



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM

Instituto de Ciências Biológicas - ICB

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica – PPG-MDB

EFEITO DA POLUIÇÃO DO IGARAPÉ DO EDUCANDOS (MANAUS, AMAZONAS,
BRASIL) SOBRE OVOS E LARVAS DE *Osteocephalus taurinus* (AMPHIBIA,
ANURA, HYLIDAE)

JORGE FELIPE OLIVEIRA FRANCO DE SÁ

Manaus, Amazonas

06/2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

Instituto de Ciências Biológicas - ICB

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica – PPG-MDB

EFEITO DA POLUIÇÃO DO IGARAPÉ DO EDUCANDOS (MANAUS, AMAZONAS,
BRASIL) SOBRE OVOS E LARVAS DE *Osteocephalus taurinus* (AMPHIBIA,
ANURA, HYLIDAE)

JORGE FELIPE OLIVEIRA FRANCO DE SÁ

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Menin

Co-orientadora: Profa. Dra. Claudia Keller

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado
do Programa de Pós-Graduação em
Diversidade Biológica, Universidade Federal do
Amazonas, para obtenção do título de mestre
em Diversidade Biológica, área de
concentração Biodiversidade Amazônica.

Manaus, Amazonas

06/2009

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica, elaborada pelo Bibliotecário Flaviano Lima de Queiroz
Diretor da Biblioteca Central/UFAM- CRB 11º/255

F825e Franco de Sá, Jorge Felipe Oliveira
Efeito da poluição do igarapé do Educandos (Manaus, Amazonas, Brasil) sobre ovos e larvas de *ostecephalus taurinos* (Amphibia, Anura, Hylidae) / Jorge Felipe oliveira Franco de Sá.—Manaus: UFAM / Instituto de Ciências Biológicas, 2009.
42 f. il. Col. ; 30 cm

Orientador:Marcelo Menin
Co-orientadora Cláudia Keller
Dissertação (Mestrado) – UFAM / Instituto de Ciências Biológicas / PPG-MDB, 2009.

1. Anuro 2.Ecotoxicologia 3. Hilídeos 4. Biologia 5. Anfíbio - larvas
I. Menin, Marcelo II. Keller, Cláudia II. Título
CDU 597.8:591.5(811.3)(043.3)
CDD 597.80911

Sinopse:

Esse trabalho avaliou os efeitos agudos e crônicos dos efluentes urbanos de um igarapé de Manaus sobre o desenvolvimento e a sobrevivência de ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus* (Anura, Hylidae). Foi realizado um teste de CL50₉₆ e experimentos de exposição a concentrações subletais de efluente até a metamorfose.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo apoio financeiro (processo 555268/2006-3).

A CAPES e FAPEAM pelo apoio financeiro

Ao Dr Marcelo Menin pela orientação

A Dra Claudia Keller pela co-orientação

Ao Dr Genilson Pereira Santana pelo auxílio nas análises químicas

Aos colegas de laboratório Marcelo Lima e Aída Repolho pelo apoio em campo e no laboratório.

A todos os professores do curso de Pós Graduação em Diversidade Biológica.

Aos meus familiares e amigos

Muito obrigado!

RESUMO

Foram avaliados os efeitos em curto e em longo prazo da contaminação por efluentes urbanos de um igarapé de Manaus sobre ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus* (Anura, Hylidae). Para a avaliação de efeitos agudos de contaminação foi realizado um teste CL50_{96h}, que expos ovos e girinos em estágio 25 de Gosner a um gradiente crescente de concentrações estabelecidas em progressão geométrica por um período de 96 horas. Ovos foram menos resistentes à contaminação do que os girinos. A CL50_{96h} para girinos foi de 47,63 mL/L enquanto para os ovos foi de 25,19 mL/L. Nas concentrações mais baixas do experimento com ovos nas quais não ocorreu mortalidade, os girinos apresentaram edemas abdominais após 96h. Para avaliação dos efeitos crônicos da exposição a baixas concentrações de esgoto urbano, girinos no estadio 25 de Gosner foram expostos a três concentrações (9, 18 e 36 mL/L) de efluente até alcançarem a metamorfose. Houve diferenças significativas na taxa de crescimento e no tamanho de metamorfose entre o controle e o tratamento. Não houve diferenças significativas no número de sobreviventes e na duração do período larvário. Uma concentração de 25 mL/L do efluente testado causou efeitos deletérios sobre ovos de *Osteocephalus taurinus*. Uma concentração de 36 mL/L causou alterações nos parâmetros de desenvolvimento larvário, e a suscetibilidade à contaminação variou entre desovas. Uma concentração de 47mL/L causou efeitos deletérios sobre girinos livre-natantes. Concentrações de até 16 mL/L podem causar um aumento no tamanho médio dos girinos.

ABSTRACT

The effects of short and long-term contamination by effluent from an urban stream of Manaus on eggs and tadpoles of *Osteocephalus taurinus* (Anura, Hylidae) were evaluated. To evaluate the acute effects of contamination a test CL50_{96h} was done, which exposed eggs and tadpoles in Gosner stage 25 to a gradient of increasing concentrations established in geometric progression over a period of 96 hours. Eggs were less resistant to contamination than the tadpoles. The CL50_{96h} for tadpoles was 47.63 mL/L while for the eggs was 25.19 mL/L. At lower concentrations of the experiment with eggs in which no mortality occurred, the tadpoles showed abdominal edema after 96h. To evaluate the effects of chronic exposure to low concentrations of urban sewage, tadpoles in Gosner stage 25 were exposed to three concentrations (9, 18 and 36 mL/L) of effluent until they reach metamorphosis. There were significant differences in growth rate and the size of metamorphosis between control and treatment. There were no significant differences in the number of survivors and length of time larvae. A concentration of 25 mL/L of effluent tested caused deleterious effects on eggs of *Osteocephalus taurinus*. A concentration of 36 mL/L caused changes in the parameters of developing larvae, and susceptibility to contamination ranged from egg masses. A concentration of 47 mL/L caused deleterious effects on tadpoles free swimming. Concentrations of up to 16 mL/L can cause an increase in the average size of tadpoles.

SUMÁRIO

	Página
I. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
III. CAPÍTULO I	5
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. OBJETIVO GERAL.....	8
2. 1. Objetivos específicos.....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1. Espécie estudada.....	9
3.2. Contaminante utilizado.....	10
3.3. Determinação da concentração de metais pesados.....	10
3.4. Experimentos.....	11
a) Avaliação de efeitos agudos da contaminação – teste de CL50.....	11
b) Efeito da concentração de oxigênio na água sobre a sobrevivência e desenvolvimento larvários.....	12
c) Efeito da presença de alimento sobre a sobrevivência e o desenvolvimento larvários.....	13
d) Avaliação de efeitos crônicos da contaminação.....	14
4. RESULTADOS	16
4.1. Determinação da concentração dos metais pesados...	16
4.2 Avaliação de efeitos agudos da contaminação – teste de CL50.....	17

4.3 Efeitos da concentração de oxigênio na água sobre a sobrevivência e desenvolvimento larvários.....	23
4.4 Efeito da presença de alimento sobre a sobrevivência e o desenvolvimento larvários.....	25
4.5. Efeitos crônicos da contaminação sobre o desenvolvimento larvário.....	27
a) Sobrevivência.....	27
b) Duração do período larvário	27
c) Tamanho na metamorfose	28
d) Taxa de crescimento.....	29
5. DISCUSSÃO.....	32
5.1. Avaliação de efeitos agudos da contaminação – teste de CL50.....	32
5.2 Avaliação de efeitos crônicos da contaminação.....	36
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
IV. CONCLUSÃO GERAL.....	42

I. INTRODUÇÃO GERAL

As grandes transformações sofridas por Manaus a partir da implantação da Zona Franca não foram acompanhadas por uma política de controle ambiental compatível com o crescimento urbano. Ao longo desse processo, os cursos d'água que cortam a cidade transformaram-se em depósitos de esgotos e lixo, culminando no quadro que hoje se observa: valas poluídas e malcheirosas. Pelo fato dos igarapés não possuírem matas ciliares, na maior parte de seus percursos, ocorre o acúmulo de grande variedade de detritos em suas calhas, levados pelas águas pluviais. Em consequência, ocorre represamento de águas altamente poluídas junto às margens, onde se instauram ambientes anóxicos que provocam a exalação de odores desagradáveis. Esta é, aliás, uma situação que se observa em quase todos os igarapés que cruzam a cidade: o mau cheiro (GeoManaus, 2002).

Até 2004 apenas 11,6% da população de Manaus possuía coleta de esgoto, sendo que apenas 2,9 % da população possuía algum tipo de tratamento de esgoto. Manaus, Belém e Rio Branco possuem os piores índices de tratamento de esgoto de todo o Brasil (Instituto Socioambiental, 2007). Em igarapés poluídos de Manaus, são encontrados altos níveis nitrogênio na forma amoniacal, formados pela decomposição da matéria orgânica proveniente de esgotos e excreção direta de animais e do homem (GeoManaus, 2002).

Os anuros são especialmente suscetíveis a poluição dos rios, pois possuem pele permeável (Sparling *et al.*, 2000), o que permite o acúmulo de contaminantes químicos dissolvidos na água (Degarady e Halbrook, 2006).

A contaminação química pode afetar os anfíbios nos níveis de indivíduo, população, e comunidade e algumas evidências sugerem que contaminantes podem

contribuir para declínios populacionais (Boone *et al.*, 2007). Se, por exemplo, o contaminante aumenta o tempo do período larval no ambiente aquático, torna os girinos mais susceptíveis aos predadores e à dessecação das poças, com a conseqüente diminuição do recrutamento de juvenis, levando ao declínio de uma população (Broomhall, 2002; Boone *et al.*, 2007).

Atualmente, há um crescente interesse no estudo de anfíbios devido aos recentes declínios e extinções populacionais (La Marca *et al.*, 2005). Sendo que a contaminação química dos rios e lagos é considerada um dos fatores principais responsáveis pelo declínio de populações de anfíbios (Blaustein *et al.*, 2003). As conseqüências da contaminação química sobre os anfíbios são letais ou subletais e atuam direta ou indiretamente (Amphibiaweb, 2009), podendo ser uma grande ameaça às áreas com megadiversidade, como a Amazônia.

O presente trabalho vem de encontro com o Plano de Ação para Conservação dos Anfíbios (Amphibian Conservation Action Plan – ACAP) (Gascon *et al.*, 2007), um programa criado pela IUCN (The World Conservation Union) e elaborado para tentar reverter o atual quadro de declínios de anfíbios, onde cerca de 1/3 das espécies estão ameaçadas em todo o mundo (Amphibiaweb, 2009). Este trabalho usou como modelo uma espécie de anuro comum na região de Manaus, já utilizada em outros experimentos sobre poluição (Monteiro, 2004) e que responde bem à condições laboratoriais.

II. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- [Amphibiaweb](http://amphibiaweb.org), 2009. Information on Amphibian Biology and Conservation. Berkeley (<http://amphibiaweb.org>). Acesso em: maio 2009.
- Blaustein, A.R.; Romansic, J.M.; Kiesecker, J.M.; Hatch, A.C. 2003. Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*, 9: 123–140.
- Boone, M.D.; Cowman, D.; Davidson, C.; Hayes, T.; Hopkins, W.; Relyea, R.; Schiesari, L.; Semlitsch, R.D. 2007. Evaluating the role of environmental contamination in amphibian population declines. *In*: Gascon, C.; Collins, J.P.; Moore, R.D.; Church, D.R.; Eckay, J.E.; Mendelson, J.R. (Eds). *Amphibian Conservation Action Plan*. Switzerland: IUCN Species Survival Commission, p. 32-35.
- Broomhall, S. 2002. The effects of endosulfan and variable water temperature on survivorship and subsequent vulnerability to predation in *Litoria citropa* tadpoles. *Aquatic Toxicology*, 61: 243-250.
- Degarady, C.J.; Halbrook, R.S. 2006. Using Anurans as Bioindicators of PCB Contaminated Streams. *Journal of Herpetology*, 40(1): 127–130.
- Gascon, C.; Collins, J.P.; Moore, R.D.; Church, D.R.; Eckay, J.E.; Mendelson, J.R. 2007. *Amphibian Conservation Action Plan*. Switzerland: IUCN Species Survival Commission.
- GeoManaus. 2002. Relatório Ambiental Urbano Integrado: informe GEO: Manaus/Supervisão: Ana Lúcia Nadalutti La Rovere, Samyra Crespo: Coodenação: Rui Velloso. Consórcio Parceria, Rio de Janeiro, 21: 188.

- Instituto Socioambiental, 2007. Abastecimento de água e esgotamento sanitário nas capitais brasileiras. Acesso: fevereiro, 2009.
- La Marca, E.; Lips, K.R.; Lötters, S.; Puschendorf, R.; Ibáñez, R.; Rueda-Almoncid, J.V.; Schulte, R.; Marty, C.; Castro, F.; Manzanilla-Puppo, J.; Garcia-Perez, J.E.; Toral, E.; Bolaños, F.; Chaves, G.; Pounds, J.A.; Young, B. 2005. Catastrophic population declines and extinctions in Neotropical harlequin frogs (Bufonidae:Atelopus). *Biotropica*, 37(2): 190-201.
- Monteiro, J.M.F. 2004. *Avaliação experimental do efeito da contaminação por óleo lubrificante sobre larvas de Osteocephalus taurinus (Amphibia, Hylidae)*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas área de concentração Biologia de Água Doce e Pesca Interior) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 45pp.
- Sparling, D.W.; Bishop, C.A.; Linder, G. 2000. The current status of amphibian and reptile ecotoxicological research. In: Sparling, D.W.; Linder, G.; Bishop, C.A. (Ed.). *Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles*. Pensacola, FL: Society of Environmental Toxicology (SETAC), p. 1-13.

III. CAPÍTULO I

Efeito da poluição do igarapé do Educandos (Manaus, Amazonas, Brasil) sobre ovos e larvas de *Osteocephalus taurinus* (Amphibia, Anura, Hylidae)

Palavras-chave: Anfíbios, Ecotoxicologia, Efluentes urbanos, *Osteocephalus taurinus*, Girinos.

Key words: Amphibians, Ecotoxicology, Urban effluents, *Osteocephalus taurinus*, Tadpoles,

1. INTRODUÇÃO

O processo de urbanização e crescimento populacional no centro e na periferia de Manaus, com o surgimento de vários bairros em áreas anteriormente florestadas, desencadeou processos impactantes que se refletiram na qualidade dos igarapés que atravessam a cidade (Cleto Filho, 1998), como o lançamento indiscriminado de lixo, efluentes domésticos e industriais (GeoManaus, 2002).

Um sistema aquático que recebe esgotos *in natura* sofre alterações ecológicas decorrentes, na maioria das vezes, de um processo de eutrofização, diminuindo drasticamente a qualidade das águas, levando principalmente à acentuada redução do oxigênio dissolvido (Melo *et al.*, 2005). Além disso, a retirada da mata ciliar e a estagnação das águas no período da cheia dos rios amazônicos provocam a elevação da temperatura das águas o que conseqüentemente acelera o processo de eutrofização (Cleto Filho, 1998).

Em igarapés de Manaus contaminados por ação antrópica, foram constatados a redução no teor de oxigênio dissolvido, o aumento do pH e altos teores de metais pesados (p. ex. Zn, Co, Ni, Cu, Fe, e Pb), além da presença de coliformes fecais e totais acima das taxas permissíveis para recreação e consumo humano (Melo *et al.*, 2005; Santana e Barroncas, 2007). A contaminação por metais pesados é especialmente perigosa, já que esses elementos se acumulam tanto no solo como na água e possuem ação cumulativa também no tecido dos organismos (Loumbourdis, 1997). A decomposição da matéria orgânica proveniente do esgoto doméstico forma amônia que é extremamente tóxica para girinos e imagos de anuros (Vieira, 1986; Oliveira, 2003).

Os anuros são especialmente suscetíveis a estes poluentes, pois são dependentes de condições ambientais específicas e possuem pele permeável (Sparling *et al.*, 2000), o que permite o acúmulo de contaminantes químicos dissolvidos na água (Degarady e Halbrook, 2006). Cerca de 70% das espécies de anfíbios possuem o ciclo de vida com a formação de ovos e larvas aquáticas (Sparling *et al.*, 2000). No entanto, o uso de espécies de anuros para monitoramento da qualidade da água não é comum, apesar de que alguns estudos indicam a efetividade do uso de espécies de anfíbios como indicadores biológicos (Lebboroni *et al.*, 2006). Na Amazônia, grande parte das espécies de anuros possui girinos com fase larval aquática, sendo que muitas habitam poças marginais aos igarapés (Hödl, 1990).

No mundo existem mais que 5.600 espécies descritas de anfíbios anuros (Frost, 2009). Atualmente, há um crescente interesse no estudo de anfíbios, devido a recentes declínios e extinções populacionais registradas em todo o mundo (La Marca *et al.*, 2005). Entre as principais causas desses declínios estão a poluição de

corpos d'água, radiação UV e doenças (Amphibiaweb, 2009). A contaminação por contaminantes químicos tais como pesticidas, herbicidas, fungicidas e fertilizantes, é considerada um dos principais fatores responsáveis pelo declínio de populações de anfíbios (Blaustein *et al.*, 2003).

Larvas de anfíbios anuros expostas a altos níveis de contaminantes como, por exemplo, metais pesados, pesticidas, herbicidas e fertilizantes presentes na água, podem apresentar malformações, diminuição da performance natatória (Burkhart *et al.*, 1998; Hopkins *et al.*, 2000), diminuição no tamanho corporal na metamorfose, redução na taxa de eclosão dos ovos (Karasov *et al.*, 2005), aumento nas taxas metabólicas (Rowe *et al.*, 1998) e maior susceptibilidade a predação (Broomhall, 2002), a doenças e a infecções (Johnson *et al.*, 2002). Mudanças no pH da água podem diminuir a taxa de sobrevivência, o tamanho e o tempo até a metamorfose de algumas espécies de anfíbios (Andrén *et al.*, 1988; Warner *et al.*, 1991; Rowe *et al.*, 1992; Kutka, 1994), afetando diretamente os parâmetros demográficos de populações de anuros.

O presente trabalho teve como objetivo estudar os efeitos agudos e crônicos dos efluentes urbanos sobre os girinos e ovos de *Osteocephalus taurinus* (Anura, Hylidae). Para minimizar os efeitos de outros fatores sobre o desenvolvimento dos ovos e girinos dessa espécie, o estudo foi realizado por meio de uma abordagem experimental em laboratório, sob condições controladas.

Osteocephalus taurinus (Anura, Hylidae) é uma espécie comum em margens de igarapés e poças de floresta de terra firme na Amazônia Central, que se reproduzem principalmente no início da época chuvosa (Hero, 1990; Lima *et al.*, 2006). Adultos e larvas podem ser encontrados em florestas primárias e secundárias (Hero, 1990; Lima *et al.*, 2006). Girinos e ovos de *Osteocephalus taurinus* já foram

utilizados na avaliação do efeito letal e subletal da contaminação por um derivado de petróleo (Monteiro, 2004), e esta espécie foi escolhida para a utilização experimental no presente estudo porque já existe um protocolo para manutenção dessas larvas em laboratório (Monteiro, 2004).

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos agudos e crônicos da contaminação por efluente urbano do igarapé do Educandos (Manaus, AM, Brasil) sobre ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus*.

2.1. Objetivos específicos

1) Estimar a concentração letal média (CL50) de água contaminada por efluentes urbanos do igarapé do Educandos (Manaus, AM, Brasil) para ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus*.

2) Estimar os efeitos crônicos da contaminação por água contaminada por efluentes urbanos do igarapé do Educandos (Manaus, AM, Brasil) sobre girinos de *Osteocephalus taurinus*, medindo as seguintes variáveis:

- (a) Sobrevivência do estadio 25 de Gosner até a metamorfose;
- (b) Tempo decorrido entre a data de desova e a data de metamorfose;
- (c) Taxa de crescimento do estágio 25 de Gosner até a metamorfose;
- (d) Tamanho na metamorfose.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Espécie estudada

Foram utilizados para os experimentos ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus* (Anura, Hylidae). Esta espécie reproduz-se durante todo o ano, após chuvas fortes, mas em maior frequência no início da estação chuvosa. No período reprodutivo, reúnem-se em grupos e vocalizam em arbustos ou imersos em pequenos corpos d'água na margem de igarapés (Lima *et al.*, 2006). A desova contém cerca de 2000 ovos pretos envoltos em uma cápsula gelatinosa, e é depositada como uma película na superfície d'água de poças temporárias na margem dos igarapés (Hero, 1990; Lima *et al.*, 2006).

Desovas de *O. taurinus* foram coletadas na Reserva Florestal Adolpho Ducke (02°55'-03°01'S, 59°53'-59°59'W), em fevereiro de 2008, no estágio de ovos ou larvas recém eclodidas, removidas diretamente de poças temporárias ou de poças artificiais (caixas de PVC de 20 litros contendo água de igarapé, dispostas na margem de igarapés). As desovas foram transportadas até o laboratório em potes individuais contendo água de igarapé. No laboratório elas foram mantidas de forma individualizada em caixas de PVC (64x43x19 cm) contendo água de poço e com aerador. A temperatura do laboratório foi mantida entre 23 e 26 °C, com uma umidade relativa do ar entre 45 e 90%. Os girinos foram alimentados à vontade com ração comercial de coelho, a cada dois dias. Para as larvas recém-eclodidas encontradas no campo foram estimadas as datas de desova por meio de comparação com desovas cujo processo de desenvolvimento se observou em laboratório desde o estágio de ovo.

3.2. Contaminante utilizado

Foi utilizado como contaminante água coletada do igarapé do Educandos (S 03° 08' 12,1" W 060° 00' 34,4"), em Manaus, Amazonas no dia 22/01/08. A água foi coletada utilizando tonéis de plástico, levada para o laboratório e deixada em descanso por 20 dias até a estabilização do pH em um valor em torno de 4,5. A estabilização do pH indica que os componentes presentes na água também se estabilizaram, importante para que todos os experimentos fossem realizados com o mesmo nível de contaminantes.

3.3. Determinação da concentração de metais pesados

A concentração dos metais pesados Co, Cu, Fe, Cr, Ni, Mn, Pb e Zn foi determinada por espectrometria de absorção atômica (Perkin Elmer, modelo ASS 3300) em modo chama de ar/acetileno, pelo método direto e corretor de fundo (Welz, 1985). Cada metal foi medido segundo suas curvas de calibração com os seguintes limites de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$): Cu = 0,025, Co = 0,05, Cr = 0,05, Fe = 0,05, Mn = 0,02, Ni = 0,04, Pb = 0,06 e Zn = 0,008. Esses metais foram escolhidos, porque são os mais encontrados em igarapés poluídos de Manaus (Santana e Barroncas, 2007).

3.4. Experimentos

a) Avaliação de efeitos agudos da contaminação – teste de CL50

Foi determinada a CL50₉₆ - teste padronizado que determina a concentração de uma substância ou combinação de substâncias que causa 50% de mortalidade de um grupo de organismos - dos ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus*, permitindo estabelecer a susceptibilidade desses dois estágios de desenvolvimento à exposição a concentrações agudas de água contaminada.

O intervalo entre as revisões e os níveis de concentração foi definido de acordo com o protocolo de Sprague (1990), em seqüência geométrica crescente, à razão de 1,3, para que os aumentos no tempo de exposição e nas concentrações fossem proporcionais entre si. O período total de exposição dos girinos e ovos ao esgoto foi de 96 horas.

As concentrações utilizadas foram 16, 20, 27, 36, 48, 60, 75, 90 e 117 mL/L. Foram utilizadas 3 réplicas para cada concentração, cada réplica contendo 15 ovos ou girinos. Foram utilizados recipientes plásticos de 2L, contendo 1,5L de água. O mesmo número de réplicas com água sem contaminante foi utilizado como controle.

Em cada revisão (8, 13, 19, 28, 43, 64 e 96 horas após o início do experimento) foram registrados o número de larvas vivas e o estágio de desenvolvimento em que se encontravam, no caso dos ovos. Os indivíduos foram classificados como: ovo [até o estágio 17 da tabela de Gosner (1960), quando surge o botão da cauda]; larva imóvel [estádios 18 a 20 de Gosner, quando começam a apresentar respostas musculares e movimentos mais visíveis]; larva com brânquias

[estádios 21 a 24 de Gosner]; e girino livre natante [a partir do estágio 25 de Gosner, quando já não possuem brânquias externas e passam a nadar livremente].

As larvas imóveis e os ovos foram considerados mortos pela diferença de coloração, os ovos mortos perdiam a cor preta natural e ficavam mais acinzentados.

Os níveis de amônia foram medidos após os experimentos de CL50, através de um experimento a parte. O contaminante foi diluído nas mesmas concentrações utilizadas no experimento de CL50 e os níveis de amônia total foram medidos nos mesmos tempos utilizados nas revisões da CL50. Para cada concentração foram utilizadas três réplicas e três réplicas controle.

A CL50 foi calculada usando o programa LC50 (Hamilton et al. 1978).

b) Efeito da concentração de oxigênio na água sobre a sobrevivência e desenvolvimento larvários

O efeito da disponibilidade de oxigênio na água sobre a sobrevivência e desenvolvimento larvário foi testado por meio de dois tratamentos: aeração, com dois níveis (com aerador e sem aerador), e concentração de contaminante, com quatro níveis de concentração (36, 48, 60 mL/L e controle com água sem contaminante). Os níveis de concentração foram determinados a partir dos resultados do teste de CL50, pois essas concentrações foram as mais baixas no teste de CL50 de ovo onde todos os girinos morreram.

Para cada combinação de níveis (nível de concentração + nível de aeração) se testou três réplicas, sendo cada réplica pertencente a uma desova.

Cada réplica conteve 15 indivíduos, que foram expostos ao contaminante a partir do estágio de ovo. Foram utilizados recipientes plásticos de 2L, contendo 1,5L de água.

As revisões foram feitas com a mesma frequência do teste de CL50, e, em cada revisão, foram registrados o número de larvas vivas e o estadio de desenvolvimento em que se encontravam, segundo Gosner (1960).

c) Efeito da presença de alimento sobre comprimento larvário

No teste de CL50 os girinos resultantes de ovos contaminados em algumas concentrações apresentaram maior tamanho que os girinos resultantes de ovos controle. Por isso foi realizado um experimento para testar se a diferença de tamanho observada poderia dever-se à presença de nutrientes dissolvidos na água contaminada. O experimento consistiu na adição ou não de alimento (ração de coelho) às larvas contaminadas, partindo da hipótese de que, se a diferença de tamanho observada se devesse a presença de nutrientes dissolvidos, a presença de alimento adicionado causaria a diminuição de diferença de tamanho, pois permitiria às larvas controle alcançar tamanhos semelhantes. Se a diferença do comprimento tivesse outra causa, mesmo adicionando alimento, os girinos continuariam com comprimentos diferentes.

Foram utilizados dois tratamentos: alimentação, com dois níveis (com alimento e sem alimento) e concentração de contaminante, com três níveis de concentração (8, 16 mL/L e controle em água sem contaminante). Essas concentrações foram utilizadas por não ter causado mortalidade no teste de CL50 de ovos.

Para cada combinação de níveis (nível de concentração + nível de alimentação) foram usadas seis réplicas, sendo duas réplicas por desova. As larvas foram alimentadas a partir do estágio de larva livre natante (estadio 25 de Gosner).

Cada réplica conteve 10 indivíduos, que foram expostos ao contaminante a partir do estágio de ovo. Foram utilizados recipientes plásticos de 2L, contendo 1,5L de água.

O experimento teve uma duração de seis dias. No final do experimento todos os girinos foram medidos e foi utilizado o valor médio dos girinos em cada recipiente.

Os dados do experimento foram comparados entre tratamentos por meio da análise de variância - ANOVA. A significância estatística entre níveis de tratamento foi testada através do teste de Tukey.

d) Avaliação de efeitos crônicos da contaminação

Para a análise do efeito crônico (até a metamorfose) da contaminação sobre os parâmetros de desenvolvimento dos girinos de *O. taurinus* foram utilizados três níveis de concentração de água contaminada (9, 18 e 36 mL/L), correspondendo, respectivamente, a 25%, 50% e 100% do valor da concentração mais alta no teste de CL50 de girinos na qual houve 100% de sobrevivência. A CL50_{96h} para girinos foi de 47,63 mL/L. Para cada concentração foram utilizadas 50 réplicas, cada réplica com um indivíduo, mantido em recipiente plástico de 2L, contendo 1,5L de água limpa, à qual foi adicionada a quantidade de água contaminada correspondente ao nível de tratamento. Também foram utilizadas 50 réplicas como controle (girinos mantidos em água limpa). Foram utilizados girinos de cinco desovas diferentes (10 girinos de cada desova em cada nível de tratamento), para minimizar o efeito

parental sobre os parâmetros medidos. Os girinos foram expostos ao tratamento a partir do 15º dia de vida, no estágio 25 de Gosner (1960) (estágio de larva livre natante) e foram monitorados até a metamorfose (estádio 42 de Gosner, 1960).

Os girinos foram medidos antes do início do experimento e um dia antes da metamorfose, pois logo após a metamorfose a cauda começa a ser absorvida, e se as medidas fossem feitas tardiamente os valores seriam subestimados.

Os girinos foram alimentados a cada dois dias com ração para coelho e a água foi trocada semanalmente.

As variáveis dependentes foram:

- 1) Sobrevivência – número de indivíduos que sobreviveram até a metamorfose em cada tratamento;
- 2) duração do período larvário – número de dias desde a data observada ou estimada de desova até a metamorfose. A data de metamorfose foi considerada como a data em que ocorreu a extrusão de um ou ambos membros anteriores;
- 3) tamanho na metamorfose – comprimento total, do focinho até o final da cauda, medido com um paquímetro (precisão de 0,5 mm) um dia antes da metamorfose;
- 4) taxa de crescimento– determinada como a diferença entre o comprimento total inicial (no dia do início do experimento) e o comprimento total final, dividido pelo número de dias decorrido entre o início do experimento e a data de metamorfose.

Os dados dos experimentos de efeitos crônicos (duração do período larvário, tamanho na metamorfose e taxa de crescimento) foram comparados entre

tratamentos, por meio de análise de variância (ANOVA), usando o tamanho inicial dos girinos como co-variável nos modelos. A significância estatística entre os níveis de tratamento foi testada por meio do teste de Tukey. As diferenças na sobrevivência entre os tratamentos e o controle foram testadas por teste de χ^2 .

4. RESULTADOS

4.1. Determinação da concentração dos metais pesados

Os metais Fe, Ni, Mn, Cr e Pb apresentaram valores acima dos recomendados para águas de classe 1 (águas que podem ser destinadas ao abastecimento para consumo humano, à proteção das comunidades aquáticas, à recreação de contato primário, à irrigação de hortaliças e à proteção das comunidades aquáticas em terras Indígenas) (Tabela 1), segundo a resolução No 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). .

Tabela 1 - Composição química do contaminante e valor maximo recomendado pelo CONAMA. Os resultados correspondem à média de três repetições.

Metais	Concentração (mg/L)	CONAMA (mg/L)
Fe	3,60 ± 0,04	0,3
Zn	0,13 ± 0,02	0,18
Ni	0,08 ± 0,03	0,025
Mn	0,17 ± 0,02	0,1
Cu	< 0,02	0,009
Cr	0,20 ± 0,01	0,05
Pb	0,19 ± 0,02	0,01
Co	< 0,05	0,05

4.2 Avaliação de efeitos agudos da contaminação – teste de CL50

Não se observou diferenças nas taxas médias de sobrevivência após 96 horas em relação ao controle até 20 mL/L de contaminante para ovos e até 36 mL/L para girinos. A sobrevivência dos ovos caiu pela metade em 27 mL/L e nenhum ovo sobreviveu a partir de 36 mL/L (Figura1). Para girinos a sobrevivência caiu praticamente pela metade em 48 mL/L e nenhum girino sobreviveu a partir de 60 mL/L (Tabela 2).

Os ovos se mostraram muito mais suscetíveis às altas concentrações de água contaminada que os girinos. A CL50 96 h para girinos foi de 47,63 mL/L enquanto para os ovos foi de 25,19 mL/L (Tabela 3). Todos os girinos morreram nas primeiras 8 horas nas concentrações 90 e 117 mL/L (Figura 2).

A eclosão dos ovos ocorreu entre oito e 13 horas após o início dos experimentos. Até 19 horas as larvas permaneceram na fase imóvel e, após 28

horas, as larvas já apresentavam brânquias e movimentos natatórios. Com 96 horas as larvas já se encontravam no estágio 25 de Gosner (livre natante e sem brânquias externas). Não foram observados atrasos no desenvolvimento das larvas resultantes de ovos nas concentrações mais altas nas quais houve sobreviventes.

O nível de amônia total no contaminante puro foi igual à zero, porém ao diluirmos o contaminante observamos um aumento nos níveis de amônia no decorrer de 96 horas. As diferenças nos níveis de amônia foram bastante diferentes entre réplicas. Em uma das réplicas, em apenas 8 horas, os níveis de amônia total já tinham subido para 0,25 ppm nas concentrações mais altas e no final das 96 horas os níveis de amônia estavam em 2 ppm nas concentrações mais altas e 1 ppm nas mais baixas. Nas outras duas réplicas os níveis de amônia só começaram a subir após 64 horas e em 96 horas estavam com 0,5 ppm nas concentrações mais altas e 0 nas mais baixas.

Tabela 2 - Número médio de sobreviventes entre réplicas para ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus* após 96 horas de exposição a nove concentrações de contaminante.

Conc (mL/L)	Larvas vivas após 96h	
	Ovos	Girinos
Controle	15	15
16	15	15
20	15	15
27	7,5	15
36	0	15
48	0	7
60	0	0,67
75	0	0
94	0	0
117	0	0

Tabela 3 - CL50 e limites do intervalo de confiança de 95% para cada intervalo de tempo de exposição de ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus* expostos a diferentes concentrações de contaminante.

Número de horas desde o início do experimento	CL50 (mL/L)	
	Ovos	Girinos
8	–	70,33 (65,27 – 75,78)
13	–	65,64 (60,90 – 70,75)
19	33,38 (30,74 – 36,24)	57,81 (54,75 – 61,04)
28	30,60 (29,51 – 31,74)	57,81 (54,75 – 61,04)
43	27,78 (25,67 – 30,06)	55,87 (52,07 – 59,95)
64	27,78 (25,67 – 30,06)	49,19 (45,82 – 52,78)
96	25,19 (23,27 – 27,26)	47,53 (44,24 – 51,07)

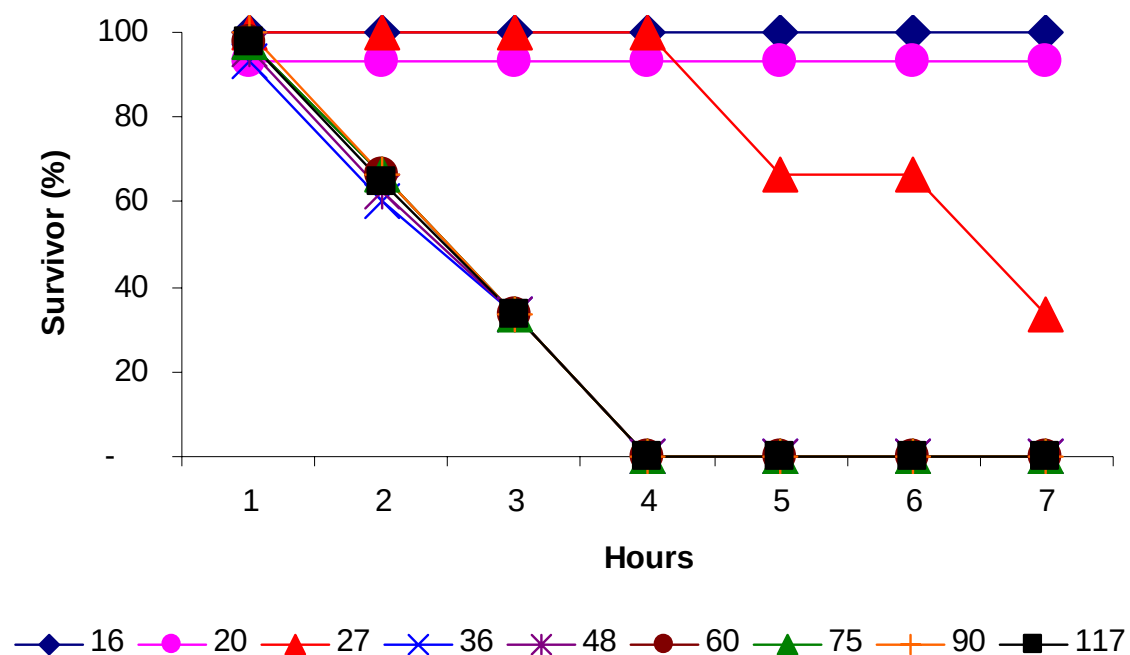


Figura 1 - Proporção de ovos sobreviventes de *O. taurinus* para cada intervalo de tempo durante a exposição a concentrações de contaminante no teste de CL50. A legenda indica as concentrações usadas em mL/L.

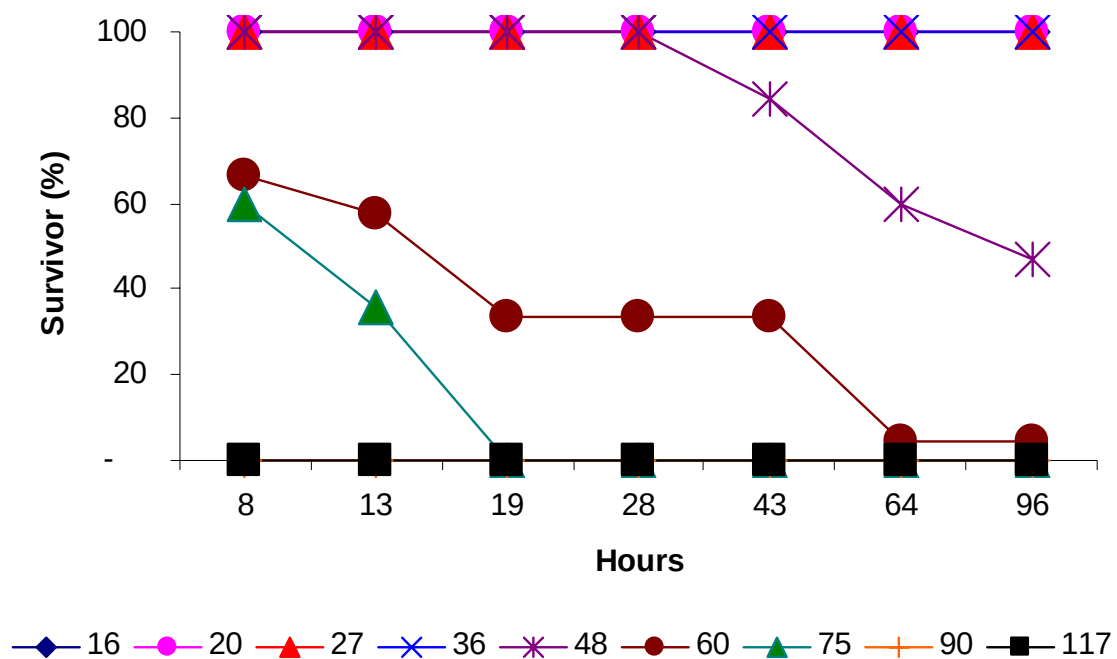


Figura 2 - Proporção de girinos sobreviventes de *O. taurinus* para cada intervalo de tempo durante a exposição a concentrações de contaminante no teste de CL50. A legenda indica as concentrações usadas em mL/L

4.3 Efeitos da concentração de oxigênio na água sobre a sobrevivência e desenvolvimento larvários

Nenhuma diferença foi observada entre os tratamentos e entre níveis de tratamento com ou sem aerador, tanto em relação à sobrevivência (Figura 3), quanto em relação ao estágio de desenvolvimento. Tanto no tratamento com aerador quanto sem aerador, após 96 horas as larvas nas concentrações 36 mL/L encontravam-se entre os estádios 18 e 19, em 48 mL/L e 60 mL/L entre o estágio 17-19 e o controle no estágio 25.

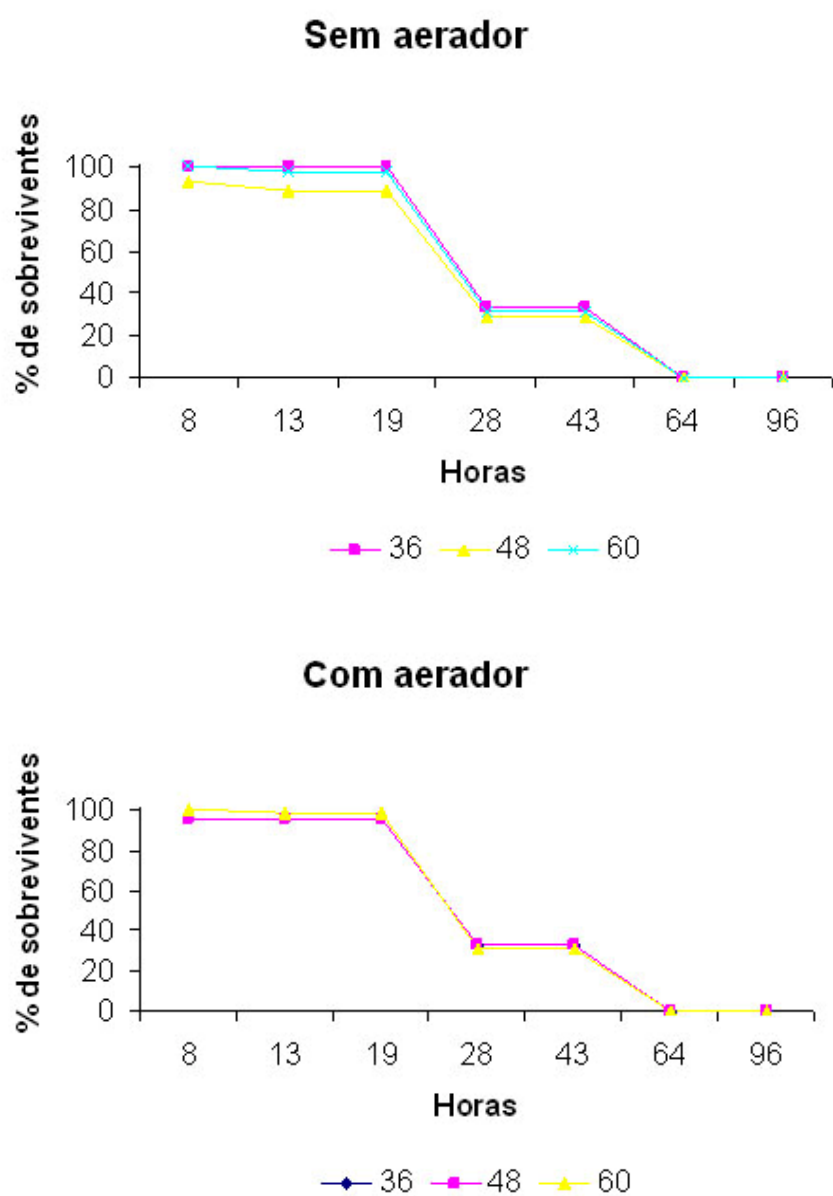


Figura 3 - Sobrevivência de ovos de *O. taurinus* durante a exposição a concentrações de contaminante, com ou sem o uso de aerador. A legenda indica as concentrações usadas em mL/L.

4.4 Efeito da presença de alimento sobre a sobrevivência e o desenvolvimento larvários

Os girinos contaminados em ambas as concentrações foram significativamente maiores que os girinos controle quando os girinos não foram alimentados ($F(2,15) = 42.944$; $P < 0,0001$) (Figura 4). Desova não teve efeito significativo no modelo ($F(2,15) = 0,019$; $p = 0,981$).

Quando os girinos foram alimentados, também houve diferenças significativas entre os níveis de contaminação ($F(2,15) = 4,467$; $P = 0,030$), mas o efeito se deveu apenas a diferença significativa entre o tamanho final de girinos controle e da concentração de 16 mL/L (Figura 5). Não houve diferença significativa entre o controle e a concentração 8 mL/L. Desova não teve efeito significativo no modelo ($F(2,15) = 1,230$; $p = 0,320$).

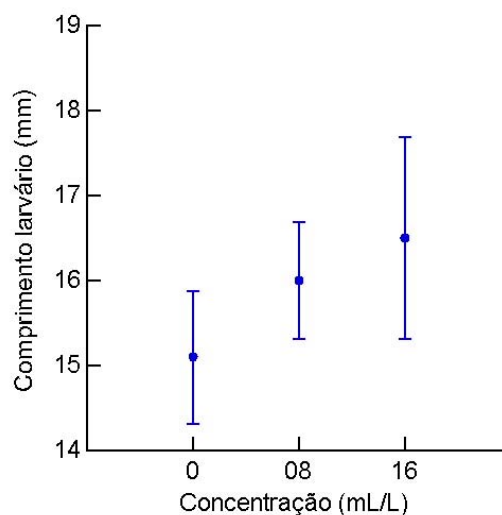


Figura 4. Diferença no comprimento larvário em cada concentração, nas larvas que não receberam alimento.

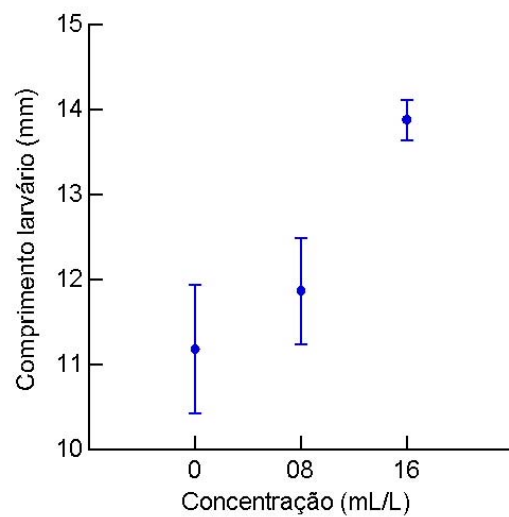


Figura 5 - Diferença no comprimento larvário em cada concentração, nas larvas que receberam alimento.

4.5. Efeitos crônicos da contaminação sobre o desenvolvimento larvário

a) Sobrevivência

Não houve diferenças significativas na sobrevivência entre tratamentos e controle ($\chi^2 = 0,364$; $p > 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Sobrevivência de girinos de distintas desovas de *Osteocephalus taurinus* expostos a diferentes concentrações de contaminante.

Desova/concentração	Controle	9 mL/L	18 mL/L	36 mL/L
A	8	9	8	9
D	9	10	10	7
E	9	9	10	10
F	8	10	10	9
G	10	10	10	10
Média	44	48	48	45

b) Duração do período larvário

Houve diferença significativa na duração do período larvário até a metamorfose entre concentrações de contaminante e o controle ($F(3,175) = 3,035$; $p = 0,031$; Figura 6; Tabela 5), o que se deveu a diferença significativa da duração do período larvário entre as concentrações 18 mL/L e 36 mL/L. Não houve diferença significativa entre o controle e as concentrações 9 e 18 e 36 mL/L. O comprimento

inicial dos girinos não teve efeito significativo no modelo ($F(1,175) = 0,478$; $p = 0,490$).

Desova não teve efeito significativo no modelo ($F(4,175) = 1,617$; $p = 0,172$).

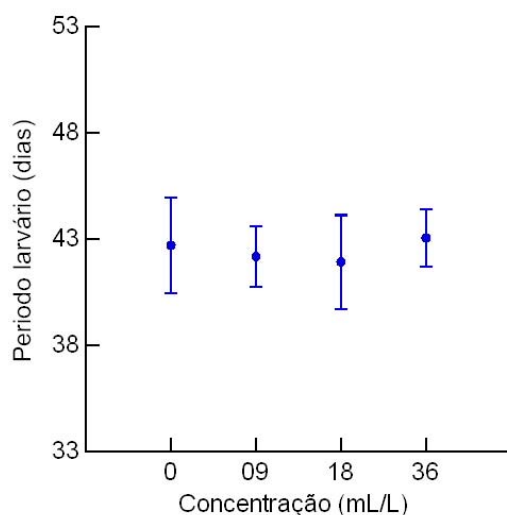


Figura 6 - Duração do período larvário até a metamorfose dos girinos de *O. taurinus* submetidos a diferentes concentrações de água contaminada.

c) Tamanho na metamorfose

Houve diferença significativa no tamanho na metamorfose entre as concentrações de contaminante e o controle ($F(3,180) = 3,248$; $p = 0,023$; Figura 7; Tabela 5), o que se deveu ao tamanho significativamente maior dos girinos na concentração 36 mL/L. Não houve diferenças significativas entre o controle e as concentrações 9 e 18 mL/L. O tamanho inicial dos girinos não teve efeito significativo no modelo ($F(1,180) = 2,080$; $p = 0,151$) e a identidade da desova teve efeito significativo ($F(4,180) = 17,166$; $p < 0,0001$).

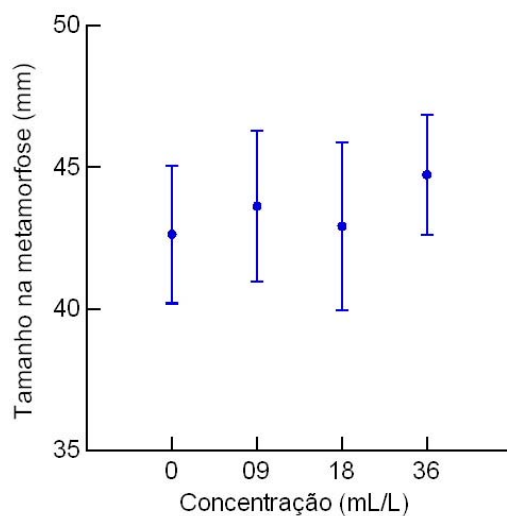


Figura 7 - Tamanho na metamorfose dos girinos de *O. taurinus* submetidos a diferentes concentrações água contaminada.

d) Taxa de crescimento

Houve diferença significativa nas taxas de crescimento entre os níveis de tratamento e o controle ($F(3,174) = 3,637$; $p = 0,014$; Figura 8; Tabela 5). Só ocorreu relação significativa entre o controle e a concentração 36 mL/L. O comprimento inicial dos girinos ($F(1,174) = 107,618$; $p < 0,0001$) e a identidade da desova ($F(4,174) = 30,897$; $p < 0,0001$) tiveram efeito significativo no modelo.

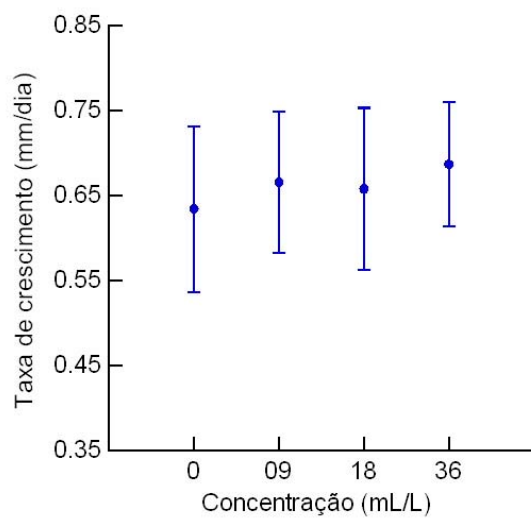


Figura 8 - Taxa de crescimento dos girinos de *O. taurinus* submetidos a diferentes concentrações de água contaminada.

Tabela 5 - Médias $\pm$ desvio padrão (DP), por tratamentos, para o comprimento na metamorfose, a taxa de crescimento e a duração do período larvário para girinos de *O. taurinus* submetidos a diferentes concentrações de contaminante. C = controle. N = numero de indivíduos.

Conc (mL/L)	Tamanho na metamorfose (mm)		Taxa de crescimento (mm/dia)		Duração do período larvário (dias)	
	N	Média $\pm$ DP (min – max)	N	Média $\pm$ DP (min – max)	N	Média $\pm$ DP (min – max)
C	44	42,4 $\pm$ 2,7 (33 - 49)	44	0,65 $\pm$ 0,09 (0,36 – 0,83)	44	42,7 $\pm$ 2,2 (39 – 50)
9	47	43,6 $\pm$ 2,6 (35 – 49)	47	0,65 $\pm$ 0,08 (0,42 – 0,83)	48	42,2 $\pm$ 1,4 (39 - 46)
18	47	42,9 $\pm$ 2,9 (35 - 48)	47	0,66 $\pm$ 0,08 (0,42 – 0,83)	48	41,9 $\pm$ 2,2 (39 - 53)
36	45	44,2 $\pm$ 3,0 (35 – 50)	45	0,66 $\pm$ 0,09 (0,36- 0,83)	45	43,0 $\pm$ 1,3 (40 – 46)

5. DISCUSSÃO

5.1. Avaliação de efeitos agudos da contaminação – teste de CL50

O contaminante utilizado no experimento foi deixado em repouso até a estabilização de seu pH, com isso a maior parte da matéria orgânica presente na água foi decomposta. A decomposição em condições aeróbicas forma aminas que poderiam ser oxidadas e produzir nitrito, que, por sua vez, poderiam ser oxidadas, produzindo nitrato (Vieira, 1986; Geomanaus, 2002). Porém, provavelmente a decomposição da matéria orgânica na amostra ocorreu de forma anaeróbica, pois em águas paradas a quantidade de oxigênio é muito pequena (Vieira, 1986), o que também poderia ser observado em poças temporárias utilizadas por *Osteocephalus taurinus*.

Sem oxigênio em quantidades suficientes, ocorre a decomposição das proteínas, formando aminoácidos, que, por sua vez, são parcialmente desdobrados em amônia, ácidos graxos e ácido carbônico (Vieira, 1986). Alguns aminoácidos sofrem decomposição por bactérias e produzem certas substâncias, como hidrogênio sulfídrico, indol e escatol. Todos produzem mau cheiro. Quando isso ocorre a água pode ficar bastante tóxica para girinos (Vieira, 1986).

Em condições aeróbicas a amônia seria um produto instável, desaparecendo rapidamente da água, no entanto, em condições anaeróbicas a amônia pode se acumular rapidamente na água (Vieira, 1986). Os sinais característicos de intoxicação por amônia em girinos e imagos de rãs incluem morte súbita, boca aberta, vermelhidão na pele, excesso de muco, brânquias vermelhas e brilhantes,

desorientação, ataques convulsivos, falha em ganhar peso e opacificação das cores (Oliveira, 2003). No experimento de CL50 o contaminante teve um efeito de morte súbita, tanto para ovos quanto para girinos, todos os girinos da mesma réplica morreram ao mesmo tempo, não houve casos de apenas alguns terem morrido.

Durante os experimentos possivelmente ocorreu um aumento na produção de amônia, porem não sabemos se essa produção seria suficiente para causar danos para essa espécie.

Durante o repouso inicial da água contaminada, odores desagradáveis e a diminuição do pH resultaram da produção de ácidos (ácidos graxos e ácido carbônico). Durante a decomposição o pH inicial foi de 6,4 e se estabilizou em 4,5. A acidificação de rios em zonas temperadas tem impactos negativos sobre populações de anfíbios (Andrén *et al*, 1988; Warner *et al*, 1991; Rowe *et al*, 1992; Kutka, 1994;), porém o pH de águas pretas amazônicas, como as dos igarapés de onde provêm as desovas usadas no presente estudo, variam entre 3 e 5 (Geomanaus, 2002). Portanto, a acidificação da amostra de água contaminada, muito provavelmente não afetou negativamente os girinos. Valores de pH acima de 5, só são encontrados em igarapés contaminados em Manaus (Geomanaus, 2002). Durante o experimento o pH variou de 4,6, na concentração mais alta do contaminante, a 5,3, na concentração mais baixa. O pH do controle foi de 6,5, o que ainda está dentro da amplitude de variação de pH encontrado em corpos d'água na região. Nas poças temporárias onde as desovas foram encontradas o pH foi, em média, de 5,4.

Outro fator que poderia ter causado redução na sobrevivência dos girinos é a diminuição do oxigênio dissolvido, porem mesmo tendo grande possibilidade do oxigênio dissolvido do contaminante ser praticamente zero, verificamos através do experimento com aeradores que a diminuição do oxigênio dissolvido não foi o fator

determinante da mortalidade dos girinos, pois, a água utilizada para diluir o contaminante possuía oxigênio dissolvido suficiente para manter os girinos vivos durante as 96 horas do experimento.

Os metais pesados não podem ter sido responsável pela redução na sobrevivência dos girinos, pois, ao diluirmos o contaminante em água limpa o único metal pesado que continuou acima do recomendável pelo CONAMA para águas de classe1, foi o ferro, e apenas na concentração 117 ml/L. Nas outras concentrações também ocorreu redução na sobrevivência, e na concentração 90 mL/L os girinos morreram ao mesmo tempo que na concentração 117 mL/L, mesmo seu teor de ferro sendo abaixo do recomendado pelo CONAMA.

Nas concentrações mais altas do experimento com ovos nas quais não ocorreu mortalidade, os girinos que se desenvolveram a partir dos ovos apresentaram edemas abdominais. Esses edemas poderiam ser causados por infecções por bactérias, vírus, intoxicação por pesticidas ou por fertilizantes (Langan, 2003; Oliveira, 2003; Sayim e Kaya, 2005). Girinos de *Anaxyrus terrestris* expostos a nitrato de sódio apresentaram inchaços e transparências no corpo, o que sugere que o nitrato poderia estar interferindo nos mecanismos de osmorregulação desses animais (Langan, 2003). Krishnamurthy (2006) também observou inchaços nos corpos dos girinos de *Nyctibatrachus major* expostos a diferentes concentrações de nitrato. No contaminante utilizado nesse experimento provavelmente existiu uma grande quantidade de nitrato resultante da decomposição, o que poderia, por sua vez, ter causado a formação dos edemas.

Os girinos resultantes de ovos nas concentrações mais baixas do contaminante apresentaram maior tamanho corporal que os controles. Considerando que não foi adicionada comida às réplicas durante o teste de CL50, uma explicação

para esse fenômeno poderia ser a presença de nutrientes no contaminante, que beneficiaram os girinos em água contaminada em baixa concentração de substâncias deletérias que atuaram nas concentrações mais altas. Porém, girinos de *O. taurinus* são raspadores e não filtradora o que dificultaria a absorção dos nutrientes (Hero, 1990). No experimento em que se testou o efeito do contaminante sobre o comprimento larvário, as larvas que não foram alimentadas apresentaram diferenças grandes no comprimento entre concentrações de contaminante e o controle. As larvas que receberam alimento também apresentaram diferenças no comprimento entre concentrações de contaminante e o controle, porém se a diferença de comprimento for causada unicamente por efeitos nutricionais a tendência seria de que ao adicionarmos alimento, não ocorressem diferenças no comprimento entre concentrações e controle. Pois todos receberam a mesma quantidade de alimento assim que começaram a se alimentar, no estágio 25. Uma explicação para isso poderia ser uma diferença de tamanho por causa do efeito da desova, porém a desova não teve efeito significativo em relação ao comprimento larvário.

A diferença no comprimento final no experimento de CL50 só foi testada no experimento com ovos, pois nesse experimento a diferença do comprimento era tão grande que pode ser observada a olho nu. No experimento com girinos essa diferença não foi observada a olho nu, porém isso não quer dizer que também não possa haver diferenças no comprimento no experimento com girinos. O estágio de ovo é o período onde os animais menos precisam de nutrientes, pois ainda estão se nutrindo do vitelo. Sendo assim, a presença de nutrientes não deve ser o único fator responsável pelo aumento no comprimento dos girinos. É possível que alguma substância presente na água interferiu com o equilíbrio hormonal nas primeiras fases

de crescimento dos embriões, fazendo com que crescessem mais rapidamente em relação ao controle. Langan (2003) sugeriu essa explicação para o aumento da velocidade de desenvolvimento dos girinos de *A. terrestris* expostos a nitrato de sódio a partir do estadio 25 de Gosner. Boone *et al* (2007) verificou um aumento na massa corpórea dos girinos de *Anaxyrus americanus* expostos a nitrato a partir do estadio 25 de Gosner. O nitrato presente em concentrações baixas poderia ter causado efeitos similares em *O. taurinus*.

5.2. Avaliação de efeitos crônicos da contaminação

Girinos de *Lithobates catesbeianus* expostos a ambientes poluídos desviam energia do crescimento e desenvolvimento para suprir os custos metabólicos da desintoxicação, resultando em girinos menores em relação ao controle (Rowe *et al* , 1998).

Porém, no presente estudo, o contaminante teve um efeito contrário, pois os girinos expostos à concentração mais alta do contaminante apresentaram maior tamanho na metamorfose que os controles. Esse fenômeno sugere que o mesmo efeito observado em curto prazo no teste de CL50 com ovos poderia também atuar em longo prazo e reforça a hipótese de que não se trata de um efeito de nutrientes presentes em baixas concentrações de água contaminada, já que os girinos no experimento de efeitos crônicos receberam alimento adicionado à vontade. A taxa de crescimento também foi maior na concentração mais alta em relação ao controle. Mesmo observando um efeito bastante leve do contaminante em longo prazo, não podemos deixar de considerar que as concentrações utilizadas correspondem a uma pequena fração dos poluentes encontrados nesse igarapé. Não foi observado

nenhuma variação da duração do período larvário nas concentrações do contaminante em relação ao controle

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amphibiaweb, 2009. Information on Amphibian Biology and Conservation. Berkeley (<http://amphibiaweb.org>). Acesso em: Maio 2009.
- Andrén, C.; Henrikson, L.; Olsson, M.; Nilson, G. 1988. Effects of pH and aluminium on embryonic and early larval stages of Swedish brown frogs *Rana arvalis*, *R. temporaria* and *R. dalmatina*. *Holarctic Ecology*, 11: 127-135
- Avila-Pires, T.C.S.; Hoogmoed, M.S.; VITT, L.J. 2007 .Herpetofauna Amazônica. In: Nascimento, L.B.; Oliveira, M.E. Herpetologia no Brasil II. *Sociedade Brasileira de Herpetologia*, Belo Horizonte, 13-43.
- Blaustein, A.R.; Romansic, J.M.; Kiesecker, J.M.; Hatch, A.C. 2003. Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*, 9: 123–140.
- Boone, M.D.; Semlitsch, R.D.; Little, E.E.; Doyle, M.C. 2007. Multiple stressors in amphibian communities: effects of chemical contamination, bullfrogs, and fish. *Ecological applications*, 17(1): 291-301
- Broomhall, S. 2002. The effects of endosulfan and variable water temperature on survivorship and subsequent vulnerability to predation in *Litoria citropa* tadpoles. *Aquatic Toxicology*, 61: 243-250.
- Burkhart, J. G.; Helgen, J. C.; Fort, D. J.; Gallagher, K.; Bowers, D.; Propst, T. L.; Gernes, M.; Magner, J.; Shelby, M. D.; Lucier, G. 1998. Induction of mortality

- and malformation in *Xenopus laevis* embryos by water sources associated with field frog deformities. *Environmental Health Perspectives*, 106(12): 841-847.
- Cleto Filho, S.E.N. 1998. *Efeitos da ocupação urbana sobre a macrofauna de insetos aquáticos de um igarapé da cidade de Manaus/AM*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas área de concentração Ecologia) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 300pp.
- Degarady, C.J.; Halbrook, R.S. 2006. Using Anurans as Bioindicators of PCB Contaminated Streams. *Journal of Herpetology*, 40(1): 127–130.
- Oliveira, P.M.A. 2003. *Animais silvestres e exóticos na clínica particular*. Editora roca, 375pp.
- Forst, D.R. 2009. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- GeoManaus. 2002. Relatório Ambiental Urbano Integrado: informe GEO: Manaus/Supervisão: Ana Lúcia Nadalutti La Rovere, Samyra Crespo: Coordenação: Rui Velloso. Consórcio Parceria, Rio de Janeiro, 21: 188.
- Gosner, K. L. A. 1960. simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16: 183-190.
- Hamilton, M.A.; Russo, R.C.; Thurson, R.V. 1978. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. technol*, 11: 714-719.
- Hero, J.M. 1990. An illustrated key to tapoles occurring in the Central Amazon rainforest, Manaus, Amazonas, Brasil. *Amazoniana*, 11(2): 201–262.

- Hödl, W. 1990. Reproductive diversity in Amazonian lowland frogs. In: Hanke, W (Ed.). *Biology and Physiology of the Amphibians*. Stuttgart and New York: G. Fischer Verlag,. p. 41–60.
- Hopkins, W. A.; Congdon, J.; RAY, J. K. 2000. Incidence and impact of axial malformations in larval bullfrogs (*Rana catesbeiana*) developing in sites polluted by a coal-burning power plant. *Environ. Toxicol. Chem*, 19: 862-868.
- Johnson, P.T.J.; Lunde, K.B.; Thurman, E.M.; Ritchie, E.G.; Wray, S.N.; Sutherland, D.R.; Kapfer, J.M.; Frest, T.J.; Bowerman, J.; Blaustein, A.R. 2002. Parasite (*Ribeiroia ondatrae*) infection linked to amphibian malformations in the western United States. *Ecological Monographs*, 72(2) : 151-168.
- Karasov, W.H.; Jung, R.E.; Langenberg, S.V; Bergeson, T.L.E. 2005. Field exposure of frog embryos and tadpoles along a pollution gradient in the fox river and green bay ecosystem in Wisconsin, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(4): 942-953.
- Krishnamurthy, S.V.; Meenakumari, D.; Gurushankara.; Grif.ths, R.A. 2006. Effects Of Nitrate On Feeding And Resting Of Tadpoles Of *Nyctibatrachus major* (Anura: Ranidae). *Australasian Journal Of Ecotoxicology*, 12: 123-127.
- Kutka, F.J. 1994. Low pH effects on swimming activity of *Ambystoma* salamander larvae. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13(11): 1821-1824.
- La Marca, E.; Lips, K.R.; Lötters, S.; Puschendorf, R.; Ibáñez, R.; Rueda-Almoncid, J.V.; Schulte, R.; Marty, C.; Castro, F.; Manzanilla-Puppo, J.; Garcia-Perez, J.E.; Toral, E.; Bolaños, F.; Chaves, G.; Pounds, J.A.; Young, B. 2005. Catastrophic population declines and extinctions in Neotropical harlequin frogs (Bufonidae: Atelopus). *Biotropica*, 37(2): 190-201.

- Langan, E.M. 2003. *Sublethal effects of sodium nitrate on developmental rate and body length in southern toad (bufo terrestris) tadpoles*. A thesis presented to the graduate school of the university of Florida in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science university of florida. 62pp
- Lebboroni, M.; Ricchiardino, G.; Bellavita, M.; Chelazzi, G. 2006. Potential use of anurans as indicators of biological quality in upstreams of central Italy. *Amphibia-Reptilia*, 27: 73-79.
- Lima, A.P.; Magnusson, W.E.; Menin, M; Erdtmann, L.K.; Rodrigues, D.J.; Keller, C.; Hödl, W. 2006. *Guia de sapos da Reserva Adolpho Ducke, Amazônia Central*. Áttema design editorial. Manaus, 168 pp.
- Melo, E.G.F.; Silva, M.S.R.; Miranda, S.A.F. 2005. Influência antrópica sobre águas de igarapés na cidade de Manaus- Amazonas. *Caminhos de Geografia*, 5(16): 40 – 47.
- Monteiro, J.M.F. 2004. *Avaliação experimental do efeito da contaminação por óleo lubrificante sobre larvas de Osteocephalus taurinus (Amphibia, Hylidae)*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas área de concentração Biologia de Água Doce e Pesca Interior) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônica/Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 45pp.
- Rowe, C.L.; Sadinski, W.J.; Dunson, W.A. 1992 Effects of acute and chronic acidification of three larval amphibians that breed in temporary ponds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 23: 339-350.
- Rowe, C.L.; Kinney, O.M.; Nagle, R.D.; Congdon, J.D. 1998. Elevated maintenance costs in an anuran (*Rana catesbeiana*) exposed to a mixture of trace elements during the embryonic and early larval periods. *Physiological Zoology*, 7(1): 27-35.

- Santana, G.P.; Barroncas, P.S.R. 2007. Estudo de metais pesados (Co, Cu, Fe, Cr, Ni, Mn, Pb e Zn) na Bacia do Tarumã-Açu Manaus – (AM). *Acta Amazônica*, 37(1): 111 -118.
- Sprague, J. B. 1990. Methods of fish biology. *In*: Schrech, C. B.; Moyle, P. B. (Ed.). *Aquatic toxicology*. Maryland, USA: American Fisheries Society Bethesda. p. 491-528.
- Sparling, D.W.; Bishop, C.A.; Linder, G. 2000. The current status of amphibian and reptile ecotoxicological research. *In*: Sparling, D.W.; Linder, G.; Bishop, C.A. (Ed.). *Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles*. Pensacola, FL: Society of Environmental Toxicology (SETAC), p. 1-13.
- Sayim, F.; Kaya, U. 2006. Effects of dimethotate on three frog (*Hyla arborea*) larvae. *Turk J Zool*, 30: 261-266.
- Vieira, M.I. 1986. Rãs: criação prática e lucrativa. Editora do autor. São Paulo, 380 pp.
- Warner, S.C.; Dunson, W.A.; Travis, J. 1991. Interaction of pH, and priority effects on survivorship and growth of two species of hylid tadpoles. *Oecologia*, 88: 331-339.
- Welz, B. 1985. Atomic Absorption Spectrometry. *VCH Verlagsgesellschaft mbH*, Germany, p. 506.

IV. CONCLUSÃO GERAL

Neste trabalho podemos observar os efeitos causados pela poluição do igarapé do Educandos sobre ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus*. Esse igarapé já passou anteriormente por um processo de limpeza realizado pelo PROSAMIM (Programa Social e Ambiental dos Igarapés de Manaus) do Governo do Estado do Amazonas. Porem podemos observar no decorrer desse trabalho que uma serie de medidas ainda devem ser tomadas para a total limpeza dessas águas.

Uma concentração de 25mL/L do efluente testado causou efeitos deletérios sobre ovos de *Osteocephalus taurinus*. Uma concentração de 36 mL/L causou alterações nos parâmetros de desenvolvimento larvário, e a suscetibilidade à contaminação variou entre desovas. Uma concentração de 47mL/L causou efeitos deletérios sobre girinos livre-natantes. Concentrações de até 16 mL/L podem causar um aumento no tamanho médio dos girinos.