BÜCKER, A.; CARVALHO, W.; ALVES-GOMES, J.A. Avaliação da mutagênese e genotoxicidade em *Eigenmannia virescens* (Teleostei: Gymnotiformes) expostos ao benzeno. **Acta Amazônica**, v. 36, n. 3, p. 357-364, 2006.

CALABUIG, C.P. et.al. Fenologia del Coscoroba (*Coscoroba coscoroba*) em sur de Brasil e sus movimientos hacia Argentina. **Ornitologia Neotropical**, v. 21, p. 555-566, 2010a.

CALABUIG, C.P. et al. Plasma alkaline phosphatase as a sensitive indicator of age and skeletal development in wild coscoroba swans. **Wildlife Research**, v. 37, n. 6, p. 504-511, 2010b.

CALLIARI, L.J. O ambiente e a biota do estuário da Lagoa dos Patos. In: SEELIGER, U.; ODEBRECHT, C.; CASTELLO, J.P. (Eds.). **Os ecossistemas costeiro e marinhos do extremo sul do Brasil**. Ecoscientia, p. 13-18, 1998.

CORTI, P.; SCHLATTER, R.P. Feeding ecology of the Black-necked swan *Cygnus melancoryphus* in two wetlands of southern Chile. **Neotropical Fauna and Environment**, v. 37, n. 1, p. 9-14, 2002.

DAUWE, T. et al. Great and blue tit feathers as biomonitors for heavy metal pollution. **Ecological Indicators**. v. 1, n. 4, p. 227–234. 2002.

DAUWE, T. et al. The effect of heavy metal exposure on egg size, egg shell thickness and the number of spermatozoa in blue tit *Parus caerulens* eggs. **Environmental Pollution**, v. 129, p. 125-129, 2003.

DAUWE, T. et al. Relationships between metal concentrations in great tit nest lings and their environment and food. **Environmental Pollution**, v. 131, n. 3, p. 373-380, 2004.

DAUWE, T. et al. Heavy-metal concentrations in female laying great tits (*Parus major*) and their clutches. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 49, p. 249-256, 2005.

ELLIOT, J.E.; SCHEUHAMMER, A.M. Heavy metal and metallothionein concentrations in seabirds from the Pacific coast of Canada. **Marine Pollution Boletim**, v.34, p.794-801, 1997.

FENECH, M. et al. The human micronucleus project-an international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. **Mutation Research**, v. 428, p. 271-283, 1999.

FERREIRA, A.P.; HORTA, M.A.P.; CUNHA, C.L.N. 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, 2010.

FURNESS, R.W. Cadmium in birds. In: BEYER, W.N., HEINZ, G.H., REDMON-NORWOOD, A.W. (Eds.). **Environment Contaminants in Wild Life**, p. 389-400, 1996.

GONZÁLEZ-ACUÑA, D. Checklist of the parasites of the black-necked swan, *Cygnus melanocoryphus* (Aves: Anatidae), with new records from Chile. **Zootaxa**, v. 68, p. 532-536, 2010.

GOUTNER, V.; PAPAGIANNIS, I.; KALFAKAKOU, V. Lead and cadmium in eggs of colonially nesting waterbirds of different position in the food chain of Greek wetlands of international importance. **The Science of the Total Environment**, v. 267, n.1/3, p. 169-176, 2001.

HA, M. et al. Low blood levels of lead and mercury and symptoms of attention deficit hyperactivity in children: a report of the children's health and environment research (CHEER). **Neuro Toxicology**, v. 30, p. 31-36, 2009.

HE, P.J. et al. Sex identification of Black Swan (*Cygnus atratus*) using the Locus-specific and Implications for this Reproduction. **Reproductin Domestic Animals**, v.40, n.3, p.196-198, 2005.

ICMBio. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/unidades-de-conservacao/biomas-brasileiros/marinho/unidades-de-conservacao-marinho/2257-esec-do-taim.html>>. Acesso em: 12 nov. 2013.

JANSSENS, E. et al. Inter and intra clutch variability in heavy metals in feathers of great tit nestlings (*Parus major*) along a pollution gradient. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 43, p. 323-329, 2002.

JASPERS, V.L.B. et al. Concentrations in bird feathers reflect regional contamination with organic pollutants. **The Science of the Total Environment**, v. 407, n. 4, p. 1447–1451, 2009.

LAHIRI, D.K.; NURNBERGER, J.I. Jr. A rapid non enzymatic method for the preparation of HMWDNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Research**.v. 19, n. 19, p. 5444, 1991.

LEMOS, D. et al. Biomonitoring of genotoxicity using micronuclei assay in native population of *Astyanax jacuhiensis* (Characiformes: Characidae) at sites under petrochemical influence. **Science of the total environmental**, v. 6, p. 3-9, 2008.

LEWIS, S.A.; FURNESS, R.W. Mercury accumulation and excretion by laboratory reared black-headed Gulls (*Larus ridibundus*) chicks. **Archives Environmental Contamination Toxicology**, v. 21, p. 316-320, 1991.

LEWIS, S.A.; BECKER, P.H.; FURNESS, R.W. Mercury levels in eggs, tissues and feathers of herring gull *Larus argentatus* from the German Wadden sea coast. **Environment Pollution**. v. 80, p.293–299.1993.

LOPES, T.M. et al. Mechanisms of copper accumulation in isolated mantle cells of the marine clam *Mesodesma mactroides*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 7, p. 1586–1592, 2011.

LUMEIJ, J. Avian clinical biochemistry. In: KANECO, J.J.; HARVEY, J.W.; BUSS, M.L. (eds). **Biochemistry of domestic animals**, Florida, p. 857–883, 1997.

KATAVOLOS, P. et al. The effect of lead poisoning on hematologic and biochemical values in trumpeter swans and Canada geese. **Veterinary Clinical Pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n. 4, p. 341-7, 2007.

KIM, J.; KOO, T.H. Heavy metal concentrations in feathers of Korean shore birds. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 55, n. 1, p. 122-128, 2008.

KIM, J.; OH, J. Ecotoxicology and Environmental Safety Metal levels in livers of waterfowl from Korea. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 78, p. 162–169, 2012.

KOJADINOVIC, J. et al. Trace Elements in Three Marine Birds Breeding on Reunion Island (Western Indian Ocean): Part 2—Factors Influencing Their Detoxification. **Archive Environment Contamination Toxicology**, v. 52, p.431-440, 2007.

KOIVULA, M.J.; EEVA, T. Metal-related oxidative stress in birds. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 7, p. 2359-2370, 2010.

MALUF, J.R.T. Nova classificação climática do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 8, n. 1, p. 141-150, 2000.

MATHIASSEN, S. Weight and growth rates of morphological characters of *Cygnus olor*. **Proceedings of the 2nd International Swan Symposium; 1980**. Sapporo, Japan, p 21–23, 1980.

MERSCH, J.; BEAUVAIS, M.N.; NAGEL, P. Induction of micronuclei in haemocytes and gillcells of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, exposed to clasto gens. **Mutation Research**, v. 371. p. 47-55, 1996.

MONTEIRO, L.R; FURNESS, R. W. Seabirds as monitors of mercury in the marine environment. **Water Air Soil Pollution**, v. 80, p. 851–870, 1995.

MONTEIRO, L.R. Seabirds as monitors of mercury in the marine environment. **Water Air Soil Pollution**, v. 80, p. 851-870, 1996.

MORENO, R. et al. Seabird feathers as monitors of the levels and persistence of heavy metal pollution after the Prestige oil spill. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 10, p. 2454–2460, 2011.

NAROSKI, T.; YZURIETA, D. **Aves da Argentina e Uruguay: Guía de identificación**. 16. ed. Buenos Aires, 2010.

PÉREZ, S.L.D. **Determinación de prevalencia de virus población de cisnes de Cuello negro (*Cygnus melancoryphus*) del sector “San Ramón” del Santuario de la naturaleza “Carlos Anwandter”, Valdivia**. 2006. 46 f Disertación (Título de Médico Veterinario). Universidad Austral de Chile, Valdivia, 2006.

PINHATTI, V.R. et al. Determinação de danos basais no DNA de araras Canindé (*Ara ararauna*) através do Teste de Micronúcleos: uma ferramenta na avaliação da saúde animal e seu uso no biomonitoramento da poluição ambiental. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, n. 3, p. 313-317, 2006.

PINHO, G.L.L., et al. Physiological effects of copper in the euryhaline copepod *Acartia tonsa*: water borne versus water borne plus diet borne exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 84, n. 1, p. 62–70, 2007.

PROCTOR; N.S.; LYNCH; P.J. **Manual of Ornithology: Avian Structure and Function**. New Haven: Yale University Press, 1993.

RAMIREZ-MUÑOZ, M.P. et al. Evaluation of micronucleus test in peripheral blood erythrocytes by means of the splenectomized model. **Laboratory Animal Science**, v. 49, p. 418–420, 1999.

RAMIREZ, A.; SALDANHA, P.H. Análise crítica de grupos controle no teste de micronúcleo em mucosa bucal. **Genética Molecular Biologia**, v. 21, n. 3, p. 140, 2002.

RAMSAR. **The List of Wetlands of International Importance**. Disponível em: <http://ramsar.org/key_guide_list2006_e.htm>. Acesso em: 14 jul. 2008.

RIVERO, C.L.G. **Perfil da frequência de micronúcleos e dados ao DNA de diferentes espécies de peixes do Lago Paranoá, Brasília – DF, Brasil**. 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Molecular), Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

SCHEIFLER, R. et al. Lead concentrations in feathers and blood of common blackbirds (*Turdus merula*) and in earthworms inhabiting unpolluted and moderately polluted urban areas. **The Science of the Total Environment**, v. 371, n. 1-3, p.197–205, 2006.

SCHLATTER, R.P. et al. Demography of Black-necked swans *Cygnus melanocoryphus* in three Chilean wetland areas. **Supplement**, n. 1, p. 88-94, 1991.

SCHLATTER, R.P. et al. Effects of El Nino Southern oscillation on numbers of black-necked swans at Rio Cruces Sanctuary, Chile. **Waterbirds: The International Journal of Waterbird Biology**, v. 25. P.114-122, 2002.

SOPEZKI, M.S. et al. Instabilidade Cromossômica detectada através do Teste de Micronúcleo em Pingüins de Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) em Recuperação. In: **Anais do XVI Congresso de Iniciação Científica**, UFPel, Pelotas, 2007.

TALLOEN, W. et al. Feather development under environmental stress: lead exposure effects on growth patterns in Great Tits *Parus major*. **Bird Study**, v. 55, p. 108-117, 2008.

THOMAS, R.E. et al. Lack of physiological responses to hydro carbon accumulation by *Mytilus trossulus* after 3–4 years chronic exposure to spilled Exxon Valdez crude oil in Prince William Sound. **Comparative Biochemistry and Physiology Toxicology Pharmacology**, v. 122, p. 153–163, 1999.

TOM, D. et al. Tissue levels of lead in experimentally exposed zebra finches (*Taeniopygia guttata*) with particular attention on the use of feathers as biomonitor. **Archive Environmental Contamination Toxicology**, v. 42, p. 88–92, 2002.

UDROIU, I. The micronucleus test in piscine erythrocytes. **Aquatic Toxicology**, v. 79, n. 2, p. 201–4, 2006.

ZHANG, Y. et al. Hepatic distribution of iron, copper, zinc and cadmium containing proteins in normal and iron overload. **Biometals**, v. 22, p. 251-259, 2009.

ZÚÑIGA-GONZÁLEZ, G. et al. Spontaneous micronuclei in peripheral blood erythrocytes from 54 animal species (mammals, reptiles and birds): part two. **Mutation Research**, v. 467, n. 1, p. 99–103, 2000.

CONCLUSÕES FINAIS

Foi observada uma diferença significativa entre as concentrações dos metais pesados Cu, Cd e Pb em penas de adultos e filhotes de cisne de pescoço preto, essas diferenças refletem a concentração desses metais na lagoa Mangueira. Não houve relação entre o sexo e a quantidade de micronúcleos com as concentrações dos metais pesados e nem entre a quantidade de micronúcleos com a idade e sexo. Apesar da literatura escassa disponível e da quase inexistência de literatura

relacionada à contaminação de aves por metais pesados no Brasil, o presente estudo demonstrou que as concentrações dos metais pesados em penas são consideradas elevadas de acordo com a bibliografia consultada.

O nosso estudo demonstra que os indivíduos de cisne de pescoço preto podem estar sofrendo efeitos negativos, em virtude da exposição aos metais pesados, entretanto, mais estudos são necessários para entender quais os efeitos desses metais nessa população. A utilização de adultos em estágio inicial de muda e filhotes com menos dias de vida ou prestes a voar, poderia adicionar informações a relação entre as concentrações dos metais pesados com a idade. Desta forma, a utilização de fêmeas em época pré-reprodutiva poderiam explicar melhor a relação entre a concentração de metais com o sexo. E a recaptura de indivíduos de cisne de pescoço preto poderia demonstrar variações nas concentrações de Cu, Cd e Pb e na quantidade de micronúcleos. Por fim, seria interessante adicionar a este estudo dados ambientais como análise de metais pesados na água e no sedimento da lagoa Mangueira.