

## Efeitos da poluição por coliformes em girinos de *Chaunus ictericus* (Spix, 1824) (Anura, Bufonidae)

Mauro S. C. Souza Lima<sup>1</sup> & Oswaldo Luiz Peixoto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (PPGBA/UFRRJ) BR 465, km 7 – Seropédica Rio de Janeiro, CEP23890-000 [slmauro@uol.com.br](mailto:slmauro@uol.com.br); [suculentas@hotmail.com](mailto:suculentas@hotmail.com)

**Abstract.** Effects of human wastes pollution in *Chaunus ictericus* tadpoles (Spix, 1824) (Anura, Bufonidae). Tadpoles of *Chaunus ictericus* were sampled under two distinct environmental conditions in the Cachimbau River, Pinheiral Municipality, Rio de Janeiro State. *Chaunus ictericus* tadpoles occurs either in waters polluted by human wastes or in clear water areas. Measurements were taken for three abiotic factors, pH, temperature and dissolved oxygen, for the first two no significant differences could be detected between the two ecological situations, for the dissolved oxygen the ANOVA test showed a higher level of dissolved oxygen at non polluted areas. Investigation on possible distinct total size occurrence for tadpoles living under the two distinct dissolved oxygen content showed to be null, and no differences in abundance of larvae could be detected either. It seems that *Chaunus ictericus* tadpoles are not affected by organic pollution in the the area of study.

**Key words:** organic pollution, *Chaunus ictericus* tadpoles, environmental conditions

**Resumo:** Girinos de *Chaunus ictericus* foram estudados em duas condições ambientais, um trecho poluído por coliformes totais (NMP > 1000) e outro livre destes poluentes (NMP < 200), no Rio Cachimbuá, Pinheiral- RJ. Foram avaliados os fatores abióticos pH, temperatura e oxigênio dissolvido. Os dois primeiros não apresentaram diferenças significativas. Quanto ao oxigênio dissolvido foi registrada uma diferença significativa entre os valores nos dois ambientes. A comparação entre o comprimento total de girinos para doze fases de desenvolvimento não apresentou diferenças significativas pela aplicação do teste t, entre as larvas que ocupavam os dois ambientes, igualmente, a abundância de girinos distribuídos nos dois trechos não registrou diferenças significativas. Aparentemente o aporte de matéria orgânica que altera este corpo d'água não afeta os girinos de *Chaunus ictericus*.

**Palavras-chave:** Poluição Orgânica, Girinos de *Chaunus ictericus*, condições ambientais.

### INTRODUÇÃO

A ação de agentes químicos sobre girinos, ou adultos aquáticos, é extensamente avaliada na literatura (BRIDGES, 1999; GLENNEMEIER & DENVER, 2001; RELYEA & MILLS, 2001), mas o efeito de dejetos orgânicos raramente foi discutido (COSTA, 1967; HANNIFA & AUGUSTIN, 1989).

O aumento da carga orgânica, em ambientes aquáticos, é traduzido, entre outros aspectos, por uma diminuição do teor de oxigênio dissolvido (NOGUEIRA & MATSUMUTA-TUNDSI, 1994) que afeta o comportamento dos anfíbios em sua fase larvar

(ROSE *et al* 1971); ambientes aquáticos anóxicos interrompem o desenvolvimento larvar (COSTA, 1967), e WASSERSUG & SEIBERT (1975) discutem a influência da disponibilidade de oxigênio dissolvido quanto a distribuição na coluna de água de girinos de 5 espécies de anuros.

O presente estudo foi desenvolvido no município de Pinheiral, Estado do Rio de Janeiro, região inserida no Médio Vale do Rio Paraíba do Sul, que vem sofrendo forte influência antrópica, acentuada no século XIX pela implantação de lavouras de café e pecuária leiteira, tendo sido a cobertura de Mata Atlântica fortemente afetada (SERRA, 1989).

Examinamos a influência de dejetos orgânicos sobre os girinos de *Chaunus ictericus*, espécie que apresenta acentuada sinantropia, e que usa as águas do Rio Cachimbaú como sítio de reprodução.

## MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de julho a dezembro de 2005 foram estudados dois trechos do Rio Cachimbaú, afluente do Rio Paraíba do Sul, município de Pinheiral. Os ambientes envolveram o "trecho 1", fortemente afetado por coliformes (22° 34' 9,2" S e 43° 00' 8,8" W) e a nascente, "trecho 2", ambiente livre de poluição orgânica, (22°31' 38,7"S e 44° 59' 43,9" W).

O procedimento de coleta adotado foi do tipo varredura, em que duas pessoas trabalharam por procura visual (AURICCHIO & SALOMÃO, 2002), na área amostrada foram realizadas duas coletas mensais de girinos de *Chaunus ictericus* entre 8:00 e 12:00 horas, com peneira de 400 x 700 mm e malha de 0,05x 0,05 mm. Quando um cardume de girinos era encontrado, era amostrado por dez batidas com a peneira, representando um amostra única.

No momento de cada coleta de girinos, foram registrados: temperatura da água, oxigênio dissolvido, pH, e coliformes totais (NMP/100ml). O Oxigênio dissolvido e a temperatura foram aferidos por oxímetro portátil Q-408(Quimis) com precisão de  $\pm$  0,3 mg/L, o pH, por medidor HANNA.

A porcentagem de saturação de oxigênio dissolvido foi calculada através da fórmula SCHIAVETTI (2005).

$$\%sat = \frac{OD_x760}{OD_xP} \times 100$$

% Sat = saturação de oxigênio dissolvido (%)

OD = oxigênio dissolvido

OD<sub>s</sub> = oxigênio dissolvido a T (°C) e 760 mmHG

P = Pressão atmosférica regional

A concentração de coliformes totais foi avaliada pela técnica de SILVA *et al.* (2000), sendo a água coletada em cinco frascos estéreis, destampado-os e fechando-os submersos em água e mantidos refrigerados em gelo para posterior encaminhamento ao laboratório, em um prazo máximo de 4 horas.

Cada amostra de girinos foi mantida em frascos individuais, incorporados a Coleção Herpetológica

Eugenio Izecksohn, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (EI 11.011). Os estágios larvares foram determinados pela tabela de GOSNER (1960) e o comprimento total (ALTIG & MCDIARMID, 1999) foi medido com o auxílio de paquímetro digital Mitutoyo, com precisão de 0,03 mm.

Para as análises estatísticas dos dados foram utilizados os testes ANOVA e o teste t de Student com posterior construção do "Box Plot". Os requisitos de normalidade e a homocedacidade para as análises foram obtidos através da transformação logarítmica Log (x+1), onde Log é o logaritmo de base 10, e X é o número de indivíduos capturados para cada fase de desenvolvimento. Com nível de significância de 0,05 e (n-1) graus de liberdade.

## RESULTADOS

### Parâmetros Ambientais

O trecho 1, representando um ambiente que recebe um grande volume de matéria orgânica, mostrou uma concentração elevada de Coliformes Totais (NMP>1000) e o trecho 2, área menos densamente ocupada apresentou ausência de poluição orgânica em Coliformes Totais (NMP<200).

A temperatura da água apresentou valores semelhantes nos dois trechos, com uma discreta flutuação entre julho e novembro. No mês de novembro as características térmicas dos dois trechos se diferenciaram. Em novembro a média de temperatura no trecho 1 equivaleu a 18 °C e no trecho 2 a 21°C (Fig. 1A), porém estes dados submetidos a ANOVA não indicam diferença significativa (F= 0,100118; p< 0,05). As médias máximas registradas para os dois trechos correspondem ao mês de dezembro (25°C).

Quanto ao pH (Fig.1C), os dois trechos mostraram uma flutuação mais acentuada do que a observada em relação ao fator temperatura, e, além disso, foi possível registrar diferenças mais marcantes entre as duas áreas, incluindo uma alternância entre elas quanto a valores extremos. Assim, no mês de agosto registramos pH 6,0 (trecho 1) e pH 7,5 (trecho 2), enquanto que em outubro os valores foram pH 7,8 (trecho 1) e pH 6,8 (trecho 2). A ANOVA aplicada não indicou diferença significativa (F= 0,104948; p<0,05).

As diferenças ambientais mais acentuadas entre os trechos 1 e 2 envolvem os valores de oxigênio dissolvido (Fig. 1B), nesse parâmetro ocorreu uma flutuação mais acentuada e os valores para os dois trechos não se tocam, havendo momentos no período de amostragem em que as diferenças entre os dois trechos se acentuam. Assim, em agosto os valores foram respectivamente 107% no trecho 2 e 59% no trecho 1; em setembro foram 90% no trecho 2 e 29% no trecho 1; em novembro foram 107% no trecho 2 e 47% no trecho 1. As maiores diferenças quanto ao oxigênio dissolvido foram observadas em dezembro, com valores de 111% no trecho 2 e 35% no trecho 1. A ANOVA aplicada indicou diferença significativa ( $F = 76,675$ ;  $p < 0,05$ ).

### Abundância Relativa

Durante o período de estudo foram capturados 4723 girinos de *Chaunus ictericus*, sendo 2503 para o trecho 1 e 2220 para o trecho 2, submetida ao teste t essa diferença no número de girinos obtidos, em cada situação ambiental, não pode ser considerada significativa ( $p = 0,815$ ). Embora estatisticamente as abundâncias relativas de girinos desta espécie nos dois trechos sejam equivalentes, a discriminação de girinos por estágios mostrou que

os estágios 25, 31 e 37 foram mais numerosos na área não poluída (Fig. 2), porém esta última diferença não se mostrou estatisticamente significativa (Tab.1).

### Comprimento total dos girinos

Os 4723 girinos colecionados envolviam 12 estágios evolutivos, com valores extremos de comprimento total entre 7 mm e 32 mm. Buscando avaliar as diferenças de desenvolvimento, representadas pelo comprimento total dos girinos, nos dois trechos submetemos a análise estatística os valores de comprimento para o mesmo estágio em cada situação, e o teste t indicou diferenças significativas (Tab.2).

Uma vez que o Teste t indicou diferenças significativas para aproximadamente 30% do total de estágios amostrados, buscamos aplicando o gráfico "Box Plot" para cada um destes estágios evidenciar as diferenças observadas para cada trecho (Fig. 3). Verificamos que o trecho 1 ( $NMP > 1000$ ) apresenta girinos maiores nos estágios 20 e 37 enquanto que o trecho 2 ( $NMP < 200$ ) apresenta girinos maiores nos estágios 24, 25 e 36. Os demais estágios não apresentaram diferenças significativas em relação ao comprimento total nos dois trechos.

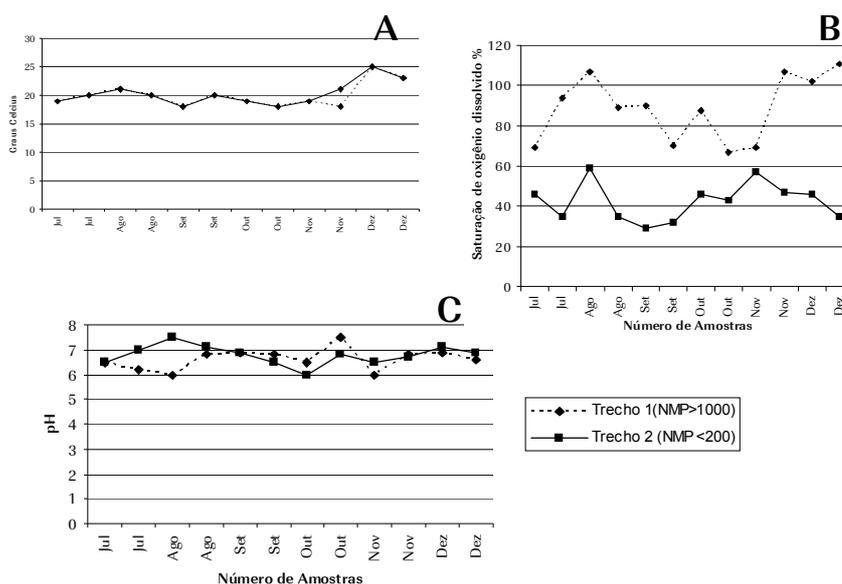


Figura 1 A;B e C. Parâmetros Ambientais para o Trecho 1 poluído ( $NMP > 1000$ ) e o Trecho 2 livre de poluentes ( $NMP < 1000$ ).

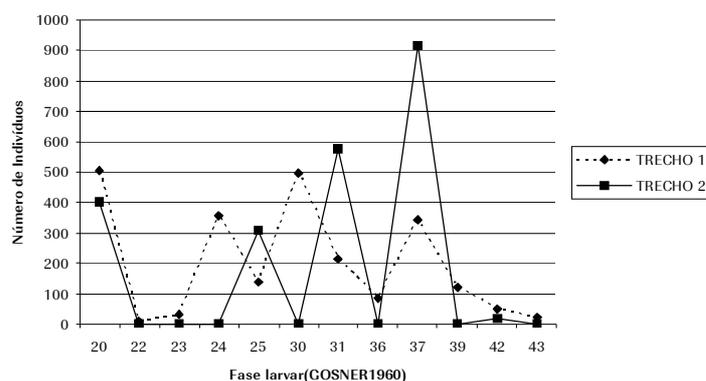
**Tabela 1.** Grupo: fase larvar (GOSNER,1960); Média G1:1 e G2:2: Média de indivíduos capturados para o trecho 1(G1:1) e 2(G2:2); t: Valor de t Student; p: valor de p Valido; N G1:1 e G2:2: Número de Amostras válidas para cada trecho; S D G 1:1e G2:2: Desvio Padrão para o Trecho 1 e 2; f: Valor de F dado pela maior e menor variância ; P: Valor de p válido para as variâncias.

| Grupo | Média G 1:1 | Média G 2:2 | t      | p       | N G1:1 | N G 2:2 | S D G 1:1 | S D G 2:2 | F     | P     |
|-------|-------------|-------------|--------|---------|--------|---------|-----------|-----------|-------|-------|
| 20    | 10,081      | 11,162      | -2,334 | 0,023*  | 25     | 25      | 1,532     | 1,735     | 1,281 | 0,547 |
| 22    | 11,640      | 11,700      | -0,139 | 0,889   | 25     | 25      | 1,249     | 1,769     | 2,00  | 0,094 |
| 23    | 15,772      | 15,375      | 0,811  | 0,421   | 25     | 25      | 1,524     | 1,914     | 1,578 | 0,270 |
| 24    | 19,381      | 15,971      | 7,179  | 0,000** | 25     | 25      | 2,102     | 1,104     | 3,621 | 0,002 |
| 25    | 20,557      | 17,215      | 5,626  | 0,000** | 25     | 25      | 2,752     | 1,113     | 6,107 | 0,000 |
| 30    | 18,136      | 17,503      | 1,243  | 0,219   | 25     | 25      | 2,247     | 1,190     | 3,564 | 0,002 |
| 31    | 20,545      | 20,756      | -0,321 | 0,748   | 25     | 25      | 2,153     | 2,466     | 1,311 | 0,511 |
| 36    | 21,267      | 18,336      | 4,64   | 0,000** | 25     | 25      | 2,592     | 1,796     | 2,082 | 0,078 |
| 37    | 24,677      | 27,005      | -3,354 | 0,001** | 25     | 25      | 2,615     | 2,280     | 1,315 | 0,506 |
| 39    | 20,432      | 214,032     | -1,845 | 0,071   | 25     | 25      | 1,754     | 1,962     | 1,251 | 0,586 |
| 42    | 19,823      | 19,536      | 0,333  | 0,740   | 25     | 25      | 3,179     | 2,903     | 1,199 | 0,659 |
| 43    | 21,861      | 21,891      | -0,027 | 0,978   | 25     | 25      | 3,992     | 3,884     | 1,056 | 0,894 |

(\*) Significante ao nível de 95% de confiança(p<0,05); (\*\*) Significante ao nível de 99% de confiança(p<0,01)

**Tabela 2.** Grupo: fase larvar (GOSNER, 1960); Média G1:1 e G2:2: Média de indivíduos capturados para o trecho 1(G1:1) e 2(G2:2); t : Valor de t Student; p: valor de p Valido; N G1:1 e G2:2: Número de Amostras válidas para cada trecho; S. D. G 1:1e G2:2: Desvio Padrão para o Trecho 1 e 2; f: Valor de F dado pela maior e menor variância ; P: Valor de p válido para as variâncias.

| Grupo | Média G 1:1 | Média G 2:2 | t - value | p     | N G1:1 | N G 2:2 | S D G 1:1 | S D G 2:2 | F      | P     |
|-------|-------------|-------------|-----------|-------|--------|---------|-----------|-----------|--------|-------|
| 20    | 42,166      | 33,333      | 0,221     | 0,826 | 12     | 12      | 124,074   | 60,648    | 4,185  | 0,025 |
| 22    | 0,666       | 0           | 1         | 0,328 | 12     | 12      | 2,309     | 0         | 0      | 1     |
| 23    | 2,583       | 0           | 1,151     | 0,262 | 12     | 12      | 7,774     | 0         | 0      | 1     |
| 24    | 29,666      | 0           | 1         | 0,328 | 12     | 12      | 102,768   | 0         | 0      | 1     |
| 25    | 22,5        | 25,75       | 0,18      | 0,858 | 12     | 12      | 45,789    | 42,306    | 1,171  | 0,797 |
| 30    | 41,25       | 0           | 1,515     | 0,143 | 12     | 12      | 94,282    | 0         | 0      | 1     |
| 31    | 17,833      | 48,166      | 0,95      | 0,352 | 12     | 12      | 23,613    | 108,034   | 20,931 | 0,000 |
| 36    | 7,166       | 0           | 1,603     | 0,123 | 12     | 12      | 15,485    | 0         | 0      | 1     |
| 37    | 28,666      | 76,416      | 0,669     | 0,509 | 12     | 12      | 81,066    | 233,253   | 8,278  | 0,001 |
| 39    | 10,166      | 0           | 1,008     | 0,329 | 12     | 12      | 34,904    | 0         | 0      | 1     |
| 42    | 4           | 1,333       | 0,723     | 0,477 | 12     | 12      | 12,022    | 4,313     | 7,76   | 0,001 |
| 43    | 1,91        | 0           | 1         | 0,328 | 12     | 12      | 6,639     | 0         | 0      | 1     |



**Figura 2.** Distribuição de indivíduos por trechos segundo sua fase larvar(GOSNER, 1960) para o Trecho 1 poluído (NMP>1000) e o Trecho livre de poluentes (NMP<1000).

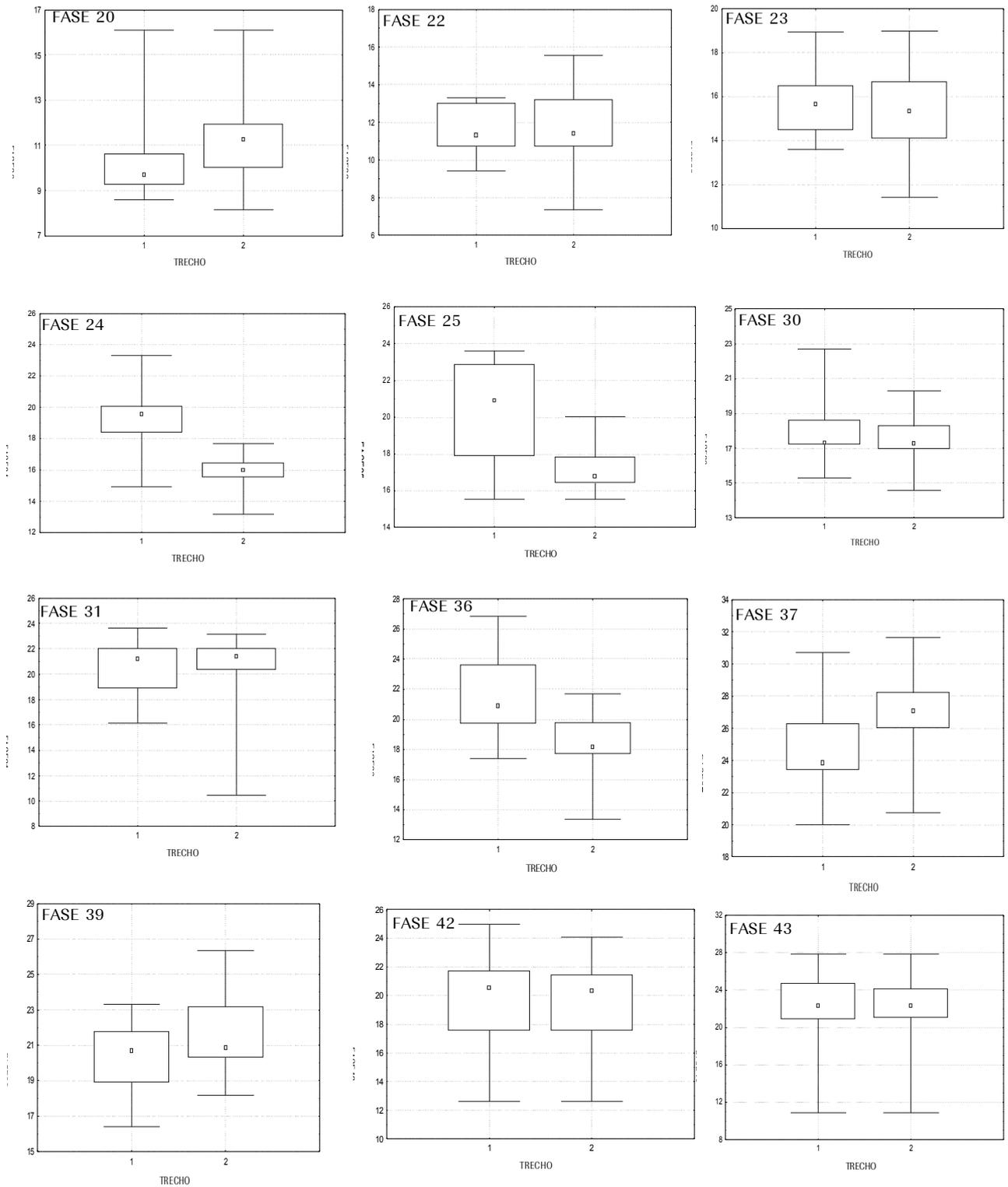


Figura 3. Comparação entre o comprimento total (mm) dos girinos por estágio, entre o Trecho 1 poluído(NMP>1000) e o Trecho 2 livre de poluentes(NMP<200).

## DISCUSSÃO

Dos parâmetros abióticos avaliados, na área de estudo no Rio Cachimbaú o único a apresentar diferenças significativas associadas ao maior aporte de matéria orgânica foi o teor de oxigênio dissolvido, sendo a redução do teor de oxigênio dissolvido uma característica freqüente em ambientes aquáticos eutrofizados (SCHIAVETTI, 2005).

O trecho poluído do rio apresentou uma variação no teor de oxigênio dissolvido entre 35 e 59% enquanto a área não poluída apresentou valores entre 69 e 111%.

WASSERSUG & SEIBERT (1975) indicam que, para anfíbios, aspectos fisiológicos ou comportamentais poderiam estar envolvidos em adaptações a situações anóxicas, e, ainda, que esse grupo se caracteriza pelo uso potencial de diversas áreas da superfície corpórea como sítios de trocas gasosas.

Em relação a girinos de Bufo, WASSERSUG & SEIBERT (1975) referem-se a SAVAGE (1951) para indicar a ausência de pulmões funcionais em girinos de *Bufo bufo* (Linnaeus, 1758) em que estão presentes, mas são pequenos em girinos no estágio 43 e reportam o mesmo achado para *B. woodhousii* (GIRARD, 1854).

A ausência de pulmões em girinos do gênero *Bufo* poderia (WASSERSUG & SEIBERT, 1975) representar desde um "legado filogenético", uma vez que vários grupos de Bufonidae tem larvas que vivem em águas correntes, situação em que a flutuação pelo ar dos pulmões levaria ao carreamento dos girinos, até uma consequência do tamanho reduzido dos girinos deste gênero geraria uma superfície relativa alta.

Investigando a possível influência do fator poluição orgânica sobre os girinos de *Chaunus ictericus* comparamos sua abundância relativa em dois trechos do rio, e verificamos que esta abundância não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) o que indica que a poluição orgânica por coliformes não afetaria a abundância relativa dos girinos nas duas situações.

Um outro aspecto da possível influência da eutrofização sobre os girinos de *Chaunus ictericus* seria expresso por diferenças no comprimento total por eles atingido. A comparação entre girinos do

mesmo estágio nos trechos 1 e 2 do Rio Cachimbaú evidenciou apenas que os girinos no trecho poluído alcançaram maior comprimento total nos estágios 20 e 37 enquanto que no trecho não poluído atingem maior comprimento total nos estágios 24, 25 e 36, não havendo diferença nos demais estágios amostrados. Este conjunto de dados não parece permitir qualquer conclusão quanto ao efeito da poluição sobre o comprimento total alcançado pelos girinos de *Chaunus ictericus*.

Ao compararmos aspectos abióticos dos trechos poluídos e não poluído do rio Cachimbaú sobre o comprimento total dos girinos de *Chaunus ictericus* ou a possível influência dessas duas situações ambientais sobre a estrutura dos cardumes de girinos não obtivemos dados que permitissem considerar esta carga orgânica como aporte de potencial alimento. Tão pouco, pelo exame da morfologia das larvas obtidas, foi possível observar qualquer efeito teratogênico da poluição orgânica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTIG, R. & MCDIARMID, W.R. 1999. *Tadpoles – The Biology of Anuran Larvae*. Chicago, USA, The University of Chicago Press, 444 p.
- AURICCHIO, P. & SALOMÃO, M.G. 2002. *Técnicas de Coleta e preparação de Vertebrados*, Instituto Pau Brasil, Palmas –TO. 347p
- BRIDGES, C.M. 1999. Effects of a pesticide on tadpole activity and predator. *Journal Herpetology* **33**(2):306-310.
- COSTA, H.H. 1967. Avoidance of anoxic water by tadpoles of *Rana temporaria*. *Hydrobiologia* **30**:374-384.
- GOSNER, L.K.A. 1960. Simplified Table for Staging Anuran Embryos and Larvae with Notes on Identification. *Herpetologica* **16**:183-190.
- GLENEMEIER, K.A. & DENVER, R.J. 2001. Sublethal effects of chronic exposure to an organochlorine compound on northern leopard frog (*Rana pipiens*) tadpoles. *Journal Environmental Toxicology* **16**(4):287-297.
- HANIFFA, M.A. & AUGUSTIN, S.M. 1989. Oxygen-consumption, surfacing frequency and distance of travel in rana-malabarica tadpoles exposed to distillery effluent. *Journal of Environmental Biology* **10**(2):139-147.
- NOGUEIRA, M.G. & MATSUMURA-TUNDISI, T. 1994. Limnologia de um Sistema Artificial raso (represa do Monjolinho-São Carlos, SP) Dinâmica das variáveis Físicas e Químicas.

- Revista Brasileira de Biologia 54(1):147-150.**
- EELYEA, R.A. & MILLS, N. 2001. Predator-induced stress makes the pesticide carbaryl more deadly to gray treefrog tadpoles (*Hyla versicolor*). **Herpetologica 98** (5):2491-2496.
- ROSE, F.L.; ARMENTROUT, D. & ROPER, P. 1971. Physiological responses of paedogenic *Ambytomia tigrinum* to acute anoxia. **Herpetologica 27**:101-107.
- SERRA, J. 1989. **Plano estrutural e desenvolvimento integrado**. Coleção cadernos de planejamento – IPPU/ Prefeitura Municipal de Volta Redonda. 86p.
- SCHIAVETTI, A. 2005. Informações ambientais sobre os parâmetros do kit de análise de água. Disponível em: <[http://educar.sc.usp.br/biologia/textos/m\\_a\\_txt9.html](http://educar.sc.usp.br/biologia/textos/m_a_txt9.html)>. Acesso 07.Jan.2006
- SILVA, N.; NETO, R.C.; JUNQUEIRA, V.C.A. & SILVEIRA, N.F.A. 2000. **Manual de métodos de análise microbiológica da água**, ITAL, Campinas-SP. 45p.
- WASSERSUG, R.J. & SEIBERT, E. 1975. Behavioral Responses of Amphibian Larvae to Variation in Dissolved Oxygen. **COPEIA** (1):86-103.

Recebido: 20/11/2006

Revisado: 18/06/2007

Aceito: 07/08/2007