



Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Urutaí
Programa de Pós-Graduação em Conservação de
Recursos Naturais do Cerrado

**POLUIÇÃO DE SOLOS DA BEIRA DE
ESTRADA AFETA A HOMEOSTASE REDOX E
COLINESTERÁSICA DE CUPINS *Cornitermes
cumulans* (KOLLAR, 1832)**

LUCAS EDUARDO MOREIRA ABADIA

Orientadora: Profa. Dra. Aline Sueli de Lima Rodrigues

Coorientador: Prof. Dr. Guilherme Malafaia Pinto

Urutaí, dezembro de 2021



Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano

Reitor

Prof. Dr. Elias de Pádua Monteiro

Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação e Inovação

Prof. Dr. Alan Carlos da Costa

Campus Urutaí

Diretor Geral

Prof. Dr. Paulo César Ribeiro Cunha

Diretor de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação

Prof. Dr. Anderson Rodrigo da Silva

Programa de Pós-Graduação em Conservação de Recursos Naturais do Cerrado

Coordenador

Prof. Dr. Daniel de Paiva Silva

Urutaí, dezembro de 2021

LUCAS EDUARDO MOREIRA ABADIA

**POLUIÇÃO DE SOLOS DA BEIRA DE ESTRADA AFETA A
HOMEOSTASE REDOX E COLINESTERÁSICA DE CUPINS
CORNITERMES CUMULANS (KOLLAR, 1832)**

Orientadora

Profa. Dra. Aline Sueli de Lima Rodrigues

Coorientador

Prof. Dr. Guilherme Malafaia Pinto

Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano -
Campus Urutaí, como parte das exigências do Programa
de Pós-Graduação em Conservação de Recursos Naturais
do Cerrado para obtenção do título de Mestre.

Urutaí (GO)
2021

Os direitos de tradução e reprodução reservados.

Nenhuma parte desta publicação poderá ser gravada, armazenada em sistemas eletrônicos, fotocopiada ou reproduzida por meios mecânicos ou eletrônicos ou utilizada sem a observância das normas de direito autoral.

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

Abadia, Lucas Eduardo Moreira
AAB116 Poluição de solos da beira de estrada afeta a
p homeostase redox e colinesterásica de cupins
Cornitermes cumulans (KOLLAR, 1832) / Lucas Eduardo
Moreira Abadia; orientadora Dra. Aline Sueli de Lima
Rodrigues; co-orientador Dr. Guilherme Malafaia
Pinto. -- Urutaí, 2021.
51 p.

Dissertação (Mestrado em Mestrado Profissional em
Conservação de Recursos Naturais do Cerrado) --
Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, 2021.

1. Contaminação de solos. 2. Estresse oxidativo.
3. Antioxidantes. 4. Cupins. 5. Rodovias. I.
Rodrigues, Dra. Aline Sueli de Lima, orient. II.
Pinto, Dr. Guilherme Malafaia, co-orient. III. Título.

Responsável: Johnathan Pereira Alves Diniz - Bibliotecário-Documentalista CRB-1 n°2376

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input checked="" type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: Infográfico estático | |

Nome Completo do Autor: Lucas Eduardo Moreira Abadia

Matrícula: 2020101330940120

Título do Trabalho: Poluição de solos da beira de estrada afeta a homeostase redox e colinesterásica de cupins *Cornitermes cumulans* (KOLLAR, 1832)

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: __/__/__

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Anápolis, 15 de janeiro de 2022.

Lucas Eduardo Moreira Abadia

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Aline Suely de Lima Rodrigues

Profª. Dra. Aline Suely de Lima Rodrigues
orientadora



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

FOLHA DE APROVAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Título da dissertação: Poluição de solos da beira de estrada afeta a homeostase redox e colinesterásica de cupins *Cornitermes cumulans* (KOLLAR, 1832).

Orientadora: Prof^ª Dra. Aline Sueli de Lima Rodrigues

Co-orientador: Prof. Dr. Guilherme Malafaia

Autor: Lucas Eduardo Moreira Abadia

Dissertação de Mestrado **APROVADA** em 20 de dezembro de 2021, como parte das exigências para obtenção do Título **MESTRE EM CONSERVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS DO CERRADO**, pela Banca Examinadora especificada a seguir:

Prof^ª Dra. Aline Sueli de Lima -
Orientadora

IF Goiano - Campus
Urutaí

Prof. Dr. Guilherme Malafaia - Coorientador

IF Goiano - Campus
Urutaí

Dra. Fernanda Neves Estrêla Resende

IF Goiano - Campus
Urutaí

Dra. Letícia Paiva de Matos

IF Goiano - Campus
Urutaí

Documento assinado eletronicamente por:

- **Letícia Paiva de Matos, Letícia Paiva de Matos - 2031 - PESQUISADORES DAS CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS - Instituto Federal Goiano (1)**, em 26/01/2022 10:01:14.
- **Fernanda Neves Estrêla Resende, Fernanda Neves Estrêla Resende - 2211 - BIÓLOGOS E AFINS - Instituto Federal Goiano (1)**, em 26/01/2022 08:43:03.
- **Guilherme Malafaia Pinto, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 26/01/2022 08:38:43.
- **Aline Sueli de Lima Rodrigues, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 26/01/2022 08:34:37.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 26/01/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 351194
Código de Autenticação: bba9cfb8f1



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Urutá
Rodovia Geraldo Silva Nascimento, Km 2,5, Zona Rural, None, URUTAI / GO, CEP 75790-000
(64) 3465-1900

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.
(Martin Luther King)

AGRADECIMENTOS

A **Deus** e a **Virgem Maria** pelo Dom da Vida e por ter me permitido percorrer essa etapa com saúde, força e acima de tudo Fé.

À **Jainny**, minha amada esposa, pela dedicação comigo com tanto carinho, entendendo minhas ausências e acreditando no meu potencial.

Aos meus queridos pais, **João Eduardo e Ezelina**, por todo o incentivo e apoio nas minhas decisões.

À **Profa. Dra. Aline Sueli**, por me receber sob sua orientação, pela acessibilidade e condução até a conclusão deste trabalho.

Ao meu coorientador, **Prof. Dr. Guilherme Malafaia**, por apontar o caminho quando tudo parecia perdido, pela disponibilidade, por todos os ensinamentos, incentivos e palavras confortantes demonstradas.

A todos os integrantes do **Laboratório de Pesquisas Biológicas** que me acolheram tão bem: Abner, Abraão, Amanda, Fernanda, Istênio, Lux, Mateus, Sandy, Sindoval, Thiarlen, e, em especial, quero agradecer ao Alex e o Italo por toda a ajuda desde o primeiro dia de campo, pela estadia e principalmente pelas conversas.

Ao amigo **Luccas Giovani** por me apresentar o PPG-CRENAC e pelo incentivo na continuação de minha formação.

À colega **Géssica Kaliny** pela parceria no desenvolvimento dos trabalhos durante o mestrado mesmo sem nos conhecermos pessoalmente.

Ao **Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí** e a todos os **professores do PPG-CRENAC**, por proporcionar ensino de qualidade.

Nenhuma conquista é individual, por isso minha gratidão a todos que contribuíram de alguma forma.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1. Controle de contaminação.....	17
2.2. Amostragem dos solos e dos animais.....	18
2.3. Extração de microfibras das amostras de solo	21
2.4. Avaliação das microfibras plásticas	21
2.5. Triagem de compostos orgânicos	22
2.6. Determinação de metais pesados.....	22
2.7. Biomarcadores de toxicidade	22
2.8. Análises dos dados.....	24
3. RESULTADOS	26
4. DISCUSSÃO	36
5. CONCLUSÃO.....	40
6. REFERÊNCIAS	41

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização geográfica das áreas em que os cupinzeiros e indivíduos adultos *Cornitermes cumulans* (operários) foram coletados para identificação de microfibras plásticas e possível associação com alterações bioquímicas. 19
- Figura 2.** (A) Circunferência, (B) altura, (C) área basal, (D) área da superfície epigeal, (E) volume epigeal e (F) distâncias das estradas de cupinzeiros (construídos por *Cornitermes cumulans*) em áreas com ou sem influência direta do tráfego de carros, localizadas entre os municípios de Urutaí e Pires do Rio (GO, Brasil) 27
- Figura 3.** (A) Número de microfibras de plástico suspeitas (MPFs)/kg de solo, (B) análise de correlação entre número de MPFs suspeitos/kg de solo e a distância entre os cupinzeiros e as estradas das áreas 2 e 3, (C) tamanho e (D-H) coloração das MPFs..... 28
- Figura 4.** Espectros ESI-Orbitrap MS obtidos após análise de solos de cupinzeiros (construídos por *Cornitermes cumulans*) amostrados na (A) área 1 - ASTC: área sem tráfego de carros, (B) área 2 - GRA: área de estrada de chão e (C) área 3 - RA: área de rodovia asfáltica - GO352/GO/Brasil, localizadas entre os municípios de Urutaí e Pires do Rio (GO, Brasil). 29
- Figura 5.** Concentrações de (A) cádmio (Cd), (B) chumbo (Pb), (C) ferro (Fe), (D) zinco (Zn) e (E) cobre (Cu) em amostras de solo de cupinzeiros (construídos por *Cornitermes cumulans*) amostrados nas diferentes áreas de estudo (Urutaí-Pires do Rio, GO, Brasil) 30
- Figura 6.** Níveis de (A) proteínas totais, (B) carboidratos solúveis totais, (C) colesterol total e (D) triglicérides em adultos *Cornitermes cumulans* (operários) capturados em cupinzeiros nas diferentes áreas de estudo (Urutaí-Pires do Rio, GO, Brasil)..... 32
- Figura 7.** Produção de (A) espécies reativas de oxigênio (ROS), (B) peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e de (C) nitrito, bem como a atividade da (D) superóxido dismutase (SOD) e (E) catalase (CAT) em adultos *Cornitermes cumulans* (operários) capturados em cupinzeiros nas diferentes áreas de estudo (Urutaí-Pires do Rio, GO, Brasil) 32
- Figura 8.** Atividade da acetilcolinesterase (AChE) em adultos *Cornitermes cumulans* (operários) capturados em cupinzeiros nas diferentes áreas de estudo (Urutaí-Pires do Rio, GO, Brasil)..... 33
- Figura 9.** Representações gráficas das análises de correlação e regressão linear observada entre os biomarcadores de estresse oxidativo/efeito colinesterásico e as concentrações de distintos metais pesados identificadas nas amostras de solo [(A) Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), (B) peróxido de hidrogênio (H_2O_2), (C) nitrito], da atividade das enzimas antioxidantes avaliadas [(D) superóxido dismutase (SOD) e (E) catalase (CAT)] e da (F) acetilcolinesterase (AChE)]. Cd: cádmio, Pb: chumbo, Fe: ferro, Zn: zinco e Cu: cobre..... 34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Coordenadas geográficas de cada sítio amostral onde ocorreu a coleta de solos de beira de estrada e de indivíduos adultos de <i>Cornitermes cumulans</i> (operários).....	20
Tabela 2. Sumário dos biomarcadores bioquímicos avaliados em cupins (<i>Cornitermes cumulans</i>) capturados em cupinzeiros de diferentes áreas localizadas nos municípios de Urutaí e Pires do Rio (GO, Brasil).....	23
Tabela 3. Sumário das análises de correlação e regressão linear realizadas entre os diferentes biomarcadores de toxicidade avaliados em <i>Cornitermes cumulans</i> e as concentrações de metais pesados nos solos dos cupinzeiros amostrados.....	35

Poluição de solos da beira de estrada afeta a homeostase redox e colinesterásica de cupins *Cornitermes cumulans* (KOLLAR, 1832)

RESUMO

Sabe-se que os solos de beira de estrada acabam sendo depósito de vários resíduos descartados por motoristas ou passageiros, bem como oriundos de escoamento de água de chuva. Entretanto, até o momento, não conhecemos os impactos que essa poluição causa nos animais que habitam esses ambientes. Assim, nosso objetivo foi avaliar o quanto a presença de microfibras plásticas (MPFs), compostos orgânicos e metais pesados afetam a homeostase redox e colinesterásica de adultos de *Cornitermes cumulans* (operários). Para isso, amostras de solos de cupinzeiros de três diferentes áreas (ASTC - área sem de tráfego de carros, AEC: área de estrada de chão e ARA: área de rodovia asfáltica) foram coletadas, assim como indivíduos de *C. cumulans*. Evidenciamos que as MPFs estiveram presentes em amostras de todas as áreas estudadas, sendo maior na ARA. Entretanto, isso não foi fator determinante para as alterações bioquímicas observadas. Independentemente da presença desses poluentes, os animais da ARA foram aqueles em que observamos maior produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e óxido nítrico (NO) (via nitrito), cuja maior atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) não foi suficiente para contrabalancear estresse oxidativo inferido pelos biomarcadores avaliados. Além disso, observamos aumento dos níveis de acetilcolinesterase (AChE) nesses mesmos animais, o que sugere efeito colinesterásico. Tais alterações foram correlacionadas positivamente com a contaminação das amostras de solo por Cd, Pb, Zn, Fe e Cu, bem como com a presença do composto 11,10-guaiane-type sesquiterpenoid, identificado apenas nos solos da ARA. Portanto, nosso estudo revela pioneiramente que a contaminação dos solos de beira de estrada constitui um estressor ambiental adicional às populações de *C. cumulans* que utilizam desses ambientes para construção de seus ninhos, o que reforça a necessidade de que maior atenção deve ser dada à poluição desses ambientes.

Palavras-chave: Contaminação de solos, Estresse oxidativo, Antioxidantes, Cupins, Rodovias, MPFs.

Pollution of road-side soils affects the redox and cholinesterasic homeostasis of terms *cornitermes cumulans* (KOLLAR, 1832)

ABSTRACT

It is known that roadside soils end up being a deposit of various residues discarded by drivers or passengers, as well as from rainwater runoff. However, so far, we do not know the impacts that this pollution causes on animals that inhabit these environments. Thus, our objective was to evaluate how the presence of plastic microfibers (MPFs), organic compounds and heavy metals affect the redox and cholinesterase homeostasis of adults of *Cornitermes cumulans* (workers). For this purpose, soil samples from termite mounds from three different areas (ASTC - area without car traffic influence, AEC: dirt road area and ARA: asphalt road area) were collected, as well as individuals of *C. cumulans*. We evidenced that MPFs were present in samples from all sampled areas, being higher in ARA. However, this was not a determining factor for the biochemical changes observed. Regardless of the presence of these pollutants, ARA animals were those in which we observed greater production of reactive oxygen species (ROS), hydrogen peroxide (H_2O_2) and nitric oxide (NO) (via nitrite), whose higher activity of superoxide dismutase enzymes (SOD) and catalase (CAT) was not enough to counterbalance the oxidative stress inferred by the evaluated biomarkers. Furthermore, we observed an increase in acetylcholinesterase (AChE) levels in these same animals, which suggests a cholinesterase effect. Such alterations were positively correlated with the contamination of soil samples by Cd, Pb, Zn, Fe and Cu, as well as with the presence of the compound 11,10-guaiane-type sesquiterpenoid, identified only in the soils of ARA. Therefore, our pioneering study reveals that roadside soils contamination constitutes an additional environmental stressor to *C. cumulans* populations that use these environments to build their nests, which reinforces the need for greater attention to be given to the pollution of these environments.

Keywords: Soil contamination, Oxidative stress, Antioxidants, Termites, Road, MPFs.

1. INTRODUÇÃO

A contaminação dos ambientes naturais pelos resíduos plásticos tem sido considerada um problema mundial (Wu et al., 2021). O elevado consumo atual de produtos à base de plásticos e seu consequente descarte no ambiente, têm permitido a disseminação de detritos de variados tamanhos, formas e composições químicas nos mais diversos compartimentos ambientais incluindo desde aqueles altamente antropizados (Li et al., 2020) até regiões remotas não ocupadas pelo homem (Evangeliou et al., 2020; Zhang et al., 2021; Yang et al., 2021) ou tecnicamente protegidas (González-Pleiter et al., 2020). Logo, esse cenário tem despertado a atenção de ecotoxicologistas do mundo todo, os quais têm reportado os efeitos prejudiciais desses detritos na saúde de diferentes organismos, com destaque para aqueles de origem marinha (Ugwu et al., 2021) e de água doce (Kukkola et al., 2021).

Entretanto, a poluição plástica não se restringe aos ambientes aquáticos. Distintos tipos de microplásticos (MPs) já foram identificados, por exemplo, em solos de vários tipos de uso da terra (Yang et al., 2021a; Corradini et al., 2021), como solo agrícola (Yu et al., 2021; Yang et al., 2021b), solo de parque natural (Brahney et al., 2020), e solo residencial (Choi et al., 2021). De acordo com Guo et al. (2020), as principais fontes de poluição plástica nos solos incluem áreas altamente urbanizadas, tráfego pesado e atividades industriais.

Assim, é presumível que a contaminação dos solos por partículas plásticas (de fontes difusas) ocasione impactos drásticos não apenas nas propriedades físicas, físico-químicas e químicas dos solos (De-Souza-Machado et al., 2019; Lian et al., 2021; Lozano et al., 2021), mas também efeitos prejudiciais sobre a biota terrestre (Al Malki et al., 2021; Vázquez & Rahman, 2021; Kim & Rillig, 2021).

Recentemente um campo que vem sendo explorado refere-se à identificação de pequenos MPs em solos de beira de estrada (Vogelsang et al., 2019; Rødland, 2019; Campanale et al., 2021). O descarte de material plástico pelos motoristas/passageiros, pneus e partículas de desgaste da estrada, poeira à beira da estrada ou ainda o escoamento gerado pelas chuvas, constituem fontes plausíveis de MPs nos solos de beira de estrada (Su et al., 2020; Campanale et al., 2021).

Estudos anteriores estimam que cerca de 50% dos pneus e partículas de desgaste da estrada permaneçam nos solos de beira de estrada, enquanto o restante é transportado pelo escoamento com altas concentrações de materiais plásticos (Hann et al., 2018; Unice et al., 2019). De acordo com Siegfried et al. (2017), os MPs depositados em solos de beira de estrada podem corresponder à mais de 40% das micropartículas plásticas que entram no ambiente aquático.

Outros poluentes já identificados em solos de beira de estrada incluem hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e hidrocarbonetos de petróleo (Garcia-Flores et al., 2016; Kim et al., 2019; Pilková et al., 2021; Ige et al., 2021), bem como diferentes elementos químicos de toxicidade conhecida como ferro (Fe), zinco (Zn), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e o cobre (Cu) (Szwalec et al., 2020; Parmar et al., 2021; Muhmood et al., 2021). Tais estudos, evidenciam que as fontes desses poluentes podem ser múltiplas, as quais incluem os usos de fertilizantes, pesticidas, dejetos de produção intensiva de bovinos, o escoamento gerado pelas chuvas (que acabam promovendo o depósito de vários poluentes nos solos de beira de estrada) e o desgaste natural das estradas constituídas de material asfáltico (Barros et al., 2021). Entretanto, a emissão de poluentes via combustão incompleta de combustíveis fósseis e por abrasão de pneus de borracha, superfícies de asfalto e lonas de freio, contribuem enormemente para o aporte ainda maior de compostos orgânicos e inorgânicos nos solos de beira de estrada (Wawer et al., 2015; Kumar et al., 2019; Nikolaeva et al., 2021).

No entanto, apesar dessas evidências, a avaliação da associação entre a poluição dos solos de beira de estrada (MPs, hidrocarbonetos e/ou metais pesados) e seus possíveis efeitos nos organismos, não têm sido foco da atenção de muitos estudos (Rødland, 2019), o que justifica nossa incompreensão sobre os impactos que esses poluentes causam na biota terrestre.

A maioria dos trabalhos além de terem sido conduzidos em laboratório (o que constitui, por si, um fator limitante para a extrapolação dos dados às condições reais), tem dado enfoque na toxicidade de vazamentos de pneus [e.g.: *Raphidocelis subcapitata*, *Daphnia magna* e *Xenopus laevis embryos* (Gualtieri et al., 2005), *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Ceriodaphnia dubia* e zebrafish eggs (Wik & Dave, 2009), *Pimephales promelas* (Marwood et al., 2011), *Aedes albopictus* (Villena et al., 2017), *Chironomus dilutus* (Panko et al., 2013), *Hyalella azteca* (Khan et al., 2019), *Enchytraeus crypticus*, *Folsomia candida* e *Porcellio scaber* (Selonen et al., 2021)].

Já os estudos de campo têm priorizado a avaliação dos efeitos da poluição dos solos de beira de estrada sobre algumas espécies vegetais (Nikolaeva et al., 2021) e sobre a comunidade microbiana (De-Silva et al., 2021). Logo, esse cenário denuncia não apenas a carência de estudos de campo que relacione a presença de poluentes orgânicos e inorgânicos nos solos de beira de estrada à saúde dos animais, como também a pouca atenção aos danos induzidos por outros tipos de partículas plásticas (além dos vazamentos de pneus) depositadas nesses ambientes.

As fibras microplásticas (MPFs), por exemplo, são o tipo de microplástico mais frequentemente detectado no ambiente natural (Phuong et al., 2016; Rebelein et al., 2021), incluindo os solos (Zhang et al., 2019; Guo et al., 2021a; Guo et al., 2021b). Mas, apesar disso, nenhum estudo até o momento foi desenvolvido visando a identificação dessas microfibras em solos de beira de estrada e seus possíveis efeitos sobre os organismos que habitam áreas próximas às estradas/rodovias.

Nesse sentido, objetivamos inicialmente identificar e quantificar as MPFs suspeitas (i.e.: falta caracterização química) presentes em cupinzeiros da espécie *Cornitermes cumulans* construídos em solos de beira de estrada, determinar as concentrações de Fe, Zn, Cd, Pb e Cu nas amostras e fornecer o perfil de compostos orgânicos presentes nestes ambientes.

Posteriormente, usamos os biomarcadores de toxicidade, pois são excelentes indicativos do grau de contaminação dos organismos (Oliveira, 2021) e testamos a hipótese da existência de uma estreita relação entre a contaminação dos solos dos cupinzeiros e possíveis alterações no estado nutricional, assim como na homeostase redox e colinesterásica de adultos de *Cornitermes cumulans* capturados em sítios com e sem influência do tráfego de carros.

Conforme discutido por De-Souza & Canello (2010) e Araujo et al. (2021), os cupins fazem parte da macrofauna edáfica e, devido aos diversos modos de alimentação e nidificação, podem atuar como agentes de decomposição ou pedogênese, além de estabelecerem interações simbióticas envolvendo microrganismos, outros invertebrados e até mesmo vertebrados e plantas. Logo, tais características conferem aos cupins um papel no funcionamento dos ecossistemas terrestres que vai muito além de um mero elo na cadeia alimentar, o que os caracterizam como bons indicadores da qualidade dos solos (Nithyatharani & Kavitha, 2018; Duran-Bautista et al., 2020a) e dos efeitos negativos de certas práticas de manejo nos serviços do ecossistema do solo (Duran-Bautista et al., 2020b).

Acreditamos que nosso estudo avança o conhecimento sobre as contribuições do tráfego de rodovias/estradas como fator que pode afetar a saúde desses animais e, conseqüentemente, suas populações naturais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Controle de contaminação

Para a realização de todas as etapas deste estudo adotamos rigorosos procedimentos para evitar potencial contaminação procedimental. Em síntese, todos os equipamentos/materiais utilizados, tais como vidrarias e instrumentos metálicos foram enxaguados em água purificada e em álcool etílico a 70% antes do uso, tendo sido imediatamente cobertos com papel alumínio até sua utilização apenas em capela de fluxo laminar, previamente higienizada e esterilizada. Além disso, todos os instrumentos antes do uso foram flambados, permitindo o derretimento de potenciais MPFs externas aderidas aos instrumentos. Além disso, equipamentos de proteção individual (tais como jalecos de laboratório (100% algodão) e luvas) foram utilizados pelos pesquisadores durante as etapas experimentais. As mãos enluvadas foram limpas com água purificada e álcool etílico a 70% antes da realização de cada etapa. As áreas de trabalho também foram mantidas higienizadas com desinfetantes e álcool etílico a 70% foi

utilizado na limpeza de todas as bancadas do laboratório e a área interna da capela de fluxo laminar. Durante a execução dos procedimentos experimentais a circulação de ar das áreas de trabalho foi desligada e o tráfego de pessoas foi restrito aos pesquisadores envolvidos no estudo. A coleta das amostras de solo foi realizada com a pá de metal e mantida em baldes de metal previamente enxaguados com água ultrapura.

Além disso, espaços em branco de procedimento foram gerados e processados ao lado de cada amostra de solo, adotando-se os mesmos procedimentos especificados no item “2.2”. Adicionalmente, membranas das amostras “branco” foram colocadas em placas de petri de vidro, as quais foram mantidas em diferentes pontos do ambiente laboratorial, servindo-nos para informar que a contribuição de contaminação do ar foi relativamente estável nos diferentes dias em que ocorreram a manipulação das membranas-testes. MPFs suspeitas aerotransportadas foram identificadas e contadas sob microscópio estereoscópico e submetidos também ao teste de agulha quente para verificação. Tais MPFs foram subtraídos das amostras porque os brancos procedimentais capturaram inerentemente qualquer entrada potencial desta fonte.

2.2. Amostragem dos solos e dos animais

Nosso estudo foi conduzido em três áreas que abrangeram os municípios de Urutaí e Pires do Rio, ambos localizados na região Sudeste do Estado de Goiás (Brasil). A área 1 (área sem trânsito de carros - ASTC) está localizada nas dependências do Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, afastada de rodovias/estradas vicinais, tendo sido considerada uma área “controle”, onde pressupomos menor impacto antropogênico (Figura 1). A área 2 (área de estrada de chão - AEC) compreendeu estradas de chão com pouco tráfego automobilístico, situadas na zona rural do município de Urutaí (GO, Brasil) (Figura 1). Já a área 3 (área de rodovia asfáltica - ARA) compreendeu o percurso de 20 km da rodovia GO-352 que interliga os municípios de Urutaí e Pires do Rio (GO, Brasil), a qual é caracterizada por malha asfáltica com intenso tráfego de carros, caminhões, ônibus, motocicletas etc. (Figura 1).

Em cada área, foram coletadas amostras de solo e cupins (Julho, 2021) de doze cupinzeiros ativos em distintos pontos, conforme especificado na Figura 1 e Tabela 1. A classificação dos cupinzeiros em “ativos” e “inativos” foi realizada com base em Antunes et al. (2012) e apenas cupinzeiros sem sinais de danos (fogo ou perfuração por possíveis predadores) e localizados até 10 m das estradas foram amostrados. A classificação taxonômica da espécie de cupim foi determinada combinando as características físicas do cupinzeiro e relatos publicados anteriormente por Araujo (1970), Mathews (1977) e Valério (2006). Apenas cupinzeiros construídos por indivíduos da espécie *Cornitermes cumulans* foram amostrados.

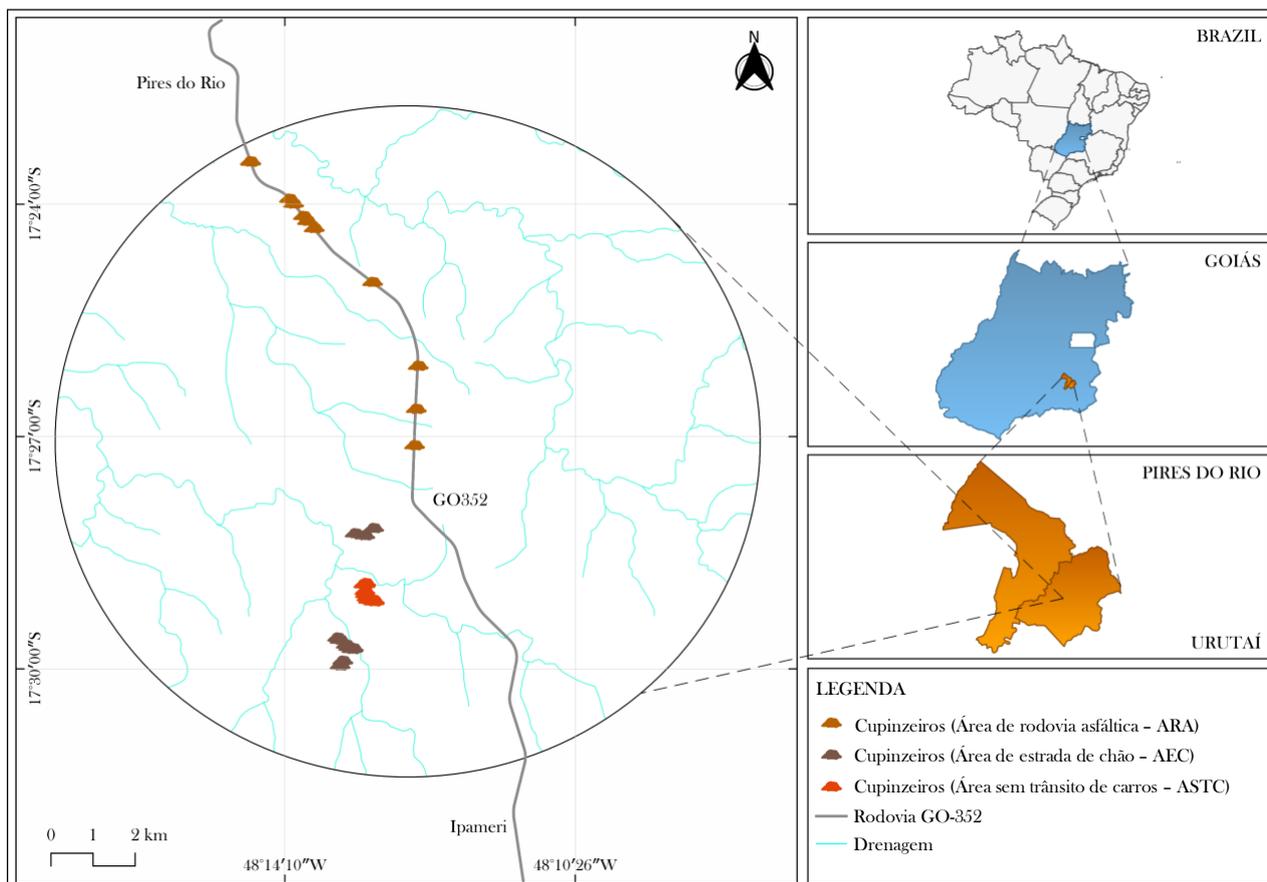


Figura 1. Localização geográfica das áreas em que os cupinzeiros e indivíduos adultos *Cornitermes cumulans* (operários) foram coletados para identificação de microfibras plásticas e possível associação com alterações bioquímicas.

Para cada cupinzeiro calculou-se a circunferência, altura, volume epigeal, área da superfície epigeal e área basal, de acordo com os procedimentos descritos em Nauer et al. (2018). Além disso, as distâncias do cupinzeiro amostrados nas áreas 2 e 3 (AEC e ARA) da estrada/rodovia foram registradas. Na sequência foi realizado o quarteamento do cupinzeiro para coleta de solo superficial (camada de aproximadamente 3 cm) e, em seguida, foi realizada perfuração (aproximadamente 30 cm) no termiteiro para a coleta dos animais. Apenas indivíduos classificados como “operários” foram capturados, em razão de exercerem diversas funções dentro da colônia [como cavar túneis, coletar alimento e cuidar das larvas, além de serem a maior parte dos indivíduos da colônia (Eggleton, 2010)]. Logo, esses indivíduos estão, presumidamente, mais susceptíveis ao contato direto com possíveis poluentes presentes nos solos de beira de estrada. As amostras de solo e os animais coletados foram armazenados em recipientes estéreis e previamente higienizados, tendo sido mantidos em gelo até a chegada no laboratório, quando então foram armazenadas em freezer -80°C até a realização das análises posteriores.

Tabela 1. Coordenadas geográficas de cada sítio amostral onde ocorreu a coleta de solos de beira de estrada e de indivíduos adultos de *Cornitermes cumulans* (operários).

Área sem tráfego de carros (ASTC)		Área de estrada de chão (AEC)		Área de rodovia asfáltica (ARA)	
Ponto amostral	Coordenadas geográficas	Ponto amostral	Coordenadas geográficas	Ponto amostral	Coordenadas geográficas
1	17°29'7.649"S 48°13'0.952"W	1	17°28'10.862"S 48°13'1.416"W	1	17°27'6.656"S 48°12'29.938"W
2	17°29'7.112"S 48°13'0.941"W	2	17°28'16.457"S 48°13'8.252"W	2	17°26'38.49"S 48°12'28.645"W
3	17°29'7.163"S 48°13'1.722"W	3	17°28'14.912"S 48°13'15.622"W	3	17°26'38.49"S 48°12'28.645"W
4	17°29'6.198"S 48°13'2.100"W	4	17°29'57.293"S 48°13'27.235"W	4	17°26'5.093"S 48°12'27.144"W
5	17°29'6.068"S 48°13'3.050"W	5	17°29'44.437"S 48°13'18.073"W	5	17°25'0.199"S 48°13'2.215"W
6	17°29'6.263"S 48°13'5.329"W	6	17°29'53.617"S 48°13'25.086"W	6	17°24'18.493"S 48°13'47.064"W
7	17°29'4.466"S 48°13'6.492"W	7	17°29'43.933"S 48°13'17.026"W	7	17°23'26.621"S 48°14'36.042"W
8	17°29'1.950"S 48°13'7.655"W	8	17°29'44.534"S 48°13'17.652"W	8	17°23'26.992"S 48°14'35.894"W
9	17°28'59.635"S 48°13'8.101"W	9	17°29'42.893"S 48°13'20.496"W	9	17°23'55.687"S 48°14'6.068"W
10	17°28'54.275"S 48°13'8.965"W	10	17°29'41.168"S 48°13'22.447"W	10	17°23'59.55"S 48°14'2.951"W
11	17°28'54.44"S 48°13'8.018"W	11	17°29'37.345"S 48°13'27.214"W	11	17°24'9.007"S 48°13'55.297"W
12	17°28'53.443"S 48°13'7.424"W	12	17°29'35.682"S 48°13'29.071"W	12	17°24'12.877"S 48°13'52.205"W

2.3. Extração de microfibras das amostras de solo

Para extração das MPFs suspeitas nos solos de beira de estrada, adotamos os procedimentos descritos em Scopetani et al. (2020), com pequenas modificações. As amostras foram maceradas para eliminação de torrões e todo material orgânico identificado como folhas e galhos foi removido. Em seguida, 1,5 g de cada amostra (3 réplicas de 0,5 g) foram introduzidos em tubos de fundo cônico. Posteriormente, adicionamos água purificada (filtrada em membrana de nitrocelulose (poro: 0,22 µm) até o volume de 10 mL e 3 mL de azeite de oliva (Setúbal, Portugal). Após isso, as amostras foram misturadas em agitador do tipo vórtex (por 2 min), incubadas em banho ultrassônico (por 20 min, temperatura ambiente) e novamente agitadas (por 2 min) para, em seguida, serem centrifugadas a 3000 rpm, por 5 min, em temperatura ambiente. Sequencialmente, as amostras foram armazenadas em freezer -80°C.

Após 4 h, as amostras foram retiradas do freezer e a base do tubo de fundo cônico foi removida com lâmina de aço aquecida e, sequencialmente, as camadas de sedimentação foram empurradas até a abertura do tubo para separação da camada de óleo das demais camadas (compostas de solução aquosa e solo). Em seguida, as camadas oleosas de cada amostra foram introduzidas em béqueres de vidro (previamente lavados com água ultrapura e flambados) e 5 mL de hexano P.A (padrão analítico). Filtrados em membrana de nitrocelulose de poro: 0,45 µm foram adicionados em cada béquer. Após agitação, a mistura foi filtrada em bomba a vácuo, utilizando membrana estéril de nitrocelulose (poro: 0,45 µm).

2.4. Avaliação das microfibras plásticas

Após a filtração, as membranas foram imediatamente analisadas em microscopia estereoscópica, conforme Dini et al. (2021). O microscópio utilizado possuía um sistema de câmera digital acoplado e foi posicionado no interior de uma capela de fluxo laminar, visando diminuir a potencial contaminação por partículas aéreas presentes no laboratório. A identificação, contagem e caracterização das MPFs suspeitas foi realizada a partir dos critérios descritos em Hidalgo-Ruz et al. (2012) e Barrows et al. (2017). Resumidamente, foram consideradas MPFs suspeitas aquelas que apresentaram (i) coloração homogênea, (ii) que quando pressionadas mantinham sua forma e não se desintegravam, (iii) que não continham estruturas celulares ou orgânicas como parte da sua estrutura e (iv) que apresentaram espessura equitativa ao longo da sua extensão. Além disso, cada MPFs suspeita foi submetida ao teste da agulha quente antes de ser contada, cuja validade procedimental tem sido demonstrada em vários estudos anteriores (Chinfak et al., 2021; Makhdomia et al., 2021; Huang et al., 2021; Athey & Erdle, 2021). Tal teste consiste em aquecer uma agulha hipodérmica de aço inoxidável com uma chama e imediatamente levá-la para perto das MPFs suspeitas. Quando próximas à agulha quente, apenas as MPFs derreterão nas bordas ou se enrolarão, diferentemente dos materiais

não-plásticos (Barrows et al., 2017). Apenas as MPFs que responderam ao teste da agulha quente foram contadas, tendo sido classificadas quanto à coloração e tamanho [utilizando o software Image], conforme Araújo et al. (2020)].

2.5. Triagem de compostos orgânicos

Pressupondo que as amostras de solos de beira de estrada também pudessem apresentar diferentes compostos orgânicos potencialmente tóxicos (oriundos, por exemplo, do escapamento de veículos), 2 g de solo foram pesados, transferidos para um tubo de vidro e misturados (em agitador do tipo vórtex) com 4 mL de diclorometano P.A. Após 15 min de repouso, 1 mL da fase orgânica foi coletada e concentrada em um concentrador SpeedVac. Posteriormente, as amostras foram suspensas com 1 mL de metanol P.A., centrifugadas (2000 rpm, 10 min, temperatura ambiente) e analisadas por ESI-Orbitrap MS. Todas as extrações foram realizadas em triplicata.

2.6. Determinação de metais pesados

Além disso, avaliamos as concentrações de Cd, Pb, Fe, Zn e Cu nas amostras de solo, considerando que a contaminação por metais pesados no solo à beira da estrada devido à emissão de tráfego foi reportada em estudos prévios (Aslam et al., 2013; Wang & Zhang, 2018; Maeaba et al., 2021; De-Silva et al., 2021). Para isso, 50 g de solo foram utilizadas para a determinação das concentrações dos referidos elementos via Espectrofotometria de absorção atômica (AAS) usando o método de Capar (1977). Além disso, a série de padrões de concentrações variáveis de cada metal analisado foram preparados para todos os cátions e seus valores de absorbância correspondentes foram registrados.

2.7. Biomarcadores de toxicidade

Para associarmos a presença dos poluentes nas amostras de solo à possíveis alterações bioquímicas nos cupins, diferentes análises foram realizadas com base em Malafaia et al. (2016). Para isso, piscinas de 10 cupins ($0,078 \text{ g} \pm 0,005 \text{ g}$ - média \pm SEM) oriundos de cada cupinzeiro amostrado (total de 120 cupins/grupo) foram lavados com água purificada filtrada em membrana de poro: 0,22 μm) e posteriormente transferidos para microtubos de fundo cônico (previamente higienizados, esterilizados e flambados). Em seguida, os animais foram macerados em 500 μL de PBS (pH 7,2), sendo o volume completado para 1 mL. Em seguida, as amostras foram centrifugadas (10000 rpm, 10 min, 4°C) e o sobrenadante foi coletado para posterior análises bioquímicas.

Os biomarcadores de toxicidade preditivos de desbalanço redox foram: produção de espécies reativas ao oxigênio (ROS), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e óxido nítrico (NO) [via produção de nitrito (NO_2^-)], bem como a atividade da superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), consideradas

enzimas da primeira linha de defesa antioxidante dos organismos (Ighodaro & Akinloye, 2018) (Tabela 2). Além disso, os níveis de proteínas totais, carboidratos solúveis totais, colesterol total e triglicerídeos foram avaliados, pressupondo que os animais capturados de cupinzeiros contendo MPFs apresentavam alterações no metabolismo energético. Já a atividade da acetilcolinesterase (AChE), tida como enzima primária responsável pelo metabolismo hidrolítico do neurotransmissor acetilcolina (ACh) em colina e acetato, foi avaliada pressupondo indícios de neurotoxicidade induzida pelos poluentes presentes nos solos de beira de estrada. A Tabela 2 sumariza os procedimentos metodológicos adotados na avaliação dos biomarcadores de toxicidade supramencionados.

Tabela 2. Sumário dos biomarcadores bioquímicos avaliados em cupins (*Cornitermes cumulans*) capturados em cupinzeiros de diferentes áreas localizadas nos municípios de Urutaí e Pires do Rio (GO, Brasil).

Biomarcadores de estresse oxidativo				
	Volume do sobrenadante utilizado	Reagentes e volumes utilizados	Comprimento de onda da leitura das amostras¹	Referência base para a realização das avaliações
Nitrito [medida indireta de óxido nítrico (NO)]		150 µL de reagente de Griess	492 nm	Bryan & Grisham (2007)
Hydrogen peroxide (H ₂ O ₂)	10 µL	100 µL solução tampão (PBS) 100 µL solução molibdato de amônio (0,5% w/v)	405 nm	Elnemma (2004)
Espécies reativas de oxigênio (ROS)	20 µL	200 µL solução tampão (PBS) 8,3 µL diacetato de diclorofluoresceína (10 mg/mL)	492 nm	Maharajan et al. (2018)
Biomarcadores antioxidantes				
Catalase (CAT) ²	8 µL	240 µL de solução de reação (ácido acético glacial PA + dicromato de potássio a 5%) Phosphate buffered saline Piragalol (15 mM)	630 nm	Sinha (1972)
Superóxido dismutase (SOD) ²	30 µL	Brometo de (3-[4,5-dimetiltiazol-2H]-2,5-difeniltetrazolium) (1,25 mM) Dimetilsulfóxido P.A	630 nm	Del-Maestro & McDonald (1987)

Biomarcadores de efeito colinésterásico				
Acetylcholinesterase (AChE)	50 µL	100 µL de solução de acetilcolina (0,75 mg/mL) 100 µL de solução de DTNB ¹ (0,13 mg/mL))	405 nm	Ellman et al. (1961)
Biomarcadores de estado nutricional				
Carboidratos solúveis totais	100 µL	100 µL solução de fenol (5%) 500 µL de ácido sulfúrico P.A.	630 nm	Dubois et al. (1956)
Triglicerídeos	2 µL	200 µL de solução de uso ⁵	492 nm	Commercial kit (CAS number: BT1001000)
Colesterol total	2 µL	200 µL de solução de uso ⁶	492 nm	Commercial kit (CAS number: BT1000400)
Proteínas totais	2 µL	200 µL reagente de trabalho ⁷	492 nm	Commercial kit (CAS number: BT1000900)

¹As leituras foram realizadas em leitor de ELISA.

²Estas moléculas são consideradas defesas antioxidantes de primeira linha, importantes para prevenir o estresse oxidativo fisiológico.

³Solução de trabalho: tampão fosfato (pH 7,0 a 500mM, contendo 5mM EDTA), glutationa redutase (100 UN) e solução de DTNB (0,15 mg/L).

⁴DTNB: 5,5'-Dithiobis-(2-Nitrobenzoic Acid).

⁵Os resultados das análises de todos os biomarcadores foram expressos de forma proporcional à concentração de proteínas totais nos órgãos avaliados.

⁶Composição da solução de uso: 1,4-Piperazinediethanesulfonic acid (PIPES) (45 mmol/L); 4-clorofenol (6 mmol/L); cloreto magnésico (5 mmol/L); lipase (100 U/mL); glicerol quinase (1,5 U/mL); glicerol-3-fosfato oxidase (G3P) (4 U/mL); peroxidase (POP) (0,8 U/mL); 4-aminoantipirina (AAP) (0,75 mmol/L) e ATP (0,9 mmol/L, pH 7,0).

⁷Composição da solução de uso: 1,4-Piperazinediethanesulfonic acid (PIPES) (35 mmol/L); colato sódico (0,5 mmol/L); fenol (28 mmol/L); colesterol esterase (0,2 U/mL); colesterol oxidase (0,1 U/mL); peroxidase (0,8 U/mL) e 4-aminoantipirina (0,5 mmol/L, pH 7,0).

⁸Composição do reagente de trabalho: sulfato de cobre (5 mmol/L); tartarato de sódio e potássio (20 mmol/L); iodeto de potássio (10 mmol/L); hidróxido de sódio (0,1 mol/L) e detergente.

2.8. Análises dos dados

Inicialmente todos os dados obtidos em nosso estudo foram avaliados quanto aos pressupostos para utilização de modelos paramétricos. Para isso, utilizamos o teste de Shapiro-Wilk para avaliação da distribuição dos dados residuais e o teste de Bartlett foi utilizado para avaliação da homogeneidade das variâncias. As características gerais dos cupinzeiros, o comprimento e o número de MPFs suspeitas identificados nas distintas áreas foram comparadas por meio da one-way ANOVA (com pós-teste de Tukey) ou Kruskal-Wallis (com pós-teste de Dunn's). As distâncias médias entre os cupinzeiros e as estradas foram comparadas pelo teste t de Student. Por outro lado, a two-way ANOVA foi utilizada

para avaliação dos efeitos isolados ou interação entre os fatores “contaminação” (dois níveis: presença ou ausência de MPFs suspeitas) e “área” (três níveis: ASTC, AEC e ARA) sobre as respostas bioquímicas dos cupins capturados nos distintos sítios amostrais. Além disso, para alguns parâmetros avaliados foram realizadas análises de correlação via coeficiente de correlação de Pearson (para dados paramétricos) ou de Spearman (para dados não paramétricos), bem como análise de regressão linear. Para todas as análises, consideramos o nível de significância de 95% ($p \leq 0,05$), tendo sido utilizado o software GraphPad Prism (versão 7.0).

3. RESULTADOS

Inicialmente, observamos que os cupinzeiros amostrados nas diferentes áreas (ASTC, AEC e ARA) não diferiram quanto à circunferência (Figura 2A), altura (Figura 2B), área basal (Figura 2C), área da superfície epigeal (Figura 2D) e volume epigeal (Figura 2E), embora na área 2 (AEC) os cupinzeiros tenham sido coletados mais distantes da estrada (Figura 2F). Além disso, identificamos MPFs suspeitas nas amostras de solo de todas as áreas investigadas. No entanto, o número de MPFs suspeitas/kg solo dos cupinzeiros das áreas 2 (AEC) e 3 (ARA) foi 20% e 50,5% superior (respectivamente) ao observado nos cupinzeiros da área localizada distante do tráfego de carros (área 1: ASTC) (Figura 3A). Já as amostras coletadas na área 3 (ARA) apresentaram MPFs suspeitas 25,4% superiores àquelas da área 2 (AEC) (Figura 3A). Entretanto, esses resultados não foram correlacionados com a localização dos cupinzeiros em termos de suas distâncias das estradas (Figura 3B). Além disso, o tamanho médio das MPFs suspeitas não diferiu entre as áreas estudadas (Figura 3C) (média geral de $1,36 \text{ mm} \pm 0,14$; média \pm SEM), cujas cores predominantes foram azul, seguida de vermelho, preto e transparente (Figura 3D-H).

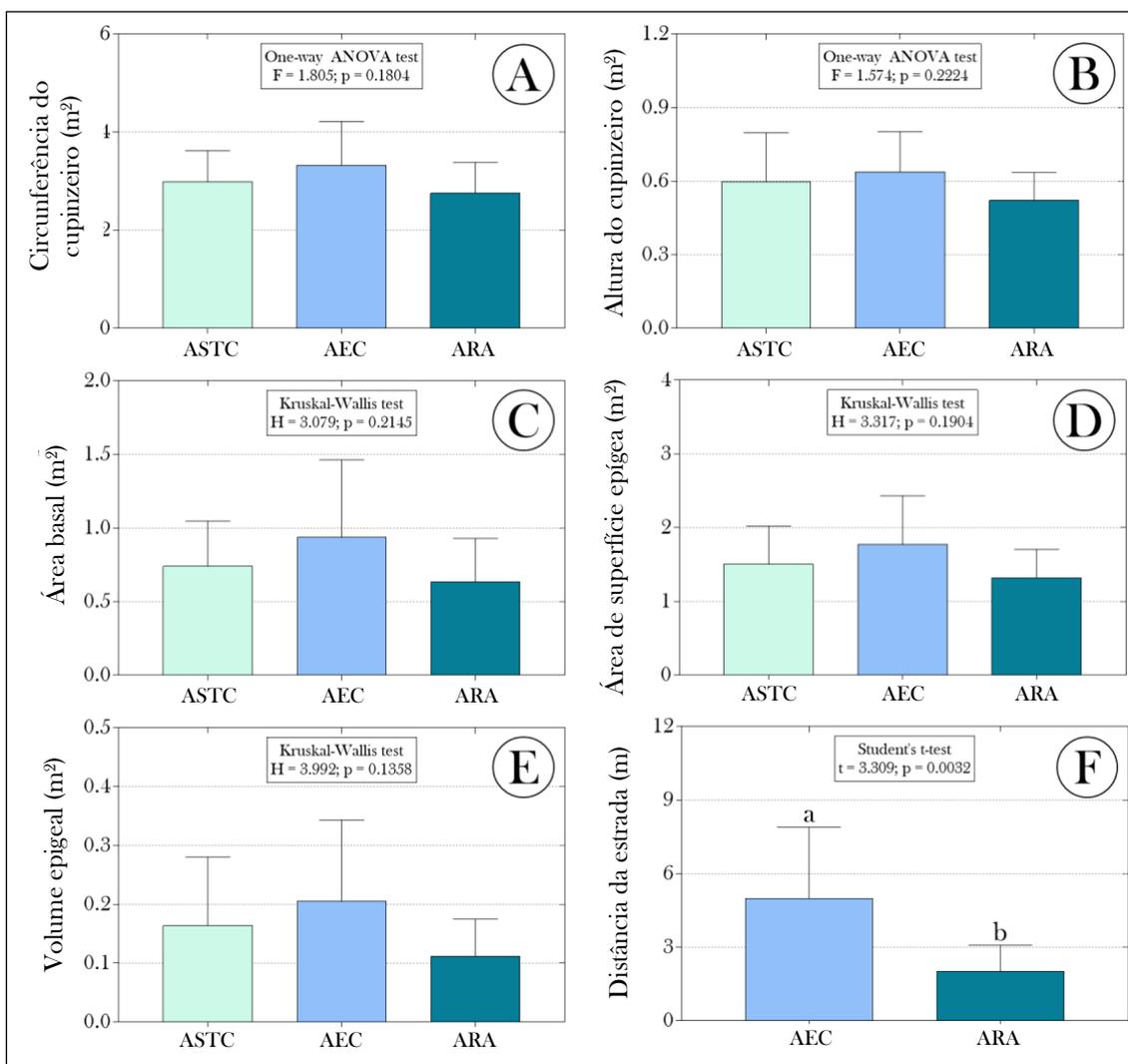


Figura 2. (A) Circunferência, (B) altura, (C) área basal, (D) área da superfície epigeal, (E) volume epigeal e (F) distâncias das estradas de cupinzeiros (construídos por *Cornitermes cumulans*) em áreas com ou sem influência direta do tráfego de carros, localizadas entre os municípios de Urutaí e Pires do Rio (GO, Brasil). As barras representam a média + SD (desvio padrão) dos dados obtidos (n=12 cupinzeiros/área estudada), os quais foram submetidos à diferentes testes estatísticos (vide sumário estatístico na parte superior dos gráficos). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os grupos. ASTC: área sem tráfego de carros (área 1), AEC: área de estrada de chão (área 2) e ARA: área de rodovia asfáltica - GO352/GO/Brasil).

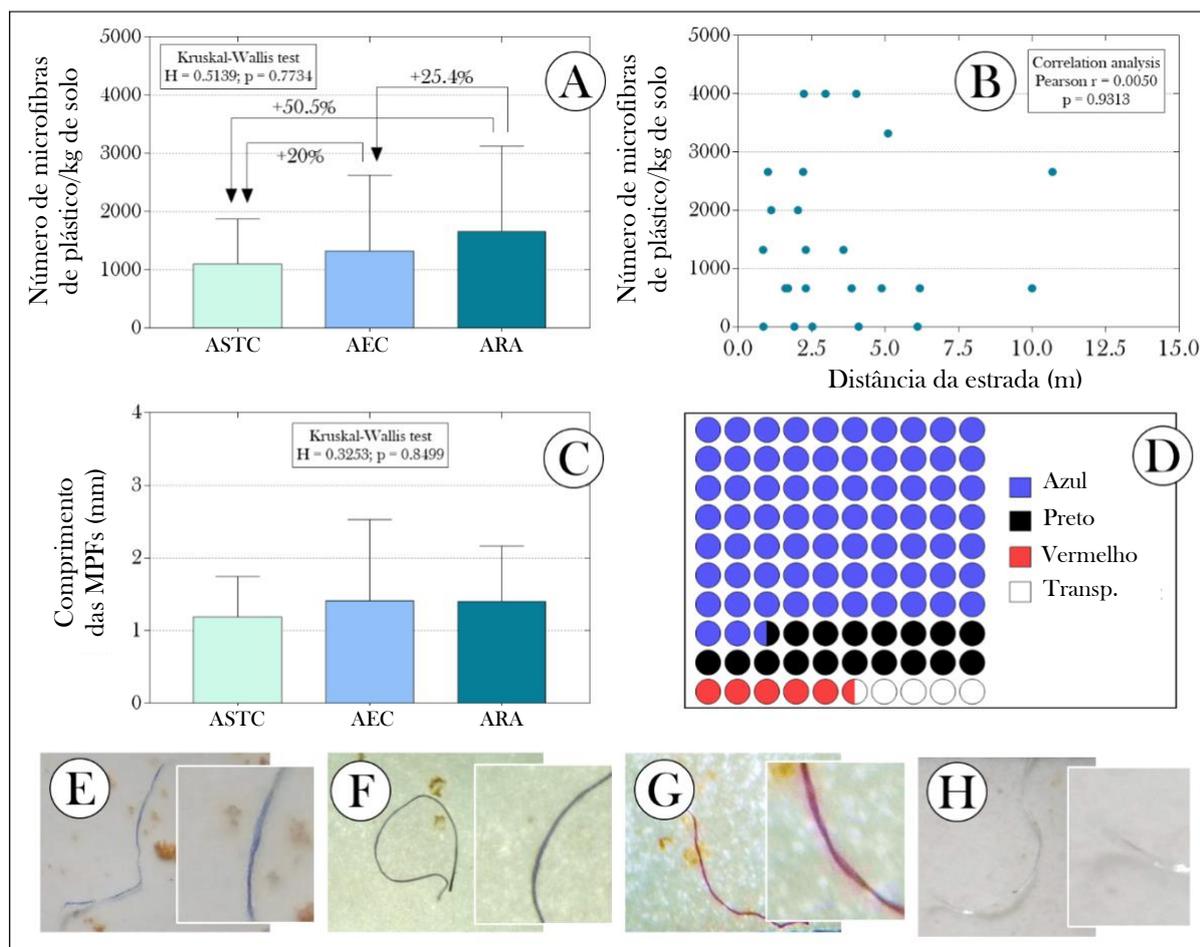
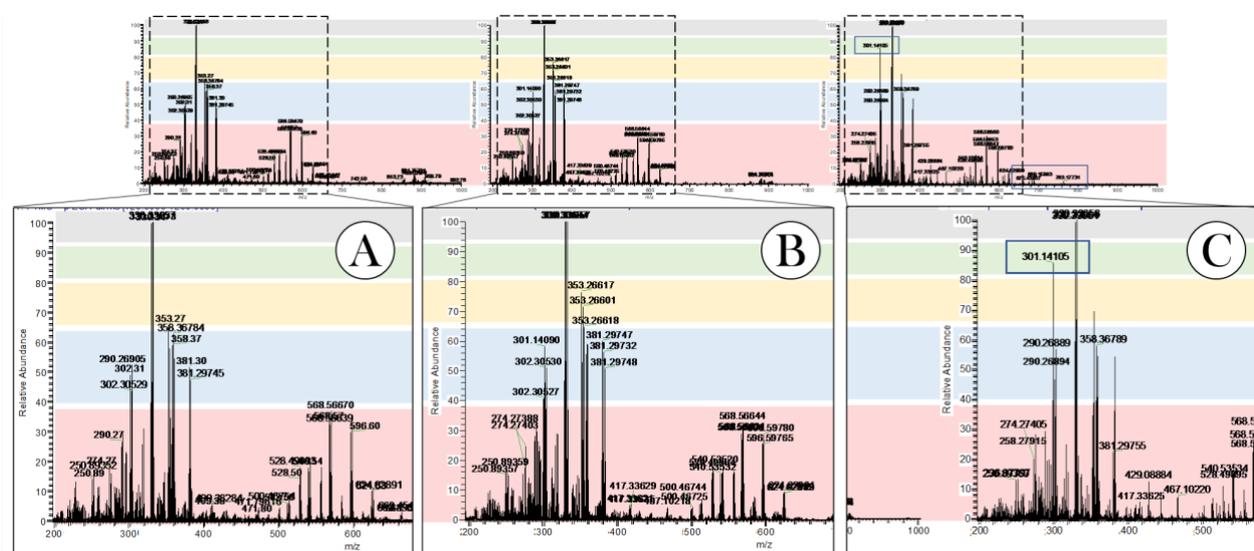


Figura 3. (A) Número de microfibras plásticas suspeitas (MPFs)/kg de solo, (B) análise de correlação entre número de MPFs suspeitos/kg de solo e a distância entre os cupinzeiros e as estradas das áreas 2 e 3, (C) tamanho e (D-H) coloração das MPFs. Em “A” e “C”, as barras representam a média + SD dos dados obtidos, os quais foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, a 5% de probabilidade (vide sumário estatístico na parte superior dos gráficos). ASTC: área sem tráfego de carros (área 1), AEC: área de estrada de chão (área 2) e ARA: área de rodovia asfáltica - GO352/GO/Brasil).

Nossas análises via ESI-Orbitrap MS também evidenciaram a presença de diferentes compostos orgânicos nas amostras de solo de beira de estradas, sendo a maioria comuns às áreas 1, 2 e 3, conforme notória similaridade entre os espectros apresentados na Figura 4. Como exemplos, citam-se o dibutil (dodecil) oxidânio (pico em m/z 330,33666 ($[M + Na]^+$, $C_{20}H_{44}O_2N$), éter hidroxitetradecano (peak at m/z 302,30539 ($[M + Na]^+$, $C_{18}H_{40}O_4O_2N$), sódio; 1,3-dihidroxiopropan-2-il octadecanoato (pico em m/z 381,2976 ($[M + Na]^+$, $C_{21}H_{42}O_4Na$) e [(2S,3S,4R)-1,3,4-trihidroxi-hexadecan-2-il] azânio (pico em m/z 290,26896 ($[M + Na]^+$, $C_{16}H_{36}O_3N$). Entretanto, o composto 11,10-guaiane-type sesquiterpenoid (pico em m/z 304,14110 ($[M + Na]^+$, $C_{16}H_{22}O_4Na$) foi identificado apenas nas amostras de solo de beira de estradas advindas dos cupinzeiros da área 3 (ARA - rodovia GO-352), conferindo-lhes uma característica químico-orgânica particular (Figura 4C). Além disso, as amostras de cupinzeiros coletadas na área sob forte influência de tráfego de carro (área ARA) apresentaram maiores concentrações de Cd, Pb, Fe, Zn e Cu (Figura 5).



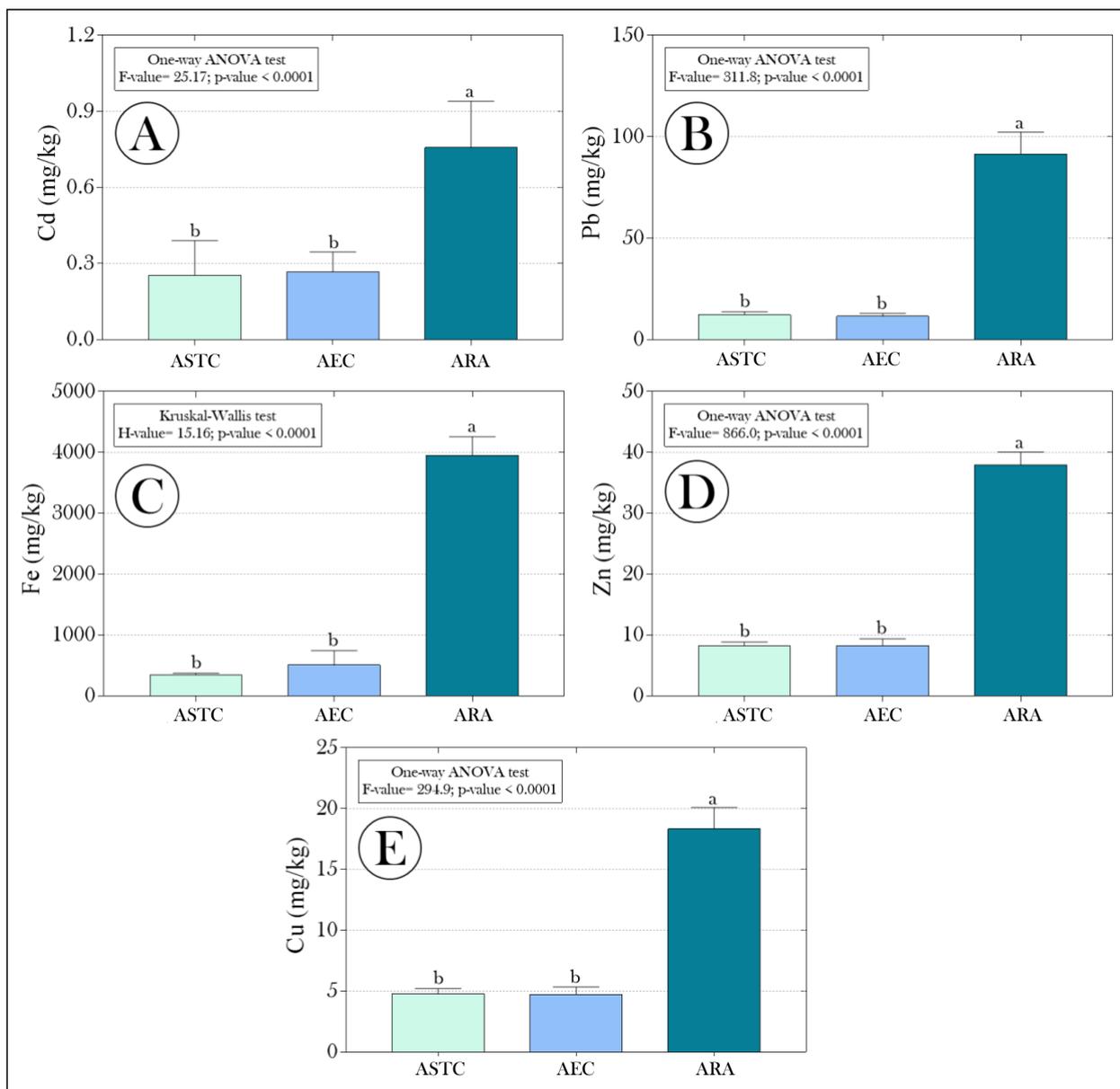


Figura 5. Concentrações de (A) cádmio (Cd), (B) chumbo (Pb), (C) ferro (Fe), (D) zinco (Zn) e (E) cobre (Cu) em amostras de solo de cupinzeiros (construídos por *Cornitermes cumulans*) amostrados nas diferentes áreas de estudo (Urutaí-Pires do Rio, GO, Brasil). As barras representam a média + SD dos dados obtidos, os quais foram submetidos ao one-way ANOVA ou Kruskal-Wallis tests, a 5% de probabilidade (vide sumário estatístico na parte superior dos gráficos). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre as concentrações dos metais pesados das áreas amostradas. ASTC: área sem tráfego de carros (área 1), AEC: área de estrada de chão (área 2) e ARA: área de rodovia asfáltica - GO352/GO/Brasil).

Quanto aos biomarcadores de toxicidade, inicialmente pressupomos que a presença de MPFs suspeitas nos solos dos cupinzeiros estivesse relacionada com alterações no estado nutricional dos animais. Entretanto, os níveis de proteínas totais (Figura 6A), carboidratos solúveis totais (Figura 6B), colesterol total (Figura 6C) e triglicerídeos (Figura 6D) não diferiram entre os cupins coletados nos distintos sítios amostrados, permitindo-nos descartar a relação entre a presença de MPFs nos solos dos cupinzeiros e alterações no metabolismo energético dos animais. Além disso, pressupomos que os animais que habitavam solo contaminado com MPFs suspeitas pudesse apresentar alterações bioquímicas preditivas de desbalanço redox. No entanto, a presença de MPFs suspeitas nos solos dos cupinzeiros não foi fator determinante para alterações na produção de ROS, H₂O₂ e NO (via níveis de nitrito) e da atividade da SOD e CAT. Ao contrário do que esperávamos, a localização geográfica dos cupinzeiros foi o que demonstrou influenciar a resposta bioquímica dos animais às análises realizadas. Conforme observado na Figura 7, os cupins capturados na área 3 (ARA - GO352/Brasil) (independentemente da identificação de MPFs suspeitas em seus cupinzeiros) foram aqueles nos quais evidenciamos maior produção de ROS (Figura 7A), H₂O₂ (Figura 7B) e nitrito (Figura 7C), bem como maior atividade das enzimas antioxidantes avaliadas [SOD (Figura 7D) e CAT (Figura 7E)]. Além disso, esses mesmos animais apresentaram maior atividade da AChE (Figura 8). Nesse caso, observamos forte e significativa correlação entre a resposta bioquímica destes animais e as concentrações dos diferentes metais pesados avaliados nos solos dos cupinzeiros, com efeito concentração-dependente (Figura 9, Tabela 3).

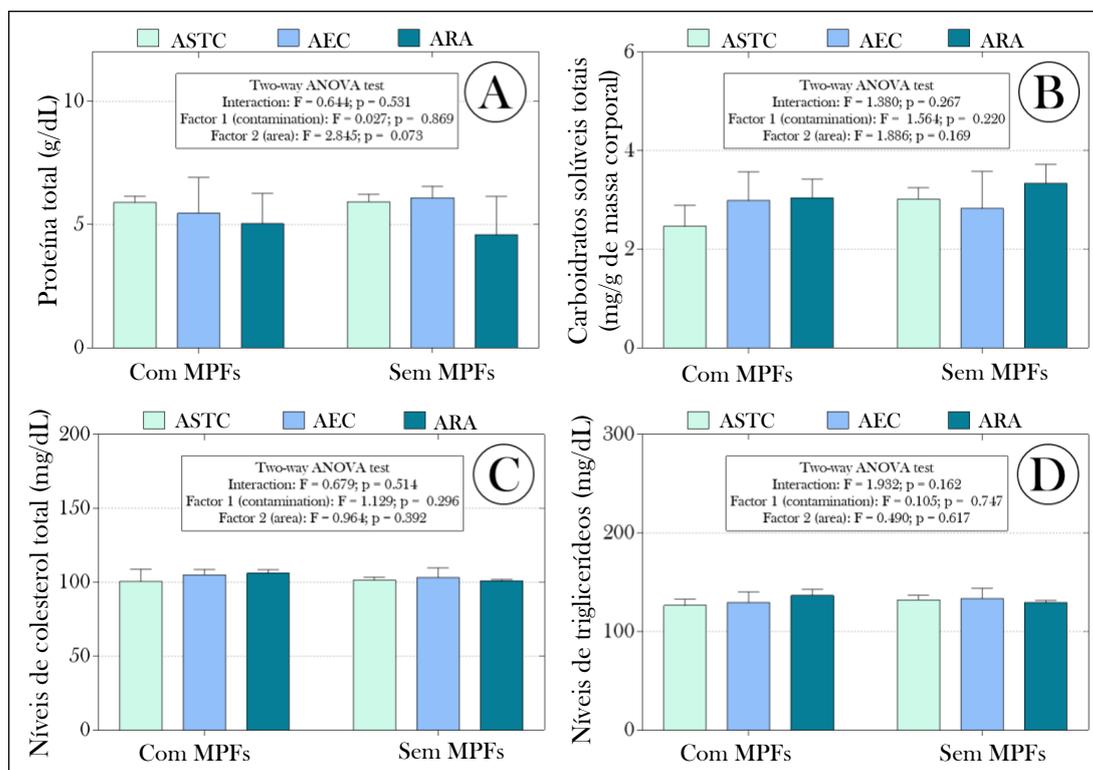


Figura 6. Níveis de (A) proteínas totais, (B) carboidratos solúveis totais, (C) colesterol total e (D) triglicerídeos em adultos *Cornitermes cumulans* (operários) capturados em cupinzeiros nas diferentes áreas de estudo (Urutaí-Pires do Rio, GO, Brasil). As barras representam a média + SD dos dados obtidos, os quais foram submetidos ao two-way ANOVA, com pós-teste de Tukey, a 5% de probabilidade (vide sumário estatístico na parte superior dos gráficos). ASTC: área sem tráfego de carros (área 1), AEC: área de estrada de chão (área 2) e ARA: área de rodovia asfáltica-GO352/GO/Brasil).

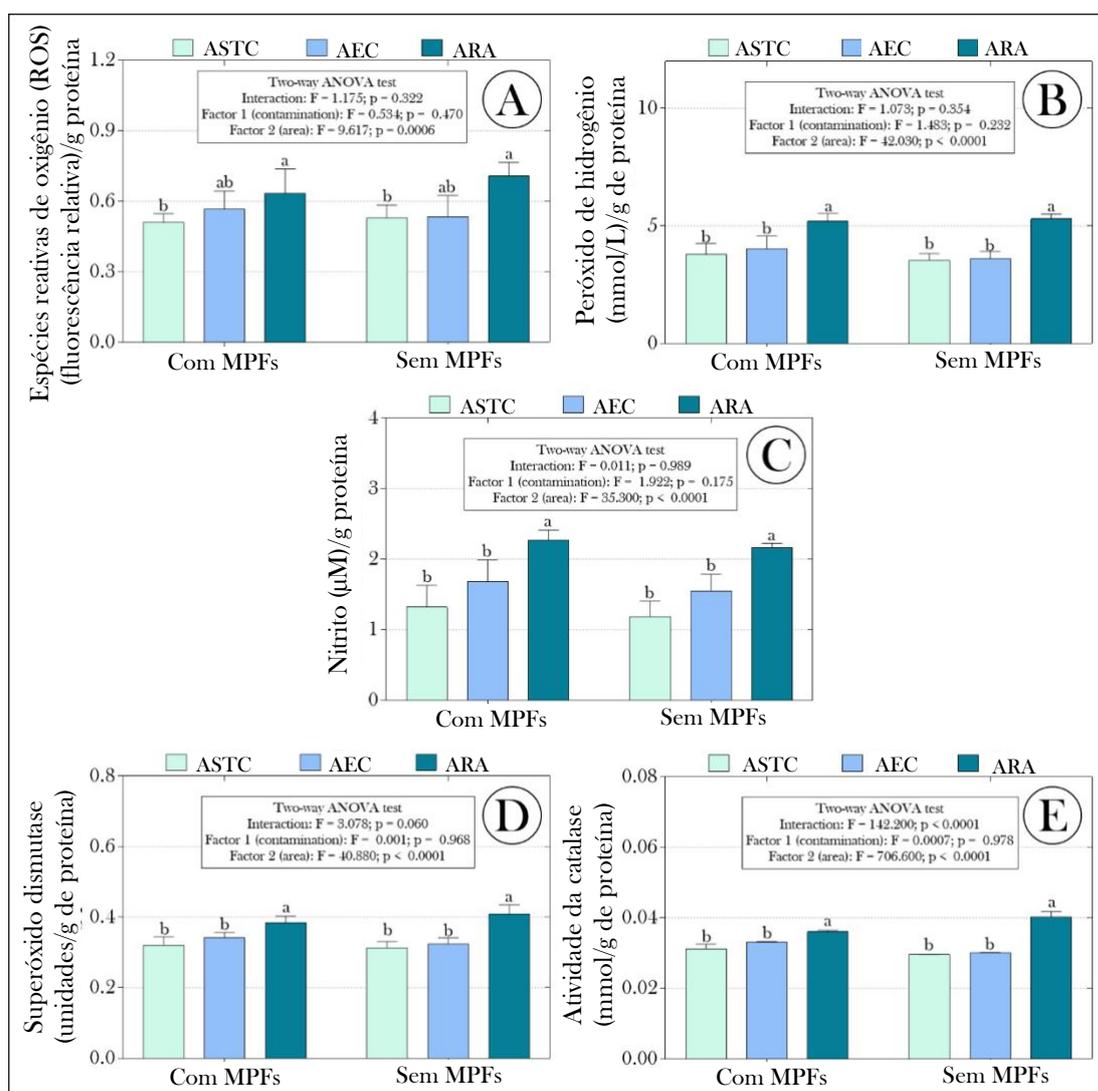


Figura 7. Produção de (A) espécies reativas de oxigênio (ROS), (B) peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e de (C) nitrito, bem como a atividade da (D) superóxido dismutase (SOD) e (E) catalase (CAT) em adultos *Cornitermes cumulans* (operários) capturados em cupinzeiros nas diferentes áreas de estudo (Urutaí-Pires do Rio, GO, Brasil). As barras representam a média + SD dos dados obtidos, os quais foram submetidos ao two-way ANOVA, com pós-teste de Tukey, a 5% de probabilidade (vide sumário estatístico na parte superior dos gráficos). Letras minúsculas distintas indicam diferenças

significativas entre as concentrações dos biomarcadores avaliados. ASTC: área sem tráfego de carros (área 1), AEC: área de estrada de chão (área 2) e ARA: área de rodovia asfáltica (área 3).

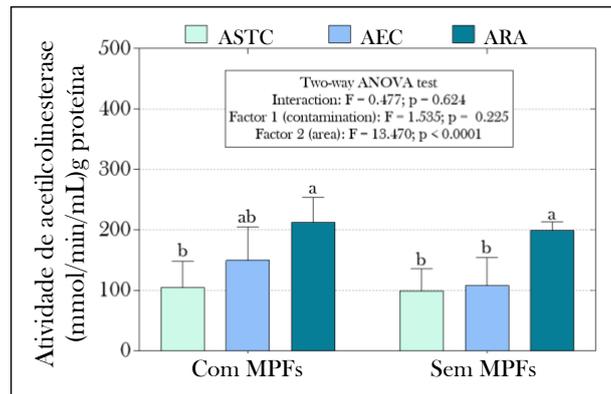


Figura 8. Atividade da acetilcolinesterase (AChE) em adultos *Cornitermes cumulans* (operários) capturados em cupinzeiros nas diferentes áreas de estudo (Urutaí-Pires do Rio, GO, Brasil). As barras representam a média + SD dos dados obtidos, os quais foram submetidos ao two-way ANOVA, com pós-teste de Tukey, a 5% de probabilidade (vide sumário na parte superior dos gráficos). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre a atividade da AChE. ASTC: área sem tráfego de carros (área 1), AEC: área de estrada de chão (área 2) e ARA: área de rodovia asfáltica - GO352/GO/Brasil).

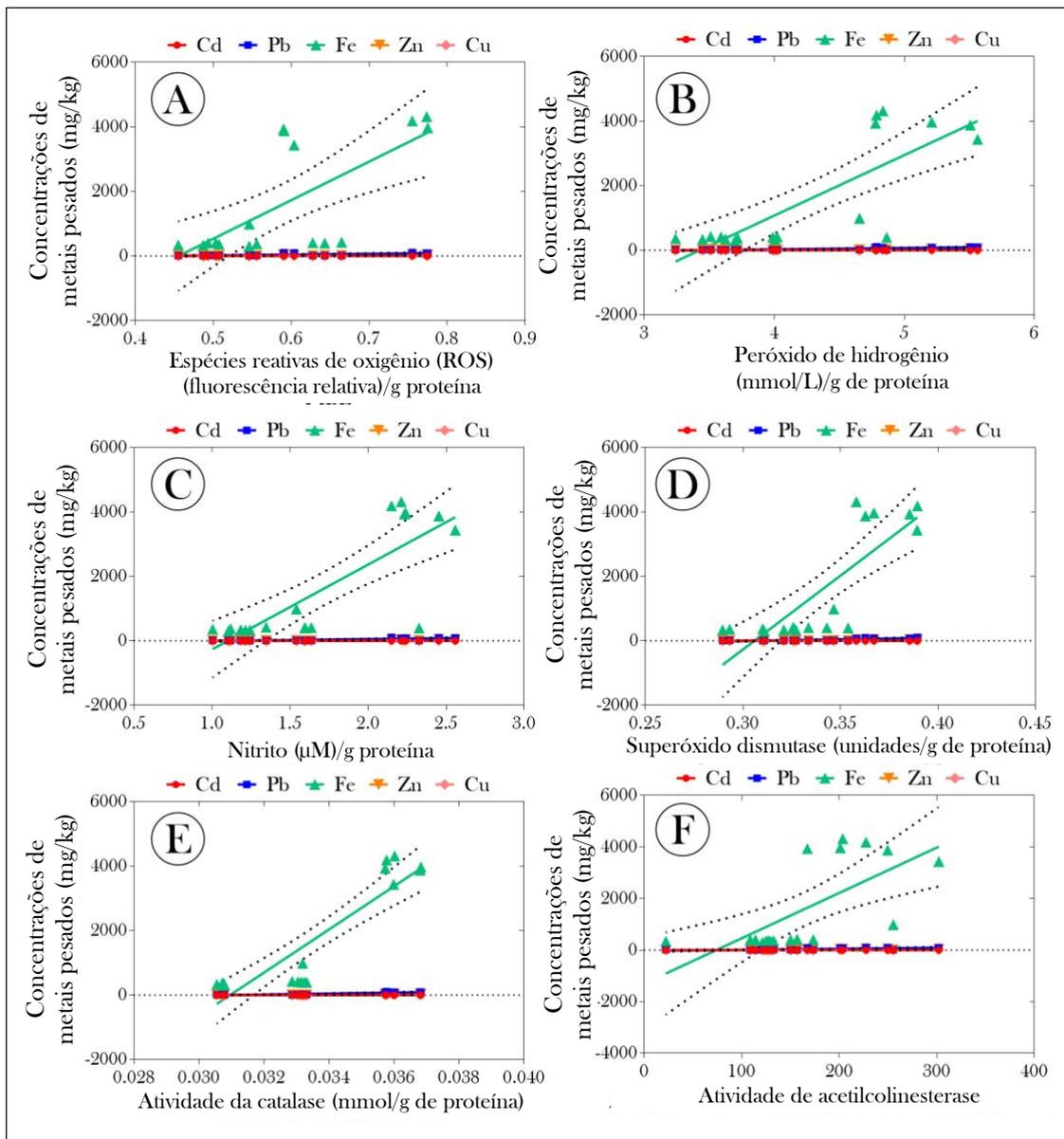


Figura 9. Representações gráficas das análises de correlação e regressão linear observada entre os biomarcadores de estresse oxidativo/efeito colinesterásico e as concentrações de distintos metais pesados identificadas nas amostras de solo [(A) Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), (B) peróxido de hidrogênio (H_2O_2), (C) nitrito], da atividade das enzimas antioxidantes avaliadas [(D) superóxido dismutase (SOD) e (E) catalase (CAT)] e da (F) acetilcolinesterase (AChE)]. Cd: cádmio, Pb: chumbo, Fe: ferro, Zn: zinco e Cu: cobre. Vide o sumário das análises estatísticas na Tabela 3.

Tabela 3. Sumário das análises de correlação e regressão linear realizadas entre os diferentes biomarcadores de toxicidade avaliados em *Cornitermes cumulans* e as concentrações de metais pesados nos solos dos cupinzeiros amostrados.

Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) (fluorescência relativa)/g proteína vs. concentrações de metais pesados nos solos					
	Cd	Pb	Fe	Zn	Cu
Coeficiente de correlação	0,5876	0,6383	0,6995	0,6642	0,7304
p-valor	0,0103	0,0044	0,0012	0,0026	0,0006
F-valor	8,436	11,00	15,33	12,63	18,30
Equação	$Y = 1,599x - 0,5163$	$Y = 247,3x - 107,3$	$Y = 11969x - 5450$	$Y = 95,39x - 38,05$	$Y = 48,27x - 19,16$
Peróxido de hidrogênio [(mmol/L)/g proteína] vs. concentrações de metais pesados nos solos					
Coeficiente de correlação	0,7824	0,8128	0,8100	0,8285	0,7861
p-valor	0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0001
F-valor	25,25	31,14	30,53	35,01	25,89
Equação	$Y = 0,2877x - 0,8058$	$Y = 42,56x - 143,8$	$Y = 1873x - 6415$	$Y = 16,08x - 50,68$	$Y = 7,021x - 20,78$
Nitrito [(μmol/L)/g proteína] vs. concentrações de metais pesados nos solos					
Coeficiente de correlação	0,7451	0,8105	0,8107	0,8231	0,8049
p-valor	0,003	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
F-valor	21,09	30,64	30,68	33,62	29,43
Equação	$Y = 0,3893x - 0,2395$	$Y = 59,59x - 63,41$	$Y = 2632x - 2895$	$Y = 22,43x - 20,18$	$Y = 10,09x - 7,966$
Superóxido dismutase (unidades/g de proteína) vs. concentrações de metais pesados nos solos					
Coeficiente de correlação	0,7647	0,8239	0,8197	0,8058	0,7870
p-valor	0,0002	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0001
F-valor	22,54	33,81	32,76	29,63	26,03
Equação	$Y = 6,799x - 1,891$	$Y = 1043x - 317$	$Y = 45828x - 14013$	$Y = 378,2x - 110,7$	$Y = 170x - 48,63$
Catalase (mmol/g proteínas) vs. concentrações de metais pesados nos solos					
Coeficiente de correlação	0,7894	0,8756	0,9001	0,8925	0,8812
p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
F-valor	26,46	52,58	68,27	62,63	55,58
Equação	$Y = 93,36x - 2,687$	$Y = 14746x - 453,3$	$Y = 669363x - 20717$	$Y = 5571x - 167,6$	$Y = 2531x - 75,12$
Atividade da acetilcolinesterase [(mmol/min/mL)/g proteína] vs. concentrações de metais pesados nos solos					
Coeficiente de correlação	0,5502	0,6898	0,6746	0,6770	0,6394
p-valor	0,0180	0,0015	0,0021	0,0020	0,0043
F-valor	6,947	14,53	13,36	13,54	11,07
Equação	$Y = 0,0022x + 0,0501$	$Y = 0,407x - 28,66$	$Y = 15,57x - 1294$	$Y = 0,148x - 6,248$	$Y = 0,06434 - 1,324$

Cd: cádmio, Pb: chumbo, Fe: ferro, Zn: zinco e Cu: cobre

4. DISCUSSÃO

É consenso que a compreensão de como os poluentes afetam a saúde dos organismos perpassa inevitavelmente pela avaliação de suas respostas biológicas frente à exposição aos estressores ambientais, o que pode contribuir para o planejamento e proposição de medidas de mitigação e remediação da poluição. Assim, nosso estudo demonstrou pioneiramente que a poluição de solos de beira de estrada pode afetar a saúde de indivíduos adultos de *C. cumulans* e, portanto, constitui um alerta sobre a problemática do descarte incorreto de resíduos nos ambientes naturais. Inicialmente, confirmamos discussões anteriores sobre a onipresença de partículas plásticas nos ambientes (Pastor et al., 2021; Wu et al., 2021), especialmente ao identificarmos MPFs suspeitas em todas as áreas investigadas, independentemente de sofrerem ou não influência direta do tráfego de carros (Figura 3A). Entretanto, uma carga adicional desses materiais de 20% e 50,5% foi evidenciada nas áreas 2 e 3 (AEC e ARA), respectivamente, em comparação com a quantidade de MPFs suspeitas registrada na área 1 (ASTC). Logo, esses dados sugerem que o tráfego de carros tem alguma contribuição como fonte de MPFs nos solos de beira de estrada, seja através do descarte de resíduos plásticos pelos passageiros/motoristas dos carros, ou por desgaste natural de estruturas plásticas dos automóveis. Por outro lado, as fontes de MPFs nos solos da área 1 (ASTC) podem consistir de insumos de composto, irrigação (uma vez que essa área tem histórico de uso do solo em práticas agrícolas), lixo (diferentes materiais plásticos foram identificados durante as expedições em campo) e deposição atmosférica.

Entretanto, interessante, essa carga adicional de MPFs nos solos de beira de estrada não foi claramente associada às alterações preditivas de desbalanço redox nos cupins. Conforme demonstrado na Figura 7, os animais oriundos de cupinzeiros construídos em solos de beira de estrada da área 3 (ARA), independente de neles terem sido identificados MPFs, apresentaram elevada produção de ROS (Figura 7A), H₂O₂ (Figura 7B) e nitrito (Figura 7C), em comparação com os animais advindos da área 1 (ASTC), cujo aumento dos processos antioxidantes [inferidos pela maior atividade da SOD e CAT (Figura D-E, respectivamente)] não foi capaz de contrabalancear o estresse oxidativo. Neste caso, nossas análises de correlação sugerem que a contaminação dos solos de beira de estrada (amostrados diretamente dos cupinzeiros por metais pesados) (Figura 5) constitui uma possível explicação para essa alteração na homeostase redox observada nos animais. Neste caso, ao entrarem em contato direto com solos de beira de estrada contendo elevadas concentrações de Cd, Pb, Fe, Zn e Cu (seja durante a alimentação ou a construção/manutenção de seus ninhos) os animais podem absorver e bioacumular esses metais.

O estudo de Denloye et al. (2015), por exemplo, corrobora essa hipótese ao associar diretamente a contaminação de diferentes materiais identificados nos cupinzeiros ao elevado acúmulo de distintos metais pesados (e.g.: Fe, Zn, Cd, Ni e Co) em cupins das espécies *Macrotermes bellicosus*, *Reticulitermes flavipes* e *Kaloterme flavicollis*. Resultados similares foram reportados por Idowu et

al. (2014) (envolvendo *M. bellicosus* capturados), por Alajmi et al. (2019), nos quais a contaminação do solo dos cupinzeiros foi associada ao acúmulo de vários metais pesados por indivíduos de *Anacanthotermes ochraceus* e por Diouf et al. (2019). Neste último, ao estudarem o enriquecimento de várias espécies de mercúrio (Hg) em ninhos e corpos de cupins (na Guiana Francesa), os autores reportaram alta bioacumulação de metilmercúrio em *Silvestritermes Minutus* e *S. Holmgreni*, com fatores de bioconcentração de 58 e 179, respectivamente.

Obviamente, os mecanismos pelos quais os elementos químicos identificados nas amostras de solo, particularmente da área sob forte influência do tráfego de carros (área 3: ARA), induzem um desbalanço redox precisam ser investigados futuramente. Entretanto, é sabido que os metais pesados atuam (genericamente) como agentes pró-oxidantes ativos, capazes de afetar o funcionamento das células e dos diferentes sistemas fisiológicos dos animais (Puppel et al., 2014). Estudos realizados em vários sistemas biológicos mostram que os metais de transição redox-ativos (e.g.: Fe, Cu e Zn) são partes integrantes de sítios ativos de proteínas e podem sofrer reações de ciclo redox, produzindo, sob certas condições, ROS e espécies reativas de nitrogênio (RNS) (Valko et al., 2016; Chesnokova et al., 2017), capazes de ocasionar danos celulares em vários níveis, incluindo proteínas, lipídios de membrana e DNA (Jomova et al., 2012). Logo, essas evidências podem explicar a elevada produção de ROS, H₂O₂ e nitrito observada nos cupins capturados em cupinzeiros construídos em solos de beira de estrada da área 3 (ARA) (Figura 7). Por outro lado, tem sido demonstrado que a rota primária para a toxicidade dos metais inativos redox, tais como o Pb e Cd, envolve a depleção de glutatona e a ligação a grupos sulfidril (SH) de proteínas (Stohs & Bagchi, 1995; Patra et al., 2011; Valko et al., 2016). Assim, o aumento da atividade da SOD e CAT observado nos animais capturados na área 3 (Figura 7D-E, respectivamente) pode ser decorrente de um mecanismo adaptativo compensatório motivado pela inibição de grupos SH funcionais dessas enzimas por esses metais pesados.

Interessantemente, também observamos a forte correlação entre o aumento da atividade da AChE e a presença dos diferentes metais pesados identificada nos solos dos cupinzeiros (Figura 8 e 9F), o que destoa de estudos prévios que reportam efeito anti-colinesterásico dos metais pesados em diferentes modelos animais (Carageorgiou et al., 2004; Richetti et al., 2011; Kumar et al., 2017; Al-Sawafi et al., 2013; Hossain et al., 2021). Nestes estudos, têm sido proposto que a redução da atividade da AChE é interpretada como um resultado secundário de mudanças conformacionais na enzima induzidas pela ligação dos metais à vários grupos SH funcionais e à grupos seril OH da enzima. Por outro lado, o aumento da atividade da AChE observado nos animais da área 3 (ARA) (Figura 8) pode estar relacionado à interação dos metais pesados com os receptores de acetilcolina (ACh) afetando a ligação “substrato-receptor” e levando, conseqüentemente, ao aumento na síntese da AChE para decomposição da ACh acumulada nas fendas sinápticas. Essa hipótese, em particular, é reforçada pelos

estudos de Najimi et al. (1997) e Bainy et al. (2006), nos quais foram reportados aumento semelhante da AChE em mexilhões (*Perna perna*) expostos ao acetato de cádmio e sulfato de cobre e, por Dethloff et al. (1999), ao exporem *Oncorhynchus mykiss* à sulfato de cobre. Já Romani et al. (2003) propuseram que o aumento da AChE em *Sparus auratus* expostos ao sulfato de cobre estaria relacionado à potencialização da formação do complexo enzima-substrato (AChE-acetilcolina), aumentando a atividade da AChE.

Por outro lado, não podemos negligenciar a hipótese das alterações na homeostase redox e da estimulação colinésterásica observadas nos cupins da área 3 (Figura 7 e 8), estarem relacionadas com a presença do composto 11,10-guaiane-type sesquiterpenoid (pico para m/z 304,14110 ($[M + Na]^+$, $C_{16}H_{22}O_4Na$), identificado apenas nas amostras de solos de beira de estrada advindas dos cupinzeiros desta área (Figura 4C). Embora a literatura seja escassa em estudos descritivos deste composto, bem como de sua toxicidade, o estudo recente de Hu et al. (2021) demonstrou que, *in vitro*, o composto reduziu a viabilidade de MDA-MB-231 (ATCC HTB-26) linha celular, o que fornece indícios de sua toxicidade nos organismos. Na ocasião, os autores identificaram o 11,10-guaiane-type sesquiterpenoid em raízes de *Stellera chamaejasme* pertencente à família Thymelaeaceae, a qual apresenta distribuição cosmopolita (Lucid, 2021). Nesse caso, estudos futuros visando a identificação de compostos dessa natureza em plantas desta família (nativas ou não do Brasil) poderão elucidar a fonte deste composto na área 3 (ARA) avaliada em nosso estudo.

Por fim, vale ressaltar que nosso estudo não evidenciou relação entre as alterações bioquímicas reportadas nos cupins e a presença de MPFs suspeitas nos solos amostrados de seus cupinzeiros, o que pode estar relacionado à vários fatores. Um deles estaria relacionado ao não-acúmulo de MPFs nesses animais devido, possivelmente, à alta digestibilidade de compostos poliméricos, incluindo vários produtos de plástico, em seus tratos gastrointestinais (Lenz et al., 2012; Lenz et al., 2013). Nesse caso, é possível que o processo de digestão promova a biodegradação e mineralização dos materiais plásticos (tendo a microbiota intestinal papel essencial neste processo), conforme observado em várias outras espécies de insetos [e.g.: *Zophobas atratus* (Yang et al., 2020), *Plodia interpunctella* (Yang et al., 2014), *Galleria mellonella* (Bombelli et al., 2017), *Tenebrio molitor* (Brandon et al., 2018), *Achroia grisella* (Kundungal et al., 2019)] e de outros invertebrados [vide revisão de Ali et al. (2021)]. Obviamente, é preliminar qualquer conclusão a respeito da ocorrência de processos similares nos animais avaliados em nosso estudo, sendo a confirmação dessa hipótese dependente do desenvolvimento de investigações mais específicas, como também sobre a possível bioacumulação das MPFs em *C. cumulans*, o que não foi realizada em nosso estudo.

De qualquer forma, as alterações observadas em nosso estudo podem, em geral, comprometer o funcionamento da fisiologia dos animais, com consequências drásticas. O estabelecimento de um

desequilíbrio redox crônico pode levar, por exemplo, a alterações de natureza imunológica, metabólica, histológica, genética, comportamental e reprodutiva, como consequência direta da ação de radicais livres na funcionalidade de diversas biomoléculas, na estrutura das membranas celulares e até no material genético dos animais. Por outro lado, o aumento da atividade da AChE pode ser considerada uma resposta preditiva de alterações neurológicas, cujas consequências são passíveis de afetar a aptidão dos indivíduos, aumentar a demanda energética, induzir descoordenação, alterações comportamentais, entre outras. Além disso, o aumento da atividade dessas enzimas pode induzir efeitos nicotínicos (Rosa, 2018), que são o resultado da hiperatividade simpática e disfunção neuromuscular.

5. CONCLUSÃO

Em conclusão, nosso estudo confirma a hipótese da existência de uma forte correlação entre a contaminação dos solos amostrados nos cupinzeiros e um desequilíbrio redox e colinesterásico em adultos de *C. cumulans* (operários). Entretanto, ao contrário do que esperávamos, a presença de MPFs suspeitas nesses solos não apresentou associação com as alterações biológicas reportadas, sendo a contaminação por metais pesados (Cd, Pb, Fe, Zn e Cu) e a presença do composto 11,10-guaiane-type sesquiterpenoid, fatores que foram correlacionados com o aumento da produção de ROS, H₂O₂, nitrito e da atividade da SOD, CAT e AChE nos animais. Obviamente nosso estudo não exaure a ampla gama de possibilidades a serem investigadas futuramente. Avaliações sobre a bioacumulação dos poluentes e sua relação com a atividade de outras enzimas antioxidantes (e.g.: glutathione transferase e glutathione reductase), bem como de antioxidantes hidrossolúveis e lipossolúveis (não-enzimáticos), como ascorbato, glutathione, tocoferóis e carotenóides, podem fornecer uma maior compreensão sobre a resposta bioquímica dos *C. cumulans* frente aos poluentes presentes nos solos utilizados na construção de seus ninhos. Adicionalmente, o uso de outros biomarcadores (e.g.: preditivos de mutagenicidade, genotoxicidade, imunotoxicidade, histopatotoxicidade etc.) certamente ampliará nosso conhecimento sobre a magnitude dos impactos causados por esses poluentes nos cupins. Finalmente, reconhecemos que a ausência de uma caracterização das MPFs suspeitas para fins de determinação de suas composições químicas restringe nossas conclusões sobre até que ponto esses materiais representam alguma periculosidade à saúde dos cupins e na dinâmica de suas populações naturais. Assim, recomendamos que estudos futuros deem continuidade às investigações pioneiras do nosso estudo.

6. REFERÊNCIAS

- AL MALKI, Jamila S. et al. Terrestrial Biota as Bioindicators for Microplastics and Potentially Toxic Elements. **Coatings**, v. 11, n. 10, p. 1152, 2021.
- ALAJMI, Reem; ABDEL-GABER, Rewaida; ALOTAIBI, Noura. Characterization of the 12S rRNA gene sequences of the harvester termite *Anacanthotermes ochraceus* (Blattodea: Hodotermitidae) and its role as A bioindicator of heavy metal accumulation risks in Saudi Arabia. **Insects**, v. 10, n. 2, p. 51, 2019.
- ALI, Sameh S. et al. Plastic wastes biodegradation: mechanisms, challenges and future prospects. **Science of The Total Environment**, p. 146590, 2021.
- AL-SAWAFI, Abeer Ghazie A.; YAN, Yunjun. Alterations of acetylcholinesterase activity and antioxidant capacity of zebrafish brain and muscle exposed to sublethal level of cadmium. **International Journal of Environmental Science and Development**, v. 4, n. 3, p. 327, 2013.
- ANTUNES, Patrick Diogo et al. Caracterização físico-química de micro-relevo de montículos “murundus” na região de Janaúba no Norte de Minas Gerais. **Geonomos**, 2012.
- DA COSTA ARAÚJO, Amanda Pereira et al. How much are microplastics harmful to the health of amphibians? A study with pristine polyethylene microplastics and *Physalaemus cuvieri*. **Journal of hazardous materials**, v. 382, p. 121066, 2020.
- ARAÚJO, Emmanoella Costa Guarana et al. Soil macrofauna in Brazil: a bibliometric review and state of the art. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 3, p. 14-29, 2021.
- ARAÚJO, Renato L. Termites of the Neotropical region. **Biology of termites**, v. 2, p. 527-576, 1970.
- ASLAM, Junaid; KHAN, Saeed Ahmad; KHAN, Sheba Haque. Heavy metals contamination in roadside soil near different traffic signals in Dubai, United Arab Emirates. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 17, n. 3, p. 315-319, 2013.
- ATHEY, Samantha N.; ERDLE, Lisa M. Are We Underestimating Anthropogenic Microfiber Pollution? A Critical Review of Occurrence, Methods, and Reporting. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 2021.
- BAINY, Afonso Celso Dias et al. In vivo effects of metals on the acetylcholinesterase activity of the *Perna perna* mussel’s digestive gland. **Biotemas**, v. 19, n. 1, p. 35-39, 2006.
- BARROS, Alexandre Bomfim et al. Caracterização e biodisponibilidade de metais no mangue da Foz do Rio Meirim, Maceió-AL. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 20133-20147, 2021.
- BARROWS, A. P. W. et al. Guide to microplastic identification, a comprehensive methods guide for microplastics identification and quantification in the laboratory. **Marine & Environmental Research Institute, Blue Hill, ME**, 2017.
- BOMBELLI, Paolo; HOWE, Christopher J.; BERTOCCHINI, Federica. Polyethylene biodegradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*. **Current biology**, v. 27, n. 8, p. R292-R293, 2017.
- BRAHNEY, Janice et al. Plastic rain in protected areas of the United States. **Science**, v. 368, n. 6496, p. 1257-1260, 2020.

- BRANDON, Anja Malawi et al. Biodegradation of polyethylene and plastic mixtures in mealworms (larvae of *Tenebrio molitor*) and effects on the gut microbiome. **Environmental science & technology**, v. 52, n. 11, p. 6526-6533, 2018.
- BRYAN, Nathan S.; GRISHAM, Matthew B. Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. **Free radical biology and medicine**, v. 43, n. 5, p. 645-657, 2007.
- CAMPANALE, Claudia et al. Microplastics pollution in the terrestrial environments: Poorly known diffuse sources and implications for plants. **Science of The Total Environment**, v. 805, p. 150431, 2022.
- CAPAR, Stephen G. Atomic absorption spectrophotometric determination of lead, cadmium, zinc, and copper in clams and oysters: collaborative study. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 60, n. 6, p. 1400-1407, 1977.
- CARAGEORGIU, Haris et al. In vivo and in vitro effects of cadmium on adult rat brain total antioxidant status, acetylcholinesterase, (Na⁺, K⁺)-ATPase and Mg²⁺-ATPase activities: protection by L-cysteine. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 94, n. 3, p. 112-118, 2004.
- CHESNOKOVA, L. A. et al. Influence exerted by redox-active metals on oxidative stress evidence in an experiment. **Health Risk Analysis**, n. 2, p. 125-129, 2017.
- CHINFAK, Narainrit et al. Abundance, composition, and fate of microplastics in water, sediment, and shellfish in the Tapi-Phumduang River system and Bandon Bay, Thailand. **Science of The Total Environment**, v. 781, p. 146700, 2021.
- CHOI, Yu Ri et al. Plastic contamination of forest, urban, and agricultural soils: A case study of Yeosu City in the Republic of Korea. **Journal of Soils and Sediments**, v. 21, n. 5, p. 1962-1973, 2021.
- CORRADINI, Fabio et al. Microplastics occurrence and frequency in soils under different land uses on a regional scale. **Science of the Total Environment**, v. 752, p. 141917, 2021.
- DE SILVA, Shamali et al. Review of the interactions between vehicular emitted potentially toxic elements, roadside soils, and associated biota. **Chemosphere**, v. 263, p. 128135, 2021.
- DE SILVA, Shamali et al. The effects of vehicular emissions on the activity and diversity of the roadside soil microbial community. **Environmental Pollution**, v. 277, p. 116744, 2021.
- DE SOUZA MACHADO, Anderson Abel et al. Microplastics can change soil properties and affect plant performance. **Environmental science & technology**, v. 53, n. 10, p. 6044-6052, 2019.
- DEL MAESTRO, Rolando; MCDONALD, Warren. Distribution of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in developing rat brain. **Mechanisms of ageing and development**, v. 41, n. 1-2, p. 29-38, 1987.
- DENLOYE, Abiodun A. et al. Heavy metals in some termite species and their nests in Ojo, Lagos, Nigeria. **Animal Research International**, v. 12, n. 2, p. 2178-2183, 2015.
- DESOUZA, Og; CANCELLO, Eliana Marques. Termites and ecosystem function. **International Commission on Tropical Biology and Natural Resources, in Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)**, Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Oxford, UK, 2010.
- DETHLOFF, Gail M. et al. Alterations in physiological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with exposure to copper and copper/zinc mixtures. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 42, n. 3, p. 253-264, 1999.

- DINI, Luciana et al. Micro and Nanoplastics identification: Classic methods and innovative detection techniques. **Frontiers in Toxicology**, v. 3, p. 2, 2021.
- DIOUF, Michel et al. Mercury species in the nests and bodies of soil-feeding termites, *Silvestritermes* spp. (Termitidae, Syntermitinae), in French Guiana. **Environmental Pollution**, v. 254, p. 113064, 2019.
- DUBOIS, Michel et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- DURAN-BAUTISTA, Ervin Humprey et al. Termites as indicators of soil ecosystem services in transformed amazon landscapes. **Ecological Indicators**, v. 117, p. 106550, 2020.
- DURAN-BAUTISTA, Ervin Humprey et al. Soil physical quality and relationship to changes in termite community in northwestern Colombian Amazon. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 8, p. 419, 2020.
- EGGLETON, Paul. An introduction to termites: biology, taxonomy and functional morphology. In: **Biology of termites: a modern synthesis**. Springer, Dordrecht, 2010. p. 1-26.
- ELLMAN, George L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88-95, 1961.
- ELNEMMA, Eman M. Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide by a hydroquinone-aniline system catalyzed by molybdate. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 25, n. 1, p. 127-129, 2004.
- EVANGELIOU, Nikolaos et al. Atmospheric transport is a major pathway of microplastics to remote regions. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 1-11, 2020.
- GARCIA-FLORES, Enrique et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in road-deposited sediments and roadside soil in Tijuana, Mexico. **Soil and Sediment Contamination: An International Journal**, v. 25, n. 2, p. 223-239, 2016.
- GONZÁLEZ-PLEITER, Miguel et al. First detection of microplastics in the freshwater of an Antarctic Specially Protected Area. **Marine Pollution Bulletin**, v. 161, p. 111811, 2020.
- GUALTIERI, Maurizio et al. Toxicity of tire debris leachates. **Environment international**, v. 31, n. 5, p. 723-730, 2005.
- GUO, Jing-Jie et al. Source, migration and toxicology of microplastics in soil. **Environment international**, v. 137, p. 105263, 2020.
- GUO, Q. Q.; XIAO, M. R.; ZHANG, G. S. The persistent impacts of polyester microfibers on soil bio-physical properties following thermal treatment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 420, p. 126671, 2021.
- GUO, Q. Q. et al. Polyester microfiber and natural organic matter impact microbial communities, carbon-degraded enzymes, and carbon accumulation in a clayey soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 405, p. 124701, 2021.
- HANN, Simon et al. Investigating options for reducing releases in the aquatic environment of microplastics emitted by (but not intentionally added in) products. **Report for DG Environment of the European Commission**, v. 335, 2018.

- HIDALGO-RUZ, Valeria et al. Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. **Environmental science & technology**, v. 46, n. 6, p. 3060-3075, 2012.
- HOSSAIN, Zakir et al. Heavy metal toxicity in Buriganga river alters the immunology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L). **Heliyon**, p. e08285, 2021.
- HU, Fei-Feng et al. A new 11, 10-guaiane-type sesquiterpenoid from the roots of *Stellera chamaejasme* Linn. **Journal of Chemical Research**, v. 45, n. 3-4, p. 225-227, 2021.
- HUANG, Jinsheng et al. Microplastic pollution in soils and groundwater: Characteristics, analytical methods and impacts. **Chemical Engineering Journal**, v. 425, p. 131870, 2021.
- IDOWU, A. B.; ADEMOLU, K. O.; BAMIDELE, J. A. Nutrition and heavy metal levels in the mound termite, *Macrotermes bellicosus* (Smeathman)(Isoptera: Termitidae), at three sites under varying land use in Abeokuta, southwestern Nigeria. **African Entomology**, v. 22, n. 1, p. 156-162, 2014.
- IGE, Ifeoluwa D.; OLUTONA, Godwin O.; AJAELU, Chijioko J. Insight into the metropolitan levels, spatial distribution and health risks of polycyclic aromatic hydrocarbons in roadside soil of Ibadan, Nigeria. **Environmental Earth Sciences**, v. 80, n. 20, p. 1-13, 2021.
- IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria journal of medicine**, v. 54, n. 4, p. 287-293, 2018.
- JOMOVA, Klaudia; BAROS, Stanislav; VALKO, Marian. Redox active metal-induced oxidative stress in biological systems. **Transition Metal Chemistry**, v. 37, n. 2, p. 127-134, 2012.
- KHAN, Farhan R.; HALLE, Louise Lynn; PALMQVIST, Annemette. Acute and long-term toxicity of micronized car tire wear particles to *Hyalella azteca*. **Aquatic Toxicology**, v. 213, p. 105216, 2019.
- KIM, Seong-Joon et al. Impact of traffic volumes on levels, patterns, and toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in roadside soils. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 21, n. 1, p. 174-182, 2019.
- KIM, Shin Woong; RILLIG, Matthias C. Research trends of microplastics in the soil environment: Comprehensive screening of effects. **Soil Ecology Letters**, p. 1-10, 2021.
- KUKKOLA, Anna et al. Nano and microplastic interactions with freshwater biota—Current knowledge, challenges and future solutions. **Environment International**, v. 152, p. 106504, 2021.
- KUMAR, Neeraj et al. Oxidative and cellular metabolic stress of *Oreochromis mossambicus* as biomarkers indicators of trace element contaminants. **Chemosphere**, v. 171, p. 265-274, 2017.
- KUMAR, R. et al. Assessment of pollution in roadside soils by using multivariate statistical techniques and contamination indices. **SN Applied Sciences**, 1 (8), 842. 2019.
- KUNDUNGAL, Harsha et al. Efficient biodegradation of polyethylene (HDPE) waste by the plastic-eating lesser waxworm (*Achroia grisella*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 18, p. 18509-18519, 2019.
- LENZ, Michael et al. Resistance of polyamide and polyethylene cable sheathings to termites in Australia, Thailand, USA, Malaysia and Japan: a comparison of four field assessment methods. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 66, n. 1, p. 53-62, 2012.

- LENZ, Michael et al. Ability of field populations of *Coptotermes* spp., *Reticulitermes flavipes*, and *Mastotermes darwiniensis* (Isoptera: Rhinotermitidae; Mastotermitidae) to damage plastic cable sheathings. **Journal of economic entomology**, v. 106, n. 3, p. 1395-1403, 2013.
- LI, Penghui et al. Characteristics of plastic pollution in the environment: A review. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, p. 1-8, 2020.
- LIAN, Jiapan et al. Effects of microplastics derived from polymer-coated fertilizer on maize growth, rhizosphere, and soil properties. **Journal of Cleaner Production**, v. 318, p. 128571, 2021.
- LOZANO, Yudi M. et al. Microplastic shape, polymer type, and concentration affect soil properties and plant biomass. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 169, 2021.
- LUCID Key Server, 2021. **Thymelaeaceae**. Disponível em: <http://keyserver.lucidcentral.org/key-server/data/04030b04-0102-4b0c-8e07-0e0105010a0f/media/Html/Thymelaeaceae.htm>. Acesso em: 09 de novembro de 2021.
- MAEABA, Wilson; KUMARI, Rashmi; PRASAD, Surendra. Spectroscopic assessment of heavy metals pollution in roadside soil and road dust: a review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 56, n. 7, p. 588-611, 2021.
- MAHARAJAN, Kannan et al. Toxicity assessment of pyriproxyfen in vertebrate model zebrafish embryos (*Danio rerio*): a multi biomarker study. **Aquatic Toxicology**, v. 196, p. 132-145, 2018.
- MAKHDOUMIA, Pouran et al. Micro-plastic occurrence in bottled vinegar: qualification, quantification and human risk exposure. **Process Safety and Environmental Protection**, 2021.
- MALAFAIA, Guilherme et al. Corn production in soil containing in natura tannery sludge and irrigated with domestic wastewater. **Agricultural Water Management**, v. 163, p. 212-218, 2016.
- MARWOOD, Christopher et al. Acute aquatic toxicity of tire and road wear particles to alga, daphnid, and fish. **Ecotoxicology**, v. 20, n. 8, p. 2079-2089, 2011.
- MATHEWS, AG Anthony. **Studies on termites from the Mato Grosso state, Brazil**. Rio de Janeiro: Academia brasileira de Ciências, 1977.
- MUHMOOD, ATIF et al. EXPLORATION OF STATUS AND INTENSITY OF Pb AND Cd Pollution In Roadside Soils and Cereal Grains. **Pak. J. Bot**, v. 53, n. 5, p. 1611-1616, 2021.
- NAJIMI, S. et al. Use of acetylcholinesterase in *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of pollution in Agadir Marine Bay (South of Morocco). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 58, n. 6, p. 901-908, 1997.
- NAUER, Philipp A. et al. Rapid image-based field methods improve the quantification of termite mound structures and greenhouse-gas fluxes. **Biogeosciences**, v. 15, n. 12, p. 3731-3742, 2018.
- NIKOLAEVA, Olga et al. Linking pollution of roadside soils and ecotoxicological responses of five higher plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, p. 111586, 2021.
- NITHYATHARANI, R. et al. Termite soil as bio-indicator of soil fertility. **International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology**, v. 6, n. 1, p. 659-661, 2018.
- OLIVEIRA, Ana Clara. Avaliação da toxicidade aguda e crônica dos fármacos psiquiátricos (nortriptilina e venlafaxina) em peixe-zebra (*Danio rerio*) utilizando abordagens tradicionais e genômicas. 2021.

- PANKO, Julie M. et al. Chronic toxicity of tire and road wear particles to water-and sediment-dwelling organisms. **Ecotoxicology**, v. 22, n. 1, p. 13-21, 2013.
- PARMAR, Devender Kumar et al. Spatial variation of heavy metal contamination in roadside soil from hilly terrain of the north-western Himalaya. **Chemistry and Ecology**, v. 37, n. 9-10, p. 850-865, 2021.
- PASTOR, Kristian et al. Omnipresence of plastics: a review of the microplastic sources and detection methods. **Journal of the Faculty of Civil Engineering**, 39: 29-43, 2021. DOI: 10.14415/zbornikGFS39.03.
- PATRA, R. C.; RAUTRAY, Amiya K.; SWARUP, D. Oxidative stress in lead and cadmium toxicity and its amelioration. **Veterinary medicine international**, v. 2011, 2011.
- PHUONG, Nam Ngoc et al. Is there any consistency between the microplastics found in the field and those used in laboratory experiments?. **Environmental pollution**, v. 211, p. 111-123, 2016.
- PILKOVÁ, Zuzana et al. Sixteen priority polycyclic aromatic hydrocarbons in roadside soils at traffic light intersections (Bratislava, Slovakia): concentrations, sources and influencing factors. **Environmental Geochemistry and Health**, p. 1-20, 2021.
- PUPPEL, Kamila; KAPUSTA, Aleksandra; KUCZYŃSKA, Beata. The etiology of oxidative stress in the various species of animals, a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 11, p. 2179-2184, 2015.
- REBELEIN, Anja et al. Microplastic fibers—underestimated threat to aquatic organisms?. **Science of The Total Environment**, p. 146045, 2021.
- RICHETTI, Stefânia Konrad et al. Acetylcholinesterase activity and antioxidant capacity of zebrafish brain is altered by heavy metal exposure. **Neurotoxicology**, v. 32, n. 1, p. 116-122, 2011.
- RØDLAND, Elisabeth. Ecotoxic potential of road-associated microplastic particles (RAMP). 2019.
- ROMANI, Rita et al. Increased acetylcholinesterase activities in specimens of *Sparus auratus* exposed to sublethal copper concentrations. **Chemico-Biological Interactions**, v. 145, n. 3, p. 321-329, 2003.
- ROSA, Maria Eduarda. Efeito neurotóxico do extrato contendo anatoxina-a (s) em *Nauphoeta cinerea*: comparação com o organofosforado triclorfon. 2018.
- SCOPETANI, Costanza et al. Olive oil-based method for the extraction, quantification and identification of microplastics in soil and compost samples. **Science of the Total Environment**, v. 733, p. 139338, 2020.
- SELONEN, Salla et al. Exploring the impacts of microplastics and associated chemicals in the terrestrial environment—Exposure of soil invertebrates to tire particles. **Environmental Research**, p. 111495, 2021.
- SIEGFRIED, Max et al. Export of microplastics from land to sea. A modelling approach. **Water research**, v. 127, p. 249-257, 2017.
- SINHA, Asru K. Colorimetric assay of catalase. **Analytical biochemistry**, v. 47, n. 2, p. 389-394, 1972.
- STOHS, Sidney J.; BAGCHI, Debasis. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. **Free radical biology and medicine**, v. 18, n. 2, p. 321-336, 1995.
- SU, Lei et al. Temporal and spatial variations of microplastics in roadside dust from rural and urban Victoria, Australia: Implications for diffuse pollution. **Chemosphere**, v. 252, p. 126567, 2020.

- SZWALEC, Artur et al. Monitoring and assessment of cadmium, lead, zinc and copper concentrations in arable roadside soils in terms of different traffic conditions. **Environmental monitoring and assessment**, v. 192, n. 3, p. 1-12, 2020.
- UGWU, Kevin; HERRERA, Alicia; GÓMEZ, May. Microplastics in marine biota: A review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 169, p. 112540, 2021.
- UNICE, K. M. et al. Characterizing export of land-based microplastics to the estuary-Part I: Application of integrated geospatial microplastic transport models to assess tire and road wear particles in the Seine watershed. **Science of the Total Environment**, v. 646, p. 1639-1649, 2019.
- VALÉRIO, José Raul. Cupins-de-montículo em pastagens. **Embrapa Gado de Corte-Documentos (INFOTECA-E)**, 2006.
- VALKO, Marian et al. Redox-and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease. **Archives of toxicology**, v. 90, n. 1, p. 1-37, 2016.
- VÁZQUEZ, Omar A.; RAHMAN, Saydur. An ecotoxicological approach to microplastics on terrestrial and aquatic organisms: A systematic review in assessment, monitoring and biological impact. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, p. 103615, 2021.
- VILLENA, Oswaldo C. et al. Effects of tire leachate on the invasive mosquito *Aedes albopictus* and the native congener *Aedes triseriatus*. **PeerJ**, v. 5, p. e3756, 2017.
- VOGELSANG, Christian et al. Microplastics in road dust-characteristics, pathways and measures. **NIVA-rapport**, 2019.
- WANG, Meie; ZHANG, Haizhen. Accumulation of heavy metals in roadside soil in urban area and the related impacting factors. **International journal of environmental research and public health**, v. 15, n. 6, p. 1064, 2018.
- WAWER, Małgorzata et al. Traffic-related pollutants in roadside soils of different countries in Europe and Asia. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 226, n. 7, p. 1-14, 2015.
- WIK, Anna et al. Toxicity assessment of sequential leachates of tire powder using a battery of toxicity tests and toxicity identification evaluations. **Chemosphere**, v. 77, n. 7, p. 922-927, 2009.
- WU, Mengjie et al. Time to Safeguard the Future Generations from the Omnipresent Microplastics. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 107, n. 4, p. 793-799, 2021.
- YANG, Jie et al. Abundance and morphology of microplastics in an agricultural soil following long-term repeated application of pig manure. **Environmental Pollution**, v. 272, p. 116028, 2021b.
- YANG, Jun et al. Evidence of polyethylene biodegradation by bacterial strains from the guts of plastic-eating waxworms. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 23, p. 13776-13784, 2014.
- YANG, Ling et al. Microplastics in the Koshi River, a remote alpine river crossing the Himalayas from China to Nepal. **Environmental Pollution**, v. 290, p. 118121, 2021.
- YANG, Ling et al. Microplastics in soil: A review on methods, occurrence, sources, and potential risk. **Science of The Total Environment**, p. 146546, 2021a.
- YANG, Yu; WANG, Jialei; XIA, Mengli. Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating superworms *Zophobas atratus*. **Science of the total environment**, v. 708, p. 135233, 2020.

YU, Lu et al. Distribution characteristics of microplastics in agricultural soils from the largest vegetable production base in China. **Science of The Total Environment**, v. 756, p. 143860, 2021.

ZHANG, Bin et al. Microplastics in soils: a review of possible sources, analytical methods and ecological impacts. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 95, n. 8, p. 2052-2068, 2020.

ZHANG, G. S.; ZHANG, F. X.; LI, X. T. Effects of polyester microfibers on soil physical properties: Perception from a field and a pot experiment. **Science of the total environment**, v. 670, p. 1-7, 2019.

ZHANG, Yulan et al. Microplastics in glaciers of the Tibetan Plateau: Evidence for the long-range transport of microplastics. **Science of The Total Environment**, v. 758, p. 143634, 2021.



INSTITUTO FEDERAL

Goiano

Campus
Urutaí

