



BIODIVERSIDADE AMAZÔNICA: **CARACTERIZAÇÃO, ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO**



PRESIDENTA DA REPÚBLICA
Dilma Vana Rousseff

MINISTRO DA EDUCAÇÃO
Aloizio Mercadante

MINISTRO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA
Marco Antonio Raupp

GOVERNADOR DO ESTADO DO AMAZONAS
Omar José Abdel Aziz

SECRETÁRIO DE ESTADO DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
Odenildo Teixeira Sena

DIRETORA-PRESIDENTA DA FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO
ESTADO DO AMAZONAS
Maria Olívia de Albuquerque Ribeiro Simão

REITORA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
Márcia Perales Mendes Silva

VICE-REITOR DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
Hedinaldo Narciso Lima

PRÓ-REITORA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
Selma Suely Baçal de Oliveira



Esta obra foi financiada pelo Governo do Amazonas com recursos da
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – Fapeam
Travessa do Dera, s/n, Flores, CEP: 69058-793, Manaus-AM
Fone: (92) 3878-4000
www.fapeam.am.gov.br



Organizadores
Jaydione Luiz Marcon
Marcelo Menin
Maria Gracimar Pacheco de Araújo
Tomas Hrbek

BIODIVERSIDADE AMAZÔNICA: CARACTERIZAÇÃO, ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO



DEZEMBRO, 2012
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
DIVERSIDADE BIOLÓGICA
ICB/UFAM


EDITORA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO AMAZONAS



Copyright © 2012 Universidade Federal do Amazonas
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas

REITORA

Márcia Perales Mendes Silva

EDITORA

Iraildes Caldas Torres

EDITORIAÇÃO E PROJETO GRÁFICO

Edna Keron de Oliveira da Costa

CAPA

Phillip Klauvin Mouzinho de Almeida

FOTOS DA CAPA

Phillip Klauvin Mouzinho de Almeida

ESPÉCIES EM DESTAQUE

Capa

Saimiri sciureus (macaco-de-cheiro)

Osteocephalus taurinus (perereca)

Passiflora coccinea (maracujá-do-mato)

Aspergillus sp. (fungo)

Contra Capa

Argiope argentata (aranha)

Catálogo na Fonte

Marcon, Jaydione Luiz; Menin, Marcelo; Araújo, Maria Gracimar Pacheco; Hrbek, Tomas. (Org.).

Biodiversidade Amazônica: caracterização, ecologia e conservação. Jaydione Luiz Marcon, Marcelo Menin, Maria Gracimar Pacheco de Araújo e Tomas Hrbek. / Manaus: Edua, 2012.

372 p.: il.; 16x23 cm

ISBN 978-85-7401-687-0

1. Ecologia - ambientes. 2. Biodiversidade - Amazônia. I Título.

CDU 574.5

EDUA

Editora da Universidade Federal do Amazonas

Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 3.000, Campus Universitário,

Coroado I – CEP 69077-000, Manaus-AM

Fone: (0xx92) 3305-4291 / 3305-4290 (Fax)

www.ufam.edu.br

edua_ufam@yahoo.com.br



APRESENTAÇÃO

O Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica (PPG-DB) foi criado pela Universidade Federal do Amazonas e aprovado em 2005 pela CAPES (conforme Resolução 056/2005-CONSEPE/UFAM e Parecer CES N.º 289/2005/MEC-CAPES, Diário Oficial da União, Seção I N.º 181/20, de setembro de 2005) para oferecer os cursos de Mestrado e Doutorado na área de diversidade biológica, com ênfase na Biodiversidade Amazônica.

O objetivo central do PPG-DB é a formação de recursos humanos qualificados para atuarem no ensino, pesquisa e extensão, contribuindo para a produção e difusão de conhecimentos adequados à realidade regional, além de subsidiar o desenvolvimento socioeconômico e ecológico do Brasil, com ênfase na região Amazônica.

Atualmente, o programa contempla uma única área de concentração com três linhas de pesquisa: Caracterização da Biota Amazônica, Filogenia da Biota Amazônica e Conservação e Manejo Biológico.

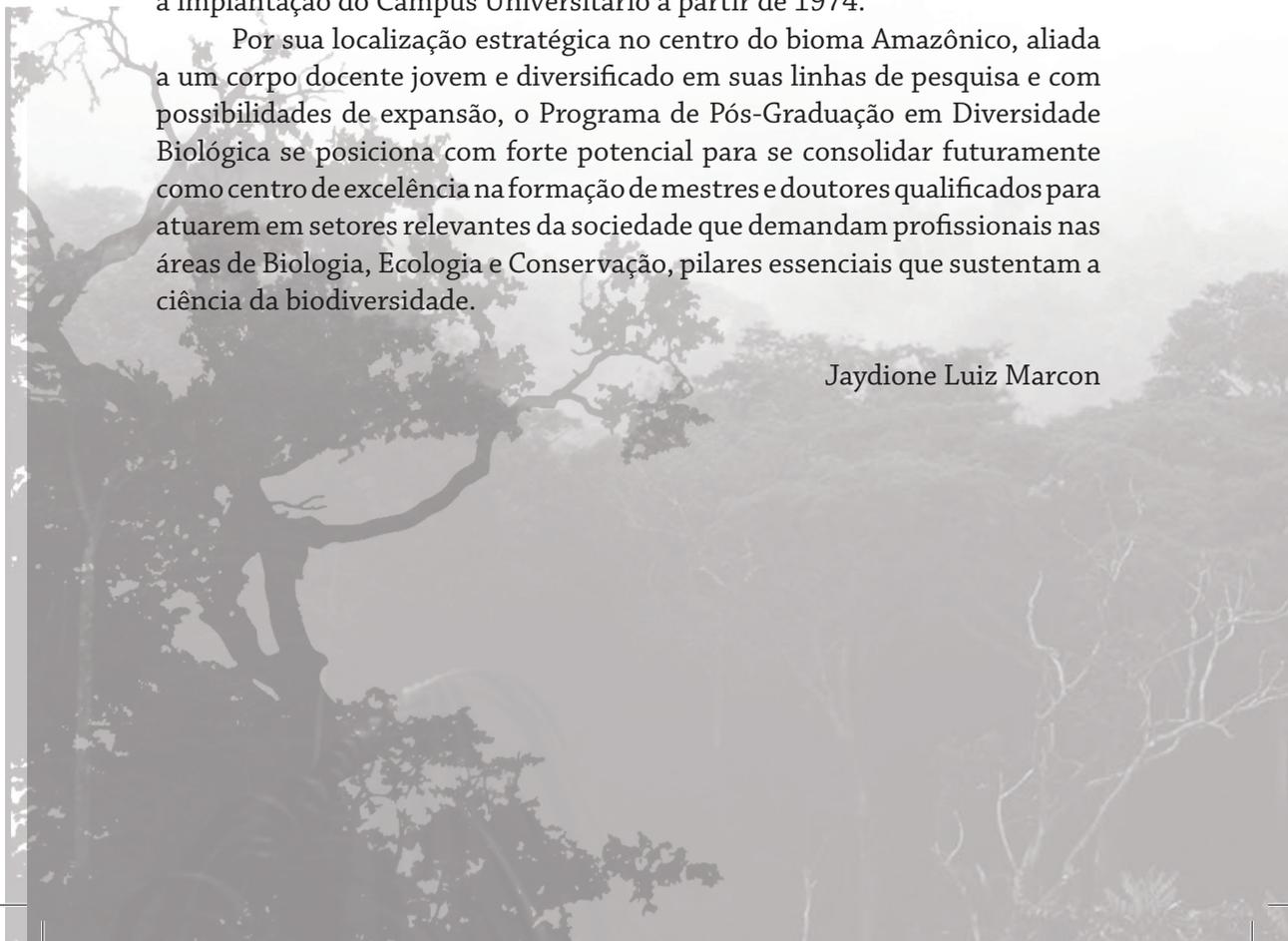
Com estrutura física de apoio e corpo docente predominantemente vinculada ao Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), o Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica possui um corpo docente formado por membros do núcleo permanente (NP) e colaboradores, estes constituídos em sua maior parte por jovens Doutores com ingresso recente na Instituição e potencialidades reais para atuarem no âmbito da Pós-Graduação. Diversos docentes atuam em mais de uma linha de pesquisa. Até o término de 2012, o PPG-DB foi responsável pela formação de 33 Mestres e quatro Doutores, em temas tão diversificados, que variam da seleção de leveduras amazônicas capazes de metabolizar hidrolisados e fermentar açúcares, ocorrência de mamíferos terrestres em áreas do rio Negro até a conservação de arraiais de água doce.

A obra aqui apresentada representa parte do esforço conjunto de alunos e docentes do Programa de Pós Graduação em Diversidade Biológica, com o apoio da EDUA, na geração e divulgação do conhecimento científico voltado

à realidade Amazônica, com temas originais e inéditos em muitos casos, que incluem uma introdução sobre a biodiversidade Amazônica (Capítulo 1), caracterização, riqueza e uso potencial de diversos grupos de microorganismos (Capítulos 2 a 5), morfologia de frutos de palmeiras e recursos oferecidos por plantas de sub-bosque (Capítulos 6 e 7), assim como estudos vetoriais com insetos em comunidades ribeirinhas e citogenéticos em peixes (Capítulos 8 e 9). Além dos temas citados acima, aspectos da ecologia e fenologia de comunidades de plantas tropicais (Capítulos 10 e 11), bem como estimativas de densidade e ocorrência de pequenos e grandes mamíferos também foram considerados (Capítulos 12 e 13), estendendo-se à avaliação toxicológica do impacto causado pelo petróleo e poluentes urbanos sobre populações de invertebrados aquáticos e anfíbios (Capítulos 15 a 17) e, finalizando com uma reflexão sobre a conservação de crocodilianos e do pirarucu, dois recursos importantes para as populações ribeirinhas do Amazonas (Capítulo 18). Cabe aqui também destaque ao trabalho apresentado no Capítulo 14 que, de acordo com a literatura existente, é o primeiro registro formal de discussão sobre o conhecimento atual da biodiversidade existente no fragmento florestal da UFAM, uma área relativamente grande, mas totalmente isolada em uma matriz urbana, e os desafios envolvidos em sua conservação, desde a implantação do Campus Universitário a partir de 1974.

Por sua localização estratégica no centro do bioma Amazônico, aliada a um corpo docente jovem e diversificado em suas linhas de pesquisa e com possibilidades de expansão, o Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica se posiciona com forte potencial para se consolidar futuramente como centro de excelência na formação de mestres e doutores qualificados para atuarem em setores relevantes da sociedade que demandam profissionais nas áreas de Biologia, Ecologia e Conservação, pilares essenciais que sustentam a ciência da biodiversidade.

Jaydione Luiz Marcon





SUMÁRIO

- 11** **CAPÍTULO 1**– Introdução à Biodiversidade Amazônica
Jean P. Boubli; TomasHrbek
- 19** **CAPÍTULO 2**– Diversidade de fungos zoospóricos em corpos de água localizados no município de Barcelos, médio rio Negro, Amazonas, Brasil
Maria Ivone Lopes da Silva; Adriano Teixeira de Oliveira
- 31** **CAPÍTULO 3** – Riqueza de leveduras da Amazônia: alternativas para obtenção de produtos a partir da biomassa
Ítalo Thiago Silveira Rocha Matos; Spartaco Astolfi Filho
- 47** **CAPÍTULO 4** – Enzimas de linhagens de *Aspergillus flavo-furcatis*: novas fontes proteolíticas da biodiversidade amazônica
Maria Francisca Simas Teixeira; Mircela Marialva Alecrim; Rosana Antunes Palheta; Taciana de Amorim Silva; Ana Lúcia Figueiredo Porto
- 59** **CAPÍTULO 5** – Proteases da diversidade de fungos isolados de *Vatiga illudens* e *Orthezia* sp.
Jéssica Ferreira Barroncas; Jadson Diogo Pereira Bezerra; Tamiris Rio Branco da Fonseca; Meire Rossy Oliveira da Cruz; Cristina Maria de Souza-Motta; Maria José dos Santos Fernandes; Maria Francisca Simas Teixeira
- 73** **CAPÍTULO 6** – Características florais e recursos oferecidos por plantas do sub-bosque
Antonio Carlos Webber; Thieme Marques Martiniano
- 89** **CAPÍTULO 7** – Morfologia do pericarpo e da semente de *Leopoldinia pulchra* Mart. (Arecaceae, Arecoideae), em diferentes fases do desenvolvimento
Maria Gracimar Pacheco de Araújo; Maria Sílvia de Mendonça; Andréia Barroncas de Oliveira.

- 111** **CAPÍTULO 8** – Simuliidae (Diptera, Culicomorpha) vetor de *Mansonella ozzardi* (Manson, 1897) (Nematoda: Onchocercidae) em comunidades ribeirinhas do rio Içana no município de São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brasil
Wellington Luciano de Souza Costa; Nair Otaviano Aguiar
- 131** **CAPÍTULO 9** – Hidroquímica dos rios e distância geográfica: diferenças evidenciadas na estrutura cariotípica de *Mesonauta festivus* (Cichlidae, Perciformes)
Livia Silva dos Santos-Peres; Carlos Henrique Schneider; Maria Leandra Terencio; Eliana Feldberg; Maria Claudia Gross
- 143** **CAPÍTULO 10** – Variação interanual na fenologia de uma comunidade arbórea em um fragmento de floresta de terra firme no município de Manaus
Grace de Lourdes Cardoso, Antônio Carlos Webber, Marisângela dos Anjos Vizcarra, Pedro Aurélio Costa Lima Pequeno, Marcelo Gordo
- 165** **CAPÍTULO 11** – Influência do espaço e do ambiente sobre a riqueza e a composição de espécies da família Arecaceae em uma área de floresta de terra-firme na Amazônia Central, Brasil
Ana Paula Porto Ferreira; Maria Gracimar Pacheco de Araújo; Hedinaldo Narciso Lima; Eduardo Martins Venticinque
- 183** **CAPÍTULO 12** – Estimativas de densidade, biomassa e razão sexual para o quati-puru, *Guerlinguetus aestuans* (Linnaeus, 1766) (Mammalia, Rodentia) em um fragmento urbano de floresta tropical
Jaydione Luiz Marcon; Laís Dias-Pacheco;
- 203** **CAPÍTULO 13** – Ocorrência e hora-atividade de mamíferos terrestres no Parque Nacional de Anavilhanas, Amazônia brasileira
Bruno Marchena Romão Tardio; Ronis Da Silveira
- 225** **CAPÍTULO 14** – Biodiversidade fragmentada na floresta do campus da Universidade Federal do Amazonas: conhecimento atual e desafios para a conservação
Jaydione Luiz Marcon; Jefferson da Cruz; Marcelo Menin; Orion Teixeira Carolino; Marcelo Gordo
- 283** **CAPÍTULO 15** – Efeito da contaminação da água por petróleo sobre a fauna de invertebrados aquáticos associada à *Salvinia auriculata* Aublet (Salvineaceae) e seu uso como bioindicadora de poluição ambiental
Ilton Oliveira-Soares; Maria José do Nascimento Ferreira; Sergio Luiz Rodrigues da Silva; Andrea Viviana Waichman; Thierry Ray Gasnier

301 CAPÍTULO 16 – Efeito da poluição do Igarapé do Educandos (Manaus, Amazonas, Brasil) sobre ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus* (Anura, Hylidae).

Jorge Felipe Oliveira Franco-de-Sá; Claudia Keller; Genilson Pereira Santana; Marcelo Menin

325 CAPÍTULO 17 – Toxicidade crônica da água contaminada dos igarapés Mindu e Quarenta (Manaus, Amazonas) sobre ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus* (Anura, Hylidae)

Jorge Harison Pereira do Nascimento; Claudia Keller; Maria do Socorro Rocha da Silva; Marcelo Menin

347 CAPÍTULO 18 – Conservação de pirarucus e de crocodilianos no Amazonas: avaliação crítica do histórico de exploração e diretrizes para o manejo econômico na Amazônia brasileira

Ronis Da Silveira; Caroline C. Arantes; Leandro Castello

367 LISTAS DE AUTORES

371 LISTAS DE REVISORES







CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO À BIODIVERSIDADE AMAZÔNICA

Jean P. BOUBLI; Tomas HRBEK

Muitos artigos que versam sobre a biodiversidade amazônica começam ressaltando seus superlativos, sua megadiversidade em espécies, paisagens e ecossistemas, além de sua fundamental importância na regulação climática global. De fato, a Amazônia, além de ser a maior floresta tropical do mundo cobrindo uma área de cerca de 6.000.000 km² (equivalente à área continental dos EUA), se destaca por ter a maior diversidade de animais e de plantas do planeta e por fixar 1,5 bilhões de toneladas de carbono anualmente. Além disso, o sistema hidrológico da bacia amazônica, que corresponde a um quinto de toda a água doce do planeta, desempenha uma função fundamental na regulação do clima global e regional.

Nosso objetivo não é discutir ou mesmo estender esta lista de superlativos e sim ressaltar como ainda pouco se conhece desta inigualável biodiversidade. Como se originou a biodiversidade amazônica e qual sua idade? Como ela está distribuída? O que determina os padrões observados? Quão heterogênea é a paisagem? Quantos habitats podem ser reconhecidos? Quantas espécies existem ao todo? Como se estruturam suas populações? Qual a diversidade genética? Ainda não há um consenso sobre muitas destas questões e, em alguns casos, os estudos ainda são incipientes.

Há mais de 150 anos, o naturalista inglês Alfred Russell Wallace durante sua longa expedição de história natural à Amazônia brasileira, sugeriu que os grandes rios amazônicos, como o Negro, o Madeira e o Amazonas poderiam ser responsáveis pela organização biogeográfica da fauna. Wallace observou que as espécies de primatas se substituíam nas margens opostas destes rios concluindo que estes teriam atuado como barreiras geográficas durante o processo de evolução da biota. Sendo assim, Wallace propôs que os grandes interflúvios delimitados por estes rios representavam zonas zoogeográficas distintas com congruência na distribuição dos diversos taxa. Desde então, grandes avanços foram alcançados nos estudos da biogeografia da Amazônia, resultando em um maior refinamento na identificação de zonas

biogeográficas ou áreas de endemismo, como são hoje conhecidas essas áreas por muitos pesquisadores. Não há ainda um consenso, porém, sobre o número de áreas e os limites das mesmas. Nelson et al. (1990) inclusive criticaram as áreas de endemismo identificadas até então pois para eles estas não passavam de artefato de amostragem. Neste trabalho seminal, Nelson et al. (1990) encontraram uma grande correspondência entre as áreas ditas de endemismo reconhecidas e áreas onde houve grande esforço de coletas.

Um dos grandes problemas para se definir áreas de endemismo é que pouco se conhece sobre os limites de distribuição das espécies conhecidas, algo que Lomolino et al. (2010) identificaram como o 'Deficit de Wallace' (*Wallacean Shortfall*). Este termo refere-se a Wallace por ter sido este naturalista o primeiro a identificar a importância da distribuição espacial das espécies. O deficit refere-se ao pouco conhecimento que temos sobre a distribuição geográfica das espécies.

Quanto aos processos que levaram à formação dos padrões biogeográficos observados e a origem da biodiversidade amazônica sabemos muito menos. Nesta linha, ainda se discute se os fatores geológicos, climáticos ou ecológicos tem preponderância para explicar os padrões biogeográficos atuais. Discute-se ainda o papel da dispersão e da variância na origem e distribuição da biodiversidade amazônica. Resolver estas grandes questões da biogeografia da Amazônia é por necessidade, uma tarefa multidisciplinar que deve envolver especialistas em diversas áreas como, geólogos, geógrafos, ecólogos, geneticistas e palinólogos, entre outros.

Talvez uma das maiores contribuições até o momento dos estudos de ordem multidisciplinar sobre a biogeografia da Amazônia foi a constatação de que sua história foi bastante dinâmica sob o ponto de vista geológico, hidrográfico e climático. Por muitos anos, o paradigma dominante era que as regiões tropicais, e a Amazônia em particular, permaneceram muito estáveis através das eras geológicas, não tendo sofrido com as drásticas mudanças climáticas das eras glaciais ou mesmo tectônicas como foi o caso dos continentes no hemisfério norte. Consequentemente, acreditava-se que a grande diversidade resultaria de baixas taxas de extinção tornando-se possível o acúmulo de espécies. Sabemos hoje, porém, que as grandes mudanças climáticas globais durante as eras glaciais do Pleistoceno afetaram de maneira importante a origem e distribuição da biodiversidade e contribuíram de uma maneira ou de outra para os padrões que observamos hoje. Além disso, sabemos também que o Neógeno (período geológico que engloba o Mioceno e o Plioceno, iniciando $23,03 \pm 0,05$ milhões de anos atrás e terminando 2,588 milhões de anos atrás) foi bastante ativo com o soergimento dos Andes e dramática reorganização da drenagem da bacia

Amazônica que passou a escoar para o Atlântico (HOORN et al., 2010; LUNDBERG, 1998). Uma das grandes questões hoje é sobre a idade dos rios e quando o Amazonas começou a drenar a leste. Hoje em dia existem duas linhas principais de pesamento: 1) o rio Amazonas começou de drenar para leste durante o Mioceno tardio (HOORN et al., 2010; WESSELINGH et al., 2010); 2) o rio Amazonas começou drenar para leste na transição do Plioceno para Pleistoceno (MARROIG e CERQUEIRA, 1997; ROSSETTI, DE TOLEDO e GÓES, 2005). Esta incerteza claramente tem grandes implicações para o tempo de existência e as propriedades ecológicas do Lago Pebas na Amazônia ocidental (HOORN, 1996; MARSHALL e LUNDBERG, 1996; PAXTON, CRAMPTON e BURGESS, 1996) e concomitantemente a idade e o tempo da diversificação da biodiversidade amazônica.

Essa mudança no paradigma da estabilidade dos trópicos veio ao mesmo tempo em que na ecologia passou-se a dar maior ênfase a fatores de perturbação ambiental na estruturação das comunidades e manutenção da diversidade e menos ênfase na competição e partição de nicho, comunidades clímax e estabilidade da natureza (HUBBELL, 2001; WILKINSON, 1999). Estes estudos começaram a reconhecer a importância de distúrbios ambientais e processos neutros na estruturação e manutenção da biodiversidade, principalmente nos trópicos, em vez de processos determinísticos.

Numa escala de paisagem, com os avanços tecnológicos de sensoriamento remoto por satélite aliados a grandes esforços em campo, começamos a apreciar melhor a grande heterogeneidade da Amazônia reconhecendo que há muitas “Amazônias” dentro da Amazônia, em parte, resultado da assinatura deixada pela história biogeográfica da biota amazônica e, em parte, resultado das interações ecológicas recentes. O povo Baniwa do noroeste da Amazônia reconhece dezenas de tipos de florestas somente para a região do alto rio Negro. No livro clássico sobre o ambiente amazônico (PRANCE e LOVEJOY, 1985) foi reconhecido que as divisões clássicas em matas de terra firme, igapó, várzea e as matas em areia branca do Rio Negro (campinas e campinaranas) não eram suficientes e propuseram novas categorias (PIRES e PRANCE, 1985). Da mesma forma que reconhecemos grandes regiões biogeográficas em uma escala regional, não devemos assumir que habitats encontrados nas diferentes regiões sejam equivalentes simplesmente por uma semelhança fisionômica superficial. A escala do estudo é de importância suprema, e as semelhanças em uma escala tornam-se superficiais em uma escala menor.

Ainda nos falta compreender melhor que processos contribuíram para a origem e manutenção desta heterogeneidade na paisagem. Qual a importância e/ou contribuição de fatores históricos, ecológicos, climáticos e

edáficos? Qual a contribuição desta heterogeneidade para a biodiversidade? Um fato que começa a ser investigado é a complementariedade ecológica dos diferentes habitats para algumas espécies e portanto, para a manutenção da biodiversidade. Por exemplo, Haugassen e Peres (2005) e Boubli e Couto dos Santos (2007) sugerem que a assincronia na produção de flores e frutos entre habitats alagados e de terra firme contíguos são fundamentais para a manutenção de populações de primatas que exploram estes habitats em épocas diferentes.

Apesar da grande importância em se avançar o conhecimento nas áreas acima, talvez uma das maiores lacunas no nosso conhecimento da biodiversidade amazônica é a respeito da real magnitude da diversidade de espécies. Lomolino et al.(2010) chamaram esta lacuna de ‘Deficit de Linneu’ (*Linnean Shortfall*). O termo faz alusão ao naturalista sueco que criou o sistema binomial de classificação zoológica, dando início à descrição científica e sistemática da diversidade biológica. O deficit se refere à grande discrepância que existe entre o número de organismos formalmente descritos pela ciência (cerca de 1,7 milhões) e o que se estima ainda haver por descobrir e descrever (algo em torno de 3 a 100 milhões!).

Quando Terry Erwin fez seu clássico experimento de borrifar com inseticida as copas de árvores do dossel de uma parcela de floresta tropical no Panamá (ERWIN, 1982) a comunidade científica foi surpreendida com a quantidade inesperada de novas espécies de insetos, coleópteros principalmente, que caíram nos coletores dispostos sob a área borrifada. Baseado nesses achados, as estimativas do número de espécies ainda a serem descritas nas florestas tropicais aumentaram numa escala geométrica. O próprio Erwin sugeriu que deveriam existir não somente as estimadas 1,5 milhões de espécies de Artrópodos, mas sim 30 milhões.

O trabalho seminal de Erwin inspirou de maneira decisiva a comunidade científica a novamente focar sua atenção em inventários biológicos ao estilo dos naturalistas do século 19, ou seja, para coletar, catalogar e descrever novas espécies. Em consequência, resultou um grande *boom* na descoberta de novas espécies, levando Donoghue e Alverson (2000) e Ceballos e Ehrlich (2009) a chamarem a era em que vivemos de a “nova era das descobertas”. Um exemplo disso é a grande quantidade de novas espécies de vertebrados descritas recentemente. Considerando-se apenas a região amazônica, pelo menos 1.200 novas espécies, incluindo grandes mamíferos, foram descritas na década entre 1999 e 2009 (THOMPSON e WWF-BRASIL, 2010) mostrando a incrível lacuna no nosso conhecimento da diversidade biológica da região Amazônica. Estas lacunas parecem ainda mais evidentes pelos resultados do

programa SISBIOTA (<http://www.cnpq.br/web/guest/apresentacao11>) um dos quais está sediado na Ufam (<http://www.sisbiota.net>).

Hopkins (2007), porém, levanta o problema de que, pelo menos no caso das plantas, as coletas e inventários continuam ainda bastante concentrados em poucas áreas da bacia Amazônica como há muito demonstrado por Nelson et al. (1990). Para Hopkins (2007), as poucas coletas existentes e sua concentração em poucas áreas comprometem qualquer tentativa de se modelar ou estimar a biodiversidade de plantas. Assim como outros autores trabalhando em outros taxa, Hopkins (2007) conclui que a biodiversidade de plantas na Amazônia é atualmente consideravelmente subestimada e trabalhos de levantamentos básicos são ainda fundamentais para melhor entendermos a biodiversidade amazônica.

A grande diversidade de espécies, porém, é apenas parte da biodiversidade. Por baixo desta existe ainda uma diversidade genética ainda muito maior. Em alguns casos, fenotipicamente é difícil distinguir algumas populações que já divergiram em nível genético há milhares de anos. Estas espécies chamadas 'crípticas' dificultam ainda mais os trabalhos de catalogação e descrição da biodiversidade. Em um recente trabalho, Milá et al. (2012) revelaram que mesmo nos casos de espécies de aves, que julgamos bem conhecidas, estão se revelando muito mais diversas do que pensávamos. O mesmo está sendo observado em anfíbios (FOUQUET et al., 2007), morcegos (CLARE et al., 2007) e peixes (COLATRELI et al., 2012) e outros grupos taxonômicos da região Amazônica.

Hoje em dia, o desafio principal é identificar e caracterizar esta biodiversidade críptica de maneira rápida e eficiente, integrar esta informação junto com dados ecológicos e evolutivos, e ao mesmo tempo disponibilizar esta informação para o público e agências governamentais e não governamentais, os formadores das políticas públicas de conservação e manejo da biodiversidade. Somente quando nós conhecermos a biodiversidade amazônica e os processos que geraram esta biodiversidade é que poderemos protegê-la e usá-la de maneira sustentável.

REFERÊNCIAS

BOUBLI, J. P.; COUTO DOS SANTOS, F. R. Phenology of canopy trees in the ever-wet lowland forest mosaic of Pico da Neblina National Park, Amazonas, Brazil. *Ecotropica*, v.13, p.17–26. 2007.

CEBALLOS, G.; EHRLICH, P. R. Discoveries of new mammal species and their implications for conservation and ecosystem services. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.106, n.10, p. 3841-3846. 2009.

CLARE, E. L., LIM, B. K., ENGSTROM, M. D., EGER, J. L.; HEBERT, P. D. N. DNA barcoding of Neotropical bats: species identification and discovery within Guyana. *Molecular Ecology Resources*, v.7, n.2, p.184–190. 2007.

COLATRELI, O. P.; MELICIANO, N. V.; TOFFOLI, D.; FARIAS, I. P.; HRBEK, T. Deep phylogenetic divergence and lack of taxonomic concordance in species of *Astronotus* (Cichlidae). *International Journal of Evolutionary Biology*, v.2012, Art.915265, 8p. 2012.

DONOGHUE, M. J.; ALVERSON, W. S. A new age of discovery. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v.87, p.110-126. 2000.

ERWIN, T. L. Tropical forests: their richness in Coleoptera and other arthropod species. *The Coleopterists Bulletin*, v.36, n.1, p.74–75. 1982.

FOUQUET, A.; GILLES, A.; VENCES, M.; MARTY, C.; BLANC, M.; GEMMELL, N. J. Underestimation of species richness in neotropical frogs revealed by mtDNA analyses. *PLoS One*, v.2, n.10, Art. e1109. 2007.

HAUGAASEN, T.; PERES, C. A. Mammal assemblage structure in Amazonian flooded and unflooded forests. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v.21, p.133-145. 2005.

HOORN, C. Miocene deposits in the Amazonian foreland basin. *Science*, v.273, n.5271, p.122-123. 1996.

HOORN, C.; WESSELINGH, F. P.; TER STEEGE, H.; BERMUDEZ, M. A.; MORA, A.; SEVINK, J.; SANMARTÍN, I. et al. Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science*, v.330, n.927, p.927-931. 2010.

HOPKINS, M. J. G. (2007). Modelling the known and unknown plant biodiversity of the Amazon Basin. *Journal of Biogeography*, v.34, n.8, p.1400-1411. 2007.

HUBBELL, S. P. *The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography* Princeton, NJ: Princeton University Press, 2001. 448p.

LOMOLINO, M. V.; RIDDLE, B. R.; WHITTAKER, R. J.; BROWN, J. H. *Biogeography*, Fourth Edition, Sunderland, MA, USA: Sinauer Associates, Inc., 2010. 560p.

LUNDBERG, J. G. The temporal context for the diversification of Neotropical fishes. In MALABARBA, L. R.; REIS, R. E.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M. S.; LUCENA, C. A. S. (Eds.), *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*, Porto Alegre: EDIPUCRS, 1998. p. 49-68).

MARROIG, G.; CERQUEIRA, R. Plio-Pleistocene South American history and the Amazon Lagoon Hypothesis: a piece in the puzzle of Amazonian diversification. *Journal of Comparative Biology*, v.2, p.103-119. 1997.

MARSHALL, L. G.; LUNDBERG, J. G. Technical comment: Miocene deposits in the Amazonian foreland basin. *Science*, v.273, n.5271, p.123–124. 1996.

MILÁ, B.; TAVARES, E. S.; SALDAÑA, A. M.; KARUBIAN, J.; SMITH, T. B.; BAKER, A. J. A trans-Amazonian screening of mtDNA reveals deep intraspecific divergence in forest

birds and suggests a vast underestimation of species diversity. *PLoS One*, v.7, n.7, Art. e40541. 2012.

NELSON, B. W.; FERREIRA, C. A. C.; SILVA, M. F. da; KAWASAKI, M. L. Endemism centres, refugia, and botanical collection density in Brazilian Amazonia. *Nature*, v.345, p.714-716. 1990.

PAXTON, C. G. M.; CRAMPTON, W. G. R.; BURGESS, P. Miocene deposits in the Amazonian foreland basin. *Science*, v.273, n.5271, p.122-123. 1996. Technical comment.

PIRES, J. M.; PRANCE, G. T. The vegetation types of Brazilian Amazon. In: PRANCE, G. T.; LOVEJOY, T. E. (Eds.), *Key Environments: Amazonia* Oxford, England: Pergamon Press, 1985. p. 109-145.

PRANCE, G. T.; LOVEJOY, T. E. *Key Environments: Amazonia* Oxford, England: Pergamon Press, 1985. 456p.

ROSSETTI, D. de F.; DE TOLEDO, P. M.; GÓES, A. M. New geological framework for Western Amazonia (Brazil) and implications for biogeography and evolution. *Quaternary Research*, v.63, n.1, p.78-89. 2005.

THOMPSON, C.; WWF-BRAZIL. *WWF – Amazon Alive! A decade of discovery 1999-2009*. Brasilia:WWF, 2010.

WESSELINGH, F. P.; HOORN, C.; KROONENBERG, S. B.; ANTONELLI, A.; LUNDBERG, J. G.; VONHOF, H. B.; HOOGHIEMSTRA, H. On the origin of Amazonian landscapes and biodiversity: a synthesis. In HOORN, C.; WESSELINGH, F. P. (Eds.). *Amazonia: Landscape and Species Evolution: A Look into the Past* Chichester, UK: Wiley-Blackwell, 2010. p.421-431.

WILKINSON, D. M. The disturbing history of intermediate disturbance. *Oikos*, v.84, n.1, p.145-147. 1999.





CAPÍTULO 2

DIVERSIDADE DE FUNGOS ZOOSPÓRICOS EM CORPOS DE ÁGUA LOCALIZADOS NO MUNICÍPIO DE BARCELOS, MÉDIO RIO NEGRO, AMAZONAS, BRASIL

Maria Ivone Lopes da SILVA; Adriano Teixeira de OLIVEIRA

Abstract

The aquatic mycota is in your majority zoosporic and characterizes for the presence of spores with one or more flagella flat or ornamented, and formed by a mycelium with a high degree of morphologic plasticity. In order to study fungi species diversity a series of water collection were performed from 2009 to 2010 at various points in the Mariuá Archipelago located at the municipality of Barcelos, Amazonas State. In order to isolate zoosporic fungi it was used the technique of “double fishing” with substrates of cellulose, queratine, and quitine. 14 species were identified as belonging to twelve different genres of fungi, of the Chytridiomycota phylum, additionally, were found five species distributed in six genres of the Oomycota phylum, Straminopila kingdom. Between the Chytridiomycota phylum the most numerous species were: *Catenophlyctis variabilis*, *Rhizophidium sphaerotheca*, *Polychytrium aggregatum* e *Karlingia granulata*. For the Oomycota phylum the most frequent genre, were *Achlya* and *A. radiosa* that were found on the first water compartment at the first year of collection. *Aphanomyces helicoides*, *A. irregulare*, *Leptolegniella keratinophyla* and *Pythiogetum ramosum* were identified as parasites for plants, fish, and man interfering on development and causing death at extreme cases.

INTRODUÇÃO

A biodiversidade das águas e solos tem um papel fundamental na regulação dos processos biogeoquímicos formadores e mantenedores dos ecossistemas, justificando a importância de se conhecer os organismos que compõe esta diversidade assim como sua distribuição, principalmente nos ecossistemas tropicais (ALEXOPOULOS et al., 1996).

Atualmente tem sido dada grande ênfase ao papel dos fungos zoospóricos como parasitas de peixes e de fitoplâncton, produzindo metabólitos fisiologicamente ativos, do que como decompositores de substratos alóctones. No entanto, a atividade desses fungos na decomposição de substratos submersos, com papel decisivo na sucessão fúngica, tem sido cada vez mais evidenciada (SCHOENLEIN-CRUSIUS e MILANEZ, 1989; SCHOENLEIN-CRUSIUS et al., 1990, 1992; DUDKA, 1974), o que os torna fundamentais na ciclagem de nutrientes e manutenção do fluxo de energia e produtividade nos ecossistemas aquáticos e terrestres. Estes podem ser marinhos ou dulcícolas.

Os fungos “verdadeiramente” aquáticos são dependentes da água para reprodução e possuem adaptações morfológicas especiais. Fazem parte deste grupo os fungos zoospóricos, os Hyphomycetes aquáticos e as leveduras aquáticas (DIX e WEBSTER, 1995).

A micota aquática é, em sua maioria, zoospórica, principalmente Chytridiomycota (PIRES-ZOTTARELLI, 1990; DUDKA, 1994). O tipo, o número e a inserção dos flagelos nos esporos e os aspectos bioquímicos dividem os fungos zoospóricos nos filos Chytridiomycota – Reino Fungi, e Oomycota – Reino Straminopila.

Atualmente, os fungos zoospóricos estão enquadrados em três reinos: Protista, Stramenopila e Fungi, sendo a designação “fungos” utilizada de maneira didática para este grupo de organismos (ALEXOPOULOS et al., 1996; KIRK et al., 2001).

Os fungos zoospóricos são caracterizados por apresentarem flagelos em suas estruturas de reprodução assexuada (zoósporos) e/ou sexuada (gametas). Apresentam ampla distribuição geográfica e ocorrem geralmente como sapróbios em substratos celulósicos, quitinosos e queratinosos, contribuindo para a manutenção do fluxo de energia e produtividade nos ecossistemas terrestres e aquáticos. Podem também ser parasitas de algas, anfíbios, peixes, crustáceos, briófitas, pteridófitas, fanerógamas, de outros fungos e do próprio homem (ALEXOPOULOS et al., 1996).

Ainda são escassos os trabalhos relacionados a fungos zoospóricos, especialmente na região amazônica, havendo a necessidade de estudos nos diferentes ecossistemas, uma vez que a maioria dos estudos se concentra no estado de São Paulo sob diferentes níveis de impactação. Os resultados obtidos visam à ampliação do conhecimento da biodiversidade destes grupos e o papel dos mesmos no meio ambiente.

O presente trabalho teve como objetivo incrementar o conhecimento sobre a diversidade de fungos zoospóricos, com o isolamento e identificação da micota em água e solo das várias coletas, para se obter respostas iniciais

sobre a diversidade desses organismos, além de procurar verificar a frequência de ocorrência nos locais selecionados.

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas no arquipélago de Mariuá situado no município de Barcelos, localizado no médio rio Negro, distante 410 km de Manaus. O arquipélago de Mariuá é considerado o maior conjunto de ilhas de água doce do mundo, com mais de 1.600 ilhas, sendo circundado por águas ácidas e pretas (pH = 3,5-4,5), baixas concentrações de íons e elevada concentração de carbono orgânico dissolvido, além de ácidos orgânicos (CHAO et al., 2001; WOOD et al. 2002; OLIVEIRA, 2008). A grande diversidade de peixes nessa localidade ocorre devido aos diferentes ambientes existentes na localidade como os igapós, lagos e praias. Esse complexo de ilhas é extremamente dinâmico ao longo do regime imposto pelas variações sazonais no nível do rio Negro.

Os pontos selecionados para as coletas no arquipélago de Mariuá, município de Barcelos, Amazonas foram: 1. Sistema de igarapés do Zâmula, 2. Daracua, 3. Itu, 4. Maqui, 5. Demeni, 6. Cuiuni, 7. Arirahá, que estão estabelecidos entre as coordenadas 0°59'372''S, 62°54'217''W e 0°28'386''S, 63°15'573''W (Figura 1).

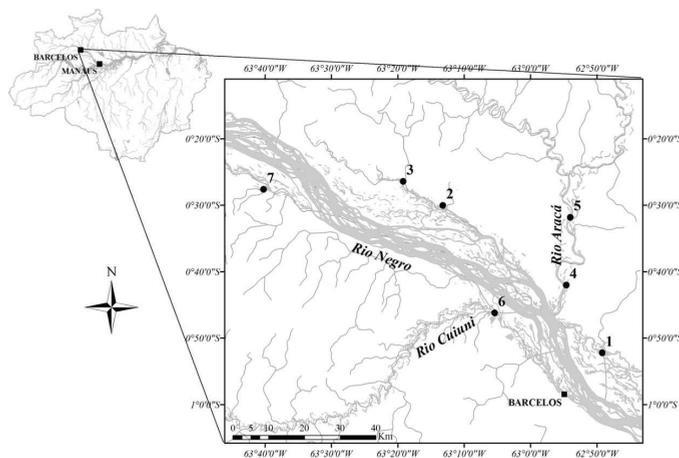


Figura 1

Pontos de amostragem de água e solo no arquipélago de Mariuá, município de Barcelos-AM: 1. Sistema de igarapés do Zâmula; 2. Daracua; 3. Itu; 4. Maqui; 5. Demeni; 6. Cuiuni e 7. Arirahá.

Os períodos de coleta foram distribuídos ao longo de dois anos (2009 e 2010) que correspondem, respectivamente, à vazante com pouca chuva e à época mais seca e quente do ano.

Em cada ponto foi retirada uma amostra superficial com aproximadamente 100 mL de água das margens e uma de solo (200g) ao redor da área de amostragem da água, removendo somente a serrapilheira.

Os pontos de coleta foram selecionados de modo a abranger os diferentes aspectos do ambiente estudado. Ao longo dos igarapés foi possível observar as diferentes paisagens formadas naqueles ambientes.

Após a coleta, todo material foi encaminhado ao Laboratório de Micologia – ICB/UFAM para processamento.

Para o isolamento dos fungos zoospóricos foi utilizada a técnica de iscagem múltipla referida por Milanez (1989), que consiste na adição, às amostras de água e solo, de fragmentos em duplicata (iscas) de substratos celulósicos, queratinosos e quitinosos (celofane, palha de milho, epiderme de cebola, fragmentos de cabelo loiro de criança, ecdise de cobra e casca de camarão), além de sementes de sorgo (*Sorghum* sp.) previamente esterilizadas e também grãos de pólen de *Pinus* sp. As placas foram incubadas no laboratório por um período de sete a dez dias à temperatura ambiente.

Após período de incubação, as iscas foram retiradas e preparadas entre lâmina e lamínula, com água destilada e levadas ao microscópio binocular para observação das estruturas fúngicas desenvolvidas e sua posterior identificação.

Para as colônias desenvolvidas nas sementes, fragmentos destas foram inoculados em meios de cultura específicos MP5 (maltose-peptona-agar) (BENEKE e ROGERS, 1962) ou CMA (Corn-meal-agar) + p.p.e. (pimaricina, penicilina e estreptomicina) (CARVALHO e MILANEZ, 1988a), conforme necessidade nutricional de cada grupo de fungo. Após crescimento da colônia no meio de cultura, blocos de 1 cm foram transferidos para placa de Petri estéril, contendo metades de sementes de sorgo e água destilada esterilizada. Após período de incubação, fragmentos da colônia foram montados sobre lâmina, com água, e lamínula e levados ao microscópio para observação das microestruturas.

A identificação dos organismos foi realizada após observação das características taxonômicas distintas para cada espécie, como por exemplo, as estruturas assexuais (zoosporângios e zoósporos) e sexuais (oogônios, oósporos e esporos de resistência), além da consulta à bibliográfica especializada (AJELLO, 1942; JOHNSON, 1956; SPARROW, 1960; KARLING, 1977; PLAATS-NITERINK, 1981).

RESULTADOS

Foram observados 14 táxons pertencentes ao filo Chytridiomycota: *Blytiomyces*, *Catenophlyctes*, *Chytriomycetes*, *Cladochytrium*, *Diplophlyctis*, *Entophlyctis*, *Gonapodya*, *Karlingia*, *Nowakowskiella*, *Podochytrium*, *Polychytrium* e *Rhizophydium*, sendo 12 destes identificados a nível específico, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Ocorrência dos organismos pertencentes ao filo Chytridiomycota coletados em água e solo do no arquipélago de Mariuá, município de Barcelos-AM: 1. Sistema de igarapés do Zâmula; 2. Daracua; 3. Itu; 4. Maqui; 5. Demeñi; 6. Cuiuni e 7. Arirahá). A = água; S = solo.

FUNGOS Filo Chytridiomycota	2009		2010	
	Água	Solo	Água	Solo
<i>Blytiomyces</i> sp.	x			
<i>Catenophlyctis variabilis</i>	x	x	x	x
<i>Chytriomycetes spinosus</i>	x	x	x	x
<i>Cladochytrium hialinum</i>	x	x	x	
<i>Cladochytrium replicatum</i>	x	x	x	x
<i>Diplophlyctis sarcoptoides</i>	x	x		x
<i>Entophlyctis</i> sp.	x	x	x	
<i>Gonapodya prolifera</i>	x			
<i>Karlingia granulata</i>		x	x	x
<i>Karlingia rosea</i>			x	
<i>Nowakowskiella elegans</i>			x	x
<i>Nowakowskiella elongata</i>		x		
<i>Podochytrium</i> sp.				x
<i>Polychytrium aggregatum</i>	x	x	x	x
<i>Rhizophydium elyensis</i>	x	x	x	
<i>Rhizophydium sphaerotheca</i>			x	x
<i>Rhizophydium stipitatum</i>			x	

Os gêneros *Rhizophidium* sp., *Cladochytrium* sp., *Karlingia* sp., e *Nowakowskiella* sp. foram os que apresentaram maior diversidade de espécies, sendo *Rhizophidium* o mais frequentemente isolado, aparecendo em todas as amostras, tanto de água quanto de solo. Dentro do gênero, a espécie prevalecente foi *R. sphaerotheca*, seguida de *R. elyensis*, comumente observados em pólen de pinheiro e ecdise de cobra, respectivamente, tanto a partir de água como solo, independente de estação seca ou chuvosa.

Os táxons que apresentaram menor frequência foram *Podochytrium* sp., observado no solo da última coleta, enquanto *Blytiomyces* sp. foi encontrado apenas em água da primeira coleta, sendo este último observado pela primeira vez para o Amazonas.

Catenophlyctis variabilis ocorreu abundantemente nos compartimentos água e solo dos dois anos de estudo, colonizando especialmente ecdise de cobra, de diversos pontos de coleta.

Polychytrium aggregatum foi comumente isolado em todas as amostras de água e solo, independente de período chuvoso ou seco, exceto na coleta realizada em 2010, que foi observado apenas uma única vez em água de um dos pontos coletados.

Cladochytrium replicatum foi observado colonizando o substrato palha de milho em todas as coletas realizadas, porém em apenas um dos pontos coletados.

Karlingia granulata, foi observada em todas as coletas, tanto de água como solo, enquanto, *Karlingia rosea* foi identificada apenas na segunda coleta de 2010.

Chytrium spinosus, que comumente é isolado tanto em água como em solo, foi identificado apenas nas amostras de água em 2009 e solo em 2010.

Diplophlyctis sarcoptoides foi observado em apenas uma amostra de água e outra de solo de 2009 e em várias de solo 2010.

Gonapodya prolifera, táxon comumente observado em águas mais frias, associado à maçã, na região amazônica foi isolado sempre crescendo associados a sementes de sorgo.

Algumas espécies como *Nowakowskiella elongata* e *Rhizophidium stipitatum* foram observadas em apenas um dos pontos de coleta das amostras trabalhadas.

Tabela 2 – Ocorrência dos organismos pertencentes ao Filo Oomycota coletados em água e solo do no Arquipélago de Mariuá, município de Barcelos-AM: 1. Sistema de igarapés do Zâmula; 2. Daracuá; 3. Itu; 4. Maqui; 5. Demeni; 6. Cuiuni e 7. Arirahá). A = água; S = solo.

FUNGOS Philo Oomycota	2009		2010	
	Água	Solo	Água	Solo
<i>Achlya radiosa</i>	x	x		
<i>Achlya</i> spp.	x		x	x
<i>Aphanomyces helicoides</i>	x	x		
<i>Aphanomyces irregulare</i>	x		x	x
<i>Brevilegnia</i> sp.	x			
<i>Leptolegniella keratinophyla</i>	x			
<i>Pythiogeton</i> sp.			x	x
<i>Pythium ramosum</i>		x		
<i>Pythium</i> sp.			x	

Conforme demonstra a Tabela 2, foram identificadas cinco espécies distribuídas em seis gêneros pertencentes ao filo Oomycota: *Achlya* sp., *Aphanomyces* sp., *Brevilegnia* sp., *Leptolegniella* sp., *Pythium* sp. e *Pythiogeton* sp.

Os gêneros *Achlya*, *Aphanomyces* e *Pythiogeton* foram os que apresentaram maior número de espécies distribuídas nos diversos pontos de coletas realizados. *Aphanomyces helicoides* ocorreu em amostras de solo e água do primeiro ano, enquanto *Aphanomyces irregulare* foi observado nos dois anos. Por outro lado, *Pythiogeton ramosum* foi observado apenas em solo coletado no primeiro ano, enquanto *Leptolegniella keratinophyla* apenas na água de um dos pontos.

Quanto ao índice de similaridade, comparando os períodos de seca e chuva entre os dois anos, os resultados demonstraram valores mais elevados para Chytridiomycota, que para Oomycota.

Em relação aos compartimentos, o solo apresentou índices mais elevados para Chytridiomycota, enquanto a água foi preponderante para Oomycota.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstram que os fungos zoopóricos, especialmente Chytridiomycota, estão bem distribuídos pelos diversos ecossistemas da região amazônica, apresentando variações na frequência de ocorrência e distribuição das espécies.

As primeiras citações na literatura de fungos zoospóricos da Amazônia foram publicadas por Karling na década de quarenta (1944 a 1947) que identificou cinquenta e quatro espécies, e destas, vinte e cinco para o estado do Amazonas. Neste trabalho foram reisoladas quatro destas espécies (*Nowakowskiella elongata*, *Cladochytrium replicatum*, *Chytriomycetes hialinus* e *Rhizophidium sphaeroteca*).

Silva (2002) coletou durante dois anos (1998 e 1999), identificando vinte e quatro táxons distribuídos em quinze gêneros pertencentes ao filo Chytridiomycota. Em seu trabalho, a autora observou que *Catenophlyctis variabilis*, *Chytriomycetes spinosus*, *Diplophlyctis sarcoptoides*, *Karlingia rosea*, *Karlingia granulata*, *Rhizophidium elyensis*, *Rhizophidium sphaeroteca*, *Nowakowskiella elegans* e *Polychytrium aggregatum* foram espécies consideradas comuns. Segundo a autora, o grupo não pareceu ser afetado por local de coleta, compartimento (água e solo) ou estação do ano, como o que parece ter ocorrido nesta pesquisa.

Catenophlyctis variabilis, *Karlingia granulata*, *Rhizophidium elyensis*, *Rhizophidium sphaeroteca* e *Polychytrium aggregatum* apresentaram neste trabalho frequência semelhante à obtida por Silva (2002), enquanto *Chytriomycetes spinosus*, *Diplophlyctis sarcoptoides* e *Karlingia rosea* demonstraram resultados diferentes, sendo observados apenas em alguns pontos de coleta.

Outros trabalhos foram realizados em diferentes locais, como os dados apresentados por Rocha e Pires-Zottareli (2002) que isolaram 33 táxons das amostras de água e solo em estudo realizado na Represa do Guarapiranga, São Paulo, sendo 15 pertencentes ao filo Chytridiomycota e 18 ao filo Oomycota. Apesar das condições ambientais serem diferentes, 12 espécies são comuns aos dois trabalhos (*Catenophlyctis variabilis*, *Chytriomycetes hialinus*, *Cladochytrium replicatum*, *Diplophlyctis sarcoptoides*, *Karlingia rosea*, *Karlingia granulata*, *Rhizophidium elyensis*, *Nowakowskiella elegans*, *Aphanomyces helicoides*, *Leptolegniella keratinophila* e *Pythiogeton ramosum*).

Com dados obtidos em trabalhos realizados nos diversos ambientes do Brasil, relacionando-se com a frequência de ocorrência destes organismos, verificamos que alguns dos isolados são considerados cosmopolitas (PIRES-

ZOTTARELLI, 1999; SILVA, 2002; ROCHA, 2002; PIRES-ZOTTARELLI e GOMES, 2007; NASCIMENTO e PIRES-ZOTTARELLI, 2008), porém existe sempre variação na quantidade de isolados para cada trabalho.

Para o filo Oomycota, Silva (2002) identificou 21 táxons distribuídos por oito gêneros, enquanto que neste trabalho foram observados apenas seis gêneros com cinco espécies. A espécie *Aphanomyces helicoides* foi também a mais frequente, tanto na água quanto no solo nos dois trabalhos.

A diversidade de fungos zoospóricos parece ser ampla na região amazônica demonstrando, porém, que algumas espécies são comuns em diversos ambientes, mas a cada trabalho realizado são identificadas espécies diferentes, justificando assim a continuidade dos estudos com tais organismos, como forma de ampliar conhecimentos sobre sistemática e ecologia dos mesmos.

REFERÊNCIAS

- AJELLO, L. Polychytrium, a new cladochytriaceous genus. *Mycologia*, v. 34, p. 442 - 451. 1942.
- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. B. *Introductory Mycology*. 4. ed, New York: John Willey & Sons, 1996. 869p.
- BENEKE, E. S.; ROGERS, A. L. Aquatic Phycomycetes isolated in the States of Minas Gerais, São Paulo and Paraná, Brazil. *Rickia*, v.1, p.181-193. 1962.
- CARVALHO, I.; MILANEZ, A. I. Efeitos do pH e temperatura sobre *Pythium splendens* Braun “in vitro”. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v.11, p.33-36. 1988.
- CHAO, N. L.; PETRY, P.; PRANG, G.; SONNESCHIEN, L.; TLUSTY, M. *Conservation and management of ornamental fish resources of the Rio Negro basin, Amazonia, Brazil - Project Piaba*. Manaus: Edua, 2001.
- DUDKA, I. A. Fungi as a component of freshwater biocenoses. *Mikologiya Fitopatologiya*, v.8, n.5, p.444-449. 1974.
- JOHNSON Jr., T.W. *The genus Achlya: morphology and taxonomy*. Ann Arbor: University of Michigan Press, 1956. 180p.
- KARLING, J. S. Brazilian Chytrids. i. Species of *Nowakowskiella*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, New York, v.71, n.4, p.374-389. 1944a.
- KARLING, J. S. Brazilian Chytrids. ii. New species of *Rhizidium*. *American Journal of Botany*, Columbus, v.31, p.254-261. 1944b.
- KARLING, J. S. Brazilian Anisochytrids. *American Journal of Botany*, v.31, p.391-397. 1944c.

KARLING, J. S. Brazilian Chytrids. iii. *Nephrochytrium amazonensis*. *Mycologia*, v.36, p.350-367. 1944d.

KARLING, J. S. Brazilian Chytrids. iv. Species of *Rozella*. *Micologia*, v.36, n.6, p.638-647. 1944e.

KARLING, J. S. Brazilian Chytrids. v. *Nowakowskiella macrospora* n.sp., and other polycentric species. *American Journal of Botany*, Columbus, v.32, p.29-35. 1945a

KARLING, J. S. Brazilian Chytrids. vi. *Rhopalophlyctis* and *Chytriomycetes*, two new operculate genera. *American Journal of Botany*, Columbus, v.32, n.7, p.362-369. 1945b.

KARLING, J. S. Brazilian Chytrids. viii. Additional parasites of rotifers and nematodes. *Lloydia*, Pittsburg, v.9, n.1, p.1-12. 1946a.

KARLING, J. S. Brazilian Chytrids. ix. Species of *Rhizophydium*. *American Journal of Botany*, Columbus, v.33, p.328-334. 1946b.

KARLING, J. S. Brazilian Chytrids. x. New species with sunken opercula. *Mycologia*, New York, v.39, p.56-70. 1947.

KARLING, J. S. *Chytridiomycetarum Iconographia*. Vaduz: J. Cramer, 1977. 414p.

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; DAVID, J. C.; STALPERS, J. A. *Dictionary of the Fungi*, 9. ed. Walingford: CABI Bioscience, 2001. 280p.

MILANEZ, A.I. Fungos de águas continentais. In: FIDALGO, O.; BONONI, V.R.L.(coord.) *Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico*. Série documentos. São Paulo: Instituto de Botânica, 1989. p.17-20.

NASCIMENTO, C. A.; PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A. Chytridiales (Chytridiomycota) do Parque Estadual da Serra da Cantareira, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasílica*, v.23, n.2, p. 459-473. 2008.

OLIVEIRA, A. T. *Caracterização hematológica de Potamotrygon cf. hystrix*: subsídios para o manejo e conservação da espécie. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus: UFAM, 2008. 118p.

PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A. *Levantamento dos fungos zoospóricos da Represa do Lobo ("Broa"), São Carlos - SP*. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências UNESP - Rio Claro. Rio Claro-SP: UNESP, 1990. 176p.

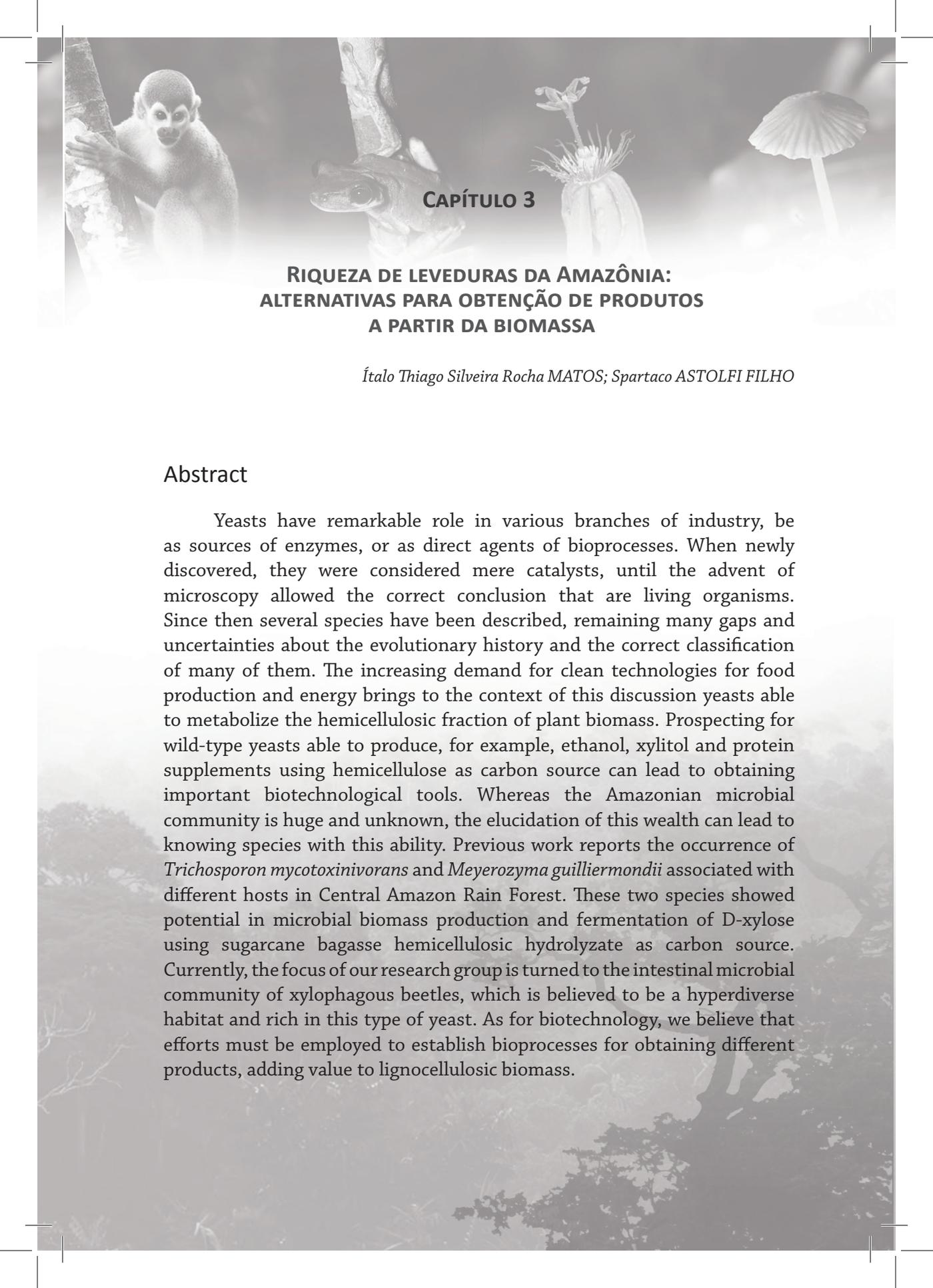
PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A. *Fungos Zoospóricos dos vales dos rios Moji e Pilões, região de Cubatão, São Paulo SP*. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro -SP: UNESP, 1999. 300p.

PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A.; GOMES, A. L. Contribuição para o conhecimento de Chytridiomycota da "Reserva Biológica de Paranapiacaba", Santo André, Estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica*, v.7, n.3, p.309-329. 2007.

PLAATS-NITERINK, A. J. Van der. Monograph of genus *Pythium*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, *Studies in Mycology*, Baarr, v.21, p.242. 1981.

- ROCHA, J. R. S. *Fungos zoospóricos em área de cerrado no Parque Nacional de Sete Cidades, Piauí, Brasil*. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. São Paulo: USP, 2002. 266p.
- ROCHA, M.; PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A. Chytridiomycota e Oomycota da Represa do Guarapiranga, São Paulo, SP. *Acta Botanica Brasílica*, v.16, n.3, p.287-309. 2002.
- SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; MILANEZ, A.I. Sucessão fúngica em folhas de *Ficus microcarpa* l. f. submersas no lago frontal situado no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. *Revista de Microbiologia*, v.20, n.1, p.95-101. 1989.
- SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A.; MILANEZ, A. I. Sucessão fúngica em folhas de *Quercus robur* l. (carvalho) submersas em um lago situado no município de Itapeçerica da Serra, SP. *Revista de Microbiologia*, v.21, n.1, p. 61-67. 1990
- SCHOENLEIN-CRUSIUS, I. H.; PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A.; MILANEZ, A. I. Aquatic fungi in leaves aquatic fungi in leaves submerged in a stream in the Atlantic rainforest. *Revista de Microbiologia*, v.23, n.3, p.167-171. 1992.
- SILVA, M. I. L. *Microbiota de água e solo das margens de igarapés situados na área de mata do campus da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM*. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo: USP, 2002. 175p.
- SPARROW JR., F. K. *Aquatic Phycomycetes*. 2. ed. Ann. Harbor: University of Michigan Press, 1960.
- WOOD, C. M.; MATSUO, A. Y. O.; GONZALEZ, R. J.; WILSON, R. W.; PATRICK, M. L.; VAL, A. L. Mechanisms of ion transport in Potamotrygon, a stenohaline freshwater elasmobranch native to the ion-poor blackwaters of the Rio Negro. *The Journal of Experimental Biology*, v.205, p.3039-3054. 2002.





CAPÍTULO 3

RIQUEZA DE LEVEDURAS DA AMAZÔNIA: ALTERNATIVAS PARA OBTENÇÃO DE PRODUTOS A PARTIR DA BIOMASSA

Ítalo Thiago Silveira Rocha MATOS; Spartaco ASTOLFI FILHO

Abstract

Yeasts have remarkable role in various branches of industry, be as sources of enzymes, or as direct agents of bioprocesses. When newly discovered, they were considered mere catalysts, until the advent of microscopy allowed the correct conclusion that are living organisms. Since then several species have been described, remaining many gaps and uncertainties about the evolutionary history and the correct classification of many of them. The increasing demand for clean technologies for food production and energy brings to the context of this discussion yeasts able to metabolize the hemicellulosic fraction of plant biomass. Prospecting for wild-type yeasts able to produce, for example, ethanol, xylitol and protein supplements using hemicellulose as carbon source can lead to obtaining important biotechnological tools. Whereas the Amazonian microbial community is huge and unknown, the elucidation of this wealth can lead to knowing species with this ability. Previous work reports the occurrence of *Trichosporon mycotoxinivorans* and *Meyerozyma guilliermondii* associated with different hosts in Central Amazon Rain Forest. These two species showed potential in microbial biomass production and fermentation of D-xylose using sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolyzate as carbon source. Currently, the focus of our research group is turned to the intestinal microbial community of xylophagous beetles, which is believed to be a hyperdiverse habitat and rich in this type of yeast. As for biotechnology, we believe that efforts must be employed to establish bioprocesses for obtaining different products, adding value to lignocellulosic biomass.

INTRODUÇÃO

O presente capítulo versará sobre a utilização de linhagens selvagens de leveduras amazônicas para obtenção de produtos usando a biomassa lignocelulósica como matéria prima. As atenções aqui serão dedicadas à fração hemicelulose desta biomassa. As seções iniciais farão uma contextualização no intuito de explicar ao leitor o desafio que representa a utilização de hemicelulose enquanto matéria prima. A seguir, discorreremos sobre leveduras, sua importância, diversidade, utilizações e potencialidades. Por fim, apresentaremos os trabalhos já desenvolvidos no âmbito dos Programas de Pós-Graduação da Universidade Federal do Amazonas, o panorama atual e potenciais futuros sobre a utilização de leveduras no contexto amazônico.

LEVEDURAS

Classificação, Riqueza e Potencial Biotecnológico

A taxonomia é o ramo da biologia dedicado à classificação dos seres vivos, descrevendo-os em grupos formados por similaridades morfológicas e moleculares, além de refletirem história evolutiva comum. Tradicionalmente, os organismos vivos eram agrupados exclusivamente com base na morfologia e demais características fenotípicas. Este sistema criou alguns equívocos ao longo da história da Ciência, como o agrupamento de todos os seres vivos em somente dois grandes reinos: Animal e Vegetal. Baseado nesta lógica, a maior parte dos fungos era equivocadamente posicionada no reino Vegetal, enquanto os fungos zoospóricos, por exemplo, eram agrupados dentro do reino Animal.

Durante a segunda metade do século XX, a proposição de um sistema de classificação que dividia os organismos vivos em cinco reinos foi amplamente difundida e aceita. A partir de então, os fungos integravam o reino Fungi, definidos como organismos eucariotos, dotados de parede celular quitinosa, tendo glicogênio como polissacarídeo de reserva. No entanto, a condição taxonômica de alguns grupos, como oomicetos e mixomicetos, seguia incógnita, já que estes não atendiam a uma grande parte dos requisitos fenéticos estabelecidos para as divisões do reino Fungi.

Blackwell e Spatafora (2004) descrevem o reino Fungi integrado por organismos heterotróficos, imóveis, dotados de parede celular e com reprodução, sexuada e/ou assexuada, por esporulação. Os mesmos autores

propõem, baseados em análise filogenética, que Fungi seja dividido em quatro filos: Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota e Basidiomycota. Alexopoulos et al. (1996) consideram a existência do filo-forma Deuteromycota, grupo no qual encontram-se fungos cuja fase de reprodução sexuada e/ou posição taxonômica não seja ainda esclarecida. Atualmente, existem cerca de 80.000 espécies de fungos descritas, estimando-se a existência de pelo menos 1,5 milhões de espécies, as quais devem ser descobertas, identificadas e incluídas nos quadros taxonômicos (BLACKWELL e SPATAFORA, 2004).

Foco deste capítulo, as leveduras são micro-organismos integrantes do reino Fungi, distribuídos entre os filos Ascomycota, Basidiomycota e no filo-forma Deuteromycota. Caracterizam-se por serem predominantemente unicelulares, realizando reprodução assexuada por brotamento e, em alguns casos, por fissão celular (BARNETT, 2004). Eventualmente, algumas espécies de fungos filamentosos podem apresentar forma leveduróide quando submetidos à escassez de O₂ e abundância de CO₂. Apresentam hábito cosmopolita, sendo capazes de colonizar os mais diversos habitats, crescendo em condição sapróbia, comensal, parasita ou inquilina de outros organismos como plantas e animais (STAJICH et al., 2009). Quando cultivadas *in-vitro* formam, tipicamente, colônias com aspecto cremoso, embora algumas espécies apresentem crescimento colonial radial semelhante a fungos filamentosos (Figura 1).

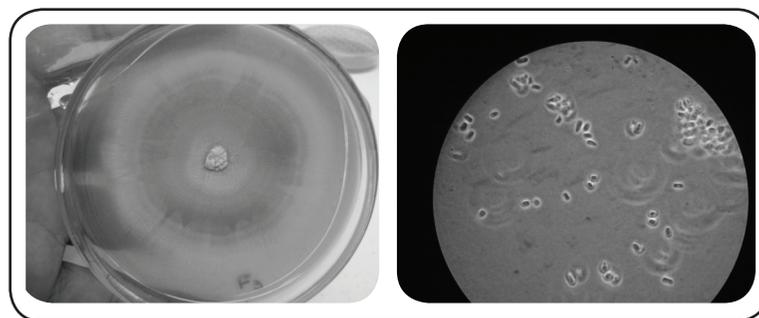


Figura 1

Levedura isolada do intestino de *Calosoma* sp. (A) Crescimento colonial com aspecto filamentosos; (B) Análise ao microscópio óptico permite a identificação de células de leveduras (aumento 400x). (Fotos: Ítalo T. S. R. Matos).

Segundo Barnett (2003), as leveduras foram inicialmente descobertas em processos fermentativos de vinho e cerveja, os quais eram considerados meros processos fisicoquímicos dos quais as leveduras eram catalisadoras. O desenvolvimento da síntese de substâncias usando somente catalisadores químicos fortalecia o argumento de que o levedo usado na produção do vinho, do álcool e da cerveja era apenas um catalisador da reação, e não um organismo vivo. O crescimento do levedo durante a fermentação era ignorado pelos cientistas, que não admitiam que o processo fosse efetuado por seres vivos.

Somente em meados dos anos 1830, com o aperfeiçoamento do microscópio óptico, as estruturas celulares de leveduras foram descritas e reconhecidas como organismos vivos. Trinta anos mais tarde, após diversos debates e embates acalorados e os consistentes trabalhos de Pasteur, a comunidade científica passou a admitir que as leveduras fossem organismos vivos. A aplicabilidade industrial é um fato marcante entre estas, observado em várias espécies principalmente do subfilo Saccharomycotina (STAJICH et al., 2009).

Entre as aplicações biotecnológicas de leveduras, a fermentação alcoólica é a mais disseminada, sendo empregada pela humanidade desde os tempos mais remotos, na produção de cervejas, vinhos e pães (DEMAIN e SOLOMON, 1981). Estes processos baseiam-se na utilização de hexoses pela via glicolítica para a produção de etanol e dióxido de carbono. O aproveitamento da habilidade das leveduras em fermentar hexoses é amplamente dominado pela indústria. Entretanto, um limitado número de espécies conhecidas é capaz de fermentar pentoses, o que torna a busca por novas espécies/linhagens microbianas selvagens dotadas desta habilidade um importante passo (HAHN-HÄGERDAL et al., 2007).

BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA

Bioprodutos, Rentabilidade e Entraves

Denominamos biomassa lignocelulósica o conjunto dos polímeros estruturais presente nos vegetais, sendo estes a lignina, a celulose e a hemicelulose. O primeiro tem função basicamente de sustentação e proteção mecânica, conferindo consistência lenhosa aos tecidos em que se impregna. Serão focos desta secção os dois últimos por conta de terem maior aplicabilidade aos processos fermentativos.

A celulose é o polissacarídeo mais abundante na natureza. Consiste em um homopolímero de glicose, unidas por ligações glicosídicas $\beta - 1,4$. A hidrólise por enzimas da família das celulasas gera monômeros de glicose que, conforme mencionamos anteriormente, são facilmente metabolizados pelas leveduras tanto para produção de biomassa microbiana quanto para fermentação alcoólica.

Diferentemente, a hemicelulose é um heteropolímero composto por hexoses e pentoses, com destaque para estas últimas. É formado por pentoses (xilose e arabinose), hexoses (glicose, manose e galactose) e açúcares ácidos. A proporção de cada carboidrato também é variável, mas a xilose ocupa sempre lugar de destaque, podendo representar 89,3% dos carboidratos componentes da hemicelulose em alguns tipos de madeira (SAHA, 2003). Este é o segundo mais abundante polissacarídeo da biomassa vegetal.

A quantidade de hemicelulose em cada tipo de vegetal é variável de acordo com a espécie e as condições ambientais de cultivo. Este polímero está presente em diversos tipos de resíduos agroindustriais, podendo constituir substrato abundante e de baixo custo para a obtenção de produtos biotecnológicos tais como xilitol, etanol e proteína celular microbiana. A utilização da fração hemicelulósica da biomassa para obtenção de produtos com valor agregado reduziria a liberação de resíduos sólidos para o meio ambiente e seria interessante do ponto de vista econômico, devido ao baixo custo dos resíduos e o valor de mercado dos produtos.

O Brasil, maior produtor mundial de cana-de-açúcar (CUNHA et al., 2006), tem o caldo de cana como principal fonte de carbono para fermentação alcoólica. Por conseguinte, o bagaço de cana-de-açúcar é o mais abundante resíduo agrícola brasileiro, tendo sido produzidas 173,5 milhões de toneladas deste somente em 2009 (MATOS et al., 2012). A composição do bagaço é variável de acordo com as condições de cultivo do canavial, mas cerca de 35% deste corresponde a hemicelulose (SAHA, 2003). Diversos trabalhos citam D-xilose como o açúcar mais abundante da fração hemicelulósica do bagaço. Cheng et al. (2007) obtiveram xilose em fração superior a 50% dos componentes resultantes da hidrólise ácida de bagaço de cana.

Admitindo os valores propostos por Saha (2003) e Cheng et al. (2007), e considerando que fossem utilizadas as 30,4 milhões de toneladas de D-xilose produzidas pelo Brasil em 2009, em uma estimativa teórica seriam produzidas: 15,2 milhões de toneladas de etanol (14,7 bilhões de reais - R\$ 1,30/L); 30,4 milhões de toneladas de xilitol (4,9 trilhões de reais - R\$ 177,00/kg) ou 20 milhões de toneladas de extrato de leveduras (7,2 trilhões de reais - R\$ 360/kg). Tal rentabilidade, no entanto, esbarra no principal

fator limitante: o número relativamente pequeno de espécies conhecidas hábeis em metabolizar D-xilose.

A fração hemicelulose e seus derivados não estão prontamente acessíveis à assimilação e fermentação por micro-organismos dotados desta habilidade. Entre o estado polimérico da biomassa e os açúcares fermentescíveis, encontram-se os principais gargalos tanto do ponto químico/bioquímico como financeiro. A hidrólise é o processo empregado para sacarificação, isto é, tornar os carboidratos poliméricos em açúcares solúveis disponíveis à fermentação. O bagaço de cana-de-açúcar pode ser hidrolisado por meio de auto-hidrólise, hidrólise enzimática e hidrólise ácida.

A auto-hidrólise consiste em tratamento por choque térmico a temperaturas superiores a 190 °C, resultando na conversão de hemicelulose a xilo-oligossacarídeos. A hidrólise enzimática é feita pela mistura de certa quantidade de enzimas ao substrato lignocelulósico, liberando açúcares fermentáveis. O problema destes processos está principalmente no custo, pela intensa demanda de calor, necessária à auto-hidrólise, e o preço elevado das enzimas, bem como os gastos na manutenção de temperatura e pH ótimos a atividade enzimática. Além disso, as enzimas hemicelulolíticas não podem ser usadas na hidrólise direta, pois são inibidas pela estrutura cristalina da lignocelulose, sendo necessário empregar pré-tratamento físico e/ou químico para obtenção de hidrólise completa (PANDEY et al., 2000; WHITE et al., 2008; CANILHA et al., 2010).

A utilização de ácidos inorgânicos diluídos, como HCl, HNO₃ e H₂SO₄, levam à hidrólise quase completa da fração hemicelulósica em unidades monoméricas de pentoses e hexoses (WHITE et al., 2008). Este processo gera muitos inibidores ao crescimento microbiano, como furfural, hidroximetilfurfural, ácidos fórmico, levulínico e acético. Para tornar o crescimento microbiano viável, diversas técnicas de detoxificação podem ser empregadas. Entre estas temos centrifugação, filtração, adição de carvão ativado, eletrodialise, adição de hidróxido de cálcio e biodetoxificação (CANILHA et al., 2010; HOU-RUI et al., 2009). Algumas técnicas de detoxificação podem ainda provocar a redução na concentração de açúcar redutor entre 5% e 12% (CANILHA et al., 2010).

O emprego de técnicas simples para detoxificação de hidrolisados hemicelulósicos leva à obtenção de substratos com elevados teores de inibidores, podendo ser empregados como meios seletivos para micro-organismos de alta resistência. Esta característica pode baratear os produtos biotecnológicos baseados em hidrolisados hemicelulósicos, haja vista a redução nos investimentos necessários à detoxificação.

A diversidade de leveduras amazônicas, em seu estado incógnito, pode conter em si diferentes espécies dotadas de tais habilidades e aplicáveis à obtenção dos produtos supracitados. Este ramo da pesquisa foi iniciado no âmbito dos Programas de Pós-Graduação da Universidade Federal do Amazonas, com alguns resultados promissores, como veremos a seguir.

DIVERSIDADE / RIQUEZA DE LEVEDURAS AMAZÔNICAS

Da assimilação de hemicelulose à fermentação de D-xilose

Conforme descrito, a obtenção de produtos biotecnológicos baseados em hemicelulose tem perspectivas promissoras, mas que demandam muito esforço de pesquisa especialmente no que se refere aos micro-organismos hábeis em metabolizar esse substrato e seus derivados. A pergunta que tentamos responder é: como a diversidade microbiana da Amazônia se posiciona num contexto de obtenção destes produtos?

A condição megadiversa do bioma Amazônia é amplamente conhecida e difundida, restando muito desconhecimento sobre o número de espécies que compõem essa diversidade. Diversos trabalhos científicos versam sobre a busca por micro-organismos e/ou processos que conduzam à obtenção de produtos biotecnológicos baseados em hemicelulose (MATOS, 2010). Em um extenso levantamento bibliográfico, diversos artigos relatam a construção e emprego de micro-organismos recombinantes. Poucos trataram do isolamento e utilização de leveduras selvagens para utilização de hemicelulose, sendo que, em nenhum dos casos, o isolamento foi efetuado a partir de habitats amazônicos.

Igualmente escasso é o número de trabalhos científicos atuais que tratam da riqueza de espécies microbianas da Amazônia. A megadiversidade amazônica encontra-se, portanto, em condição incógnita, e aparentemente continuará assim por um período longo. Esta expectativa se baseia no fato de que poucos grupos de pesquisa tem se dedicado a tal tarefa, sendo menor ainda o número de grupos que busca a aplicação de espécies selvagens aos propósitos supracitados.

Entre os estudos efetuados objetivando o isolamento de espécies de leveduras selvagens hábeis em metabolizar hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar, os resultados são animadores. Em sua dissertação de mestrado, desenvolvida no âmbito do Programa de Pós-Graduação em

Diversidade Biológica, Matos (2010) considerou quatro diferentes biótopos na Amazônia: solos de savanas no estado de Roraima, solos de matas de terra firme no Amazonas, conteúdo intestinal de cupins (*Nasutitermes* sp.) e besouros do gênero *Calosoma* (Artrópoda, Insecta, Carabidae).

As amostras de solo foram escolhidas como habitats em potencial para as leveduras de interesse levando em conta o volume de biomassa lignocelulósica que é decomposto pela atividade microbiana. Quanto aos insetos, os cupins (*Nasutitermes* sp.) foram selecionados em função da xilofagia, isto é, alimentam-se basicamente de madeira. Considerando que menos de 10% das enzimas empregadas na digestão da madeira é produzida pelos cupins (BREZNAK, 1982), a suposição de que encontrar-se-ia leveduras hemicelulolíticas nestes insetos pareceu razoável. *Calosoma* é um gênero de besouros carnívoros, mas que apresentam hábito alimentar xilófago durante a fase larval (LIMA, 1945). Segundo Suh et al. (2005), o intestino de besouros é um habitat inexplorado e hiperdiverso em espécies de leveduras ainda não descritas. Os cupins foram manuseados até a extrusão do aparelho digestório (Figura 2A), enquanto que os espécimes de *Calosoma* sp. tiveram seus intestinos dissecados (Figura 2B).

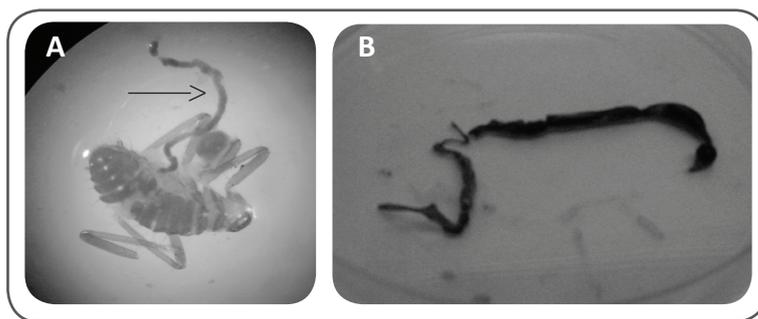


Figura 2

A. Espécime de *Nasutitermes* sp. manuseado até a extrusão do tubo digestório (seta). B. Tubo digestório de um espécime de *Calosoma* sp. dissecado com pinças e tesouras cirúrgicas. (Fotos: Ítalo T. S. R. Matos).

Para o isolamento das leveduras, o meio seletivo foi produzido utilizando hidrolisado ácido hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar (HACA) como fonte única de carbono. Para obtenção do HACA, o bagaço de

cana-de-açúcar foi lavado para retirada de sacarose residual e desidratado em estufa de secagem a 70 °C. A seguir, o bagaço foi imerso em ácido sulfúrico 3%, com razão sólido líquido de 1:4. Após 24 horas a temperatura ambiente, a mistura foi autoclavada a 121 °C por 40 minutos. A fase líquida foi separada e neutralizada pela adição de hidróxido de cálcio. Por fim, a solução foi filtrada e o meio líquido utilizado como fonte de carbono para seleção de microorganismos, conforme descrito por Vargas Betancur e Pereira Jr (2010). Considerando que o pré-tratamento empregado gera grande quantidade de inibidores do crescimento microbiano, o meio obtido tinha elevado poder de seleção de leveduras hábeis em metabolizar hemicelulose e tolerantes a inibidores.

O isolamento das leveduras deu-se em placas de Petri contendo meio composto por HACA, *Yeast Nitrogen Base* (livre de aminoácidos ou outras fontes de carbono) e Agar. Foram selecionadas ao todo 76 leveduras, obtidas conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Total de colônias isoladas segundo o habitat pesquisado

Habitat	Número de isolados	Assimiladores de D-xilose	Fermentadores de D-xilose
Solos de savana de Roraima	2	0	–
Solos de terra firme	8	4	–
Intestino de <i>Calosoma</i> sp.	12	12	2
Intestino de <i>Nasutitermes</i> sp.	54	12	1

A pequena quantidade de isolados obtidos a partir das amostras de solo deu-se provavelmente em razão da alta seletividade do meio, já que a atividade microbiana decompositora de lignocelulose em solos amazônicos é

conhecidamente intensa. Outro fato relevante foi a ausência de crescimento bacteriano e o escasso número de fungos filamentosos, demonstrando a elevada seletividade do meio.

Os isolados foram submetidos a ensaios de fermentação de D-xilose, a fim de serem posteriormente selecionados para bioprocesso e identificados por técnicas clássicas e moleculares. A habilidade em fermentar D-xilose foi verificada em três isolados, sendo duas oriundas de *Calosoma* sp. e uma de *Nasutitermes* sp. A capacidade fermentativa foi atestada pela retenção em tubos de Durham do gás desprendido durante o processo fermentativo, conforme exemplificado na Figura 3.

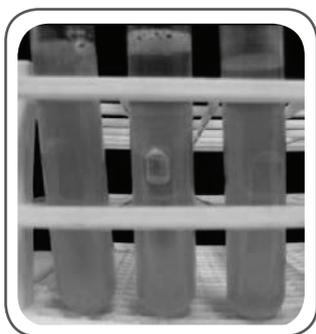


Figura 3

Prova de fermentação de D-xilose por retenção de gás em tubos de Durham, conforme descrito por Barnett et al. (1990). Resultado positivo ao centro. (Foto: Ítalo T. S. R. Matos).

A identificação taxonômica dos três isolados fermentadores de D-xilose foi executada utilizando técnicas de biologia molecular e provas bioquímicas utilizando o kit ID32C, da Biomerieux®. Os dados sobre assimilação de fontes de carbono e nitrogênio foram plotados no aplicativo *online* ApiWeb®, o qual compara o perfil bioquímico apresentado com outros depositados na base de dados da Biomerieux®. O DNA genômico foi extraído, seguindo a amplificação e sequenciamento da região ITS1. As sequências foram analisadas pela ferramenta *Nucleotid BLAST*, na base de dados do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). As sequências obtidas foram depositadas no *GenBank*, sob números de acesso JN974905 e JX861097.

As duas linhagens isoladas de *Calosoma* sp. foram identificadas como *Trichosporon mycotoxinivorans*, enquanto a linhagem obtida de *Nasutitermes* sp. foi identificada como sendo *Meyerozyma guilliermondii*. Foi a primeira descrição da ocorrência destas espécies associadas a estes hospedeiros na Amazônia Central.

Quando cultivada em HACA, *T. mycotoxinivorans* demonstrou habilidade em assimilar os açúcares presentes naquele substrato, consumindo cerca de 80% dos açúcares redutores totais e elevando o pH do meio de 5,0 para 7,5. Este isolado demonstrou ainda elevado potencial na produção de biomassa, produzindo 0,71 g de biomassa por grama de açúcar consumido. Sua tolerância ao HACA foi considerada moderada, com 65,5% de células viáveis ao final do cultivo.

A espécie *T. mycotoxinivorans* foi descrita pela primeira vez por Molnar et al. (2004), que isolaram a linhagem associada a cupins terrícolas da espécie *Mastotermes darwiniensis*, no deserto da Austrália. A ocorrência desta espécie foi descrita ainda em associação ao besouro xilófago *Phrenapetes bennetti* (Tenebrionidae), coletados no Panamá por Suh et al. (2005). Hickey et al. (2009) menciona *T. mycotoxinivorans* na condição de patógeno do trato respiratório de pacientes portadores de fibrose cística em San Antonio, Texas, USA. Ntougias et al. (2010) descrevem a ocorrência desta espécie na microbiota decompositora de resíduos de uva, em uma indústria de vinho no sul do Peloponeso, Grécia. Estas e outras menções sugerem que *T. mycotoxinivorans* apresenta hábito cosmopolita e patogenicidade oportunista, características comuns a este gênero (CHAGAS-NETO et al., 2008).

Alguns trabalhos mencionam a utilização de *Trichosporon* spp. na produção de biossurfactantes (MAKKAR et al., 2011), na produção de amilases extracelulares (LIN e TANAKA, 2006), e na utilização de lignocelulose para produção de lipídios (CHEN et al., 2009; HUANG et al., 2012). Quanto a *Trichosporon mycotoxinivorans*, a única menção encontrada referente a potencial biotecnológico diz respeito à notável habilidade na detoxificação das micotoxinas Ochratoxina A e Zearalenona, contaminantes em estoques de culturas importantes como milho, sorgo, cevada e aveia. Nenhum trabalho anterior investigou o potencial de *T. mycotoxinivorans* na utilização de lignocelulose, sendo este um trabalho pioneiro.

A sequência da região ITS1 do isolado obtido de *Nasutitermes* sp. apresentou 100% de similaridade com *Pichia guilliermondii*. Esta espécie é também identificada em estado anamorfo pela sinonímia *Candida guilliermondii*. Considerando que o clado *Pichia* é polifilético, Kurtzman e Suzuki (2008) propuseram, baseados em análise filogenética, que as espécies *P. guilliermondii* e *P. caribica* fossem agrupadas em um novo gênero, denominado *Meyerozyma*. Considerando que a proposta tem sido amplamente aceita, adotou-se esta denominação neste trabalho.

Semelhantemente a *T. mycotoxinivorans*, *Meyerozyma guilliermondii* neutralizou o meio, elevando o pH de 5,0 para 7,6. Foram consumidos 78,6% dos açúcares redutores totais, com produção de 0,52g de biomassa por grama de açúcar consumido. Apesar de apresentar menor rendimento

de biomassa, *M. guilliermondii* apresentou maior tolerância ao HACA, com 90,3% de células viáveis ao final do cultivo.

A neutralização do meio e a elevada tolerância ao HACA endossam a afirmação de Parawira e Tekere (2011) sobre a capacidade de biodetoxificação apresentada pelo anamorfo *Candida guilliermondii* frente a hidrolisados hemicelulósicos. Esta espécie apresenta conhecida habilidade na produção de xilitol (MUSSATO et al., 2005) e etanol (RAO et al., 2008).

Ambas as espécies apresentaram potencial biotecnológico na produção de biomassa microbiana, na utilização dos açúcares presentes no HACA e na tolerância aos inibidores presentes neste substrato. Novos trabalhos tem sido realizados no intuito de desenvolver bioprocessos usando estes isolados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Observa-se que em um trabalho de pesquisa realizado em prazo inferior a vinte e quatro meses, foram identificadas duas espécies com potencial de utilização de lignocelulose para obtenção de etanol, xilitol e biomassa microbiana. Para conduzir as mesmas dos potenciais à real utilização em bioprocessos, muito esforço de pesquisa deve ser empreendido, o que demandará novos investimentos e, principalmente, recursos humanos.

Em função de sua megadiversidade, a ainda pouco conhecida microbiota amazônica poderá constituir extensa fonte de micro-organismos aplicáveis para os mais diversos fins, seja na produção de enzimas industriais, tratamento de efluentes, produção de biocombustíveis, ou ainda como hospedeiros ou fontes de genes de interesse à engenharia metabólica, contribuindo assim para geração de renda aos povos amazônicos e criando condições para minimizar a necessidade de desflorestamento.

Os esforços de pesquisa agora se concentram no estudo da microbiota intestinal de besouros xilófagos, baseado na hipótese de ser este um habitat hiperdiverso, rico em espécies de leveduras ainda não descritas.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas.

REFERÊNCIAS

- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. *Introductory Mycology*. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, 1996. 880p.
- BARNETT, J. A. Beginnings of microbiology and biochemistry: the contribution of yeast research. *Microbiology*, v.149, p.557–567. 2003.
- BARNETT, J. A. A history of research on yeasts 8: Taxonomy. *Yeast*, v.21, p.1141–1193. 2004.
- BARNETT, J. A.; PAYNE, R. W.; YARROW, D. *Yeasts: Characteristics and Identification*. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1990.
- BLACKWELL, M. AND SPATAFORA, J. W. Fungi and their allies, p. 7-22. In: MUELLER, G. M.; BILLS, G. F.; FOSTER, M. S. (Eds). *Biodiversity of fungi: inventory and monitoring methods*. San Diego: Elsevier Academic Press, 2004.
- BREZNAK, J. A. Intestinal microbiota of termites and other xylophagous insects. *Annual Reviews of Microbiology*, v.36, p.323-343. 1982.
- CANILHA, L.; CARVALHO, W.; FELIPE, M. G. A.; SILVA, J. B. A.; GIULIETTI, M. Ethanol production from sugarcane bagasse hydrolysate using *Pichia stipitis*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.161, p. 84-92. 2010.
- CHAGAS-NETO, T. C.; CHAVES, G. M.; COLOMBO, A. L. Update on the genus *Trichosporon*. *Mycopathologia*, v.166, n.3, p.121-132. 2008.
- CHEN, X.; LI, Z.; ZHANG, X.; HU, F.; RYU, D. D. Y.; BAO, J. Screening of Oleaginous Yeast Strains Tolerant to Lignocellulose Degradation Compounds. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.159, p.591–604. 2009.
- CHENG, K.K.; GE, J. P.; ZHANG, J. A.; LING, H. Z.; ZHOU, Y. J.; YANG, M. D.; XU, J. M. Fermentation of pretreated sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate to ethanol by *Pachysolen tannophilus*. *Biotechnology letters*, v.29, p.1051-1055. 2007.
- CUNHA, A. F.; MISSAWA, S. K.; GOMES, L. H.; REIS, S. F.; PEREIRA, G. A. G. Control by sugar of *Saccharomyces cerevisiae* flocculation for industrial ethanol production. *FEMS Yeast Research*, v.6, p.280–287. 2006.
- DEMAIN, A. L.; SOLOMON, N. A. Industrial microbiology: Introducing an issue on the making of food, drink, pharmaceuticals and industrial chemicals by microorganisms, with special reference to newer methods of programming the microorganisms for their task. *Scientific American*, v.245, n.3, p.43–52. 1981.
- HAHN-HÄGERDAL, B.; KARHUMAA, K.; FONSECA, C.; SPENCER-MARTINS, I.; GORWA-GRAUSLUND, M. F. Towards industrial pentose-fermenting yeast strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.74, p.937–953. 2007.
- HICKEY, P. W.; SUTTON, D. A.; FOTHERGILL, A. W.; RINALDI, M. G.; WICKES, B. L.; SCHMIDT, H. J.; WALSH, T. J. *Trichosporon mycotoxinivorans*, a novel respiratory

pathogen in patients with cystic fibrosis. *Journal of Clinical Microbiology*, v.47, n.10, p. 3091-3097. 2009.

HOU-RUI, Z.; XIANG-XIANG, Q.; SILVA, S. S.; SARROUH, B. F.; AI-HUA, C.; YU-HENG, Z.; KE, J. AND QIU, X. Novel Isolates for Biological Detoxification of Lignocellulosic Hydrolysate. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.52, p.199–212. 2009.

HUANG, C.; WU, H.; LI, R.; ZONG, M. Improving lipid production from bagasse hydrolysate with *Trichosporon fermentans* by response surface methodology. *New Biotechnology*, v.29, n.3, p.372-378. 2012

KURTZMAN, C. P.; SUZUKI, M. Phylogenetic analysis of ascomycete yeasts that form coenzyme Q-9 and the proposal of the new genera *Babjeviella*, *Meyerozyma*, *Millerozyma*, *Priceomyces*, and *Scheffersomyces*. *Mycoscience*, v.51, p.2–14. 2008.

LIMA, M. C. Coleópteros. In: *Insetos do Brasil*. Tomo 7, Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1945. p.257-269.

LIN, Y.; TANAKA, S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.69, p.627-642. 2006.

MAKKAR, R. S.; CAMEOTRA, S. S.; BANAT, I. M. Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production. *AMB Express*, v.1, n.5, p.1-19. 2011.

MATOS, I. T. S. R. *Seleção de leveduras amazônicas capazes de metabolizar hidrolisado hemicelulósico e fermentar D-xilose*. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus: UFAM, 2010. 68p.

MATOS, I. T. S. R.; CASSA-BARBOSA, L. A.; COSTA NETO, P. Q.; ASTOLFI FILHO, S. Cultivation of *Trichosporon mycotoxinivorans* in sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolyzate. *Electronic Journal of Biotechnology*, v.15, n.1, p.1-7. 2012.

MOLNAR, O.; SCHATZMAYR, G.; FUCHS, E.; PRILLINGER, H. *Trichosporon mycotoxinivorans* sp. nov., a new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins. *Systematic and Applied Microbiology*, v.27, n.6, p.661-671. 2004.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. Influence of the toxic compounds present in brewer's spent grain hemicellulosic hydrolysate on xylose-to-xylitol bioconversion by *Candida guilliermondii*. *Process Biochemistry*, v.40, p.3801-3806. 2005.

NTOUGIAS, S.; KAVROULAKIS, N.; PAPDOPOULOU, K. K.; EHALIOTIS, C.; ZERVAKIS, G. I. Characterization of cultivated fungi isolated from grape marc wastes through the use of amplified rDNA restriction analysis and sequencing. *The Journal of Microbiology*, v.48, n.3, p.297-306. 2010.

PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V. T. Biotechnological potential of agro-industrial residues I: sugarcane bagasse. *Bioresource Technology*, v.74, p.69-80. 2000.

PARAWIRA, W.; TEKERE, M. Biotechnological strategies to overcome inhibitors in lignocellulose hydrolysates for ethanol production: review. *Critical Reviews in Biotechnology*, v.31, n.1, p.20-31. 2011.

RAO, R. S.; BHADRA, B.; SHIVAJI, S. Isolation and characterization of ethanol-producing yeasts from fruits and tree barks. *Letters in Applied Microbiology*, v.47, p.19-24. 2008.

SAHA, B. C. Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v.30, p.279-291. 2003

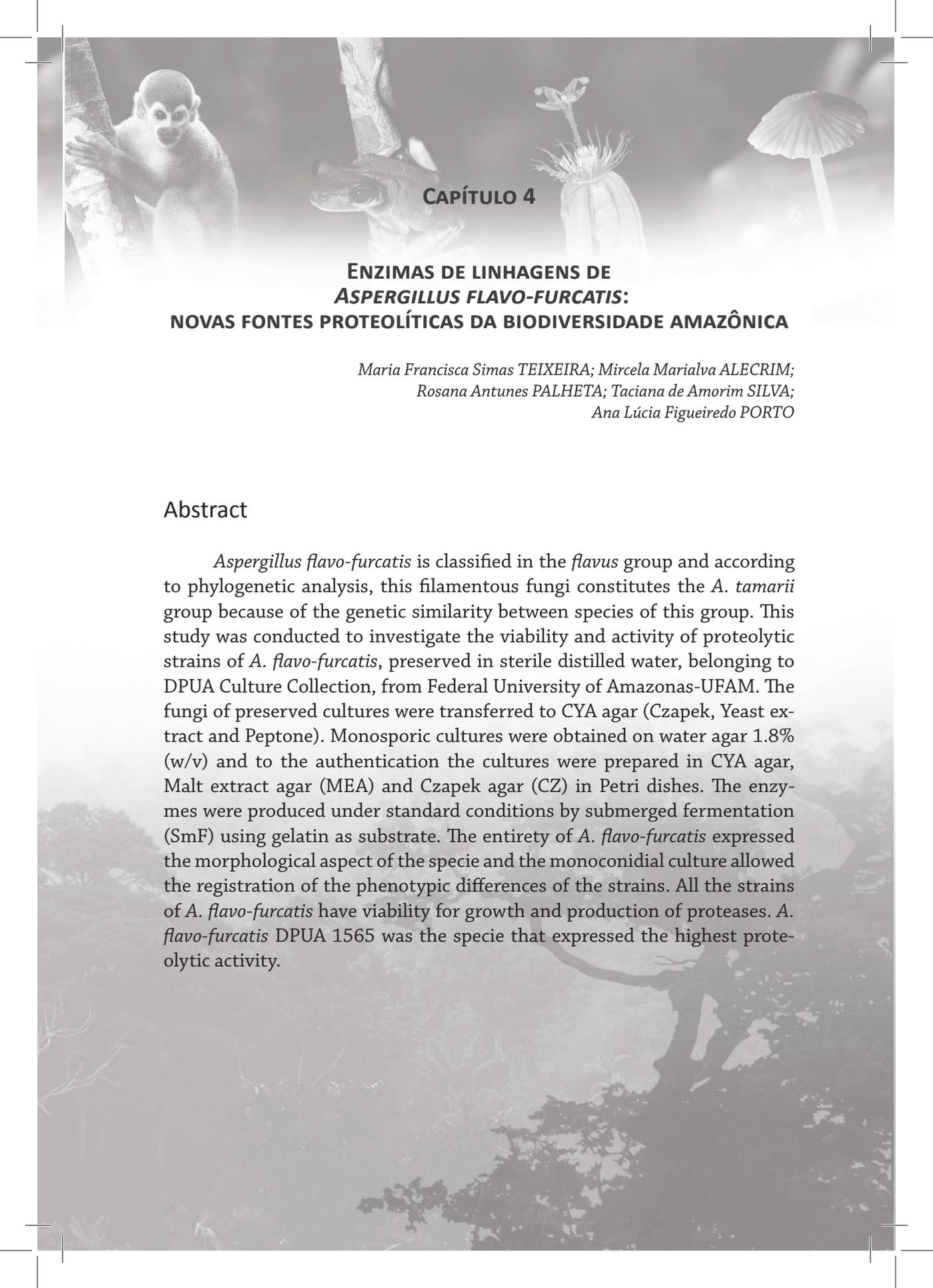
STAJICH, J. E.; BERBEE, M. L.; BLACKWELL, M.; HIBBETT, D. S.; JAMES, T. Y. SPATAFORA, J. W.; TAYLOR, J. W. The Fungi. *Current Biology*, v.19, n.18, p.840-845. 2009.

SUH, S. O.; MCHUGH, J. V.; POLLOCK, D. D. AND BLACKWELL, M. The beetle gut: a hyperdiverse source of novel yeasts. *Mycology Research*, v.109, n.3, p.261-265. 2005

VARGAS BETANCUR, G. J.; PEREIRA JÚNIOR, N. Sugar cane bagasse as feedstock for second generation ethanol production. Part I: diluted acid pre-treatment optimization. *Electronic Journal of Biotechnology*, v.13, n.3. 2010

WHITE, J. S.; YOHANNAN, B. K. and WALKER, G. M. Bioconversion of brewer's spent grains to bioethanol. *FEMS Yeast Research*, v.8, p.1175-1184. 2008.





CAPÍTULO 4

ENZIMAS DE LINHAGENS DE *ASPERGILLUS FLAVO-FURCATUS*: NOVAS FONTES PROTEOLÍTICAS DA BIODIVERSIDADE AMAZÔNICA

Maria Francisca Simas TEIXEIRA; Mircela Marialva ALECRIM;
Rosana Antunes PALHETA; Taciana de Amorim SILVA;
Ana Lúcia Figueiredo PORTO

Abstract

Aspergillus flavo-furcatus is classified in the *flavus* group and according to phylogenetic analysis, this filamentous fungi constitutes the *A. tamarii* group because of the genetic similarity between species of this group. This study was conducted to investigate the viability and activity of proteolytic strains of *A. flavo-furcatus*, preserved in sterile distilled water, belonging to DPUA Culture Collection, from Federal University of Amazonas-UFAM. The fungi of preserved cultures were transferred to CYA agar (Czapek, Yeast extract and Peptone). Monosporic cultures were obtained on water agar 1.8% (w/v) and to the authentication the cultures were prepared in CYA agar, Malt extract agar (MEA) and Czapek agar (CZ) in Petri dishes. The enzymes were produced under standard conditions by submerged fermentation (SmF) using gelatin as substrate. The entirety of *A. flavo-furcatus* expressed the morphological aspect of the specie and the monoconidial culture allowed the registration of the phenotypic differences of the strains. All the strains of *A. flavo-furcatus* have viability for growth and production of proteases. *A. flavo-furcatus* DPUA 1565 was the specie that expressed the highest proteolytic activity.

INTRODUÇÃO

Diversos produtos utilizados pela sociedade são originários da diversidade de micro-organismos, especialmente as enzimas, antibióticos, óleos essenciais, pigmentos, corantes, vitaminas, etc. Na atualidade, caracterizar essa biodiversidade com a finalidade de conhecer o potencial produtivo de forma sustentável pode ser uma via de transformação do conhecimento em valor econômico e bem estar da sociedade (FURTADO et al., 2005; CUNHA et al. 2009).

Entre os micro-organismos, os representantes do reino Fungi formam um grupo megadiverso, cujo quantitativo está estimado em torno de 1,5 milhões de espécies no planeta (HAWKSWORTH, 2004). A diversidade de fungos tem despertado atenção, não só pela sua forma de exploração de nutrientes nos ecossistemas, mas também pela sua forma de vida (parasita, simbiote e comensal) e como produtores de metabólitos de valor econômico.

Micro-organismos, como os fungos filamentosos anamórficos e certas espécies de zigomicetos representados respectivamente por espécies de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus* são proteolíticos úteis em função das espécies desses gêneros geralmente serem considerados seguros, GRAS (*Generally Regarded As Safe*) (SANDHYA et al., 2005; CHUTMANOP e PENJIT, 2008; GARCÍA-GÓMEZ et al., 2009).

Para a investigação de compostos e produtos, o isolamento, identificação, caracterização e conservação são práticas indispensáveis para uso de micro-organismos em benefício da humanidade, com destaque para aquelas espécies de fungos que ainda não foram examinadas e que são fontes de novos compostos, como enzimas proteolíticas, as preferidas devido às suas propriedades fisiológica e bioquímica (ABREU e TUTUNJI, 2004; RODARTE et al., 2011).

Proteases ou enzimas proteolíticas constituem um grupo complexo de enzimas que desempenham papel importante na natureza, são essenciais para os organismos vivos, desempenham uma variedade de funções, estão envolvidas em processos fisiológicos (homeostase, apoptose, reprodução, imunidade) e na coagulação do sangue e cicatrização de feridas (ANGEL et al., 2010; MUTHULAKSHMI et al., 2011).

Entre outras enzimas, as proteases representam um dos maiores grupos e de maior importância comercialmente, devido às suas múltiplas aplicações em diversos setores industriais, em pesquisa, na saúde e na

área biotecnológica. O aumento do interesse por essas enzimas com novas propriedades está estimulando a exploração de diferentes fontes para suprir a demanda industrial e ambiental (TREMACOLDI e CARMONA, 2005; WANG et al., 2005; NASCIMENTO e MARTINS, 2006; SAVITHA et al., 2011).

No mercado mundial, as proteases representam mais de 60%-65% do total de enzimas que deverá ultrapassar US\$ 2,9 bilhões até 2012 (AFTAB et al., 2006; FERRACINI-SANTOS e SATO, 2009; KHAN et al., 2011).

A atual demanda global das proteases está conduzindo a busca por micro-organismos com novas propriedades, além das reconhecidamente convencionais como o crescimento rápido, eficácia, custo e facilidade com que eles podem ser geneticamente modificados para originar linhagens com propriedades desejáveis para aplicação industrial (VISHWANATHA et al., 2009; NIRMAL et al., 2011). O presente estudo foi realizado com objetivo de verificar a viabilidade e a atividade de proteases por 10 linhagens de fungos anamórficos originárias da biodiversidade amazônica, provenientes do acervo da Coleção de Culturas DPUA.

MATERIAL E MÉTODOS

Material biológico

Nesta pesquisa foram avaliadas 10 linhagens de *Aspergillus flavo-furcatis*, fungos anamórficos preservadas em água destilada esterilizada, provenientes do acervo da Coleção de Culturas DPUA, da Universidade Federal do Amazonas-UFAM, Manaus-Amazonas-Brasil.

Análise do material biológico para caracterização como fonte de protease

- Subcultivo de *Aspergillus flavo-furcatis*

Para reativação dos 10 *Aspergillus flavo-furcatis* foram realizados subcultivos, transferindo-se fragmentos de cada cultura para Caldo Glicosado, em tubo de ensaio (LACAZ et al. 2002). Os cultivos estacionários foram mantidos a 25 °C. Após o crescimento no meio líquido, fragmentos dessas culturas foram transferidos para ágar CYA (Czapek, extrato de levedura, peptona), em placas de Petri. Nesse meio, os cultivos de *A. flavo-furcatis* foram mantidos a 25 °C durante sete dias (KLICH e PITT, 1988).

- Cultivo monospórico

Os cultivos monospóricos de *Aspergillus flavo-furcatis* foram realizados de acordo com a metodologia de Teixeira et al. (1995). Para cada cultivo foi utilizado ágar água 1,8% (p/v), esterilizado a 120 °C, durante 15 minutos. Ao término do processo de esterilização, o meio foi distribuído em placa de Petri medindo 15 mm x 90 mm. Após solidificação do meio, o verso da placa foi marcado com a letra “E” para limitação da área de inoculação dos esporos. Em seguida, uma suspensão de esporos foi preparada com água destilada esterilizada e determinada a densidade de esporos sob microscópio óptico. No caso de alta concentração de esporos, a suspensão foi diluída para obtenção de densidade celular de três esporos em 10 µL. Desta diluição, utilizando-se uma alça de níquel cromo com extremidade em círculo medindo 5 mm de diâmetro, os esporos foram transferidos para superfície do ágar água. Os cultivos foram mantidos a 25 °C e por 12 horas, cada esporo germinado foi transferido, centralmente, para a superfície de ágar CYA, em placa de Petri.

- Autenticação dos *Aspergillus flavo-furcatis*

Para autenticação dos 10 *Aspergillus flavo-furcatis* foram obtidas macrocolônias em ágar CYA, ágar Extrato de Malte (MEA) e ágar Czapek (CZ), em placa de Petri medindo 15 mm x 90 mm. Para obtenção das culturas foi utilizada a técnica de inoculação dos esporos e micélio suspensos em ágar semi-sólido adicionado de Tween 0,05% (v/v), de acordo com as recomendações de Pitt (1991). Este inóculo foi semeado em três pontos equidistantes na superfície de cada meio seletivo, em placa de Petri. Todos os cultivos foram mantidos a 25 °C, durante sete dias. A análise das características morfológicas, tais como coloração e textura do micélio, diâmetro e topografia das colônias foram comparadas com as chaves de identificação propostas por Raper e Fennel (1977) e Klich e Pitt (1988).

Cultivo para exame das microestruturas características de *Aspergillus flavo-furcatis*

Para observação das micro-estruturas, esporos e micélio de cada cultura dos *Aspergillus flavo-furcatis* foram inoculados em ágar Czapek (Cz), em placa de Petri, conforme as recomendações de Pitt (1991). Nas estruturas

celulares, em polos opostos foi superposta uma lamínula. Os cultivos foram mantidos a 25 °C, por sete dias.

Após o período de desenvolvimento característico dos fungos, as lamínulas foram retiradas sem danificar o cultivo e submetidas à ação de um fixador (álcool 95%). Após fixação, as microestruturas foram coradas com azul de lactofenol para observação sob microscópio óptico e comparadas com as descritas por Raper e Fennel (1977).

Avaliação da produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavo-furcatis* em meio sólido

Para conhecimento das linhagens não toxigênicas foi realizado cultivo em meio sólido para verificação da produção de aflatoxinas. As linhagens de *Aspergillus flavo-furcatis* foram cultivadas em ágar extrato de levedura e sacarose (YES), em placa de Petri medindo 15 mm x 90 mm. Centralmente, na superfície de ágar YES foram semeados os esporos, conforme citação de Pitt (1985). Para confirmar a produção de aflatoxinas, em cada cultivo, mantendo-se a placa de Petri invertida foi adicionado, lateralmente, 0,2 mL solução de amônio 25% (p/v). O resultado positivo foi observado pela intensificação da coloração rosa no reverso da colônia (SAITO e MACHIDA, 1999).

Fermentação submersa

O meio de fermentação para cultivo dos fungos e produção de protease coagulante foi o indicado por Teixeira et al. (2011), (g/L de água destilada): KH_2PO_4 (2,0); $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1,0); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,1); $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,9); Extrato de Levedura (1,0), Gelatina (5,0). O pH do meio foi aferido para 4,0 com H_2SO_4 0,1 N. Em seguida, volume equivalente a 50 mL foi distribuído para frascos de Erlenmeyer de 125 mL. A esterilização foi realizada a 120 °C, durante 15 minutos.

Preparação do inóculo

Para obtenção do inóculo, os 10 *Aspergillus flavo-furcatis* foram cultivados em ágar CYA, a 30 °C por cinco dias, em tubo de ensaio. Em cada cultivo foi preparada uma suspensão de esporos. Desta suspensão,

após dispersão dos esporos, foi transferido para cada 50 mL do meio de fermentação volume equivalente 10^5 esporos/mL de meio. A fermentação foi conduzida a 30 °C, 150 rpm. Após 72 horas a biomassa foi separada do extrato bruto por filtração a vácuo em papel de filtro Whatman nº 1. No extrato bruto recuperado foi determinada a atividade de proteases.

Determinação da atividade de protease

Em todas as amostras de extrato bruto, a atividade das proteases foi determinada conforme Leighton et al. (1973). O extrato enzimático (150 µL) foi adicionada em tubo do tipo Falcon a 250 µL da solução de azocaseína a 1% (p/v), em tampão Tris-HCl 0,2 M, pH 7,2. Após 60 minutos de incubação a 25 °C, em câmara escura, a reação foi interrompida com ácido tricloroacético 10% (p/v) e o resíduo remanescente foi removido por centrifugação (8000 rpm) por 15 minutos, a 4 °C. Do sobrenadante, 1,2 mL foi transferido para 1,4 mL de Hidróxido de Sódio 1 M, procedendo-se a leitura a 440 nm. Uma unidade de atividade proteolítica foi definida como a quantidade de enzima capaz de produzir um aumento na absorbância de 0,1 em uma hora (TREMACOLDI e CARMONA, 2005).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das atividades enzimáticas foram submetidos à análise estatística descritiva (média e desvio padrão) e ANOVA, com nível de significância de 5% quando houve diferença entre as médias. E as médias diferentes foram analisadas pelo Teste de Tukey utilizando o software MINITAB 16.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fungos anamórficos como novas fontes de proteases

Membros da biodiversidade de fungos da Amazônia, fonte de proteases, ainda estão pouco conhecidos, embora estudos tenham avançado acerca dessas enzimas mundialmente. Os resultados referentes à viabilidade das culturas para utilização nos testes de fermentação mostraram que 100% dos *Aspergillus flavo-furcatis* desenvolveram estrutura vegetativa, de reprodução

e também expressaram as características morfológicas como cor, textura e topografia da colônia próprias da espécie, nas culturas policonidiais, conforme citado por Raper e Fennel (1977).

A técnica de indução de germinação de único esporo (cultivo monospórico) permitiu o registro das diferenças fenotípicas das colônias peculiar às respectivas linhagens em culturas monoconidiais. Entre essas alterações das colônias teve evidência a coloração e a textura do micélio, igualmente a formação de gotículas de exsudado apresentando coloração marrom escura, características observadas em umas linhagens e em outras ausentes; as demais características permaneceram inalteradas.

Além disso, na colônia da linhagem *A. flavo-furcatis* DPUA 1465 houve desenvolvimento de uma área micelial de coloração e textura diferenciada da colônia parental, ocasionada por mutação. A presença do setor de micélio representa instabilidade genética que promove problemas econômicos negativos. Por um lado, a estabilidade genética é necessária para fungos utilizados como alimento ou em processos industriais, onde são importantes a qualidade e quantidade do produto (GOW et al., 2008).

Dos fungos anamórficos selecionados no acervo da Coleção de Culturas DPUA, no cultivo de 30% das linhagens foi comprovada a presença de aflatoxinas, as quais são registradas na Coleção sob os códigos DPUA 1540, DPUA 1631 e DPUA 1451. Assim, neste estudo, predominaram as linhagens não produtoras de aflatoxinas. A síntese dessas toxinas por essa espécie foi relatada pela primeira vez por Youssef (2009), em dois isolados que cresceram a partir de 11 mostras de milho avaliadas na Líbia. Possivelmente, a explicação dada para a capacidade de *A. flavo-furcatis* em produzir essas micotoxinas esteja associada à restrita relação morfológica e genética que essa espécie tem a outras espécies produtoras de aflatoxinas, *A. flavus* e *A. parasiticus*, classificados no mesmo grupo (ABDEL-MALLEK et al., 1993).

Muitas vezes, a produção de micotoxinas pode ser uma característica observada em cultura de isolados que foram recentemente retiradas do seu habitat natural, mas em alguns casos a capacidade de sintetizar certo metabólito secundário pode ser transitória e em alguns casos perdida em função de manipulação *in vitro* (ABARCA et al., 2000).

Na Tabela 1 está demonstrada a atividade das proteases das linhagens de *Aspergillus flavo-furcatis*. Das 10 linhagens investigadas, todas são fontes de proteases e, entre elas, a média da atividade proteolítica apresentou variação de 15,02U/mL a 56,33U/mL, de acordo com a linhagem analisada. As maiores médias de atividades proteolíticas foram determinadas no extrato de cinco linhagens [*A. flavo-furcatis* (DPUA 1565, DPUA 1451, DPUA

1631, DPUA 1540 e DPUA 1461)]. Nas condições de fermentação, a razão coagulante entre os fungos analisados foram diferentes significativamente, com exceção dos valores máximos determinados em duas linhagens (*A. flavo-furcatis* DPUA 1465 e DPUA1451) (Tabela 1). Destas, a que demonstrou características para aplicação industrial foi *A. flavo-furcatis* DPUA 1461, embora o valor médio da atividade proteolítica ($40,91 \pm 6,42$) não tenha sido expressado de forma significativa quando comparado com as linhagens de valores máximos. Contudo, nas condições de fermentação, nos cultivos dessa linhagem, os resultados foram negativos para aflatoxinas e também não expressou instabilidade genética, critérios, entre outros, essenciais para utilização de fungos em processos de fermentação na indústria de alimentos e outros setores industriais (WARD et al., 2006; TEIXEIRA et al., 2011).

Tabela 1 - Média da atividade proteolítica de 10 linhagens de *Aspergillus flavo-furcatis*, determinada no extrato bruto recuperado da fermentação submersa realizada a 30 °C por 72h.

Linhagens	Atividade de Protease (U/mL)
<i>A. flavo-furcatis</i> DPUA 1451*	51,71±1,72 ^{ab}
<i>A. flavo-furcatis</i> DPUA 1461	40,91±6,42 ^{cd}
<i>A. flavo-furcatis</i> DPUA 1465**	56,33±1,30 ^a
<i>A. flavo-furcatis</i> DPUA 1493	37,84±0,23 ^{de}
<i>A. flavo-furcatis</i> DPUA 1539	29,02±1,39 ^f
<i>A. flavo-furcatis</i> DPUA 1540*	45,89±2,00 ^{bc}
<i>A. flavo-furcatis</i> DPUA 1608	17,91±0,44 ^g
<i>A. flavo-furcatis</i> DPUA 1622	33,22±2,78 ^{ef}
<i>A. flavo-furcatis</i> DPUA 1623	15,02±0,30 ^g
<i>A. flavo-furcatis</i> DPUA 1631*	48,80±1,10 ^b

DPUA= Código da Coleção de Cultura; *(Aflatoxigênica); ** (Instabilidade genética). Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$)

Os resultados desta pesquisa estão em concordância com citações da literatura, sobretudo com relação ao desempenho dos fungos quanto à produção das enzimas proteolíticas (KUMAR e TAKAGI, 1999; AGUILAR et al., 2008; BENAZIR et al., 2011). Em consideração as condições de fermentação a que foram submetidos os fungos para produção de proteases, Jacob et al. (2011) reportaram que as condições de cultivo e as substâncias constituintes do meio podem comprometer fortemente a atividade das enzimas. Além disso, o organismo ou linhagem microbiana exige condição especial para a produção máxima da enzima, parâmetro relevante que também deve ser considerado em bioprocessos (MUERHY e NAIDU, 2010).

Proteases são novos compostos produzidos por *A. flavo-furcatis*, um táxon anamórfico, representante de *Aspergillus* do grupo *flavus*, com base nas características fenotípicas. Dados de outros estudos confirmaram certos isolados dessa espécie como produtores de aflatoxinas, contudo sem nenhum envolvimento em patologia (RAPER e FENNEL, 1977; HEDAYATI et al., 2007; YOUSSEF, 2009).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados, pode-se concluir que as culturas monoconidiais de *Aspergillus flavo-furcatis* do acervo da Coleção DPUA estão viáveis e úteis para emprego em processos de fermentação como novas fontes de proteases e dessas, *A. flavo-furcatis* DPUA 1461 tem características promissoras para exploração industrial. A técnica de indução da germinação de único esporo permitiu o registro das diferenças fenotípicas das colônias peculiares às respectivas linhagens e a instabilidade genética de *A. flavo-furcatis* DPUA 1465.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem ao Ministério da Educação – MEC/REUNI, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro através de bolsas de fomento tecnológico.

REFERÊNCIAS

- ABARCA, M. L. et al. Hongos productores de micotoxinas. Emergentes. *Revista Iberoamericana de Micología*, v.17, p.63-68. 2000.
- ABDEL-MALLEK, A. Y. et al. Mycotoxin-producing potential of some aspergillus, *Penicillium* and *Fusarium* isolates found on corn Grains and sunflower seeds in Egypt. *Journal of Islamic Academy of Sciences*, v.6, n.3, p.189-192. 1993.
- ABREU, M. M. V.; TUTUNJI, V. L. Implantação e manutenção da coleção de cultura de microrganismos da UNICEUB. *Universitas Ciências da Saúde*, v.2, n.2, p.236-256. 2004.
- AFTAB, S. et al. Screening, isolation and characterization of alkaline protease producing bacteria from soil. *Pakistan Journal of Biological Science*, v.9, n.11, p.2122-2126. 2006.
- AGUILAR, C. N. et al. Perspectives of Solid State Fermentation for Production of Food Enzymes. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, v.4, n.4, p.354-366. 2008.
- ANGEL, R. et al. *Proteases*: Potential for use in poultry nutrition. DSM Nutritional Products Inc. Technical Symposium Multi-State Poultry Meeting, 2010. p.10.
- BENAZIR, J. F. et al. Bio utilization of agroindustrial waste in solid state fermentation by *Aspergillus niger* for the production of protease. *Asiatic Journal of Biotechnology Resources*, v.2, n.4, p.422-435. 2011.
- CHUTMANOP, S. C. et al. Protease production by *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation using agroindustrial substrates Jarun. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v.83, p.1012-1018. 2008
- CUNHA, P. L. R. et al. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. *Química Nova*, 2009, 32(3): 649-660.
- FERRACINI-SANTOS, L.; SATO, H. H. Production of alkaline protease from *Cellulosimicrobium cellulans*. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.40, n.1, p.54-60. 2009.
- FURTADO, N A J C. et al. The potential of an *Aspergillus fumigatus* Brazilian strain to produce antimicrobial secondary metabolites. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.36, p.357-362. 2005.
- GARCÍA-GÓMEZ, M. J. et al. Advantages of a proteolytic extract by *Aspergillus oryzae* from fish flour over a commercial proteolytic preparation. *Food Chemistry*, v.112, p.604-608. 2009.
- GOW, N. A. R. et al. *The fungal colony*. New York: Cambridge University Press 2008. 326p.
- HAWKSWORTH, D. L. Fungal diversity and its implications for genetic resource collections. *Studies in Mycology*, v.50, p.9-18. 2004.
- HEDAYATI, M. T. et al. *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*, v.153, p.1677-1692. 2007.
- JACOB, M. et al. Recent advances in milk clotting enzymes. *International Journal of Dairy Technology*, v.64, n.1, p.14-33. 2011.

- KHAN, M. A et al. Isolation and screening of alkaline protease producing bacteria and physio-chemical characterization of the enzyme. *African Journal of Biotechnology*, v.10, n.33, p.6203-6212. 2011.
- KLICH, M. A.; PITT, J. I. *A Laboratory guide to common Aspergillus species and their teleomorphs*. Australia: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, 1988. 115p.
- KUMAR, C. G.; TAKAGI, H. Microbial alkaline proteases: From a bioindustrial viewpoint. *Biotechnology Advances*, v.17, p.561-594. 1999.
- LACAZ, C. S. et al. *Tratado de Micologia Médica*. 9. ed. Savier: São Paulo, 2002. 1104p.
- LEIGHTON, T. J. et al. The relationship of serine protease activity to RNA polymerase modification and sporulation in *Bacillus subtilis*. *Journal of Molecular Biology*, v.76, p.103-122. 1973.
- MUERHY, P. S.; NAIDU, M. M. Protease production by *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation utilizing coffee by-products. *World Applied Sciences Journal*, v.8, n.2, p.199-205. 2010.
- MUTHULAKSHMI, C. et al. Production, Purification and Characterization of Protease by *Aspergillus flavus* under Solid State Fermentation. *Jordan Journal of Biological Sciences*, v.4, n.3, p.137-148. 2011.
- NASCIMENTO, A. W. C.; MARTINS, M. L. L. Produção de proteases por *Bacillus* sp SMIA-2 crescido em soro de leite e água de maceração de milho e compatibilidade das enzimas com detergentes comerciais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, n3, p.582-588. 2006.
- NIRMAL, N. P. et al. Fungal Proteases: An Overview. *International Journal of Biotechnology & Bioscience*, v1, n.1, p.1-40. 2011.
- PITT, J. I. *A laboratory guide to Common Penicillium species*. Austria: CSIRO-Division of Food Processing, 1985. 182p.
- PITT, J. I. *A laboratory guide to common Penicillium species*. North Wales: CSIRO-Division of Food Processing, 1991. 187p.
- RAPER, K. B.; FENNELL, D. I. *The Genus Aspergillus*. New York: Robert E. Krieger Co., 1977. 686p.
- RODARTE, M. P. et al. Proteolytic activities of bacteria, yeasts and filamentous fungi isolated from coffee fruit (*Coffea arabica* L.). *Acta Scientiarum Agronomy*, v.33, p.457-464. 2011.
- SAITO, M.; MACHIDA, S. A Rapid identification method for aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* by ammonia vapor. *Mycoscience*, v.40, p.205-208. 1999.
- SANDHYA, C. et al. Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, v.40, p.2689-2694. 2005.

SAVITHA, S. et al. Fungal protease: Production, purification and compatibility with laundry detergents and their wash performance. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v.42, p.298–304. 2011.

TEIXEIRA, M. F. et al. *Fungos Filamentosos e Leveduras. Catálogo da Coleção de Cultura-DPUA*. 2. ed. Manaus: EDUA, 1995. 33p.

TEIXEIRA, M. F. S. et al. *Fungos da Amazônia: uma riqueza inexplorada (aplicações biotecnológicas)*. 1. ed. Manaus: EDUA, 2011, p. 255.

TREMACOLDI, C. R.; CARMONA, E. C. Production of extracellular alkaline proteases by *Aspergillus clavatus*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v.21, p.169-172. 2005.

VISHWANATHA, K. S. et al. Characterization of acid protease expressed from *Aspergillus oryzae* MTCC 5341. *Food Chemistry*, v.114, p.402-407. 2009.

WANG, S.-L. et al. Purification and characterization of a serine protease extracellularly produced by *Aspergillus fumigates* in a shrimp and crab shell powder medium. *Enzyme and Microbial Technology*, v.36, p.660-665. 2005.

WARD, O. P. et al. Physiology and Biotechnology of *Aspergillus*. *Advances in Applied Microbiology*, p.58: 75. 2006.

YOUSSEF, M. S. Natural occurrence of mycotoxins and mycotoxigenic fungi on Lybian corn with special reference to mycotoxin control. *Research Journal of Toxins*, v.1, n.1, p. 8-22. 2009.



CAPÍTULO 5

PROTEASES DA DIVERSIDADE DE FUNGOS ISOLADOS DE *VATIGA ILLUDENS* E *ORTHEZIA SP.*

Jéssica Ferreira BARRONCAS; Jadson Diogo Pereira BEZERRA;
Tamiris Rio Branco da FONSECA; Meire Rossy Oliveira da CRUZ;
Cristina Maria de SOUZA-MOTTA; Maria José dos Santos FERNANDES;
Maria Francisca Simas TEIXEIRA

Abstract

Proteases are an important virulence factor for entomopathogenic fungi therefore has a fundamental role in the penetration of the insect cuticle. This study aimed to isolate fungi from lace bug (*Vatiga illudens*) and mealybug (*Orthezia sp.*), as well as evaluating the proteolytic potential of the crude extracts of the isolates and to determine the optimal temperature and pH of the enzyme. For fungi isolation, insects were placed in a moist chamber at 25 °C, followed by cultivation on Sabouraud agar with chloramphenicol. The isolates were submitted to submerged fermentation in malt extract-glucose and yeast extract. The enzyme extract was recovered by vacuum filtration and inoculated into cup-plates, in medium supplemented with solid casein substratum at 37 °C. After 48h, proteolytic activity was measured in millimeters. The effect of temperature and pH on the proteolytic activity was determined using azocasein 1% (w/v) as substrate in different buffers (pH 5-10) and temperatures (25 °C-60 °C). From the insects were isolated 14 anamorphic fungi and two representatives of the phylum Ascomycota. From *V. illudens*' isolates, some fungi were identified: *Paecilomyces sp.* and *P. javanicus*. The greatest diversity of fungi was found in *Orthezia sp.*, represented by *Fusarium decemcellulare*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. brevicompactum*, *P. fellutanum*, *P. glabrum* and *P. solitum*. The ascomycetes were *Eupenicillium javanicum*. On solid medium, the isolates formed halos with 10-19 mm in diameter and the crude extract had a proteolytic activity ranged from 1.40 to 27.07 U/mL. Temperature and pH optimum enzyme activity varied among isolates.

INTRODUÇÃO

Estima-se que aproximadamente 250 mil espécies de insetos possam ser consideradas pragas da agricultura ou pragas urbanas, ou seja, em função do aumento da sua densidade, causam perda econômica ao homem (TIAGO e FURLANETO, 2003; BRECHELT, 2004).

Atualmente, a prática mais utilizada para o controle de pragas ainda é o uso de inseticidas químicos, mas o uso de micro-organismos como agentes de controle biológico apresentou um crescimento significativo como alternativa à redução a esses produtos químicos, devido aos danos que eles ocasionam ao homem e ao ambiente (BUTT et al., 2001).

Em geral, os fungos entomopatogênicos destacam-se por constituírem 80% das causas de enfermidades responsáveis pelos surtos enzoóticos e epizoóticos dos ecossistemas e agrossistemas, o que os tornam uma excelente alternativa para utilização no controle biológico (PADIN et al., 1995; ALVES, 1998).

A capacidade de invasão dos fungos entomopatogênicos via tegumento, altamente especializada, é uma característica que os proporciona uma vantagem quando comparados a outros agentes patogênicos como os vírus e bactérias que precisam ser ingeridos.

A invasão do fungo resulta da ação conjunta da pressão física e atividade enzimática de tipo hidrolítica específica, correspondente a enzimas como proteases e quitinases (TIAGO e FURLANETO, 2003; DELGADO-ORAMAS, 2005).

Proteases tem papel importante no metabolismo de fungos, pois são fatores de virulência que tem envolvimento nos processos de formação e germinação dos esporos. Estas enzimas são as primeiras a atuarem na cutícula do inseto por meio da hidrólise das proteínas, atividade que proporciona a conversão do tecido do inseto e ação de outras enzimas, como as quitinases (ROBERTS et al., 1992; BIDOCHKA et al., 1997; ALVES, 1998).

Estudos para descoberta de novos micro-organismos com fonte de proteases podem auxiliar na caracterização de potenciais isolados para o controle biológico, assim como fornecer conhecimentos para o melhor entendimento de aspectos básicos da biologia do fungo (ALVES, 1998; FRANCESCHINI et al., 2001). O objetivo deste trabalho foi isolar fungos com potencial proteolítico de insetos considerados pragas agrícolas e proceder a caracterização parcial das enzimas para futura aplicação industrial.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta dos insetos

Os insetos coletados foram percevejo-de-renda (*Vatiga illudens*) (Hemiptera: Tingidae) e a cochonilha (*Orthezia* sp.) (Hemiptera: Ortheziidae) apresentando sinais de infecção fúngica. Folhas contendo insetos infectados foram coletadas, imediatamente acondicionadas em sacos plásticos esterilizados e transportadas para o laboratório. Os insetos foram retirados das folhas com auxílio de estilete em microscópio estereoscópio e acondicionados em tubos de ensaio de 100 mm x 15 mm, esterilizados e contendo sílica sob fina camada de algodão.

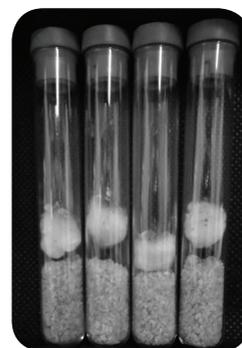


Figura 1

Tubos de ensaio com sílica e algodão para armazenamento dos insetos coletados.

Isolamento do fungo

O isolamento dos fungos foi realizado segundo protocolo proposto por Alves et al. (1998) com algumas modificações: os insetos foram imersos por dois segundos em álcool 70% (v/v) e, em seguida, em uma solução de hipoclorito de sódio 4% (v/v) durante três minutos. Ao término desse procedimento, cada inseto foi lavado três vezes em água destilada esterilizada. Para o crescimento dos micro-organismos, o inseto foi armazenado em câmara úmida a 25 °C e, quando observadas estruturas do inseto colonizadas pelos fungos, fragmentos do inseto parasitado foram retirados e inoculados em quatro pontos diferentes na superfície de ágar Sabouraud + cloranfenicol [0,01%(p/v)], em placa de Petri. Os cultivos foram mantidos a 25 °C por sete dias.

Identificação dos micro-organismos

Os fungos foram identificados na Micoteca URM, da Universidade Federal de Pernambuco, com base nas características fenotípicas das colônias e das estruturas vegetativas e de reprodução obtidas em ágar batata dextrose (BDA), ágar Czapek concentrado-extrato de levedura (CYA) e ágar malte, mantidos a 25 °C (BROWN e SMITH, 1957; DOMSCH et al., 1980; PITT, 1985).

Fermentação Submersa

Meio para crescimento dos fungos e indução das enzimas

Para crescimento dos isolados e indução das enzimas foi utilizado o meio o meio MGYP (extrato de malte 0,3%, glicose 1%, extrato de levedura 0,3% e peptona 0,5%). Como inóculo, foi utilizado disco micelial, medindo 8 mm de diâmetro, retirado da colônia obtido em meio sólido [*Fusarium* (SAB), *Penicillium* (CYA), *Eupenicillium* (CYA), *Paecilomyces* (SAB)]. A fermentação foi conduzida 50 mL de MGYP, em frasco de Erlenmeyer de 125 mL, a 25 °C, 150 rpm. Após cinco dias, o extrato bruto foi separado da biomassa por filtração a vácuo e em membrana celulósica para microfiltração (0,22 µm).

Determinação da atividade proteolítica em meio sólido

Do extrato bruto recuperado dos cultivos foi retirado 100 µL para inoculação em cada *cup-plate* (Ø = 8mm) em meio de caseína (LACAZ et al., 2002). Todos os experimentos foram realizados em triplicata. As placas foram mantidas a 37 °C por 48 horas. A atividade enzimática foi determinada pelo tamanho do halo em milímetros.

Determinação da atividade proteolítica quantitativa

A atividade proteolítica foi determinada utilizando 150 µL do extrato bruto adicionados a 250 µL de azocazeína 1,0% em tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 7,2. A mistura reacional foi incubada por uma hora em ausência de

luz. Em seguida, foi adicionado 1,2 mL de ácido tricloroacético 10% (p/v) e o resíduo remanescente foi removido por centrifugação (10.000 rpm) por 10 minutos. Do sobrenadante foi retirado 0,8 mL e adicionada a 1,4 mL de hidróxido de sódio 1 M. No branco, o extrato bruto foi substituído por água destilada (NEVES et al., 2006). Uma unidade de atividade proteolítica foi definida como a quantidade de enzima capaz de produzir um aumento na absorvância de 0,1/min em uma hora a 440 nm e expressa em U/mL (NASCIMENTO et al., 2007).

Efeito da temperatura e do pH na atividade proteolítica

Na determinação da temperatura ótima, a mistura reação com azocaseína 1% (p/v) foi incubada a 25 °C, 37 °C, 40 °C, 60 °C por uma hora, usando tampão fosfato 0,1 M. Para determinação do pH ótimo, a azocaseína 1% (p/v) foi preparada em tampão na faixa de 5-10. Os tampões usados foram citrato 0,1 M (pH 5 e 6), fosfato 0,1 M (pH 6, 7 e 8) e carbonato-bicarbonato de sódio 0,1 M (pH 9 e 10) (PETINATE et al., 1999).

Análise estatística

Os resultados das atividades enzimáticas foram submetidos à análise estatística descritiva (média e desvio padrão) e ANOVA, com nível de significância de 5% quando houve diferença entre as médias. E as médias diferentes foram analisadas pelo Teste de Tukey utilizando o software MINITAB 16.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diversidade de fungos isolados de *Vatiga illudens* e *Orthezia* sp.

Dos insetos examinados para o isolamento de fungos entomopatogênicos, nas condições de análise, 87,5% dos isolados foram representantes do grupo deuteromycetes e 12,5 % do filo Ascomycota. Os deuteromycetes são fungos anamórficos que representam a forma conidial dos Ascomycota e Basidiomycota, cuja reprodução sexual raramente ocorre

na natureza ou é ausente no ciclo vital. Segundo as citações de Guarro et al. (1999), tornou-se dispensável conservar o termo deuteromycetes, pelo menos para os fins de identificação. Essa terminologia foi oficialmente mantida, mas sem o reconhecimento desses fungos particularizados em uma classe. Já os representantes do filo Ascomycota tem como principal característica que os diferenciam dos demais fungos, a presença do asco e do ascoma (SILVA e COELHO, 2006).

Na Figura 1 estão apresentados os resultados referentes à diversidade de fungos isolados de *V. illudens* e de *Orthezia* sp. Da totalidade de fungos, entre os representantes dos deuteromycetes, nas condições de cultivo, 12,5% cresceram a partir do percevejo-de-renda (*V. illudens*), sendo eles *Paecilomyces* sp. e *P. javanicus* (Frieder. & Bally). Este gênero está entre os principais entomopatogênicos, além de *Metarhizium* Sorokin, *Beauveria* Vuillemin, *Verticillium* Nees, *Nomuraea* Moubanc, *Hirsutella* Pat., *Aschersonia* Mont., *Entomophthora* Fresenius (ALVES, 1998; FARIA e MAGALHÃES, 2001). *Paecilomyces* Bainier são comumente boas fontes de enzimas. Esta propriedade confere uma notável versatilidade metabólica, proporcionando a forma de vida sapróbia em uma variedade de substratos, assim como penetrarem ativamente em insetos vivos, nematóides e em outros fungos, atividade que sugere que tais micro-organismos possam ser processados para produção de micoinseticida (GUPTA et al., 1993; KIM et al. 2007).

Na cochonilha (*Orthezia* sp.), o quantitativo de isolados foi superior (87,5%) quando comparado ao do percevejo-de-renda, sendo que 75% foram identificados como deuteromycetes [*Fusarium decemcellulare* Brick, *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx, *P. brevicompactum* Dierckx, *P. fellutanum* Biourge, *P. glabrum* (Wehmer) Westling, *P. solitum* Westling] e 12,5% do filo Ascomycota (*Eupenicillium javanicum*). Fungos do gênero *Fusarium* Link podem ocorrer sobre plantas e insetos. As espécies de *Fusarium* que ocorrem sobre insetos podem se comportar como patógenos pouco virulentos, com exceção daqueles que ocorrem em coccídeos (ALVES, 1998). Com relação a estes isolados de *Penicillium*, não existe registro na literatura a cerca da classificação como entomopatogênicos. Todos os *Penicillium* isolados neste trabalho, exceto *P. glabrum* já foram isolados do café (*Coffea arabica* L.) e também verificados como produtores de proteases (RODARTE et al., 2011). A presença de *E. javanicum* tem sido constatada em rizosfera de girassol, folhas desidratadas de plantas medicinais e no solo (SOUZA-MOTTA et al., 2003; SILVA e TEIXEIRA, 2006; FRAGA et al., 2010).

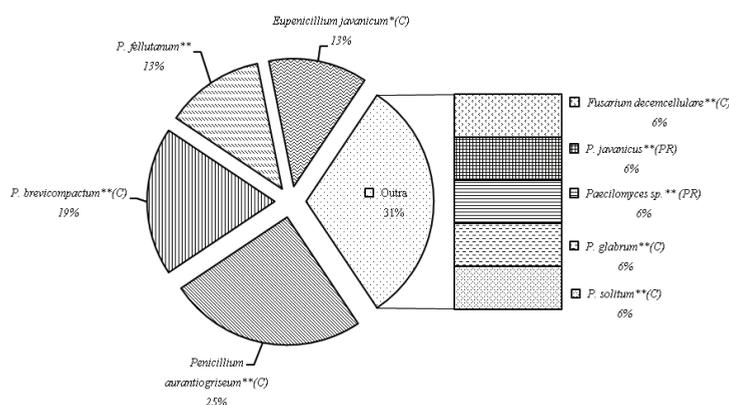


Figura 2

Frequência e diversidade de fungos isolados de *Vatiga illudens* (PR) e *Orthezia* sp. (C). * Representantes do filo Ascomycota. ** Representantes do grupo deuteromycetes.

Atividade proteolítica dos fungos isolados

No parasitismo causado por fungos em insetos, enzimas hidrolíticas como as proteases, assim como as esterases, são excretadas para o processo de adesão, então promovem alterações na superfície do tegumento do inseto, proporcionando a absorção de nutrientes e o crescimento dos fungos (TIAGO e FURLANETO, 2003).

A importância das proteases como fator de virulência e a aplicação dessas enzimas em diversos setores da indústria tem destaque para pesquisa biotecnológica, especialmente em processos tradicionais para produção ou melhoramento de alimentos ou para inovação (SENA et al., 2006).

Nos testes de avaliação da atividade proteolítica, os resultados demonstraram que todos os isolados obtidos a partir do percevejo-de-renda *V. illudens* e da cochonilha *Orthezia* sp. produziram as enzimas pela tecnologia da fermentação submersa. No meio sólido, nos teste de *cup-plate*, o maior halo de degradação dentre os isolados provenientes de *V. illudens* foi determinado no extrato de *Paecilomyces* sp., diâmetro de 11,0 mm ± 0,10 (Tabela 1). Rodarte et al. (2011) ao avaliarem a atividade proteolítica de bactérias, fungos filamentosos e leveduras endofíticas, detectaram que *Paecilomyces* sp. expressou halo com diâmetro de 1 a 5 mm.

Quanto aos isolados oriundos de *Orthezia* sp., C2 (*Penicillium aurantiogriseum*) se destacou apresentando halo de $19,0 \pm 0,10$ mm de diâmetro (Tabela 1). Djamel et al. (2009), quando avaliaram 253 isolados de *Penicillium* para identificar produtores de protease, definiram como critério para seleção de isolados promissores aqueles com halo maior que 9 mm. Considerando este critério, todos os isolados deste trabalho podem ser considerados promissores quanto à produção de proteases para futuro estudo e aplicação em bioprocessos.

A Tabela 1 apresenta a atividade das proteases, a temperatura e o pH ótimo de atividade dessas enzimas produzidas por fermentação submersa dos fungos anamórficos e ascomicetos isolados de *V. illudens* e *Orthezia* sp. Todos os isolados destes insetos produziram proteases com atividade variando de 10,0 a 27,60 U/mL, porém os valores significativos foram expressos por dois isolados de *Penicillium brevicompactum* [(C3) 27,60 e (C5) 27,07 U/mL], seguidos de *Penicillium aurantiogriseum* (C10) e *Penicillium fellutanum* (C1 e C8) com valores de atividade proteolítica inferior 23,66% e 20,33%, respectivamente, em relação ao maior produtor dessas enzimas. O gênero *Penicillium*, um dos mais importantes fungos anamórficos, produz uma variedade de biocompostos (metabólitos primários e secundários), como enzimas, alcalóides, terpenóides e antimicrobianos, estes ativos contra bactérias Gram-positivas (LINK e ONOFRE, 2010). Ali et al. (2010) e Rodarte et al. (2011) citam proteases também produzidas por essas espécies, mas de isoladas de outros substratos.

Tabela 1 - Atividade proteolítica dos isolados fúngicos em meio sólido e atividade de protease dos testes quantitativos (U/mL).

Isolados	Halo (mm)	Atividade de protease (U/mL)	Temperatura ótima (°C)	pH ótimo
Filo Ascomycota				
<i>Eupenicillium javanicum</i> C13	11,0	2,20 ± 0,48 ^{ef}	40	10
<i>Eupenicillium javanicum</i> C14	11,0	1,87 ± 0,00 ^{ef}	25	10
Fungos Anamórficos				
<i>Fusarium decemcellulare</i> (C6)	11,0	1,40 ± 0,06 ^{ef}	60	5
<i>Paecilomyces javanicus</i> (PR1)	10,0	7,80 ± 0,06 ^{cd}	50	6
<i>Paecilomyces</i> sp. (PR2)	11,0	11,87 ± 0,10 ^c	50	6
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (C10)	15,5	21,07 ± 0,03 ^b	60	8
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (C11)	10,0	3,87 ± 0,00 ^{de}	60	9
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (C2)	19,0	1,40 ± 0,06 ^{ef}	60	7
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> (C9)	10,0	1,13 ± 0,00 ^{ef}	50	9
<i>Penicillium brevicompactum</i> (C3)	12,0	27,60 ± 0,17 ^a	40	10
<i>Penicillium brevicompactum</i> (C4)	12,0	2,53 ± 0,00 ^{ef}	40	10
<i>Penicillium brevicompactum</i> (C5)	14,5	27,07 ± 0,13 ^a	60	6
<i>Penicillium fellutanum</i> (C1)	14,0	20,33 ± 0,06 ^b	50	10
<i>Penicillium fellutanum</i> (C8)	15,5	18,87 ± 0,03 ^b	40	7
<i>Penicillium glabrum</i> (C7)	12,0	0,40 ± 0,14 ^f	25	9
<i>Penicillium solitum</i> (C12)	10,0	1,13 ± 0,00 ^{ef}	50	7

*Médias de diferentes isolados seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pela ANOVA ao nível de 5% de probabilidade.

Efeito da temperatura e do pH na atividade proteolítica

Nos extratos enzimáticos analisados, em média a temperatura e o pH ótimo variaram de 25 °C a 60 °C e de 5 a 10, respectivamente. Estes resultados revelam a importância das proteases desses fungos para aplicação em diversos processos biotecnológicos, incluindo a aplicação dos próprios micro-organismos como micoinseticidas devido produzirem proteases extracelulares.

A máxima atividade proteolítica dos fungos do percevejo-de-renda foi determinada a 50 °C e, em pH 6,0, tanto para *P. javanicus* quanto para *Paecilomyces* sp. Proteases de *P. lilacinus* expressaram temperatura ótima a 60

°C quando o bioprocesso foi realizado também em meio líquido (BONANTS et al., 1995). Rodarte et al. (2011) verificaram que a atividade de protease de um isolado de *Paecilomyces* sp. aumentou em pH mais básicos.

A atividade ótima das proteases dos fungos da cochonilha foi determinada para a maioria dos isolados a 40 °C e 60 °C. Quanto ao pH, os fungos produziram proteases ácidas (pH 5,0 e 6,0), neutras (pH 7,0) e alcalinas (pH 8, 9 e 10), havendo predominância de proteases alcalinas. Apesar de alguns fungos serem da mesma espécie, as proteases se mostraram específicas aos isolados. A atividade proteolítica e pH ótimo das proteases de *P. aurantiogriseum*, *P. brevicompactum*, *P. fellutanum*, e *P. solitum* foram semelhantes às obtidas por Rodarte et al. (2011). Proteases alcalinas possuem aplicação comercial na indústria de detergentes, de couro, processamento de carnes, pescados e derivados lácteos, na recuperação de prata, para fins medicinais, na indústria química e também no tratamento de resíduo (GUPTA et al., 2002; GIONGO, 2006; SUMANTHA et al., 2006).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos sugerem a predominância de fungos anamórficos, com maior frequência de espécies de *Penicillium* em *Orthezia* sp. e somente representantes do gênero *Paecilomyces* associados a *V. illudens*. Os dados indicam também que todos os isolados produzem proteases com características para aplicação em processos biotecnológicos, inclusive para controle biológico.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)/PROCAD pelo apoio financeiro através de bolsas de fomento tecnológico.

REFERÊNCIAS

- ALI, N. H.; MOHAMED, L. A.; ALI, T.H. Partial purification and some properties of milk-clotting enzyme produced by: *Penicillium brevicompactum*, *NRC-829*, v.32, n.4, p.204-211. 2010.
- ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 1998. p.289-382.
- ALVES, S. B.; ALMEIDA, J. E. M.; MOINO, A.; ALVES, L. F. A. Técnicas de laboratório. In: ALVES, S.B.(Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 1998.
- BIDOCHKA, M. J.; LEGER, R. J. S.; STUART, A.; GOWANLOCKL, K. Nuclear rDNA phylogeny in the fungal genus *Verticillium* and its relationship to insect and plant virulence, extracellular proteases and carbohydrases. *Microbiology*, v.145, p.955-963. 1997.
- BONANTS, P.J.M.; FITTERS, P.F.L.; THIJS, H.; BELDER, E.; WAALWIJK, C.; HENFLING, J. W. D. M. A basic serine protease from *Paecilomyces lilacinus* with biological activity against *Meloidogyne* hapla eggs. *Microbiology*, v.141, p.775-784. 1995.
- BRECHTEL, A. *O Manejo Ecológico de Pragas e Doenças*. Rede de Ação em Praguicidas e suas Alternativas para a América Latina (RAP-AL), Santiago de Chile, 2004. 33p.
- BROWN, A. H. S.; SMITH, G. The genus *Paecilomyces* Bainier and its perfect stage *Byssochlamys* Westling. *Transactions of the British Mycological Society*, v.40, n.1, p.17-89. 1957.
- BUTT, T. M.; JACKSON C.; MAGAN, N. Fungal Biological Control Agents: Progress, Problems and Potential. In: BUTT, T.M.; JACKSON, C.; MAGAN, N. (Eds) *Fungi as Biocontrol Agents*. Progress, Problems and Potential. London: CABI Publishing, 2001, p.1-8.
- DELGADO-ORAMAS, B. P. *Caracterización del hongo nematofago cepa IMI SD 187 de Pochonia chlamydosporia var catenulata (Kamyscho ex Barron y Onions) Zare y Gams*. Tese (Doutorado) - Universidad Agraria de la Habana Fructuoso Rodríguez Pérez, Cuba: UAHFRP, 2005, 124 p.
- DJAMEL, C.; ALI, T.; NELLY, C. Acid protease production by isolated species of *Penicillium*. *European Journal of Scientific Research*, v.25, n.3, p.469-477. 2009.
- DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. *Compendium of soil fungi*. v. 1. London: New York : Academic Press, 1980. 859p.
- FARIA, M. R.; MAGALHÃES, B. P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, v.22, p.18-21. 2001.
- FRAGA, M. E.; PEREIRA, M. G.; BARBOSA, D. J.; MELO, M. P. Diversidade de Trichocomaceae isoladas de solo em dois ecossistemas florestais. *Ciência Florestal*, v.20, n.1, p.167-175. 2010.

FRANCESCHINI, M.; GUIMARÃES, A. P.; CAMASSOLA, M.; FRAZZON, A. P.; BARATTO, C. M.; KOGLER, V.; SILVA, M. V.; DUTRA, V.; NAKAZOTO, L.; CASTRO, L.; SANTI, L.; VAINSTEIN, M. H.; SCHRANK, A. Biotecnologia aplicada ao controle biológico: o entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*. *Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento*, v.4, p.32-37. 2001.

GIONGO, J. L. *Caracterização e aplicação de proteases produzidas por linhagens de Bacillus sp.* Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre: UFRS, 2006. 95p.

GUARRO, J.; GENE, J.; STCHIGEL, A. M. Developments in Fungal Taxonomy. *Clinical Microbiology Reviews*, v.12, n.3, p.454-500. 1999.

GUPTA, S. C.; LEATHERS, T. D.; WICKLOW, D. T. Hydrolytic enzymes secreted by *Paecilomyces lilacinus* cultured on sclerotia of *Aspergillus flavus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.39, p.99-103. 1993.

GUPTA, R.; BEG, Q. K.; KHAN, S.; CHAUHAN, B. An overview on fermentation, downstream processing and properties of microbial alkaline proteases. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.60, p.381-395. 2002.

KIM, J. J.; GOETTEL, M. S.; GILLESPIE, D. R. Potential of *Lecanicillium* species for dual microbial control of aphids and the cucumber powdery mildew fungus, *Sphaerotheca fuliginea*. *Biological Control*, v.40, p.327-332. 2007.

LACAZ C. S.; PORTO E.; MARTINS J. E. C.; HEINS-VACARRI E. M.; MELO N. K. *Tratado de Micologia Médica*. São Paulo: Sarvier Press, 2002.

LINK, S.; ONOFRE, S. B. Microrganismos epifíticos da vassourinha - *Baccharis dracunculifolia* D. C.(Asteraceae). *Revista em Agronegócios e Meio Ambiente*, v.3, n.1, p.131-143. 2010.

NASCIMENTO, W. C. A.; SILVA, C. R.; CARVALHO, R. V.; MARTINS, M. L. L. Otimização de um meio de cultura para a produção de proteases por um *Bacillus* sp. termofílico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.27, n.2, p.417-421. 2007.

NEVES, K. C. S.; PORTO, A. L. F.; TEIXEIRA, M. F. S. Seleção de leveduras da Região Amazônica para produção de protease extracelular. *Acta Amazonica*, v.36, n.3, p.299-306. 2006.

PADIN, S. B.; DAL BELLO, G. M.; VASICEK, A. L. Potencial bioinsecticida de hongos entomopatógenos de plagas em grãos armazenados. *Revista de la Facultad de Agronomía*, v.15, n.1, p.1-7. 1995.

PETINATE, S. D. G.; MARTINS, R. M.; COELHO, R. R. R.; MEIRELLES, M. N. L.; BRANQUINHA, M. H.; VERMELHO, A. B. Influence of growth medium in proteinase and pigment production by *Streptomyces cyaneus*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.94, n.2, p.173-177. 1999.

PITT, J. I. *A laboratory guide to common Penicillium species*. Austria: CSIRO, 1985. 184p.

- ROBERTS, D. W.; GUPTA, S.; ST. LEGER, R. J. Metabolite production by entomopathogenic fungi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.27, p.325-347. 1992.
- RODARTE, M. P.; DIAS, D. R.; VILELA, D. M.; SCHWAN, R. F. *Acta Scientiarum*, v.33, n.3, p.457-464. 2011.
- SENA, A. R.; KOBLITZ, M. G. B.; GÓES NETO, A.; UETANABARO, A. P. T. Seleção de fungos do semi-árido baiano secretores de hidrolases de interesse em alimentos. *Sitientibus*, v.35, p.91-98. 2006.
- SILVA, R. R.; COELHO, G. D. *Fungos: principais grupos e aplicações biotecnológicas*. São Paulo: Instituto de Botânica, 2006. 21p.
- SILVA, C.; TEIXEIRA, M. F. T. *Monitoramento de fungos toxigênicos em plantas medicinais comercializadas na cidade de Manaus-Amazonas-Brasil*. Anais do I Encontro de Pós-graduação do Amazonas. II Mostra POSGRAD-FAPEAM, Manaus, 2006.
- SOUZA-MOTTA, C. M.; CAVALCANTI, M. A. Q.; FERNANDES, M. J. S.; LIMA, D. M. M.; NASCIMENTO, J. P.; LARANJEIRA, D. Identification and characterization of filamentous fungi isolated from the sunflower (*Helianthus annuus* L.) rhizosphere according to their capacity to hydrolyse inulin. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.34, p.273-280. 2003.
- SUMANTHA, A.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Microbiology and Industria Biotecnology of food-grade protease: a perspective. *Food Technology and Biotechnology*, v.44, n.2, p.211-220. 2006.
- TIAGO, P. V.; FURLANETO, M. C. O papel de proteases degradadoras de cutícula produzidas por fungos entomopatogênicos. *Revista do Programa de Ciências Agro Ambientais*, v.2, n.1, p.40-51. 2003.





CAPÍTULO 6

CARACTERÍSTICAS FLORAIS E RECURSOS OFERECIDOS POR PLANTAS DO SUB-BOSQUE

Antonio Carlos WEBBER; Thieme Marques MARTINIANO

Abstract

The understory of tropical forests has a great variety of species, as well as a great diversity in relation to pollination modes. The present study describes flowering aspects of 43 species belonging to 34 genera, distributed in 22 families; among these Rubiaceae was the most representative. The study was carried out in an understory of terra firme Forest, located on the Campus of the Federal University of Amazonas (UFAM-Brasil). Four transects were observed covering a total area of one hectare. The observations were weekly in a period from November 2002 until October 2003. The flowers were morphologically described, which was correlated with their visitors. The resources offered by plants to their visitors were identified. Of analyzed flowers 86% are actinomorphic, while only 14% are zygomorphic. In relation to flower position, the erect and laterally inclined flowers stand out in relation to pendulous ones. The color proportion of flowers in the community level shows a great tendency to white color with 41% (n=20). The majority of species has flowers smaller than 1 cm (57%, n=24). As rewards 42.5% (n=17) of flowers offer only pollen and 37.5% (n=15) offer nectar. In 20% of species offered both. The great majority of plants is hermaphroditic (n=35; 81.4%), five species (11.6%) are monoecious and three (7%) are dioecious. In relation to flower type, 28% (n=12) of observed flowers are dish type.

INTRODUÇÃO

O sub-bosque das florestas tropicais úmidas é composto por um grupo diferente de espécies em relação ao dossel. Esse estrato que é quase sempre negligenciado representa uma parte integral e importante da comunidade de plantas. Muitas espécies de insetos, pássaros e mamíferos são restritos ao mesmo e as plantas desse estrato são as maiores fontes de alimento para essa biota (GENTRY e EMMONS, 1987). Surpreendentemente, pouca atenção tem sido dada a este ambiente que tem fácil acesso e poucos dados são disponíveis para a comparação das estruturas ou da composição florística desse estrato em florestas úmidas, em diferentes regiões (KRESS e BEACH, 1994).

Gentry e Dodson (1987) estudaram o sub-bosque e demonstraram a contribuição das espécies não arbóreas para a composição florística e, conseqüentemente, para a biodiversidade das florestas, nas quais o número de espécies herbáceas, arbustivas e de lianas, ultrapassa o número de arbóreas em diferentes tipos de vegetação. Esses autores consideram que o sub-bosque é o estrato que apresenta maior diversidade e deve ser um dos alvos da conservação.

Levantamentos de comunidades de plantas e seus polinizadores são abordagens apropriadas para discutir os padrões de interação planta-polinizador nos ecossistemas (FREITAS e SAZIMA, 2006). O estudo da biologia da polinização de uma comunidade pode ajudar a entender como se mantém o fluxo genético intraespecífico em comunidades de plantas. Desse modo, as diferenças no período de floração e frutificação entre as espécies são consideradas como um dos mecanismos que evitam a interferência entre aquelas que tem os mesmos polinizadores e dispersores (RAMIREZ et al., 1990).

Embora nas últimas décadas tenha havido um crescente número de investigações a cerca da polinização no nível das comunidades, relativamente poucos estudos tem focado a importância relativa de grupos de polinizadores em diferentes tipos de vegetação e qualquer informação semelhante é muito escassa para os tipos de vegetação da floresta tropical úmida (DULMEN, 2001). Dos estudos que analisam os tipos florais e recursos oferecidos no nível da comunidade para a Amazônia, Jabs (2001) caracterizou a oferta de flores de um sub-bosque de floresta tropical úmida no Campus da Universidade Federal do Amazonas (Manaus) comparando as diferenças entre platô, vertente e baixio e observou que apesar da maior abundância de espécies ter sido encontrada no baixio, a maior abundância de flores ocorreu no platô e vertente, representando ambientes mais propícios para polinizadores de maior área de atuação, e Santos (2005) caracterizou a morfologia floral e os recursos oferecidos por espécies do sub-bosque.

O processo de polinização é um mutualismo clássico no qual as plantas oferecem recursos florais como néctar e outros a seus visitantes, e esses por sua vez, facilitam a reprodução dispersando o pólen para plantas da mesma espécie (MITCHELL et al., 2009).

O presente estudo descreve as características florais e os recursos oferecidos pelas plantas do sub-bosque de uma floresta tropical.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O trabalho foi realizado em uma área de sub-bosque de um fragmento florestal urbano de terra firme, localizada no Campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM-Brasil), entre o Instituto de Ciências Humanas e Letras (ICHL) e o conjunto residencial Acariquara, (03°04'S, 59°57'W).

As observações se deram no período de novembro de 2002 a outubro de 2003. Estas foram semanais e normalmente pela parte da manhã, exceto nos estudos de caso onde observações durante o dia todo e até mesmo durante a noite foram necessárias.

Morfologia floral, recursos oferecidos e sistema sexual

As flores foram coletadas para descrição morfológica das estruturas florais, verificação da disposição das anteras e estigmas e medição das partes florais. O comprimento das flores foi medido da base do cálice ao ápice da corola, e o diâmetro representa a medida entre os ápices opostos das pétalas ou tépalas. No caso de flores com perianto reduzido as medidas foram tiradas baseando-se pelos estames e/ou carpelos. As flores foram categorizadas de acordo com o tamanho em pequenas (<1 cm), médias (de 1 cm a 3 cm) e grandes (>3 cm).

Foi observado o tipo de recurso (recompensa) que as flores ofereciam aos seus visitantes, onde foram classificados como recursos primários, o pólen e o néctar (RENNER e FEIL, 1993).

Também foi observado se a planta utilizava o odor como atrativo secundário para os visitantes durante a antese. A presença de odor foi detectada pelo olfato. Para detecção das glândulas de odor, algumas flores foram mergulhadas em solução de vermelho neutro diluído em água (pH 7) na proporção de 0,1 g : 1000 mL (VOGEL, 1990).

Foram verificadas as proporções existentes entre os diferentes hábitos e sistemas sexuais: hermafroditas, monóicas e dióicas.

A coloração das flores foi anotada para se estabelecer qual a cor dominante e relacioná-la com a morfologia e com o tipo de recompensa oferecido.

De acordo com seus critérios morfológicos e funcionais, as flores foram classificadas segundo sua forma em: prato, sino, funil, pincel, estandarte e tubo. As que não se enquadravam nessas características foram classificadas como não determinadas (ND).

Todas as flores observadas foram coletadas e encontram-se devidamente preservadas em álcool 70% glicerinado. Todo material botânico foi identificado através da literatura, fotos e por comparação com exemplares depositados nos herbários do INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia) e UFAM (Universidade Federal do Amazonas), onde os testemunhos foram incorporados (213766-213821). As palmeiras foram identificadas no campo com ajuda de uma especialista.

Em relação aos recursos oferecidos pelas plantas, foram feitos testes com Tiras Medi Test da Empresa MACHEREY-NAGEL que reagem à presença de açúcar.

RESULTADOS

Características morfológicas e coloração das flores

As características morfológicas mostram que 86% das espécies tem flores com simetria radial, enquanto que apenas 14% delas são zigomorfas. Em relação à posição das flores, as eretas (n=19; 43%) e lateralmente inclinadas (n=19; 43%) se sobressaem em relação às pêndulas (n=6; 14%), que foram bem menos significativas (Tabela 1).

A proporção da cor das flores ao nível da comunidade mostrou uma grande tendência às cores claras, principalmente brancas que mais se destacaram com 41% (n=20), seguidas das flores amarelas com 32,4% (n=16). Das espécies com flores mais escuras, tiveram destaque as com flores vermelhas com 8,2% (n=4) e verdes com a mesma porcentagem (n=4), posteriormente as róseas com 6% (n=3) e as de cor de vinho e lilás com 2% com uma espécie de cada (Figura 1).

A grande maioria das espécies do sub-bosque tem flores pequenas ou seja, flores menores que 1 cm (Figura 2). Foram medidas as flores de 42 espécies distintas. Destas, 57% (24 espécies) tem flores pequenas (<1 cm), 24% (10 espécies) tem flores médias (1 cm - 3 cm) e 19% (8 espécies) tem flores grandes (>3 cm).

Tabela 1 - Características das flores das espécies estudadas.

Famílias	Espécies	Tipo de Flor	Cor	Atrativo	Posição Floral	Sistema Sexual		Flor (mm)	
						Floral	Sexual	Comp.	Diâmetro
Annonaceae									
	1. <i>Duguetia asterotricha</i>	Ac	Am	Po	Lat. incl.	H	H	ND	ND
	2. <i>Guatterioopsis blepharophylla</i>	Ac	Am	Po	Lat. incl.	H	H	25	22
Apocynaceae									
	3. <i>Tabernaemontana undulata</i>	Ac	Ro	Ne	Ereta	H	H	40	8
Araceae									
	4. <i>Philodendron</i> sp.	Zi	Br-esv	-	Ereta	H	H	ND	ND
Arecaceae									
	5. <i>Astrocaryum gynacanthum</i>	Ac	Am-cl	Po	Pêndula	H	H	ND	ND
	6. <i>Geonoma maxima</i> (P)	Ac	Br	Ne-Po	Ereta	M	M	5	4
	var. <i>chelonura</i> (E)		Vn					2	1,5
Burmanniaceae									
	7. <i>Campylosiphon</i> sp.	Ac	Br-am	-	Ereta	H	H	30	25
Cucurbitaceae									
	8. <i>Helmontia</i> cf. <i>leptantha</i> (P)	Ac	Am-esv	Ne	Lat. incl.	D	D	19	6
	(E)		Br-esv	Po	Lat. incl.			3	3,5

Famílias	Espécies	Tipo de		Atrativo	Posição da		Sistema		Flor (mm)		
		Flor	Cor		Flor	Sexual	Comp.	Diâmetro			
Cyperaceae											
	9. <i>Diplasia karataefolia</i>	Ac	Br	Po	Lat. incl.	H	13	17			
	10. <i>Pleurostachys sparsiflora</i>	Ac	Br	-	Lat. incl.	H	2	2			
Flacourtiaceae											
	11. <i>Ryania speciosa</i>	Ac	Br	Ne-Po	Ereta	H	33,8	68,5			
Heliconiaceae											
	12. <i>Heliconia acuminata</i>	Ac	Br	Ne-Po	Lat. incl.	H	60	40			
Lauraceae											
	13. <i>Ocotea scabrella</i> (T)	Ac	Br	Ne-Po	Lat. incl.	D	4	6			
	Glândulas		Am								
	14. <i>Rhodostemonodaphne crenaticupula</i>	Ac	Vm	Ne	Lat. incl.	D	5,3	5,8			
Loganiaceae											
	15. <i>Potalia amara</i>	Ac	Am	Ne	Ereta	H	24	2,3			
	Corola		Vd								

Famílias	Espécies	Tipo de		Atrativo	Posição da	Sistema		Flor (mm)	
		Flor	Cor			Flor	Sexual	Comp.	Diâmetro
Marantaceae									
16.	<i>Calathea altissima</i>	Zi	Am	Ne	Lat. incl.	H		46	30
17.	<i>Ischnosiphon martinus</i>	Zi	Ro	Ne	Lat. incl.	H		30	49
18.	<i>Ischnosiphon puberulus</i>	Zi	Am-ro	Ne	Lat. incl.	H		30	52
19.	<i>Ischnosiphon puberulus</i> var. <i>scaber</i>	Zi	Am-esv	Ne	Lat. incl.	H		32	54
Meliaceae									
20.	<i>Guarea silvatica</i>	Ac	Ro	Ne	Lat. Incl.	H		7	6
Memecylaceae									
21.	<i>Mouriri cauliflora</i>	Ac	Br-am	Ne-Po	Lat. Incl.	H		12	14
Myristicaceae									
22.	<i>Iryanthera coriacea</i>	Ac	Vd	Po	Lat. Incl.	M		2	4
23.	<i>Compsooneura ulei</i>	Ac	Am-esv	Po	Lat. Incl.	M		4	5
Olacaceae									
24.	<i>Heisteria acuminata</i>	Ac	Vd	Po	Ereta	H		ND	ND
Passifloraceae									
25.	<i>P. quadriglandulosa</i>	Ac	Vm	Ne	Lat. Incl.	H		40	90

Famílias	Espécies	Tipo de		Cor	Atrativo	Posição da		Sistema		Flor (mm)		
		Flor				Flor		Sexual		Comp.	Diâmetro	
Piperaceae												
	26. <i>Piper alatabacum</i>	ND		Br-am	Po	Ereta		H		ND	ND	
	27. <i>Piper baccans</i>	ND		Br-am	Po	Ereta		H		ND	ND	
	28. <i>Piper bartlingianum</i>	ND		Br-am	Po	Ereta		H		ND	ND	
	29. <i>Piper erectipilum</i>	ND		Br-am	Po	Ereta		H		ND	ND	
	30. <i>Piper</i> sp.	ND		Am-cl	Po	Pênd.		H		ND	ND	
Poaceae												
	31. <i>Ichnanthus panicoides</i>	Ac		Vd	Po	Ereta		H		9,5	9	
	32. <i>Pariiana radiciflora</i>	Ac		Am	Po	Ereta		H		ND	ND	
Rubiaceae												
	33. <i>Amaioua corymbosa</i>	Ac		Am-cl	Ne-Po	Ereta		M		8	8	
	34. <i>Amaioua guianensis</i>	Ac		Br	Ne-Po	Ereta		M		10	10	
	35. <i>Faramea breviflora</i>	Ac		Am	Ne	Pênd.		H		12	2	
	36. <i>Faramea capillipes</i>	Ac		Am-esv	Ne	Pênd.		H		9	2	
	37. <i>Palicourea anisoloba</i>	Ac		Vm	Ne	Ereta		H		22	4,5	
	38. <i>Psychotria brachybotrya</i>	Ac		Br	Ne-Po	Lat. incl.		H		4	5	
	39. <i>Psychotria idiotricha</i>	Ac		Br	Ne-Po	Ereta		H		14	10,8	

Famílias Espécies	Tipo de Flor	Cor	Atrativo	Posição da Flor	Sistema Sexual		Flor (mm)
						Comp. Diâmetro	
40. <i>Psychotria polycephala</i>	Ac	Br-am	Po	Ereta	H	2,5	2
41. <i>Psychotria sphaerocephala</i>	Ac	Br-am	Po	Pênd.	H	4	5
Solanaceae							
42. <i>Brunfelsia martiana</i>	Ac	Li	Ne	Pênd.	H	38	19
Violaceae							
43. <i>Rinorea racemosa</i>	Ac	Am-esv	Ne	Ereta	H	3	2

(P): Flores pistiladas - **(E)**: Flores estaminadas - **(T)**: Tépalas
 Cor: **Br**-Branco; **Am**-Amarelo; **Vm**-Vermelho; **Vn**-Vinho; **Vd**-Verde; **Li**-Lilás; **Ro**-Róseo; **Am-esv**: Amarelo-esverdeado; **Am-ci**: Amarelo-claro; **Am-ro**: Amarelo-rosado; **Br-am**: Branco-amarelado; **Br-esv**: Branco-esverdeado; **Br-ro**: Branco-rosado.
 Recompensa: **Ne**-Néctar; **Po**-Pólen.
 Posição da Flor: Ereta; Pêndula; Lateralmente inclinada
 Sistema Sexual: **H**-Hermafrodita; **M**-Monóica; **D**-Dióica
ND: Não determinada

O comprimento e diâmetro das flores são geralmente similares, porém elas tem uma tendência a ter o diâmetro maior do que o comprimento; mesmo nas flores tubulosas os lacínios livres tem tamanho proporcional ao comprimento do tubo.

O sistema “sexual” da grande maioria das plantas encontradas em flor é hermafrodita (n=35; 81,4%). As espécies monóicas com 11,6% (n=5) e as dióicas com 7% (n=3) tiveram baixa representatividade (Figura 3).

Os recursos (recompensas) florais observados nas flores, foram apenas pólen e néctar. Em 42,5% (n=17) das flores foi observado apenas pólen e 37,5% (n=15) ofereciam aos seus visitantes apenas néctar; em 20% (n=8) das espécies foi observado tanto néctar, como pólen na mesma flor (Figura 4).

Como atrativo secundário, algumas flores oferecem aos seus visitantes o odor (n=14; 34%). Este odor, sempre que foi percebido, servia como atrativo para o visitante que tinha como recompensa o néctar. Em relação ao tipo de flor, 28% (n=12) das flores observadas são do tipo prato. As flores do tipo sino (n=5) e funil (n=5) tiveram a mesma porcentagem (11,6%). Por último ficaram as do tipo estandarte, pincel e tubo, com representatividade de 9,3% (n=4) para cada. As flores cuja morfologia não se enquadra em nenhum dos tipos citados foram classificadas como não determinadas e correspondem a 20,9% (n=9), sendo que destas, cinco espécies são Piperaceae, que possuem flores aclamídeas ou nuas (Figura 5).

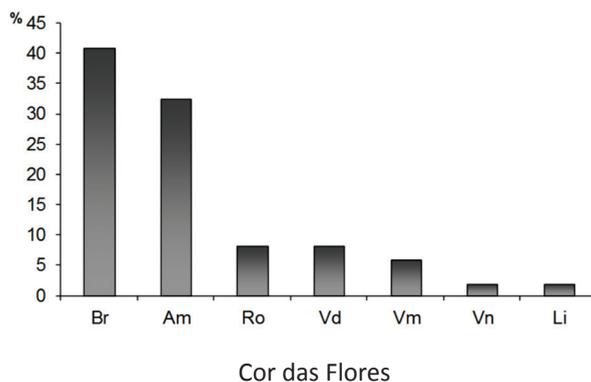


Figura 1

Cor das flores em relação à porcentagem de morfos observados. Br-Branco; Am-Amarelo; Ro-Róseo; Vd-Verde; Vm-Vermelho; Vn-Vinho; Li-Lilás.

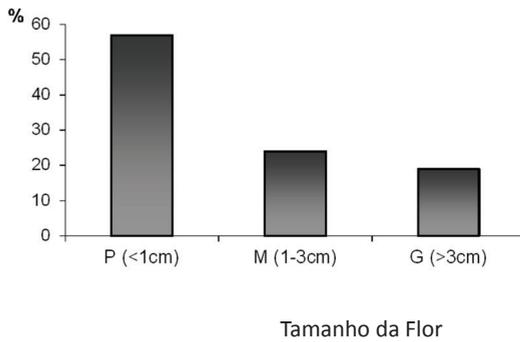


Figura 2

Relação entre o tamanho da flor e a porcentagem de espécies.

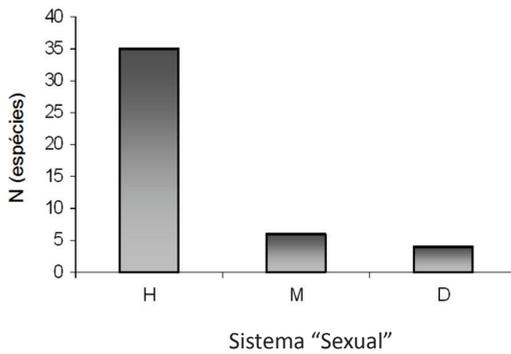


Figura 3

Número de espécies em relação ao sistema "sexual". H- hermafrodita, M- monóico, D- dióico

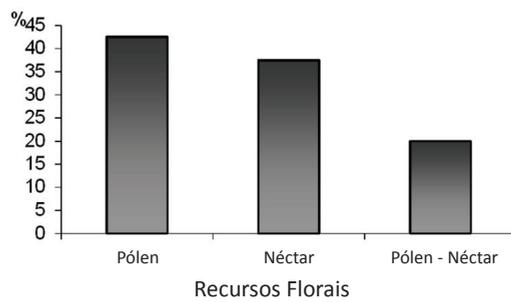


Figura 4

Porcentagem dos recursos florais oferecidos pelas flores.

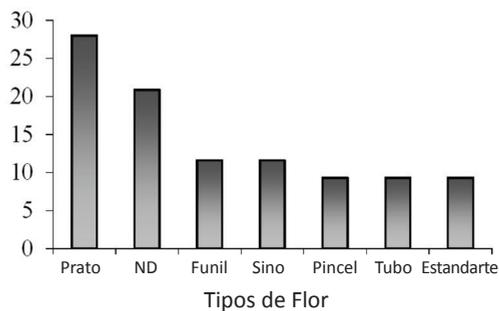


Figura 5

Porcentagem de espécies com diferentes tipos de flor.

DISCUSSÃO

A comunidade do sub-bosque observada apresentou 43 espécies em floração. A morfologia floral, o tamanho e a coloração das flores mostraram-se bastante variáveis, assim como a biologia floral e os visitantes das flores. Santos (2005) em estudo semelhante identificou e caracterizou 16 espécies em floração. Essas características também foram descritas em análises desses parâmetros, ao nível de comunidade, em vegetação de sub-bosque (BAWA et al., 1985a; RAMIREZ, 1989; RAMIREZ et al., 1990; KRESS e BEACH, 1994; MURCIA, 1995; MURCIA, 1996; LAURENCE et al., 1998; MOMOSE et al., 1998).

A proporção da cor das flores ao nível de comunidade mostra uma grande tendência a flores de cor branca (RAMIREZ, 1989; RAMIREZ et al., 1990; RAMIREZ e BRITO, 1992). A grande maioria das espécies tem flores pequenas, sendo que 45,8% apresentaram flores pequenas e de cor branca. Dados semelhantes foram observados por Jabs (2001), Ramirez (1989) e Ramirez e Brito (1992).

O comprimento e o diâmetro das flores foram similares; no entanto, as flores tenderam a ter o diâmetro maior que o comprimento. Ramirez (1989) cita que na comunidade arbustiva de Gran Sabana existe uma grande tendência a flores com tamanho menor que 1 cm e que estas são mais largas do que compridas.

O tamanho das flores de Piperaceae não foi medido por serem menores que 1 mm e as espécies apresentaram flores de cor branco amarelado. Figueiredo e Sazima (2000) descrevem as inflorescências das Piperaceae como tendo um variável número de flores minúsculas, de cor creme amarelado ou esbranquiçado e, segundo os autores, essa cor também é comum entre as Piperaceae da América Central. A coloração das flores é considerada atrativo secundário, atuando como sinalizador aos polinizadores (PERCIVAL, 1965; FAEGRI e VAN DER PIJL, 1979). Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger (1988) citam que a cor predominante em espécies de cerrado é o verde claro, seguida do amarelo, creme e branco (sendo as três últimas na proporção de 1:1:1).

De um modo geral, não foi observada nenhuma correlação entre o tamanho da flor, a morfologia ou a cor em relação aos visitantes. Segundo Momose et al. (1998), a cor das flores não está significativamente relacionada com os sistemas de polinização e sim com a morfologia floral. Alguns autores citam que não existe correlação entre o comprimento do tubo da corola e o diâmetro da flor em relação ao tamanho do inseto (RAMIREZ et al., 1990;

RAMIREZ e BRITO, 1992). Entretanto, Ramirez et al. (1990) consideram que os maiores diâmetros florais estão associados às flores zigomorfas.

Em relação à simetria, 86% das flores são actinomorfas, enquanto que apenas 14% tem flores zigomorfas. Kato (1996) observou na floresta de Sarawak 21 espécies com flores actinomorfas e 20 espécies com flores zigomorfas.

Não se evidenciou nenhuma relação entre cor e simetria floral; entretanto Ramirez et al. (1990) citam que, em uma comunidade arbustiva da Guiana Venezuelana, as flores radialmente simétricas são predominantemente de cor branca ou amarela.

Em relação à posição, as flores eretas e lateralmente inclinadas são mais frequentes quando comparadas com as pêndulas. Ramirez et al. (1990) observaram 55 espécies, sendo 28 (50,9%) com disposição lateral (com variações angulares), 22 (40%) apresentaram flores eretas e 5 (9,1%) flores pêndulas. Segundo estes autores, a orientação das flores em relação ao substrato pode ser considerada de utilidade nos estudos dos sistemas de polinização.

O pólen foi encontrado como sendo o único recurso oferecido pelas flores, em 42,5% das espécies observadas e o néctar, em 37,5%. Em 20% das espécies foi observado tanto néctar como pólen na mesma flor. Ramirez e Brito (1990) mostraram que a maioria das plantas ofereceu exclusivamente pólen, existindo uma menor proporção de plantas que ofereceram pólen como recompensa principal combinado com néctar que geralmente era pegajoso e escasso. Ramirez e Brito (1992) observaram que a recompensa oferecida pela maioria das plantas foi néctar e pólen, em segundo as que oferecem somente pólen e depois só néctar, entre outros recursos em menores proporções. Das 271 espécies de cerrado observadas por Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger (1988), em 128 os polinizadores retiraram somente néctar, em 49 coletaram néctar e pólen, em dez flores coletaram apenas pólen e 40 não ofereceram nada (sendo 38 destas anemófilas). Renner e Feil (1993) estudaram angiospermas dióicas tropicais e verificaram que 13 espécies ofereceram apenas néctar e 15 apenas pólen.

A quantidade de néctar produzida pelas flores da maioria das espécies estudadas foi muito baixa, o que fazia com que os visitantes buscassem este recurso em várias flores, promovendo desta maneira a polinização cruzada. Segundo Faegri e van der Pijl (1979), o néctar é considerado atrativo primário por servir como alimento para muitos animais que visitam as flores repetidamente. A baixa produção de néctar por flor induz o polinizador a realizar visitas a diversas flores, possibilitando a ocorrência de polinização

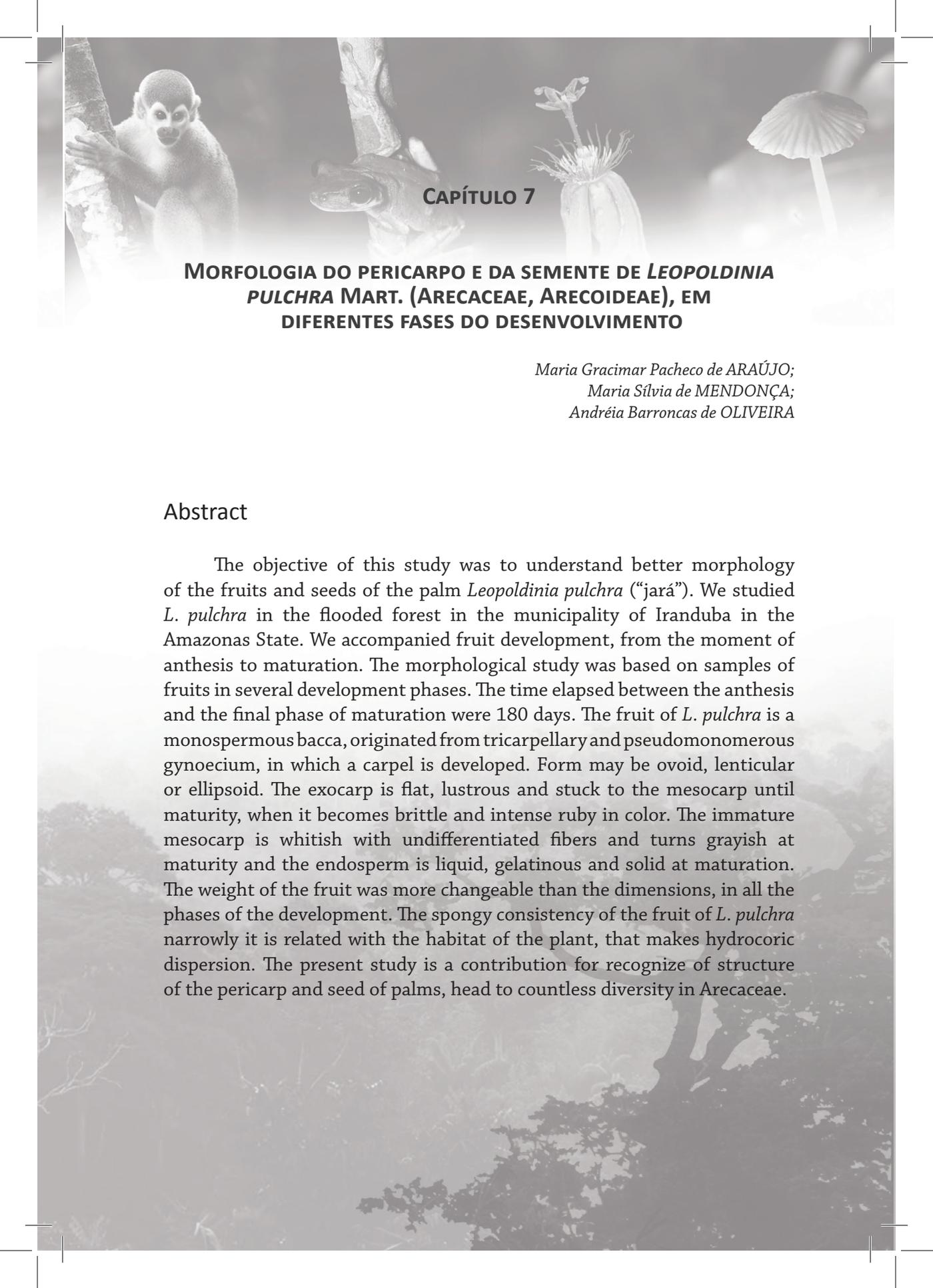
cruzada e conseqüentemente o aumento do fluxo gênico (SANTOS e MACHADO, 1998). Segundo Barrett (1998) os aspectos morfológicos e fenológicos das formas florais influenciam, primariamente, a quantidade e qualidade do pólen disperso durante os processos de polinização.

REFERÊNCIAS

- BARRET, S. C. H. The evolution of mating strategies in flowering plants. *Trends in Plant Science*, v.3, n.9, p.335-341. 1998.
- BAWA, K. S.; BULLOCKS. H.; PERRY D. R.; COVILLE R. E.; GRAYUM, M. H. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination Systems. *American Journal of Botany*, v.72, n.3, p.346-356. 1985.
- DULMEN, A. VAN. Pollination and phenology of flowers in the canopy of two contrasting rain forest types in Amazonia, Colombia. *Plant Ecology*, v.153, p.73-85. 2001.
- FAEGRI, K.; PIJL, L. VAN DER. *The Principles of Pollination Ecology*. Pergamon Press. Inc., New York. 1979, 244p.
- FIGUEIREDO, R. A.; SAZIMA, M. Pollination biology of Piperaceae species in southeastern Brazil. *Annals of Botany*, v.85, p.455-460. 2000.
- FREITAS, L.; SAZIMA, M. Pollination biology in a tropical high-altitude grassland in Brazil: interactions at the community level. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v.93, n.3, p.465-516. 2006.
- GENTRY, A. H.; DODSON, C. Contribution of non trees to species richness of a tropical rain forest. *Biotropica*, v.19, n.2, p.149-156. 1987.
- GENTRY, A. H.; EMMONS, L. H. Geographical variation in fertility, phenology and composition of the understory of neotropical forests. *Biotropica*, v.19, n.3, p.216-227. 1987.
- JABS, J. *Blütenbiologische Untersuchungen im Unterwuchs eines terra-firme-Regenwaldes in Manaus (Zentralamazonien)*. Diplomarbeit - Institut für Systematische Botanik. München: Ludwig-Maximilians-Universität München, 2001. 104p.
- KATO, M. Plant-Pollinator interactions in the understory of a lowland mixed dipterocarp forest in Sarawak. *American Journal of Botany*, v.83, n.6, p.732-743. 1996.
- KRESS, W. J.; BEACH, J. H. Flowering Plant Reproductive Systems. In: MCDADE, L. A.; BAWA, K. S.; HESPENHEIDE, H. A.; HARSHORN, G. S. (Eds.). *La selva, ecology and natural history of a neotropical rain forest*. Chicago: University of Chicago Press, 1994. p.161-182.
- LAURANCE, W. F.; FERREIRA, L. V.; RANKIN-DE-MERONA, J; LAURANCE, S. Rain Forest fragmentation and the dynamics of Amazonian tree communities. *Ecology*, v.79, n.6, p.2032-2040. 1998.

- MITCHELL, R. J.; FLANAGAN, R. J.; BROWN, B. J.; WASER, N. M. ; KARRON, J. D. New frontiers in competition for pollination. *Annals of Botany*, v.103, p.1403–1413. 2009
- MOMOSE, K.; YUMOTO, T.; NAGAMITSU, T.; KATO, M.; NAGAMASU, H.; SAKAI, S.; HARRISON, R. D.; ITIOKA, T.; HAMID, A. A.; INOUE, T. Pollination biology in a lowland dipterocarp forest in Sarawak, Malaysia. I. Characteristics of the plant-pollinator community in a lowland dipterocarp forest. *American Journal of Botany*, v.85, n.10, p.1477-1501. 1998.
- MURCIA, C. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, v.10, n.2, p.58-62. 1995.
- MURCIA, C. Forest fragmentation and the pollination of neotropical plants. In: SCHELHAS, J.; GREENBERG, R. (Eds). *Forest Patches in Tropical Landscapes Island*. Washington, 1996. p.19-36.
- PERCIVAL, M. *Floral biology*. Oxford: Pergamon Press, 1965. 243 p.
- RAMIREZ, N. Biología de Polinización en una Comunidad Arbustiva Tropical de la Alta Guayana Venezolana. *Biotropica*, n.21, n.4, p.319-330. 1989.
- RAMIREZ, N.; BRITO, Y. Reproductive biology of a tropical palm swamp community in the Venezuelan Llanos. *American Journal of Botany*, v.77, n.10, p.1260-1271. 1990.
- RAMIREZ, N.; GIL, C.; HOKCHE, O.; SERES, A.; BRITO, Y. Biología floral de una comunidad arbustiva tropical en la Guayana Venezolana. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v.77, p.383-397. 1990.
- RAMIREZ, N.; BRITO, Y. Pollination biology in a palm swamp community in the Venezuelan Central Plains. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.110, p.277-302. 1992.
- RENNER, S. S.; FEIL, J. P. Pollinators of tropical dioecious angiosperms. *American Journal of Botany*, v.80, n.9, p.1100-1107. 1993.
- SANTOS, O. A. *Fenologia e biologia floral de espécies do sub-bosque de uma floresta tropical úmida*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Botânica) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus: INPA, 2005. 72p.
- SANTOS, M.J.L.; MACHADO, I.C. Biología floral e heterostilia em *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy (Clusiaceae). *Acta Botanica Brasilica*, v.12, n.3, p.451-464. 1998
- SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I.; GOTTSBERGER, G. A polinização de plantas do cerrado. *Revista Brasileira de Biologia*, v.48, n.4, p.651-663. 1988.
- VOGEL, S. *The role of scent glands in pollination*. Rotterdam : A. A. Balkema, 1990. 202p.





CAPÍTULO 7

MORFOLOGIA DO PERICARPO E DA SEMENTE DE *LEOPOLDINIA PULCHRA* MART. (ARECACEAE, ARECOIDEAE), EM DIFERENTES FASES DO DESENVOLVIMENTO

Maria Gracimar Pacheco de ARAÚJO;
Maria Sílvia de MENDONÇA;
Andréia Barroncas de OLIVEIRA

Abstract

The objective of this study was to understand better morphology of the fruits and seeds of the palm *Leopoldinia pulchra* ("jará"). We studied *L. pulchra* in the flooded forest in the municipality of Iranduba in the Amazonas State. We accompanied fruit development, from the moment of anthesis to maturation. The morphological study was based on samples of fruits in several development phases. The time elapsed between the anthesis and the final phase of maturation were 180 days. The fruit of *L. pulchra* is a monospermous bacca, originated from tricarpellary and pseudomonomerous gynoecium, in which a carpel is developed. Form may be ovoid, lenticular or ellipsoid. The exocarp is flat, lustrous and stuck to the mesocarp until maturity, when it becomes brittle and intense ruby in color. The immature mesocarp is whitish with undifferentiated fibers and turns grayish at maturity and the endosperm is liquid, gelatinous and solid at maturation. The weight of the fruit was more changeable than the dimensions, in all the phases of the development. The spongy consistency of the fruit of *L. pulchra* narrowly it is related with the habitat of the plant, that makes hydrocoric dispersion. The present study is a contribution for recognize of structure of the pericarp and seed of palms, head to countless diversity in Arecaceae.

INTRODUÇÃO

Arecaceae é um dos taxa mais representativo nas paisagens naturais, tanto pela abundância e diversidade, como pela forma conspícua, destacando-se entre outras espécies vegetais. A variedade de formas não se limita ao aspecto geral, abrangendo também a estrutura dos órgãos vegetativos e reprodutivos. Tal é a enorme diversidade na sua estrutura e ultraestrutura que, na classificação atual, a família está distribuída em cinco subfamílias, 28 tribos, 19 subtribos e 183 gêneros; Arecoideae é a mais diversa, com 13 tribos (46,43% do total) e 107 gêneros (58,47% do total) (DRANSFIELD et al., 2008).

A distribuição das palmeiras dentro dos diversos tipos de ecossistemas é também bastante diversificada. Estas ocorrem com regularidade dentro do seu habitat natural, muitas vezes servindo de indicadores de ambiente (GRANVILLE, 1992). Entretanto, Orellana (1992) alerta que o extrativismo provoca alterações na cobertura vegetal, eliminando palmeiras sensíveis à perturbação e, de maneira contrária, propicia a expansão de outras espécies que suportam perturbações ambientais. Araújo (2005) ressalta que em uma ligeira observação, contrastando áreas preservadas e áreas degradadas, é possível perceber que *Astrocaryum gynacanthum* (mumbaca) em áreas degradadas tende a ser mais frequente que outras palmeiras que habitam o sub-bosque de matas primárias. De maneira contrária, espécies de *Bactris* e *Geonoma* tendem a ser raras nestas áreas perturbadas.

Na Amazônia Central, Araújo (2005) cita várias espécies como exemplos de indicadoras de ambiente naturais: *Astrocaryum jauary* (jauari) e *Leopoldinia pulchra* (jará) para florestas alagadas; *Mauritia flexuosa* (buriti), *Euterpe precatória* (açai-solteiro), *Oenocarpus bataua* (patauá) e *Socratea exorrhiza* (paxiúba) para baixios ou outros ambientes pantanosos; *Iriartella setigera* (paxiubinha) para vertentes; *Attalea attaleoides* e *Astrocaryum sciophilum* (tucumã) para sub-bosque de platô; em florestas secundárias (capoeiras) encontram-se frequentemente *Astrocaryum aculeatum* (tucumã), *Attalea maripa* (inajá) e *Oenocarpus bacaba* (bacaba). Cada uma destas com suas peculiaridades no hábito de crescimento, morfologia do estipe e das folhas, flores, frutos e plântulas, que possibilitam singulares interações ecológicas para o estabelecimento, crescimento, reprodução e dispersão.

Dentre as espécies citadas, destaca-se *Leopoldinia pulchra*, uma palmeira de hábito solitário ou cespitoso, pleonantica e monóica (UHL e DRANSFIELD, 1987; HENDERSON, 1995), raramente dióica (UHL e DRANSFIELD, 1987). Estipe de 2,5 a 7 m de altura, distalmente coberto com

bainhas reticuladas que persistem na planta após a senescência das folhas. Estas são em número de 10-25, bainha de 23-30 cm de comprimento, fibrosa, marrom-avermelhada, pecíolo 40-65 cm de comprimento e raque com cerca de 1 m de comprimento com 20 a 37 pinas de cada lado, lineares, longas e acuminadas, regularmente arranjados em um só plano, os da região mediana medindo 53-70 cm comprimento, com escamas marrons nas nervuras abaxiais (HENDERSON, 1995).

Leopoldinia pulchra Mart. está em Arecoideae - Leopoldinieae (DRANSFIELD et al., 2008). No Brasil, é conhecida popularmente como jará; na Colômbia: manicoli palmito, yará; na Venezuela: cucurrito e palmiche (HENDERSON, 1995). Distribuída na Colômbia (Guainia, Vaupés) e Venezuela (Amazonas, Apure) e no Brasil, do baixo rio Negro a Manaus, raramente ao sul e leste de Manaus e no Pará. Vive em bancos de praias, igarapés e rios (igapó) de água negra, mas também em margens de rios de água branca, em baixas elevações (HENDERSON, 1995).

Na área deste estudo é uma planta predominante, com indivíduos isolados ou em agrupamentos, com hábito solitário e cespitoso em igual proporção, com estipe ereto ou plagiotrópico; nas margens ou no leito dos igarapés. Na época da cheia toda a população ocupa o ambiente aquático e os indivíduos mais jovens ficam totalmente submersos, ou apenas com a copa emersa. Na vazante proliferam plântulas em grandes proporções e alguns indivíduos ocupam o ambiente seco em solo arenoso, enquanto outros permanecem em solos encharcados ricos em matéria orgânica. É comum encontrar epífitas associadas, principalmente Araceae e Orchidaceae.

Segundo Lorenzi et al. (1996, 2004), o pecíolo e o estipe fendidos em pequenas lâminas são usados em cestarias. A espécie é bastante ornamental com grande potencial paisagístico, adaptando-se bem tanto em ambiente aquático como terrestre, em solos arenosos e com bastante matéria orgânica.

A despeito da enorme diversidade, até o momento apenas duas obras caracterizaram a morfologia geral de todos os gêneros de Areacaceae, a saber, Uhl e Dransfield (1987) e Dransfield et al. (2008), descrevendo inclusive a estrutura carpológica. Além dessas, Henderson et al. (1995) descreveram de forma generalizada, principalmente os aspectos vegetativos das palmeiras das Américas e Henderson (1995) as palmeiras amazônicas.

Henderson e Borchsenius (1999) reuniram em uma obra única, informações sobre a evolução, variação e classificação de palmeiras, com trabalhos que abordam aspectos taxonômicos, morfológicos e filogenéticos.

Com relação à estrutura morfoanatômica dos órgãos reprodutivos, há o trabalho de Tomlison (1990), que caracteriza os gêneros e algumas

iniciativas pontuais de vários autores, os quais Murray (1973), Robertson (1976 e 1977), DeMason (1986 e 1988), Sylvestre et al. (1989), para palmeiras em geral e Mendonça e Araújo (1998), Menezes (2000) Araújo et al. (2000), Benarrós (2002), De Paula Fernandes (2002), Aguiar e Mendonça (2002 e 2003), Araújo (2005), Mendonça e Bianco (2009), Elias (2011) e Melo (2012) e Genovese-Marcomini et al. (2013, prelo) para palmeiras amazônicas, com a ressalva de que alguns destes são dissertações ou teses não publicadas e totalizam apenas 13 espécies representantes de sete gêneros de um universo de 34 gêneros descritos pra região (HENDERSOM, 1995). Além disso, apenas os estudos de Araújo (2005) e Melo (2012) foram realizados com bases ontogenéticas.

Estes estudos representam excelentes contribuições acerca do conhecimento estrutural dos frutos e sementes das palmeiras, porém, são insuficientes diante da necessidade de caracterização de todas as formas existentes na estrutura carpológica de Arecaceae. A variabilidade existente entre as espécies de palmeiras mostra o quanto são necessários os estudos morfoanatômicos de espécies do grupo. Este pressuposto é reforçado pelos trabalhos de Essig (1977) e Essig e Young (1979). Em Ptychospermatinae, Essig (1977) encontrou características no pericarpo que separam gêneros, subgêneros e grupos de espécie. Por meio do estudo do pericarpo, Essig e Young (1979) separaram Arecinae em dois grupos com base na presença ou ausência de braquiesclereides.

Neste contexto, o presente trabalho pretende contribuir para a caracterização dos frutos de Arecaceae, em especial as palmeiras amazônicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

O estudo foi desenvolvido em uma floresta remanescente de igapó, no município de Iranduba, situado na 7ª sub-região Rio Negro/Solimões, margem esquerda do rio Solimões, com latitude 3° 17' 05" Sul e longitude 60° 11' 10" Oeste. A área específica está situada no Loteamento Parque Real I, com acesso a partir do km 8 da estrada Manuel Urbano e sofre influencia do pulso de inundação do rio Negro.

A população de *Leopoldinia pulchra* Mart. está distribuída em agrupamentos de indivíduos com hábitos solitário ou cespitosos e se

encontra em floresta alagada durante a maior parte do tempo do seu período reprodutivo. Segundo dados meteorológicos do Instituto Nacional de Meteorologia – INMET do 1º Distrito de Meteorologia do Amazonas, Acre e Roraima, no período de estudo, a maior pluviosidade foi registrada entre fevereiro a maio de 2003, com precipitação média mensal de 290 mm e de março a maio de 2004 com média de 358 mm. O período mais seco está entre junho a dezembro/2003, com cota média mensal de 98 mm. A temperatura média mensal oscilou entre 26,6 – 27,1 °C e 26,5 – 26,8 °C nos períodos mais chuvosos de 2003 e 2004, respectivamente e 27 a 28 °C nos meses mais secos de 2003, sendo dezembro o mês mais quente deste ano com temperatura média mensal de 28 °C. A média mensal da umidade relativa do ar esteve entre 79 – 90% durante todo o período, registrando-se a menor média mensal em outubro/2003 e a maior em março/2004.

Identificação da espécie

A confirmação da espécie foi feita por meio de material fértil, conferindo a morfologia geral da planta com as descrições genéricas detalhadas em Uhl e Dransfield (1987), bem como as características específicas, quanto à forma, hábito, habitat, distribuição geográfica e aspectos ecológicos descritos em Henderson (1995) e confirmadas em Ribeiro et al. (1999).

Procedimentos de coleta dos dados

As observações do processo reprodutivo de *Leopoldinia pulchra* ocorreram durante o período de 03/1/2003 a 11/11/2004, totalizando 21 meses, sendo oito meses dedicados especificamente para o estudo da morfologia do desenvolvimento dos frutos.

Foram selecionados 11 indivíduos que apresentavam a espata desenvolvida, porém fechada. O acompanhamento do processo de formação e desenvolvimento dos frutos foi considerado iniciado a partir do momento da abertura das espatas. O tempo de maturação dos frutos foi estimado deduzindo-se o tempo entre o lançamento de botões e a antese das flores pistiladas. Foram estabelecidas quatro fases da maturação dos frutos. Em cada fase foram avaliadas quatro infrutescências advindas de diferentes indivíduos.

Morfometria dos frutos e sementes

A análise morfométrica dos frutos e sementes foi feita no Laboratório de Botânica Agroflorestal – LABAF da Faculdade de Ciências Agrárias – FCA da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, por meio de aferições das dimensões e do peso dos frutos e sementes, obtidas com paquímetro digital e balança eletrônica com precisão de 0,01 g.

Esta análise foi feita imediatamente após a chegada do material ao laboratório ou, em alguns casos, um dia após, sendo o material mantido na geladeira coberto com papel de jornal e encerrado num saco plástico, a fim de manter o teor de água, bem como as características organolépticas.

Após a contagem dos frutos/infrutescência, os mesmos foram retirados das raques ou raquilas e misturados em uma bandeja, ficando cada bandeja com todos os frutos obtidos de infrutescências da mesma fase de desenvolvimento. Em seguida foram separadas 100 unidades de cada fase para a análise morfométrica dos frutos inteiros, onde foi mensurado o comprimento (mm), largura (mm) e espessura (mm) e a matéria fresca (g).

Após a aferição dos frutos maduros, os mesmos foram colocados em um tabuleiro numerado, para em seguida proceder à retirada do exocarpo e mesocarpo e ser feita a aferição individual das sementes. Com os frutos imaturos não foi feita a avaliação individual das sementes.

Outras 30 unidades de cada fase foram separadas e cortadas transversalmente com auxílio de faca e martelo para efetuar-se a descrição das características externas e internas dos frutos e sementes, onde foram mensuradas a espessura do exocarpo + mesocarpo; espessura do endocarpo; diâmetro da semente ou da cavidade seminal (nas fases em que o endosperma é líquido); comprimento e diâmetro do embrião, bem como averiguada as características organolépticas (textura, odor e coloração) e posição do embrião.

Análise do teor de água dos frutos e sementes

O teor de água dos frutos e sementes maduros foi obtido em análises individuais do exocarpo + mesocarpo; endocarpo; tegumento + endosperma + embrião, obtidos de 100 frutos. Cada uma destas partes foi levada à estufa regulada em 105 °C, durante 24 horas, conforme Brasil (1992).

O cálculo do teor de água seguiu as Normas do Instituto Adolfo Lutz (LARA, et al., 1976), efetuando-se a seguinte equação: $TU = (P_1 - P_2) / P_1 \times 100$, onde: TU = teor de umidade; P_1 = peso da matéria fresca; P_2 = peso da matéria seca.

Com os frutos imaturos foi obtida a matéria seca de 100 frutos inteiros, em quatro repetições de 25 frutos.

Análise dos dados

Para mostrar a variabilidade das amostras foram usados os descritores estatísticos de medidas de tendência central e variabilidade. A tendência do crescimento dos frutos foi investigada apenas por análises exploratórias de gráficos, utilizando-se a média e o desvio padrão junto à DAM – distribuição amostral de médias ou aos dados não grupados (CALLEGARI-JAQUES, 2003).

A terminologia usada na caracterização morfológica dos frutos está de acordo com Spjut (1994) e a descrição de cores foi feita pela tabela de cores de Kornerup e Wanscher (1981).

RESULTADOS

Morfologia do fruto e semente em desenvolvimento

O tempo de maturação do fruto de *Leopoldinia pulchra* é de 180 dias, neste intervalo são reconhecidas quatro fases distintas da maturação dos frutos, com base nas características do exocarpo, fibras do mesocarpo e endosperma; a fase inicial é a mais duradoura, permanecendo por 30 dias; as fases intermediárias tem duração de 20 dias e a fase final pode permanecer por 30 dias, antes da dispersão (Tabela 1). O fruto é originado de um gineceu tricarpelar e trilobular, pseudomonômero, no qual apenas um carpelo se desenvolve, no entanto vestígios dos demais carpelos permanecem no fruto. Como resultado desta condição, dois carpelos estéreis remanescem no fruto, em posição basal, ao lado do perianto que também persiste, mas tornando-se caduco à medida que o fruto cresce. Raras vezes pode ocorrer o desenvolvimento de mais de um carpelo, resultando em formas anômalas, mas geralmente estes são desprendidos antes da maturidade ou então, o crescimento do segundo carpelo é restrito e apenas um desenvolve semente e amadurece. O crescimento desigual de um carpelo, em relação aos outros dois estéreis ou abortados, causa o deslocamento do estigma, que no ovário tem posição apical excêntrica, tornando-se lateral no fruto recém-formado e finalmente basal no fruto totalmente formado (Figura 1A-C). Em alguns casos pode ocorrer frutos aparentemente apocárpicos (Figura 1D).

Tabela 1 - Características observadas nos frutos de *Leopoldinia pulchra*, para definir as diferentes fases do desenvolvimento dos mesmos.

	Tempo de formação (dias)	Características observadas
FASE 1	40 a 70	Exocarpo verde, mesocarpo com fibras indistintas a olho nu e endosperma líquido.
FASE 2	90 a 110	Exocarpo verde, fibras brancas a marrom claro, tenras a endurecidas e endosperma gelatinoso.
FASE 3	120 a 140	Exocarpo verde, fibras escuras e rígidas e endosperma sólido.
FASE 4	150 a 180	Exocarpo vermelho a grená escuro e endosperma sólido enrijecido.

O fruto de *L. pulchra* pode ser tipificado como uma baga unispérmica, constituído por um pericarpo indeiscente externamente revestido de exocarpo fino e internamente por um endocarpo não diferenciado em tecido ósseo; semente única embebida em um mesocarpo carnoso, sem espaço aéreo separando pericarpo e semente. É diminuto até cerca de 40 dias de formação (Figura 1E) e no pericarpo não há delimitação clara das camadas internas que o constituem. Ocorre forma ovóide, com o comprimento maior que a largura, lenticular, com o comprimento proporcional à largura e forma elipsóide, ligeiramente achatada nos pólos, com a largura maior que o comprimento (Figura 1F). Além desta variação de formas, também é muito aparente a variação de tamanho nas primeiras fases do desenvolvimento (Figuras 1F) e de coloração nos estágios finais de maturação (Figura 1G).

O exocarpo é liso, lustroso, pouco espesso, aderente ao mesocarpo até os estágios finais de maturação, quando se torna quebradiço, bastando um simples contato para ser removido. Inicialmente tem coloração verde brilhante, às vezes em tons amarelados, depois se torna verde oliva e opaca até a formação da semente. Quando entra na última fase de maturação adquire várias colorações indo do verde avermelhado, passando por vários tons de vermelho, se torna grená e finalmente rubi intenso na época da dispersão.

O mesocarpo constitui a maior parte do pericarpo. Inicialmente é aquoso, verde pálido com sutis marcas esbranquiçadas que correspondem às fibras em diferenciação, se tornando uma massa verde pálido na superfície e verde acinzentado no interior, entremeada de fibras escurecidas. Nestas

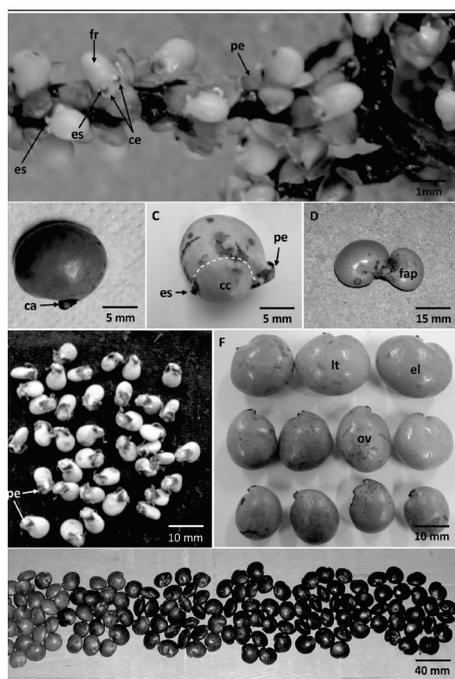


Figura 1

Aspectos da formação e desenvolvimento dos frutos de *Leopoldinia pulchra*. (A) Carpelos estéreis nos frutos recém formados. (B) Carpel inicialmente desenvolvido e depois atrofiado. (C-D) Formas anômalas com desenvolvimento de dois carpelos. (E) Frutos recém formados com perianto persistente. (F) Diferentes formas e tamanhos em frutos imaturos. (G) Coloração em várias etapas da fase final de maturação dos frutos, entre 120-180 dias. **ca**, carpelo atrofiado; **cc**, carpelo conado; **fap**, fruto aparentemente apocárpico; **el**, elipsoide; **es**, estigma; **fr**, fruto; **pe**, perianto; **lt**, lenticular; **ov**, ovóide.

fases iniciais sofre moderada oxidação. No final da maturação, o tecido do mesocarpo é uma massa granulosa, verde amarelado na superfície e cor de areia no interior, formando um interessante mosaico com as fibras, grossas, escuras e bastante resistentes, concentradas em torno do endocarpo e se irradiando em direção à periferia (Figura 2A-F). Após a maturação o mesocarpo escurece, ficando marrom cerâmica na superfície e violáceo no interior.

O endocarpo circunda o único lóculo e está estreitamente relacionado com o mesocarpo e a semente, sendo apenas perceptível nas últimas fases de maturação. É constituído externamente por algumas camadas de fibras sedosas e delicadas, de coloração amarelo acinzentado e, internamente, por uma delicada camada de tecido da mesma cor, aderido ao tegumento.

A semente é lenticular ou globosa, ligada ao pericarpo por fibras do funículo que se expandem da testa e se infiltram no mesocarpo, contornando-o (Figura 2E e 3A). O tegumento (Figura 3B) só é perceptível após a fase de endosperma gelatinoso; confunde-se com o endocarpo: tal e qual a este, tem o aspecto delicado, é amarelo acinzentado e aderente, muito difícil de ser removido da superfície do endosperma.

O endosperma é líquido durante toda a fase juvenil do fruto (Figura 2B), torna-se gelatinoso (Figura 2D) a partir da segunda metade do tempo de maturação e perdura nesta forma até cerca de 40 dias antes do início da fase final de amadurecimento, tornando-se sólido um pouco antes de ser iniciada a mudança de coloração do exocarpo. Neste estágio a amêndoa está formada, de cor branca leitosa, rígida na periferia e tenra no centro devido à natureza centrípeta do seu desenvolvimento, logo ficando rígida; branca na superfície e reluzente no interior, com aspecto transparente e levemente estriado (Figura 3C-D). O embrião está estabelecido no momento da solidificação do endosperma. É cônico e reto, com a região proximal mais dilatada que a distal, branco leitoso e posicionado na região basal da amêndoa (Figura 3E).

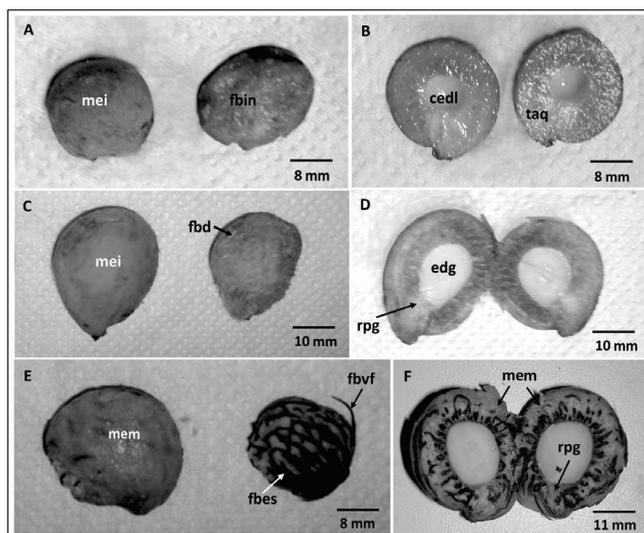


Figura 2

Desenvolvimento dos frutos de *Leopoldinia pulchra*. (A-B) Fruto imaturo com endosperma líquido. (C-D) Fruto imaturo com endosperma gelatinoso. (E-F) Fruto maduro com endosperma sólido; **edg**, endosperma gelatinoso; **eds**, endosperma sólido; **fbd**, fibras diferenciadas; **fbef**, fibras esclereificadas e espessas; **fbin**, fibras indiferenciadas; **fbvf**, feixe fibrovascular funicular; **cedl**, cavidade do endosperma líquido; **mei**, mesocarpo imaturo; **mem**, mesocarpo maduro; **rpg**, região do poro germinativo; **taq**, tecido aquoso.

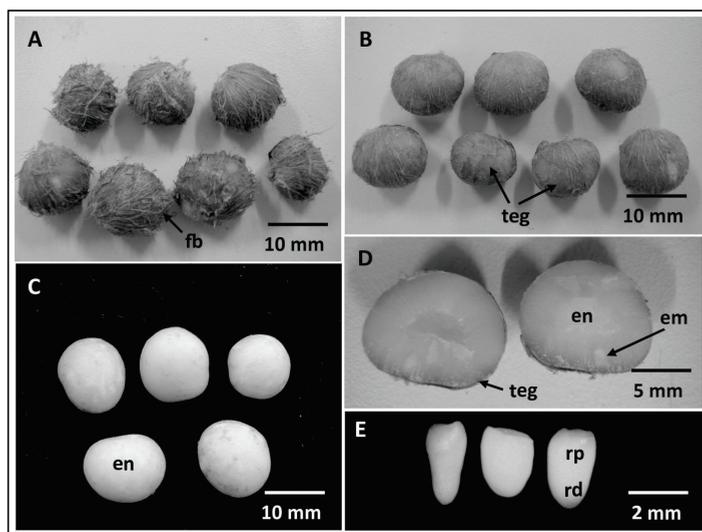


Figura 3

Aspectos da semente de *Leopoldinia pulchra*. (A-B) Semente com fibras do endocarpo e com a testa aparente, respectivamente. (C) Amêndoa sem o tegumento. (D) Endosperma em corte longitudinal. (E) Embriões. **em**, embrião; **en**, endosperma; **fb**, fibras; **teg**, tegumento, **rp**, região proximal; **rd**, região distal.

Morfometria do fruto

O fruto maduro de *L. pulchra* tem médias entre 26,47 a 27,79 mm ($\mu=27,11 \pm 0,68$) de comprimento, 28,43 a 29,39 mm ($\mu=28,91 \pm 0,48$) de largura, 19,16 a 20,23 mm ($\mu=19,69 \pm 0,53$) de espessura e 7,32 a 8,24 g ($\mu=7,78 \pm 0,46$) de peso (Tabela 2).

A fase de endosperma líquido (fase 1) é a que tem maior variabilidade tanto no tamanho quanto no peso (Tabela 2). Isto é esperado, visto que é a fase mais duradoura no processo de desenvolvimento do fruto, onde as camadas de tecidos estão em plena expansão. O peso foi mais variável que as dimensões, em todas as fases. Quanto as dimensões, observa-se maior variabilidade para o comprimento e largura da fase 1 até a fase 3. No entanto, a espessura dos frutos maduros é mais variável que o comprimento e a largura.

Tabela 2 - Médias e medidas de dispersão para as variáveis, comprimento, largura, espessura e peso do fruto de *Leopoldinia pulchra*, em diferentes fases do desenvolvimento, obtidos da amostra populacional, onde n= 100 (dados não agrupados).

	m ± IC	EP	DP	CV(%)	md	moda	min	max
Fase 1								
comp (mm)	19,33 ± 0,83	0,42	4,19	21,66%	17,08	19,43	13,16	30,98
larg (mm)	19,91 ± 0,69	0,35	3,50	17,58%	18,93	18,83	14,32	29,98
esp (mm)	13,02 ± 0,38	0,19	1,94	14,9%	12,68	13,53	10,10	19,77
peso (g)	2,98 ± 0,33	0,16	1,66	55,7%	2,34	2,07	1,28	9,01
Fase 2								
comp (mm)	26,73 ± 0,32	0,16	1,62	6,06%	26,69	27,48	22,94	30,17
larg (mm)	29,69 ± 0,38	0,19	1,90	6,4%	29,9	30,53	24,24	34,55
esp (mm)	17,37 ± 0,16	0,08	0,81	4,66%	17,30	17,21	15,71	19,58
peso (g)	7,48 ± 0,23	0,11	1,15	15,37%	7,47	8,11	5,13	10,60
Fase 3								
comp (mm)	23,25 ± 0,46	0,23	2,33	10,02%	23,17	21,14	15,16	29,95
larg (mm)	25,08 ± 0,50	0,25	2,51	10,01%	25,32	24,22	15,93	31,87
esp (mm)	16,73 ± 0,25	0,13	1,28	7,65%	16,71	17,00	14,03	19,28
peso (g)	5,29 ± 0,25	0,12	1,25	23,72%	5,19	4,71	2,06	8,87
Fase 4								
comp (mm)	27,11 ± 0,68	0,34	3,42	12,61%	26,73	30,73	17,85	34,88
larg (mm)	28,91 ± 0,48	0,24	2,42	8,37%	28,75	30,03	22,55	34,50
esp (mm)	19,69 ± 0,53	0,27	2,68	13,61%	20,26	20,55	15,18	24,24
peso (g)	7,78 ± 0,46	0,23	2,31	29,69%	7,61	24,24	3,13	12,84

m, média estimada para a população; **IC**, intervalo de confiança (95%); **EP**, erro padrão; **DP**, desvio padrão; **CV**, coeficiente de variação; **md**, mediana; **min.**, mínimo; **max.**, máximo.

O endosperma tem maior variabilidade que o pericarpo nas três primeiras fases do desenvolvimento, entretanto na última fase as medidas são mais regulares que as do pericarpo, apresentando um coeficiente de variação de apenas 4,19%, enquanto o pericarpo mostra a maior variação com 14,83% (Tabela 3).

Tabela 3 - Médias e medidas de dispersão para as variáveis, espessura do pericarpo e endosperma fruto de *Leopoldinia pulchra*, em diferentes fases do desenvolvimento, obtidos da amostra populacional, onde n= 30 (dados não agrupados).

	m ± IC	EP	DP	CV(%)	md	moda	min	max
Fase 1								
Pericarpo	3,7 ± 0,14	0,07	0,39	10,54%	3,72	3,70	2,76	4,85
Endosperma	5,6 ± 0,40	0,20	1,07	19,11%	5,35	-	4,14	8,02
Fase 2								
Pericarpo	11,1 ± 0,47	0,23	1,23	11,08%	11,42	11,72	8,67	13,37
Endosperma	6,9 ± 0,34	0,16	0,90	13,04%	6,80	6,43	5,03	8,82
Fase 3								
Pericarpo	9,5 ± 0,39	0,19	1,05	11,05%	9,62	9,60	7,79	11,35
Endosperma	8,3 ± 0,57	0,28	1,52	18,31%	8,44	8,91	4,15	11,25
Fase 4								
Pericarpo	6,0 ± 0,33	0,16	0,89	14,83%	6,04	5,05	4,33	7,57
Endosperma	8,6 ± 0,13	0,06	0,36	4,19%	8,67	8,67	7,98	9,55

m, média estimada para a população; IC, intervalo de confiança (95%); EP, erro padrão; DP, desvio padrão; CV, índice de variação; md, mediana; min., mínimo; max., máximo.

Existe um aumento exponencial na espessura do pericarpo da fase 1 para a fase 2, com um incremento na ordem de 200%. Depois decresce sucessivamente em 14,4% e 36,84% nas fases seguintes até ao final do desenvolvimento. O endosperma teve um comportamento diferente, apresentando crescimento linear de uma fase à outra, com percentuais de 23,21%, 20,29%, 3,61%, sucessivamente, com tendência a se estabilizar na última fase de desenvolvimento.

A contribuição do pericarpo para a formação do fruto no decorrer do seu desenvolvimento foi de 39,8%, 61,7%, 53,4% e 41,1%, respectivamente, diminuindo após a fase 2 à medida que o fruto amadurece. Inversamente, a semente se torna a parte mais volumosa do fruto, com percentuais crescentes após a fase 2, na ordem de 60,2%, 38,3%, 46,6% e 58,9%, respectivamente.

Morfometria da semente

Em todas as variáveis analisadas para a semente e o embrião, foram registrados valores médios possíveis muito próximos para a população estudada, de tal forma que os limites estabelecidos pelo intervalo de confiança são mínimos (Tabela 4).

Tabela 4

Médias e medidas de dispersão para as variáveis, comprimento, largura, espessura e peso da semente e comprimento e diâmetro do embrião de *Leopoldinia pulchra*, onde n=30. (Dados não grupados).

		m ± IC	EP	DP	CV(%)	md	moda	min	max
semente	comprimento (mm)	12,3 ± 0,18	0,09	0,93	7,56%	12,07	12,13	10,73	14,87
	largura (mm)	13,7 ± 0,16	0,08	0,83	6,06%	13,88	14,08	11,11	15,59
	espessura (mm)	8,7 ± 0,09	0,04	0,44	5,06%	8,66	8,35	7,70	10,43
	peso (g)	0,93 ± 0,02	0,01	0,10	10,75%	0,91	0,90	0,74	1,24
embrião	comprimento (mm)	2,09 ± 0,10	0,05	0,27	12,92%	2,06	2,06	1,50	2,62
	diâmetro (mm)	1,11 ± 0,05	0,02	0,14	12,61%	1,11	1,02	0,86	1,38

m, média estimada para a população; **IC**, intervalo de confiança (95%); **EP**, erro padrão; **DP**, desvio padrão; **CV**, coeficiente de variação; **md**, mediana; **min.**, mínimo; **max.**, máximo.

Desta forma, a semente do fruto maduro de *Leopoldinia pulchra* tem médias de 12 mm de comprimento ($12,29 \pm 0,18$), 14 mm de largura ($13,72 \pm 0,16$), 9 mm de espessura ($8,66 \pm 0,09$) e 0,93 g de peso ($0,93 \pm 0,02$) e o embrião mede 2 mm de comprimento ($2,09 \pm 0,09$) e 1 mm de diâmetro ($1,11 \pm 0,05$).

Na semente, o menor coeficiente de variação está na espessura e o maior no peso, enquanto no embrião o comprimento, significativamente ($t_{0,05;43}, t_{calc=17,9}$), sofre mais variação que o diâmetro.

DISCUSSÃO

A origem do fruto de um gineceu tricarpelar, tornando-se pseudomonômero, concorda com a caracterização de Uhl e Dransfield (1987) e Dransfield et al. (2008) para *Leopoldinia*. O tipo baga unispérmica, está de acordo com a definição de Spuji (1994), no entanto é uma exceção, de acordo com a definição geral de fruto do tipo baga encontrada na maioria dos manuais de morfologia botânica (HARRIS e HARRIS, 1997; HICKEY e KING, 2000; GONÇALVES e LORENZI, 2009, por exemplo) que definem baga como um fruto geralmente plurispérmico.

Segundo Uhl e Dransfield (1987), a morfologia mais comum nos frutos das palmeiras é a que constitui um pericarpo carnoso e uma semente, ou muito menos frequente duas a dez sementes. O autor não faz referência ao tipo de fruto, mas fazendo uma análise de todos os gêneros caracterizados em Dransfield et al. (2008), percebe-se que a maioria tem endocarpo conspícuo e ósseo, formando drupas. Frutos do tipo baga são menos frequentes e tem o endocarpo indistinto. Em *L. pulchra*, o endocarpo é pouco evidente e está estreitamente relacionado com o mesocarpo e o tegumento. O mosaico de fibras que recobre o endocarpo certamente tem importância ecológica, protegendo as sementes de peixes predadores e possibilitando a dispersão a distâncias mais longas. A consistência esponjosa do pericarpo está estreitamente relacionada com o habitat da planta, que faz dispersão hidrocórica. De acordo com Uhl e Dransfield, (1987), o mesmo ocorre com *Cocos* (Cocoeae) e *Nypa* (Nypoideae), gêneros igualmente adaptados para serem disseminados pela água.

O tamanho dos frutos dentro de Arecaceae varia enormemente, com formas que vão de 4 mm, em espécies de *Geonoma*, a 50 cm de comprimento e 18 kg, como em *Lodoicea* (Uhl e Dransfield, 1987). Tomlinson (1990) fez a distribuição de frequência por classe de diâmetro dos frutos de todos os

gêneros (n=200) descritos em Uhl e Dransfield (1987) e mostrou que a maior frequência de tamanho está no intervalo de classe entre 10-14 mm. *L. pulchra* tem diâmetro (ou largura) acima deste intervalo.

Ao longo da maturação dos frutos de *L. pulchra*, o crescimento foi do tipo complexo. Segundo Flores-Vindas (1999), este tipo complexo envolve dois períodos, com uma fase intermediária de diminuição ou detenção do crescimento. Não foram encontradas referências quanto ao estudo do padrão de crescimento dos frutos de palmeiras. Ferreira (1996) fez referência aos tipos de crescimento, mas não classifica o comportamento da espécie estudada, *Bactris gasipaes*.

A aparência geral dos frutos de palmeiras é muito variável, podendo ser muito diferentes ou semelhantes, ao nível genérico e específico, levando-se em consideração o perianto, a forma, textura, coloração e o tamanho. Dentro de Arecoideae temos vários exemplos dessa diversidade de formas, a saber:

Em *Leopoldinia*, a variação destes aspectos é mínima, sendo os frutos de *L. pulchra* facilmente confundidos com os *L. major* e *L. piassava* tal é a semelhança na forma coloração e textura (LORENZI et al., 1996).

Em *Astrocaryum*, Araújo (2005) observou semelhanças na coloração e textura do exocarpo de *A. acaule* com outras espécies, as quais, *A. jauari*, *A. vulgare* e *A. aculeatum* (comparadas em Lorenzi et al., 1996), enquanto que é bem diferente de outras, como *A. mexicanum*, *A. murumuru* e *A. sciophilum* (descritas em HENDERSON et al., 1995), que tem o exocarpo marrom e espinhoso e de *A. gynacanthum* (caracterizada por KAHN e MILLÁN, 1999), que possui a base protegida por uma coroa de espinhos e o exocarpo é deiscente na maturidade. O tamanho do fruto dentro do gênero pode variar entre 3-9 cm de comprimento, sendo estes extremos observados em *A. gynacanthum* e *A. macrocalyx*, respectivamente (KAHN e MILLÁN, 1992).

Em *Attalea*, segundo Araújo (2005), a coloração marrom e a textura áspera do exocarpo é uma característica comum no gênero. O fruto de *A. attaleoides* (caracterizado por ARAÚJO, 2005) pode ser facilmente confundido com o fruto de *A. maripa* (caracterizado por ARAÚJO et al., 2002), sendo estes separados pelo aspecto do perianto que na última espécie cobre praticamente a metade do fruto. Já a variação no tamanho dos frutos é uma diferença mais relevante neste gênero, com uma amplitude de 4-11 cm de comprimento (LORENZI et al., 1996, 2004).

Em *Bactris*, a variabilidade é muito grande (UHL e DRANSFIELD, 1987; 1999; HENDERSON, et al., 1995; RIBEIRO et al., 1999 e DRANSFIELD et al., 2008), inclusive ao nível específico, onde Ferreira (1996) encontrou muita variação de coloração no exocarpo de *Bactris gasipaes*, em frutos oriundos

de uma única progênie, o que demonstra uma grande variabilidade genética nesta espécie cultivada.

Em Calamoideae, De Paula Fernandes (2002) encontrou bastante variação intraespecífica na forma dos frutos de *Mauritia flexuosa* (Lepidocaryeae – Mauritiinae), dentro de um mesmo buritizal. Entretanto, a autora ressalta que na diversidade individual existe padronização, de tal forma que o mesmo indivíduo pode ser considerado uma unidade morfológica.

Leopoldinia pulchra apresenta variação na forma e tamanho dos frutos maduros, com diferentes graus de mudanças morfológicas durante o processo de desenvolvimento, começando pela diferença entre o tamanho inicial e tamanho final dos mesmos. Na semente o desenvolvimento morfológico no endosperma vai da fase líquida à fase sólida, com uma fase gelatinosa intermediária. Este mesmo padrão foi encontrado por Araújo (2005) em *Astrocaryum acaule* e *Attalea attaleoides*, todavia, ao final da sua formação, o endosperma de *A. acaule* torna-se oco no centro, com uma fossa que pode ou não ser conspícua. Este tipo de configuração do endosperma foi também descrito em *Jubaeopsis caffra* (ROBERTSON, 1977), *Atrocaryum aculeatum* e *Bacris gasipaes* (MENDONÇA, 1996), sendo considerada uma característica frequente nos gêneros *Astrocaryum* e *Bactris* (UHL e DRANSFIELD, 1987).

A posição, tamanho e forma do embrião também são características muito variáveis dentro e entre os principais grupos de palmeiras. Em Euterpeae, por exemplo, o embrião de *Oenocarpus* alcança grandes proporções, ocupando 2/3 da semente em *O. bacaba* (BALICK, 1985), que tem média de 13 mm de diâmetro (BENARRÓS, 2002), enquanto em *Euterpe* pode ser diminuto, medindo cerca de 2 mm em *E. precatoria*, com média de 11,5 mm de diâmetro (AGUIAR, 1998). Araújo et al. (2000) verificaram formas variadas em *Attalea maripa* (Cocoseae – Attaleinae), que vai de reta a pronunciadamente curvada, semelhante às formas encontradas em *A. attaleoides* (ARAÚJO, 2005), sendo que nesta última a curvatura é discreta. Mendonça (1996) descreve a morfologia do embrião de dez palmeiras amazônicas representantes de vários gêneros, onde podem ser vistos tamanhos e formas bem diferentes. Menezes (2000) registrou formas anômalas no embrião de *Socratea exorrhiza* (Iriarteeae) além da forma cônica padrão, classificando-as em cinco tipos de anomalias, de acordo com a presença e quantidade de projeções e da fenda cotiledonar e a presença e forma de elevação frontal da unidade principal.

Há mais de três décadas, Uhl e Dransfield (1987) apostaram no estudo estrutural de frutos de palmeiras como uma significativa contribuição para a sistemática de Arecaceae. Nesta abordagem é possível perceber quão

diversificada é a estrutura do pericarpo e semente das palmeiras e o quanto são necessários os estudos morfoanatômicos de um número maior de espécies, em diferentes taxa.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Amazonas, pelo apoio financeiro. Ao Francisco Elíbio Pacheco de Araújo, pelo apoio nas coletas na floresta de igapó, ao Manuel Roberto Viana e Bárbara Balieiro Barcelos, pelo apoio no Laboratório.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, M. D. *Morfo-anatomia da semente, germinação e plântula de Euterpe precatoria Mart. (Açaí-solteiro)*. Dissertação. (Mestrado em Ciências Biológicas, Botânica) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia / Universidade Federal do Amazonas. Manaus: UFAM, 1998. 86p.
- AGUIAR, M. O. A.; MENDONÇA, M. S. Aspectos morfo-anatômicos do embrião de *E. precatoria* Mart. durante o processo germinativo. *Acta Bot. Bras.*, v.16, n.3, p.241-249. 2002.
- AGUIAR, M. O. A.; MENDONÇA, M. S. Morfo-anatomia de sementes de *Euterpe precatoria* Mart. *Rev. Bras. de Sem.*, v.25, n.1, p. 37-42. 2003.
- ARAÚJO, M. G. P. *Morfo-anatomia e desenvolvimento dos frutos e sementes de três espécies da subfamília Arecoideae (Arecaceae)*. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Botânica) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia / Universidade Federal do Amazonas. Manaus: INPA/UFAM, 2005, 189p.
- ARAÚJO, M. G. P.; LEITÃO, A. M.; MENDONÇA, M. S. Morfologia do fruto e da semente de inajá (*Attalea maripa* (Aubl.) Mart.) – *Palmae. Rev. Bras. de Sem.*, v.22, n.2, p.31-38. 2000.
- BALICK, M. J. Taxonomy of the *Oenocarpus-Jessenia* (Palmae) complex in Brazil. *Acta Amazonica*, v.15, n.1-2, p.87-113. 1985.
- BENARRÓS, J. F. *Morfo-anatomia do desenvolvimento do fruto e semente de Oenocarpus bacaba Mart. (Arecaceae), ocorrente na região de Manaus*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Botânica). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia / Universidade Federal do Amazonas. Manaus: INPA/UFAM, 2002. 71p.
- BRASIL, M. A. R. A. *Regras para análise de sementes*. Brasília: Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, 1992. 365p.

- CALLEGARI-JACQUES, S. M. *Bioestatística. Princípios e aplicações*. Porto Alegre: Artmed, 2003. 255p.
- DEMASON, D. A. Endosperm structure and storage reserve histochemistry in the palm, *Washingtonia filifera*. *Amer. J. Bot.* v.73, n9, p.1332-1340. 1986.
- DEMASON, D. A. Embryo structure and storage reserve histochemistry in the palm *Washingtonia filifera*. *Amer. J. Bot.* v.75, n.3, p.330-337. 1988.
- DE PAULA FERNANDES, N. M. *Estratégias de produção de sementes e estabelecimento de plântulas de Mauritia flexuosa L. f. (Arecaceae) no Vale do Acre/Brasil*. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Botânica) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Universidade Federal do Amazonas. Manaus: INPA, 2002. 231p.
- DRANSFIELD, J.; UHL, N. W.; ASMUSSEN, C. B.; BAKER, W. J.; HARLEY, M. M.; LEWIS, C. E. *Genera Palmarum: The Evolution and Classification of Palms*. Kew, Royal Botanic Gardens: Kew Publishing, 2008. 731p.
- ELIAS, M. E. A. *Maturação fisiológica de sementes de tucumã (Astrocaryum aculeatum G. Mey - Arecaceae) em uma área da Amazônia Central*. Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) – Universidade Federal do Amazonas. Manaus: UFAM, 2011, 105p.
- ESSIG, F. B. A systematic histological study of palm fruits. I. The *Ptycosperma* alliance. *Syst. Bot.* v.2, p.151-168. 1977.
- ESSIG, F. B.; YOUNG, B. E. A systematic histological study of palms fruits. II. The *Areca* alliance. *Syst. Bot.*, v.4, p.16-28. 1979.
- FERREIRA, S. A. N. *Maturação fisiológica de sementes de pupunheira (Bactris gasipaes Kunth)*. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Botânica) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade Federal do Amazonas, Manaus: INPA, 1996. 73p.
- FLORES-VINDAS, E. *La planta. Estructura y function*. Vol. II. Cartago: Libro Universitario Regional. 1999. 884p.
- GENOVESE-MARCOMINI, P. R.; MENDONÇA, M. S.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. Morphoanatomy of the flower of *Syagrus inajai* (Spruce) Becc. (Arecaceae-Arecoideae-Attaleinae) Amazon. *Brazilian Journal of Biology*, v. 73.3. (Prelo), 2013.
- GONÇALVES, E. G.; LORENZI, H. *Morfologia Vegetal: Organografia e Dicionário Ilustrado de Morfologia das Plantas Vasculares*, 2. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2011. 512p.
- GRANVILLE, J. J. Life forms and growth strategies of Guianan palms as related to their ecology. *Bull. Inst. fr. Études andines*, v.21, n.2, p.533-548. 1992.
- HARRIS, J. G.; HARRIS, M. W. *Plant identification terminology. An illustrated glossary*. Spring Lake, Utah: Spring Lake Publishing, 1997. 198p.
- HENDERSON, A. *The palms of the Amazon*. New York: Oxford University Press, 1995. 362p.
- HENDERSON, A., BORCHSENIUS, F. (eds.). *Evolution, Variation, and Classification of*

Palms. *Memoirs of The New York Botanical Garden*, v. 83. New York: The NYBG Press, 1999. 324p.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. *Field guide to the palms of the Americas*. New York: Oxford University Press, 1995. 417p.

HICKEY, M.; KING, C. *The Cambridge Illustrated Glossary of Botanical Terms*. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. 208p.

KAHN, F.; MILLÁN, B. *Astrocaryum* (Palmae) in Amazonia a preliminary treatment. *Bull. Inst. fr. etudes andines*, v.21, n.2, p.459-531. 1992.

KORNERUP, A.; WANSCHER J. H. *Taschenlexikon der farben*. Zurich-Gottingen: Muster-Schmidt Verlag, 1981. 242p. 1440 farbnuancen ud 600 farbnamen.

LARA, A.B.W.H.; NAZÁRIO, G.; ALMEIDA, M.E.W.; PREGNOLATO, W. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v. 1. Métodos Químicos e físicos para análise de alimentos, 2.ed, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1976. 371p.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; MEDEIROS-COSTA, J. T.; CERQUEIRA, L. S. C.; VON BEHR, N. *Palmeiras do Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa: Plantarum, 1996. 303p.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; COSTA, J. T. M.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. *Palmeiras Brasileiras: Exóticas e cultivadas*. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2004. 416p.

MELO, G. A. M. *Desenvolvimento e morfoanatomia dos frutos de Attalea microcarpa Mart. (Arecaceae – Arecoideae), em dois ambientes na Amazônia Central, Manaus, Amazonas*. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) – Universidade Federal do Amazonas. Manaus: UFAM, 2012.

MENDONÇA, M.S. *Aspectos morfológicos das sementes de algumas espécies de palmeiras (Arecaceae=Palmae) da Amazônia*. Tese (Professor Titular) - Universidade do Amazonas. Manaus: UFAM, 1996. 68p.

MENDONÇA, M. S.; ARAÚJO, M.G.P. A semente de bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart. – Arecaceae): Aspectos Morfológicos. *Revista Brasileira de Sementes*, v.21, n.1, p.122-124. 1999.

MENEZES, C. R. *Estrutura morfo-anatômica de frutos e sementes de Socratea exorrhiza (Mart.) Wendl. (Arecaceae) ocorrentes na região de Manaus – AM, Brasil*. Dissertação. Mestrado em Ciências Biológicas. PPGBTRN/INPA/UFAM. Manaus: UFAM, 2000. 59p.

MURRAY, S. G. The formation of endocarp in palm fruits. *Principes*, v.17, p.91-102. 1973.

MENDONÇA, M. S.; BIANCO, R. Morfologia e desenvolvimento germinativo de *Oenocarpus bacaba* Mart. (Arecaceae) da Amazônia Ocidental. Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus: UFAM, 2009.

ORELLANA, R. Síndromes morfológicas y funcionales de las palmas de la Península de Yucatán. *Bull. Inst. fr. études andines*, v.21, n.2, p.651-667. 1992.

RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C.; COSTA, M. A.; MARTINS, L. H. P.; LOHMANN, L. G.; ASSUNÇÃO, P. A. C. L.; PEREIRA, E.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R., PROCÓPIO, L. C. *Flora da Reserva Ducke. Guia de identificação das plantas de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central*. Manaus: INPA, 1999. 816p.

ROBERTSON, B. L. Embryology of *Jubaeopsis caffra* Becc.: I Microsporangium, microsporogenesis and microgametogenesis. *Jl. S. Afr. Bot.*, v.42, n.2, p.97-108. 1976.

ROBERTSON, B. L. Morphology and development of the fruit and seed of *Jubaeopsis caffra* Becc. *Principes*, v.21, p.23-30. 1977.

SPJUT, R. W. A Systematic treatment of fruit types. *Mem. New York Bot. Gard*, v.70, p.1-182. 1994.

SYLVESTRE, L. S.; LEITE, C. O.; TRIANI, L. Estudo do desenvolvimento do fruto de *Allagoptera arenaria* (Gomes) O. Kuntze – Palmae. *Acta Bot. Bras., suppl.* v.2, p. 183 - 192. 1989.

Tomlinson, P. B. *The Structural Biology of Palms*. New York: Clarendon Press Oxford, 1990. 477p.

UHL, N.W.; DRANSFIELD, J. *Generum Palmarum. A classification of Palms based on the work of Harold E. Moore-Jr.* Lawrence, Kansas: Allen Press, 1987. 610p.





CAPÍTULO 8

SIMULIIDAE (DIPTERA, CULICOMORPHA) VETOR DE MANSONELLA OZZARDI (MANSON, 1897) (NEMATODA: ONCHOCERCIDAE) EM COMUNIDADES RIBEIRINHAS DO RIO IÇANA NO MUNICÍPIO DE SÃO GABRIEL DA CACHOEIRA, AMAZONAS, BRASIL.

Wellington Luciano de Souza COSTA; Nair Otaviano AGUIAR.

Abstract

Black flies are insects of great importance in the transmission of etiologic agents to humans and other vertebrates. Transmit to humans and some species of filarial among them in the Amazon region is *Mansonella ozzardi* (MANSON, 1897). The upper river Negro is lacking in epidemiological studies and is considered by researchers as a region of many diseases. This study aimed to identify the current status of transmission of *M. ozzardi* nine coastal communities in the middle river Içana. We performed three consecutive days catch of black flies in the period from 06:00 to 18:00 hours with one hour intervals. Parallel to this activity capture, we recorded data on the temperature (°C) relative humidity (%) and brightness (lux) to verify the possible influence of these factors on the biting black flies. He was captured a total of 3393 specimens of the species *Simulium argentiscutum* Shelley e Luna Dias, 1980. It was observed that *S. argentiscutum* presented seasonally differentiated in the studied communities with abundance prevalent during the rainy season. The biting activity was relatively uniform throughout the day, with increased activity early in the morning period beginning of the afternoon, in the morning and that the intensity of the biting activity is higher than in the afternoon. We also observed that the natural infection rate is considered high in the communities studied in the middle river Içana and should be treated as a public health issue.

INTRODUÇÃO

Os piuns (assim conhecidos na região amazônica) pertencem à família Simuliidae, são insetos hematófagos e considerados transmissores de agentes etiológicos a diversos grupos de animais vertebrados, inclusive ao homem, cujas filárias estão incluídas (CROSSKEY, 1990).

No Brasil existem aproximadamente 200 espécies de filárias, mas apenas algumas são patogênicas e poucas são encontradas parasitando o homem, dentre elas encontram-se: *Wuchereria bancrofti* Cobbold, 1877, *Onchocerca volvulus* Leuckart, 1893, *Mansonella ozzardi* (Manson, 1897) e *Mansonella perstans* (Manson, 1891).

Na Amazônia encontram-se a *Mansonella perstans*, *Mansonella ozzardi* e *Onchocerca volvulus*. Dentre essas filárias, a *O. volvulus* causa lesões irreversíveis nos olhos das pessoas e lesões cutâneas e é atualmente a filária de maior importância médica. A *M. ozzardi*, que também é de grande importância do ponto de vista médico, causa no homem a doença denominada de mansonelose, formando acúmulos de microfilárias nos vasos periféricos. Em pessoas com um grande índice de filárias no sangue periférico é desenvolvido um quadro sintomático formado por febre baixa, frieza nas pernas, dores nas articulações e dor de cabeça (BATISTA et al., 1960).

A filária *Mansonella ozzardi* é um Nematoda da família Onchocercidae. O registro histórico dessa espécie começa em 1897, quando foi descrita por Patrick Manson, a partir de microfilárias encontradas em amostras de sangue periférico coletadas por Ozzard em habitantes da Guiana pertencentes à etnia Caraíbas. O agente infeccioso dessa filariose foi originalmente denominado de *Filaria ozzardi* e posteriormente passou a integrar o gênero *Mansonella* Faust, 1929. Os vermes deste gênero são filarídeos humanos encontrados unicamente em áreas tropicais e subtropicais das Américas Central e do Sul (TAVARES e FRAIHA-NETO, 1997), sendo detectados focos no México, Panamá, Guatemala, Colômbia, Venezuela, Guiana, Suriname, Peru, Bolívia, norte da Argentina, Brasil e nas ilhas Caribenhas Trinidad, Haiti e S. Vicent (NATHAN, 1978; NATHAN et al., 1979; RACCURT et al., 1980; KATZ et al., 1986). Dentre os países sul-americanos, só não há registro até o momento, para o Chile, Uruguai e Paraguai. A primeira ocorrência de *M. ozzardi* no Brasil foi registrada por Deane (1949) em Manaus, no estado do Amazonas. Mais tarde, Deane et al. (1954) citaram *M. ozzardi* em outras localidades do Amazonas. Essa filária também foi encontrada nos estados de Mato Grosso e Roraima, mas sua maior ocorrência é assinalada no estado do Amazonas, nos municípios a oeste de Manaus, em Lábrea e Boca do Acre (RACHOU, 1957), e em comunidades localizadas ao longo do rio Purus (SHELLEY, 1975) e rio Solimões (MEDEIROS e PY-DANIEL, 2004; MEDEIROS et al., 2007).

Quanto à morfologia, as microfilárias caracterizam-se por ausência de bainha, primeiros núcleos somáticos tipicamente dispostos em fila única

(pelo menos em gota espessa, os dois primeiros formam um par típico, um atrás do outro), e nas preparações coradas os núcleos somáticos coram densamente; cauda fina, não muito longa, terminando em forma de gancho ou foice; núcleos caudais reduzidos a uma fila de 7 a 9 elementos; ponta da cauda desprovida de núcleos. As fêmeas de *M. ozzardi* apresentam o corpo branco, transparente, com uma cutícula lisa e homogênea, medindo de 32 a 61 mm de comprimento por 0,15 mm de diâmetro. Os machos medem a metade do tamanho da fêmea (24 a 28 por 0,07 mm), com sistema reprodutor em tubo simples e testículo disposto na região esofágica, apresentam duas espículas, sendo o esquerdo maior que o direito, onze papilas periclocais, e outros dois pares mais salientes próximos à extremidade posterior, que é recurvada anteriormente. As microfilárias estudadas por Tavares e Alecrim (1980), de pacientes do vale do rio Ituxi no município de Lábrea no estado do Amazonas que medem 162 x 4µm, são semelhantes às encontradas no município de Codajás também no estado do Amazonas por outro pesquisador (MORAES, 1959).

M. ozzardi pode ser transmitida ao homem por insetos hematófagos das famílias Simuliidae (piuns ou borrachudos) ou Ceratopogonidae (maruins). Na região amazônica, Cerqueira (1959) atribuiu a transmissão da *M. ozzardi* ao homem através do *Simulium amazonicum* Goeldi, 1905 (Diptera: Simuliidae) sendo este o primeiro relato da transmissão de *M. ozzardi* no Brasil por simulídeos. Coincidentemente, a distribuição de *S. amazonicum* ocorre praticamente em toda região dos rios Solimões e Purus onde é encontrada a maior prevalência de *M. ozzardi*. Para o desenvolvimento dos ovos, as fêmeas de simulídeos necessitam de uma alimentação de sangue de vertebrados, e é justamente no momento da obtenção desse sangue que as fêmeas infectadas transmitem os agentes etiológicos tais como: vírus, bactérias, protozoários e filárias (CROSSKEY, 1990). Na região Neotropical, 22% das espécies de simulídeos se alimentam de sangue humano e bovino (COSCARON, 1989).

Atualmente, a nomenclatura de Simuliidae da região Neotropical nos níveis genérico e subgenérico é controversa. Vários autores tentam elucidar o grupo de espécies *Amazonicum* que envolve a principal espécie vetora de *Mansonella ozzardi* na Amazônia, em particular no estado do Amazonas. Neste trabalho seguiremos a última lista mundial de espécies para Simuliidae de Crosskey e Howard (1997), que também é utilizada por diversos pesquisadores que trabalham atualmente com o grupo na região Neotropical, até que uma revisão criteriosa mundial do gênero *Simulium* seja realizada.

Este trabalho teve como principal objetivo verificar a atual situação da transmissão de *M. ozzardi*, envolvendo espécies vetoradas de piun, em comunidades ribeirinhas no médio rio Içana, no estado do Amazonas. Os

objetivos específicos foram 1) conhecer a frequência de picada dos possíveis vetores de *M. ozzardi*, em diferentes épocas do ano verificando qual é a maior ou menor época de transmissão da filária, 2) verificar ao longo do dia o período de maior atividade hematofágica dos espécimes de simulídeos e conseqüentemente qual o horário de maior probabilidade de transmissão de *Mansonella ozzardi* e 3) verificar a taxa de infecção parasitária dos espécimes de simulídeos infectados naturalmente por *M. ozzardi*.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no município de São Gabriel da Cachoeira, estado do Amazonas, em nove comunidades ribeirinhas do médio rio Içana. Os locais de coletas foram selecionados tomando como base as sedes das comunidades do médio rio Içana. As comunidades estudadas foram: **1.** Nazaré (1°13'02"N / 67°50'57"W); **2.** Ambaúba (1°17'35"N / 67°54'21"W); **3.** Castelo Branco (1°21'44"N / 67°57'19"W); **4.** Belém (1°23'11"N / 68°01'04"W); **5.** Taiacu Cachoeira (1°23'06"N / 68°04'08"W); **6.** Tunuí Cachoeira (1°23'26"N / 68°09'12"W); **7.** São José (1°29'11"N / 68°13'13"W); **8.** Santa Rosa (1°27'54"N / 68°17'11"W); **9.** Uarirambá (1°31'27"N / 68°10'22"W) (Figura 1).



Figura 1

Mapa da localização geográfica das comunidades estudadas no médio rio Içana no município de São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brasil.

Foram realizadas nove expedições durante o período compreendido entre novembro de 2008 e novembro de 2009 para captura de simulídeos. No período seco as atividades de captura de simulídeos foram realizadas nas comunidades Belém, Taiaçú Cachoeira, Santa Rosa e São José, enquanto que no período chuvoso as capturas foram realizadas nas comunidades Tunuí Cachoeira, Nazaré, Ambaúba, Castelo Branco e Uarirambá. Durante as capturas de simulídeos foram coletados dados de temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade.

O processo de captura de simulídeos em sua fase adulta, para verificação da atividade hematofágica, foi realizado por três dias consecutivos em cada comunidade (perfazendo um total de 27 dias de captura de simulídeos na região) durante o período diurno, das 06:00 às 18:00 horas (totalizando 36 horas por comunidade), em intervalos de 1 em 1 hora, somando 324 horas de coletas durante o estudo. A metade das capturas de simulídeos foi realizada no período matutino e a outra metade no período vespertino. Os espécimes foram coletados manualmente com auxílio de tubo aspirador, ao chegar próximo à pessoa coletora, identificados com microscópio estereoscópico e fixados em álcool absoluto em frascos devidamente etiquetados e separados em intervalos de uma em uma hora. Com esse procedimento foram obtidos dados para a verificação da frequência horária mensal e em que período do dia e do ano há uma maior ou menor atividade de picada e, por consequência, obter-se-á dados da transmissão de *M. ozzardi*. Segundo Medeiros (1998), os padrões de picadas no período diário são variáveis conforme a temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade. Portanto, dados desses fatores climáticos foram coletados em intervalos de uma em uma hora ao longo dos dias de coletas de simulídeos. Os dados de temperatura e umidade foram obtidos através de um Termo-anemômetro TAD 500 da Instrutherm. Os dados de luminosidade foram obtidos através de um Luxímetro LD 200 da Instrutherm. Em laboratório, os mosquitos adultos foram identificados em nível de espécie e dissecados seguindo a técnica de Davies e Crosskey (1991). Após passar por este processo, os espécimes devidamente montados em lâminas foram analisados em microscópio óptico para a verificação da presença de microfilárias e estádios larvais (larva de primeiro estágio L1, segundo estágio L2 e larva infectante L3) nas estruturas internas dos mosquitos de acordo com a classificação de Ramirez-Perez (1977), obtendo-se assim o nível de infecção natural dos simulídeos.

Teste de correlação de Pearson foi aplicado entre os fatores abióticos e a atividade hematofágica. Aplicando-se o “t Teste”, verificou-se que a temperatura e luminosidade foram menores no período de chuva, mas não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) aos dados coletados em período de seca. A umidade relativa do ar foi mais elevada no período de

chuva do que no período de seca, mas também não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) em relação ao período de seca. Para a análise estatística dos dados obtidos utilizou-se o programa Systat 7.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de ética da UFAM sob o número CAAE: 0194.0.115.000-07, bem como autorizado pelo IBAMA sob o nº 11295-1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Simulium (Cerqueirellum) argentiscutum Shelley e Luna Dias, 1980 foi a única espécie de Simuliidae capturada em atividade hematofágica durante as coletas, totalizando 3.393 espécimes desta espécie neste estudo.

Flutuação populacional de *Simulium (C.) argentiscutum*

No período chuvoso foram capturados 1.987 (58,6%) exemplares desse piom e no período de seca foram capturados 1.406 (41,4%).

O maior número de indivíduos capturados foi na comunidade Nazaré (no período chuvoso), onde foram encontrados 952 espécimes. A comunidade que apresentou o segundo maior número de capturas foi a comunidade Santa Rosa com 529 capturas (no período de seca). Das outras comunidades foram registrados os seguintes números, por ordem decrescente: Taiacú Cachoeira com 414 espécimes capturados (no período de seca); Tunuí Cachoeira 332 indivíduos capturados (no período de chuva); Ambaúba, 281 (no período chuvoso); São José 260 (no período de seca); Uarirambá, 259 (no período de chuva); Belém, 203 indivíduos (no período de seca); e em Castelo Branco ocorreram 163 (no período chuvoso), sendo esta a comunidade onde houve o menor número de capturas. Houve variação no tamanho das populações de *Simulium (C.) argentiscutum*, em diferentes épocas do ano. A maioria dos exemplares foi coletada no período da estação chuvosa. Esse fato pode ser explicado pelo aumento brusco do nível do rio, por ser a região de coleta cabeceira dos rios afluentes do rio Içana, podendo alterar constantemente as condições dos criadouros podendo ocasionar um aumento ou diminuição populacional deste simuliídeo, uma vez que os simuliídeos são insetos de metamorfose completa e as fases de ovo, larva e pupa se desenvolvem em ambiente aquático.

Sobre *Simulium (C.) argentiscutum* pouco se sabe de sua sazonalidade, devido à carência de trabalhos na região amazônica, tanto brasileira como em países vizinhos. Mas, nesse estudo, esta espécie demonstrou um padrão

de atividade semelhante aos indivíduos do estudo feito por Medeiros (2001), também com esta espécie, em uma comunidade do baixo rio Solimões, que obteve maior frequência de capturas durante o período de chuva, atribuindo esse fato, ser influenciado pelo regime hídrico da região amazônica. Esse autor também verificou que essa espécie, naquela região de estudo, pode migrar para área de várzea no período de alagação para realizar atividade hematofágica em outros vertebrados tais como macacos e aves, sugerindo que possa ser essa uma estratégia de sobrevivência da espécie em condições adversas.

Os dados aqui obtidos corroboram com trabalhos desenvolvidos com outras espécies de simuliídeos também no alto rio Negro (estado do Amazonas), tais como: Medeiros e Py-Daniel (1999) que ao estudarem a transmissão de *Onchocerca volvulus* pela espécie *Cerqueirellum oyapockense* (Floch e Abonnenc, 1946) (= *Simulium oyapockense*) em Xitei/Xidea na área Yanomami no estado de Roraima, também coletaram um número maior de simuliídeos na época de maior índice pluviométrico. Ainda, dentro da Reserva Yanomami, mas na localidade de Toototobi, Shelley (1988a) trabalhando com *Simulium oyapockense* também obteve dados semelhantes ao nosso estudo.

Em outras regiões da Amazônia, bem como com outras espécies de simuliídeos, Lacey (1981) e Lacey e Charlwood (1980) verificaram em estudos desenvolvidos, respectivamente, em Uruá no Pará e Aripuanã no Mato Grosso, que a espécie *Simulium sanguineum* Knab, 1915 demonstrou um maior tamanho populacional no início e durante a estação de menor índice pluviométrico.

Em estudos realizados em outros países sul-americanos, sobre a transmissão de *Onchocerca volvulus* por outras espécies de simuliídeos vetoras, também foram observadas variações nos tamanhos populacionais de acordo com a época do ano. Uma maior atividade hematofágica foi registrada no período de maior índice pluviométrico, fato verificado por Narbaiza (1987), na Venezuela e por Collins et al. (1981), envolvendo o *Simulium metallicum* Bellardi, 1859 em estudo desenvolvido na Guatemala.

Muito se discute sobre a estratégia de sobrevivência dessa espécie, já que não se sabe o local exato de reprodução da espécie. Os locais que são propícios à reprodução passaram por exaustivas coletas por outros pesquisadores e não se obteve os estádios larvais e pupal, o que sinaliza para uma alternativa no mecanismo de reprodução quanto ao local de desova. Levanta-se, também, a hipótese da mudança de hábito alimentar em épocas adversas para a sobrevivência da espécie. Há espécies que mudam a sua preferência alimentar de acordo com a época do ano. É o caso de *Simulium bipunctatum* Malloch, 1912 que segundo Shelley et al. (1997) pode variar seu hábito antropofílico para zoofílico de acordo com a época do ano.

Atividade hematofágica durante o período diurno (matutino e vespertino)

Para verificação da atividade hematofágica durante sua atividade diurna, os exemplares de *Simulium (C.) argentiscutum* foram capturados das 06:00 às 18:00 horas separadas em intervalos de 1 em 1 hora (dividido entre o período matutino e vespertino). No período matutino foram capturados 1.846 (54,4%) espécimes e no período vespertino foram capturados 1.547 (45,6%) espécimes. Esses exemplares foram distribuídos por comunidade e, respectivamente, nos dois períodos diurnos (matutino e vespertino) (Figura 2): Nazaré - 419 (44%) e 533; Ambaúba - 163 (58%) e 118 (42%); Castelo Branco - 83 (50,9%) e 80 (49,1%); Belém - 119 (58,6%) e 84 (41,1%); Taiacú Cachoeira - 226 (54,6%) e 188 (45,4%); Tunuí Cachoeira - 195 (58,7%) e 137 (41,3%); (56%); São José - 176 (67,7%) e 84 (32,3%); Santa Rosa - 291 (55%) e 238 (45%); Uarirambá - 174 (67,2%) e 85 (32,8%).

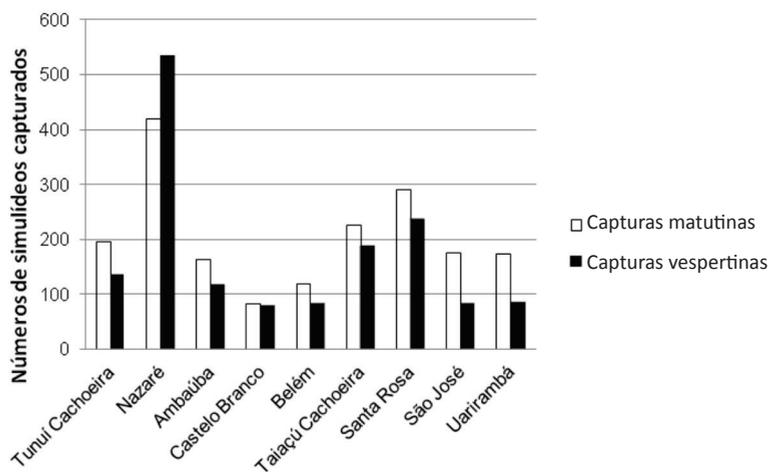


Figura 2

Atividade hematofágica de *Simulium (C.) argentiscutum* nos períodos matutino e vespertino em nove comunidades ribeirinhas do médio rio Içana no município de São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brasil.

No período matutino, a maior atividade de hematofagia foi registrada na comunidade Nazaré no intervalo de captura de 10:00 às 11:00 horas,

sendo capturados 100 espécimes. O menor registro de capturas no período matutino ocorreu na comunidade Santa Rosa onde foram capturados oito simuliídeos entre 11:00 e 12:00 horas. No período vespertino, a maior atividade hematofágica foi registrada na comunidade Nazaré com 115 simuliídeos capturados no intervalo de 15:00 às 16:00 horas e a menor atividade hematofágica foi no período de 17:00 às 18:00 horas na comunidade Ambaúba. Esses resultados são semelhantes aos verificados por Medeiros (2001) estudando esta espécie em uma comunidade no baixo rio Solimões, constatando um aumento da atividade hematofágica nos horários de capturas entre 10:00 e 15:00 horas e após esse horário há uma queda acentuada da atividade dos simuliídeos. Cerqueira (1959), no estudo sobre a transmissão de *Mansonella ozzardi* no município de Codajás, Amazonas, verificou uma maior atividade hematofágica de *Simulium (C.) argentiscutum* em capturas realizadas no período da manhã. Esta mesma espécie também foi coletada com maior frequência nas primeiras horas da manhã e ao fim do dia por Cerqueira e Nunes de Mello (1964).

Diante dos resultados obtidos, a atividade hematofágica deste simuliídeo foi relativamente uniforme ao longo dos três dias consecutivos de capturas em cada comunidade. Na comunidade Nazaré houve uma discrepância no número de capturas em relação às demais comunidades. Essa discrepância pode ter sido influenciada por um período de intenso calor e ausência de chuva nos dias que antecederam as capturas. A atividade de captura na comunidade Nazaré ocorreu no mês de fevereiro de 2009 que segundo Ribeiro e Adis (1984), está dentro do período de chuvas na região amazônica.

Estudando *Simulium amazonicum* Goeldi, 1905, Shelley et al. (1982) capturaram espécimes do amanhecer ao anoitecer, com uma maior atividade entre 07:00 – 08:00 horas e 15:00 – 18:00 horas. Shelley (1988a; 1988b), detectou que *Simulium oyapockense* possui atividade ao longo do dia e com um aumento de atividade no final do período vespertino. Este mesmo relato foi obtido também por Medeiros e Py-Daniel (1999) no estudo de atividade hematofágica de *Thyrsopelma guianense* (Wise, 1911) (= *Simulium guianense*) e por Andreatze e Py-Daniel (1999), para *Psaroniocompsa incrustata* (Lutz, 1910) (= *Simulium incrustatum*).

A identificação dos horários de maior atividade dos simuliídeos é de fundamental importância no sentido de se evitar o contato homem/vetor e para facilitar futuras capturas para estudos de atividades hematofágicas, uma vez que tendo o conhecimento do horário de maior atividade, o esforço para futuras capturas poderá ser menor.

Fatores climáticos e atividade hematofágica

Diversos trabalhos (LACEY e CHARLWOOD, 1980; SHELLEY et al., 1997; ANDREAZZE, 1999; MEDEIROS e PY-DANIEL, 1999; MEDEIROS, 2001) buscaram elucidar a interferência dos fatores climáticos sobre a atividade hematofágica dos simuliídeos na região amazônica. Visando contribuir com esse estudo, foi coletado, paralelamente à captura de simuliídeos em cada comunidade estudada, dados de temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade. A temperatura e luminosidade foram menores no período de chuva, mas não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) aos dados coletados em período de seca. A umidade relativa do ar foi mais elevada no período de chuva do que no período de seca, mas também não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) em relação ao período de seca. Considerando todas as comunidades estudadas, a temperatura média foi de 29,5 °C. Esses dados estão relatados por comunidade, a seguir:

1. Nazaré. A temperatura variou entre 23,2° C no intervalo 06:00 – 07:00 horas e 30,9 °C no intervalo 12:00 – 13:00 horas, sendo capturado respectivamente 31 e 73 simuliídeos. O pico de atividade hematofágica ocorreu no intervalo de 15:00 – 16:00 horas com temperatura de 30,6 °C sendo capturados 115 simuliídeos. A menor atividade hematofágica ocorreu no intervalo 06:00 – 07:00 horas com temperatura de 23,2 °C e 31 simuliídeos capturados. A umidade relativa do ar variou entre 67,3% e 81,3%. A menor atividade ocorreu com a umidade medindo 81,3% no intervalo de 06:00 – 07:00 horas sendo capturados 31 simuliídeos. A maior atividade hematofágica ocorreu no intervalo de 15:00 – 16:00 horas com 67,3% de umidade relativa do ar sendo capturados 115 simuliídeos. A luminosidade variou entre 5034 lux no intervalo 16:00 – 17:00 horas sendo capturados 101 simuliídeos e 1.0591,3 lux no intervalo 12:00 – 13:00 horas com 73 capturas de simuliídeos.

2. Ambaúba. A temperatura variou entre 23,3 °C e 30,4 °C. A umidade relativa do ar variou entre 68 e 81% e a luminosidade variou entre 1011 e 7416 lux. A maior atividade hematofágica ocorreu no intervalo de 09:00 – 10:00 horas com temperatura de 28,7°C, umidade relativa do ar de 72% e 6560 lux de luminosidade O menor pico de atividade hematofágica ocorreu no intervalo entre 17:00 - 18:00 horas com temperatura de 27,8 °C, umidade relativa do ar de 74% e luminosidade de 1.245 lux.

3. Castelo Branco. A variação da temperatura ficou entre 23,7 °C e 34,3 °C. A variação da umidade relativa do ar foi entre 79% e 62% e a luminosidade variou entre 91,6 e 12818 lux. A maior atividade hematofágica ocorreu no intervalo de 15:00 – 16:00 horas com temperatura de 33,3 °C,

umidade relativa do ar de 64% e luminosidade de 9.172,3 lux e a menor atividade hematofágica ocorreu no intervalo entre 17:00 – 18:00 horas com temperatura de 27,7 °C, umidade relativa do ar de 71% e 1.387,3 lux de luminosidade.

4. Belém. A variação na temperatura foi entre 23 °C e 34 °C, a umidade relativa do ar entre 61% e 80% e uma variação na luminosidade entre 89,5 e 6.228,3 lux. A maior de atividade hematofágica ocorreu no intervalo entre 06:00 – 07:00 horas com 80% de umidade relativa do ar, luminosidade de 89,5 lux e temperatura de 23 °C. No intervalo de 17:00 – 18:00 horas houve a menor atividade hematofágica nesta comunidade, com temperatura de 30 °C, 68% de umidade relativa do ar e 1.397,3 lux de luminosidade.

5. Taiacú Cachoeira. A menor temperatura registrada foi de 23,7 °C e a maior foi de 33 °C. A umidade relativa do ar variou entre 62% e 80% e a luminosidade variou entre 262 e 8396,3 lux. A maior atividade hematofágica ocorreu no intervalo de 06:00 – 07:00 e 08:00 – 09:00 horas. No primeiro a temperatura registrada foi de 23,7 °C, 80% de umidade relativa do ar e 262 lux de luminosidade e no segundo a temperatura foi de 29,7 °C, 71% de umidade e 3593 lux de luminosidade. Já a menor atividade hematofágica ocorreu no intervalo entre 17:00 – 18:00 horas, com temperatura de 31 °C, 66% de umidade relativa do ar e 2.634 lux de luminosidade.

6. Tunuí Cachoeira. A temperatura variou entre 19,3 °C no intervalo de 06:00 – 07:00 horas e o pico de atividade hematofágica ocorreu no intervalo de 09:00 – 10:00 horas com temperatura de 21,4 °C. A menor atividade hematofágica foi registrada em dois intervalos distintos de captura. O primeiro ocorreu com temperatura de 22,7 °C no intervalo de 11:00 - 12:00 horas e o segundo ocorreu com temperatura de 20,9 °C no intervalo de 17:00 – 18:00 horas. A umidade relativa do ar variou entre 61% no intervalo de 14:00 – 15:00 a 83% no intervalo de 07:00 – 08:00 horas, sendo capturados neste intervalos respectivamente 17 e 27 simulídeos. A luminosidade apresentou uma variação entre 660,5 lux no intervalo 06:00 – 07:00 horas com 36 capturas e 5.041,3 lux com 16 simulídeos capturados no intervalo 12:00 – 13:00 horas.

7. São José. A temperatura registrada variou entre 25,3 °C e 35,6 °C, a umidade relativa do ar entre 55% e 78% e a luminosidade variou entre 374,5 lux e 9269.7 lux. A maior atividade hematofágica foi registrada nessa comunidade no intervalo entre 06:00 – 07:00 horas com temperatura de 25,3 °C, 78% de umidade e 374,5 lux de luminosidade. A menor atividade hematofágica foi registrada no intervalo de 17:00 – 18:00 horas com 30,2 °C de temperatura, 67% de umidade e 1.803,3 lux de luminosidade.

8. Santa Rosa. Teve uma variação na temperatura entre 23 °C e 33 °C, a umidade relativa do ar variou entre 62% e 81% e a luminosidade variou entre 551 e 14297,6 lux. A maior atividade hematofágica foi registrada no intervalo de 06:00 - 07:00 horas com temperatura de 23 °C, 81% de umidade relativa do ar e 551 lux de luminosidade. A menor atividade hematofágica foi registrada no intervalo entre 11:00 - 12:00 horas com temperatura de 32 °C, 63% de umidade e 1.4297,6 lux de luminosidade.

9. Uarirambá. Foi registrada uma variação da temperatura entre 25,4 °C, 80% de umidade e 375,1 lux de luminosidade. A maior atividade hematofágica ocorreu no intervalo entre 06:00 - 07:00 horas com temperatura de 25,4 °C, 75% de umidade e 374,1 lux de luminosidade. A menor atividade hematofágica ocorreu no intervalo entre 17:00 - 18:00 horas com temperatura de 30,3 °C, 69% de umidade relativa do ar e 1.806,9 lux de luminosidade.

De uma maneira geral, observou-se uma associação direta entre a temperatura e a atividade hematofágica de *Simulium (C.) argentiscutum*. A menor atividade hematofágica ocorreu na comunidade Ambaúba com uma temperatura de 27,8 °C, abaixo da temperatura média dentre todas as registradas nas comunidades estudadas. A maior atividade ocorreu na comunidade Nazaré com temperatura de 30,6 °C. A umidade relativa do ar apresentou uma correlação negativa ($r = -0,96$) com a atividade hematofágica, onde se observou que a menor atividade ocorreu com uma umidade mais elevada, já a maior atividade ocorreu com a umidade em queda. Em relação à luminosidade, observou-se uma correlação significativa com a atividade hematofágica. Quando aumentava a luminosidade, a atividade hematofágica aumentava embora em alguns intervalos no início da manhã durante o período de chuva apresentou-se uma atividade hematofágica acima da média. Tal fato pode estar relacionado à estratégia de sobrevivência citada por Shelley et al. (1997) e Medeiros (2001). Diante de todos esses fatos, observou-se que a temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade atuaram de forma direta na atividade hematofágica de *Simulium (C.) argentiscutum* nas comunidades estudadas, porém de forma diferente dependendo da estação.

Lacey e Charlwood (1980) estudaram *Simulium sanguineum* em duas áreas: Em Aripuanã, Mato Grosso, no mês de junho, e concluíram que sua atividade não foi limitada pela alta luminosidade, alta temperatura e baixa umidade relativa do ar, mas no início da manhã quando a temperatura foi menor que 18 °C. Já em Uruá no Pará, essa mesma espécie apresentou dois picos de atividades hematofágicas: um pela manhã na medida em que a temperatura e luminosidade aumentaram no mês de junho e outro ao final do dia com aumento da umidade e diminuição da temperatura no mês de

agosto na estação seca. Segundo esses autores, a diminuição da atividade ao meio dia ocorreu devido ao aumento da temperatura e diminuição da umidade.

Medeiros e Py-Daniel (1999) verificaram em Xitei que a temperatura, umidade relativa e pressão atmosférica, foram possivelmente os fatores de maior influência na atividade de *Cerqueirellum oyapockense* (= *Simulium oyapockense*).

Andreazze (1999) demonstrou uma correlação positiva da temperatura, pressão atmosférica e luminosidade e correlação negativa da umidade com a atividade hematofágica de *Psaroniocompsa incrustata* (Lutz, 1910) em Xitei/Xidea, Roraima. Andreazze (1999) ainda afirma que a temperatura, a umidade relativa e a pressão atmosférica atuam por todo o período de atividade e a luminosidade tem principal atuação no período da manhã. Davis et al. (1994) observaram que durante a estação chuvosa, a atividade hematofágica dos indivíduos de *Simulium yahense* Vajime e Dunbar, 1975 foi influenciada pela temperatura e pela umidade relativa do ar durante o amanhecer e ao entardecer. Já durante a estação seca, somente a pressão atmosférica demonstrou um maior efeito na atividade hematofágica.

Fredeen e Mason (1991) constataram que a atividade hematofágica de *Simulium luggeri* Nicholson e Mickel, 1950 foi limitada principalmente pela velocidade do vento acima de 15 km/h, seguida pela temperatura abaixo de 20 °C. Segundo os mesmos autores, a nebulosidade, pressão atmosférica e luminosidade não influenciaram na atividade hematofágica de *S. luggeri*.

Infecção natural de *Simulium* (*C.*) *argentiscutum*

Dos 3.393 exemplares deste pium capturados, apenas 35 estavam infectados por *Mansonella ozzardi*, apresentando uma taxa de infecção de 1,03%. Foram encontradas 55 larvas de *Mansonella ozzardi*, sendo que 54 estavam no estágio L1 e uma larva no estágio L3 (Figura 3). Esses números estão distribuídos por comunidade estudada a seguir:

1. Nazaré. As capturas foram feitas no período de chuva e foram coletados seis (0,63%) simulídeos infectados por *M. ozzardi* de um total de 952 simulídeos capturados, sendo encontradas 12 larvas no estágio L1.

2. Ambaúba. Também no período de chuva e foram capturados dois (0,71%) simulídeos infectados no estágio L1 de *M. ozzardi* de um total de 281 capturas de simulídeos;

3. Castelo Branco. Durante o período de chuva foram registradas 163 capturas de simulídeos e destes três (1,84%) estavam infectados por *M. ozzardi*. Foram identificadas três larvas no estágio L1;

4. Belém. No período de seca foram capturados 203 indivíduos, desses dois (0,99%) estavam infectadas por *M. ozzardi*. As duas larvas encontravam-se no estágio L1;

5. Taiaçu Cachoeira. Onde foram capturados 414 simuliídeos, no período de seca, destes dois (0,48%) estavam infectados com larvas L1;

6. Tunuí Cachoeira. No período de chuva foram coletados dos 332 simuliídeos, entre os quais cinco (1,51%) estavam infectados por *M. ozzardi*, sendo todas as larvas do estágio L1 no total de nove larvas;

7. São José. Coletas feitas no período de seca e foram capturados 260 simuliídeos, dos quais três (1,15%) estavam infectados por *M. ozzardi* e todas as larvas encontravam-se no estágio L1;

8. Santa Rosa. As capturas foram no período de seca e ocorrem de um total de 529, destes oito (1,51%) simuliídeos estavam infectados por *M. ozzardi*. Dentre os simuliídeos infectados um tinha infecção dupla, com larvas L1 e L3. Dentre as larvas encontradas, 16 eram larvas do estágio L1 e uma era larva infectante ou L3;

9. Uarirambá. Nesta comunidade foi coletado um total de 259 simuliídeos em período de chuva, dos quais quatro (1,54%) estavam infectados por *Mansonella ozzardi*. Todas as 16 larvas encontradas eram do estágio L1.

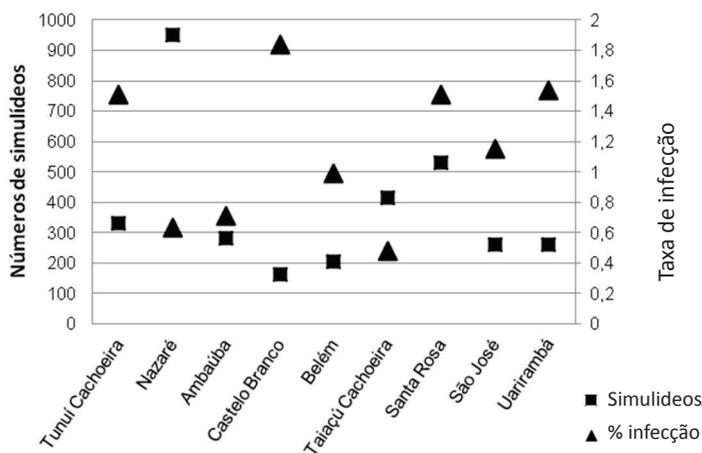


Figura 3

Taxa de Infecção Parasitária (TIP) de *Simulium (C.) argentiscutum* em nove comunidades do rio Içana no município de São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brasil.

A maior taxa de infecção (1,84%) ocorreu na Comunidade de Castelo Branco, porém o maior número de piuns infectados foi encontrado na Comunidade de Santa Rosa e onde ocorreu o número mais elevado desses insetos. Na Comunidade de Nazaré, houve um dos menores valores (0,63%) de infecção, acima apenas da comunidade de Taiaçú Cachoeira, com 0,48%, sendo esta a menor taxa de infecção. Considerando que as comunidades estão localizadas próximas ao longo do rio Içana, podemos inferir que a taxa média de infecção seja de 1,15% nesta área de estudo. Medeiros (2001) verificou a atividade hematofágica e infecção natural dessa espécie de simuliídeo em seu estudo no baixo rio Solimões e obteve uma baixíssima taxa de infecção (0,06%), atribuindo a baixa prevalência para mansonelose de pessoas em sua área de estudo.

Dos 35 espécimes infectados que foram capturados neste estudo, 22 ocorreram no período matutino e 13 no período vespertino. Esses dados diferem dos obtidos por Medeiros (2001) em seu estudo com esse simuliídeo no baixo rio Solimões, onde dos nove espécimes infectados apenas três foram capturados no período matutino e seis no período vespertino.

Os dados disponíveis atualmente sobre a taxa de infecção parasitária por *Mansonella ozzardi* são escassos e em sua grande maioria são estudos realizados nas décadas de 1960, 1970 e 1980 e envolvendo outras espécies de piun, tais como: Shelley e Shelley (1976) trabalhando no rio Purus, município de Lábrea, no estado do Amazonas, realizaram capturas durante quatro dias consecutivos no mês de outubro e capturaram 3.530 indivíduos da espécie *Simulium amazonicum* coletados em humanos e bovinos, registrando uma taxa de infecção natural de 0,99% (35); Moraes *et al.* (1985), em trabalho realizado no estado de Roraima, na área do rio Surumú para investigação da infecção natural e experimental por *Mansonella ozzardi* em *Simulium oyapockense*, não encontraram simuliídeos com infecção natural; Nathan *et al.* (1982), nas montanhas de Pacaraima, ao oeste de Guiana, registraram uma taxa de infecção natural de 2% ao capturarem 355 exemplares da espécie *Simulium minusculum*; Yarzabal *et al.* (1985), na Venezuela, no médio rio Orinoco, capturaram quatro exemplares da espécie *Simulium sanchezi* [= *S. oyapockense*] infectados com *M. ozzardi* dos 662 capturados, registrando uma taxa de infecção parasitária de 0,6%, essa taxa de infecção natural é considerada baixa pelos autores; Shelley e Coscaron (2001), na Argentina, encontraram uma taxa de infecção natural para *Simulium exiguum* de 1,03%, e, de acordo com estes autores, neste local ficou evidente que a transmissão de *M. ozzardi* é feita por indivíduos da família Ceratopogonidae (conhecidos como maruim ou meruim) que é a outra família envolvida na transmissão e de forma mais eficiente desse filaríose.

Ao compararmos a taxa de infecção de todos esses trabalhos acima, observa-se que a taxa de infecção parasitária neste trabalho é semelhante, com exceção de Medeiros (2001), o que implica que *Simulium (C.) argentiscutum* é o principal vetor de *Mansonella ozzardi* para a região. Vale salientar que na grande maioria desses trabalhos as coletas para a verificação da taxa de infecção parasitária são coletas esporádicas.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Amazonas – UFAM pelo apoio no fornecimento de passagens e condições logísticas para o desenvolvimento deste trabalho. Ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica na pessoa do Coordenador, Prof. Dr. Jaydione Marcon e Vice Coordenadora, Profa. Dra. Maria Ivone Silva.

REFERÊNCIAS

- ANDREAZZE, R. *Epidemiologia da Transmissão Natural de Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) (Nemator: Onchorcercidae) pela espécie *Psaroniocompsa incrustata* (Lutz, 1910) (Diptera: Simuliidae), em Xitei/Xidea, Área Indígena Yanomami, Roraima, Brasil. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus: INPA, 1999. 151p.
- ANDREAZZE, R.; PY-DANIEL, V. Atividade hematofágica mensal e infecção natural de *Psaroniocompsa incrustata* (Lutz, 1910) (Diptera: Culicomorpha, Simuliidae) vetor de *Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1983) em Xitei/Xidea, área indígena Yanomami, Roraima, Brasil. *Entomologia y Vectores*, v.6, n.4, p.416-440. 1999.
- BATISTA, D.; OLIVEIRA, W. R.; RABELLO, V. D. Estudo da Patogenicidade da *Mansonella ozzardi* e da Sintomatologia da Mansonelose. *Revista Instituto Medicina Tropical de São Paulo*, v.2, n.5, p. 281-289. 1960.
- CERQUEIRA, N. L. Sobre a Transmissão da *Mansonella ozzardi* 1ª e 2ª Notas (Trabalho do INPA). *Jornal Brasileiro de Medicina*, v.1, n.7, p.885-914. 1959.
- CERQUEIRA, N. L.; NUNES DE MELLO, J. A. Sobre o *Simulium amazonicum* Goeldi, 1905 (Diptera Simuliidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v.15, n.5, p.98-115. 1964.
- COLLINS, R. C.; MAURICIO, E. M.; CUPP, E. W. Seasonal Trends and Diurnal Patterns of Man-Biting Activity of Four Species of Guatemala Black Flies (Simuliidae). *American of Tropical Medicine and Hygiene*, v.30, n.3, p.728-733. 1981.
- CROSSKEY, R.W. *The Natural History of Blackflies*. New York: Edit. John Wiley & Sons, 1990. 711p.

CROSSKEY, R. W.; HOWARD, T. M. *A New Taxonomic and Geographical Inventory of World Black flies (Diptera: Simuliidae)*. London: Department of Entomology, The natural History Museum. 1997. 144p.

COSCARON, S. Los Estudios Ecológicos en Simúlidos Neotropicales (Diptera: Insecta). In: Seminários sobre insetos e ácaros. *Anais do XI Congresso da Sociedade Entomológica do Brasil*, Campinas, 1989. Campina, São Paulo. p.69-98.

DAVIES, J. B.; CROSSKEY, R.W. *Simulium - Vectors of Oncocerciasis. Training and Information Guide WHO - Division of Control of Tropical Diseases Vector Control. Series Advanced Level WHO/VBC/91.992*, 1991, 115p.

DAVIS, J. R.; WASSERMAN, S. S.; TRPIS, M. Diurnal Biting Activity and Transmission of *Onchocerca volvulus* (Filariata, Onchocercidae) by *Simulium yahense* (Diptera: Simuliidae) in Liberia. *Journal of Medical Entomology*, v.31, n.2, p.217-224. 1994.

DEANE, M. P. Sobre a incidência de filárias humanas em Manaus, Estado do Amazonas. *Revista do Serviço Especial de Saúde Pública*, v.2, n.3, p.849-858. 1949.

DEANE, L.; RACHOU, R. G.; LACERDA, N. B.; MARTINS, J. B. Alguns dados relativos à prevalência de *Mansonella ozzardi* no Brasil. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, v.6, n.2, p.219-224. 1954.

FREDEEN, F. J. H.; MASON, P. G. Meteorological factors influencing host-seeking activity of female *Simulium luggeri* (Diptera: Simuliidae). *Journal of Medical Entomology*, v.28, n.6, p.831-840. 1991.

Katz, S. P.; Raccurt, C. P.; Lowrie, Jr. R. C.; Boncy, J. Leiva, L. M. *Mansonella Ozzardi in Haiti IV. Evaluation of Antibody Antigens. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.35, n.2, p.303-307. 1986.

LACEY, L. A. Simulídeos antropofílicos no Parque Nacional da Amazônia (Tapajós), Brasil, com referencia aos efeitos no homem. *Boletim de La Oficina Sanitaria Panamericana*, v.90, n.1, p.326-338. 1981.

LACEY, L. A.; CHARLWOOD, J. D. On the Biting Activities of some Anthrophilic Amazonian Simuliidae (Diptera). *Bulletin of Entomological Research*, v.70, p.495-509. 1980.

MEDEIROS, J. F. *Epidemiologia da Transmissão Natural de Onchocerca volvulus (Leuckart, 1893) (Nematoda, Onchocercidae) pelas espécies Cerqueirellum oyapockense (Floch & Abonnenc, 1946), Ectemnaspis bipunctata (Maalloch, 1912) e Notolepria exigua (Roubaud, 1906) (Diptera, Simuliidae), em Xitei/Xidea, Área Indígena Yanomami, Roraima, Brasil*. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Fundação Universidade do Amazonas, Manaus: INPA, 1998. 105p.

MEDEIROS, J. F. *Atividade Hematofágica e infecção natural de Cerqueirellum argentiscutum (Shelley & Luna Dias, 1980) (Diptera: Simuliidae) por Mansonella ozzardi (Manson, 1897) (Nematoda: Onchocercidae) na comunidade Porto Japão, município de Manacapuru, Amazonas, Brasil*. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Fundação Universidade do Amazonas, Manaus: INPA, 2001. 147p.

MEDEIROS, J. F.; PY-DANIEL, V. Atividade Hematófaga e infecção natural de três espécies de simuliidae (Diptera: Culicomorpha) em Xitei/Xidea, Área Indígena Yanomami, Roraima, Brasil. *Entomologia y Vectores*, v.6, n.3, p.210-226. 1999.

MEDEIROS, J. F.; PY-DANIEL, V. Seasonality, parity rates and transmission indices of *Mansonella ozzardi* (Nematoda: Onchocercidae) by *Cerqueirellum argentiscutum* (Shelley & Luna Dias) (Diptera: Simuliidae) in a lower Solimões river community, Amazonas, Brazil. *Acta Amazonica*, v.34, n.2, p.201-207. 2004.

MEDEIROS, J. F.; PY-DANIEL V; BARBOSA, U. C; FARIAS, E. S. Epidemiological studies of *Mansonella ozzardi* (Nematoda, Onchocercidae) in indigenous communities of Pauini municipality, Amazonas, Brazil. *Acta Amazonica*, v.37, p.341-346. 2007.

MORAES, M. A. P. Estudo sobre a variação nictemeral da microfilaremia de *Mansonella ozzardi*. *O Hospital*, v.56, n.5, p.869-873. 1959.

MORAES, M. A. P.; SHELLEY, A. J.; LUNA DIAS, A. P. A. *Mansonella ozzardi* no Território Federal de Roraima. Distribuição e Achado de um Novo Vetor na Área do rio Surumu. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1985, 80: 395-400.

Narbaiza, G. I. L. *Transmission de La Onchocercosis entre los Yanomami de La Serra Parima, Território Federal Amazonas, Venezuela*. Trabajo de Grado de Licenciatura em Biologia, Universidade Central de Venezuela, 1987. 57p.

NATHAN, M. B. *Culicoides phlebotomus*, a vector of *Mansonella ozzardi* in coastal north Trinidad, West Indies. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. London, v.72, n.4, p.436-437. 1978.

NATHAN, M. B.; TIKASINGH, E. S.; NELSON, G. S.; SANTIAGO, A.; DAVIES, J. B. The Prevalence and Distribution of *Mansonella ozzardi* in Coastal North Trinidad, W.I. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v.73, n.3, p.299-302. 1979.

NATHAN, M. B.; TIKASINGH, E. S.; MUNROE, P. Filariasis in Amerindians of Western Guyana with Observations on Transmission of *Mansonella ozzardi* by a *Simulium* species of the *amazonicum* group. *Tropnmedizin Parasitologie*, v.33, p.219-222. 1982.

PY-DANIEL, V.; PASSOS, M. C. V.; ANDREAZZE, R.; MEDEIROS, J. F. Dinâmica da atividade hematofágica (Preferências horárias – tóxicas) e estado reprodutivo das fêmeas de *Thyrsopelma guianense* (Wise, 1911) (Diptera, Culicomorpha, Simuliidae), principal vetor da filária *Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) no Brasil. *Entomologia y Vectores*, v.7, n.4, p.389-444. 1999.

RACCURT, C.; LOWRIE, R. C. JR.; MCNEELEY, D. F. *Mansonella ozzardi* in Haiti I. Epidemiological Survey. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.29, p.803-808. 1980.

RACHOU, R. G.; LACERDA, N. B. Da variação horária de microfilaremia de *mansonella ozzardi*. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, v.6, n.3, p.104-110. 1954.

RACHOU, R. G. . – Distribuição geográfica das filaríoses humanas no Brasil. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, v.9, n.1, p.79-100. 1957.

- RAMÍREZ-PÉREZ, J. Estudio sobre la Morfología de *Simulium metallicum* Vector de la Oncocercosis Humana en Venezuela. *Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la salud, Publicación Científica*, n. 338. 1977.
- RIBEIRO, M. N. G.; ADIS, J. Local Rainfall Variability – A potencial Bias for Bioecological Studies in the Central Amazon. *Acta Amazonica*, v.14, n.1-2, p.159-174. 1984.
- SHELLEY, A. J. A preliminary survey of the prevalence of *Mansonella ozzardi* in some rural communities on the river Purus, state of Amazonas, Brazil. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, v.59, p.407-412. 1975.
- SHELLEY, A. J. Vector Aspects of the Epidemiology of Onchocerciasis in Latin America. *Annual Review of Entomology*, v.30, p.336-337. 1988a.
- SHELLEY, A. J. Biosystematics and Distribution of Simuliid Vectors of Human Onchocerciasis in South America. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.83, n.4, p.399-403. 1988b.
- SHELLEY, A. J.; COSCARON, S. Simuliid Blackflies (Diptera: Simuliidae) and Ceratopogonidae Midges (Diptera: Ceratopogonidae) as Vectors of *Mansonella ozzardi* (Nematoda: Onchocercidae) in Northern Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.96, n.4, p.451-458. 2001.
- SHELLEY, A. J.; LOWRY, C. A.; MAIA-HERZOG, M.; LUNA DIAS, A. P. A.; MORAES, M. A. P. Biosystematic Studies on the Simuliidae (Diptera) of the Amazonia Onchocerciasis Focus. *Bulletin of the British Museum (Natural History) Entomology*, v.66, n.1, p.1-121. 1997.
- SHELLEY, A. J.; LUNA DIAS, A. P. A. *Simulium argentiscutum* sp. nov. (Diptera: Simuliidae), a member of the *S. amazonicum*-group of species: description of adults, pupa and larva. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.75, p.105-111. 1980.
- SHELLEY, A. J.; PINGER, R. R.; MORAES, M. A. P. The Taxonomy Biology and medical Importance of *Simulium amazonicum* Goeldi (Diptera: Simuliidae) with a Review of Related Species. *Bulletin of the British Museum (Natural History) Entomology*, v.16, p.48-51. 1982.
- SHELLEY, A. J.; SHELLEY, A. Further evidence for the transmission of *Mansonella ozzardi* by *Simulium amazonicum* in Brazil. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, v.70, n.2, p.213-217. 1976.
- SILVA, E. C. B. F.; FONTES, G.; ROCHA, E. M. M. *Avaliação da prevalência de Filariose linfática pela Wuchereria bancrofti, utilizando teste de imunocromatografia rápida (“ICT card test”) em amostra da população das áreas endêmicas de Maceió-AL*. Monografia de Bacharelado em Farmácia, Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2004.
- TAVARES, A. M.; ALECRIM, W. D. Filariose na Área do Rio Ituxi, Lábrea, AM. *Mansonella ozzardi*: Filtro de Membrana e a Epidemiologia da Infecção. In: *Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 1980, 16: 83.
- TAVARES, A. M. *Estudo da infecção por Mansonella ozzardi*. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília, Brasília, Brasília: UNB, 1981.122p.

TAVARES, A.M.; FRAIHA NETO, H. Mansonelose. In: *Doenças infecciosas e Parasitárias, Enfoque Amazônico*, 1997. 737p.

YAZÁRBAL. L.; BASANES, M. G.; RAMIREZ-PÉREZ, J.; RAMIREZ, A.; BOTTO, C.; YAZÁRBAL A. Experimental and Natural Infection of *Simulium sanchezi* by *Mansonella ozzardi* in the Middle Orinoco Region of Venezuela. *Transactions Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1985, 79: 29-33.



CAPÍTULO 9

HIDROQUÍMICA DOS RIOS E DISTÂNCIA GEOGRÁFICA: DIFERENÇAS EVIDENCIADAS NA ESTRUTURA CARIOTÍPICA DE *MESONAUTA FESTIVUS* (CICHLIDAE, PERCIFORMES)

*Livia Silva dos SANTOS-PERES; Carlos Henrique SCHNEIDER;
Maria Leandra TERCENIO; Eliana FELDBERG; Maria Claudia GROSS*

Abstract

The wide distribution Amazon fishes, like *Mesonauta festivus*, had to develop behavioral and molecular adaptative strategies to live in many kinds of water. The objective of the present study is understand the karyotype organization of *M. festivus* from two Amazon alopatric populations with different physicochemical parameters waters, using cytogenetic markers (diploid number, constitutive heterochromatin distribution, number and localization of ribosomal DNA sites and nucleolar organizing regions). Six specimens (three males and three females) of *M. festivus* from Catalão Lake (AM) and six specimens (three males and three females) from Amazonas River (PA) were analyzed. All individuals had diploid number equal 48 chromosomes and RONS multiple, with 2 up 4 active sites. The ribosomal sites 5S gene were localized interstitially in the 8 and 24 chromosome pairs, and the DNAr18S sites were localized in the short arms of the 2, 17, and 18 chromosome pairs. The constitutive heterochromatin was distributed in the centromeric region in the most part of the complement chromosome. Some differences in the heterochromatin distribution pattern were observed between the individuals from different populations, and only in the samples from Amazonas River were observed bitelomeric blocks in the 1, 9 and 16 pairs. This information leads to infer that physicochemical characteristics in the aquatic environment and geographic distance are correlated to differences found in the heterochromatin organization of studied populations of *M. festivus*.

INTRODUÇÃO

A bacia Amazônica é extensa (6.110.000 km²) e constituída por um complexo sistema de drenagem, sendo encontrados nesta região três tipos de águas com diferentes características físico-químicas que possibilitam a sua distinção. As águas brancas apresentam-se turvas, com baixa transparência, composição química rica em sais minerais, pH quase sempre próximo ao neutro (6,5 a 7) e condutividade alta. As águas pretas apresentam cor escura devido a grande concentração de ácidos húmicos e fúlvicos que se originam da decomposição incompleta da matéria orgânica das florestas que circundam os rios, pH ácido (entre 3,0 e 5,0), ausência de cálcio/magnésio e pobreza de sais minerais. As águas claras apresentam maior transparência, com pH variando entre 4,5 e 7,0 e condutividade relativamente baixa (SIOLI, 1984; FURCH, 1984; GOULDING et al., 2003).

Como os organismos aquáticos respondem diretamente às alterações na composição físico-química do meio, os peixes amazônicos desenvolveram um avançado conjunto de habilidades para viver nestes diferentes ambientes e estas estratégias adaptativas ocorrem desde o nível molecular até o nível comportamental (WOOTON, 1990; WILKELSKI e COOKE, 2006). Isso pode ter favorecido o surgimento da grande diversidade de espécies que a bacia Amazônica apresenta, muitas com potencial para criação em aquários, tais como as pertencentes ao gênero *Mesonauta*, que compreende seis espécies: *Mesonauta acora* (sub-bacia do Tocantins e Xingu), *Mesonauta egregius* (bacia do rio Orinoco), *Mesonauta festivus* (bacia do rio Paraná e Amazônica), *Mesonauta guyanae* (sub-bacia do Rio Negro e Essequibo), *Mesonauta insignis* (sub-bacia do rio Negro e Orinoco) e *Mesonauta mirificus* (bacia Amazônica, no Peru e Colômbia) (KULLANDER, 2003).

Dentre estas espécies de *Mesonauta*, *M. festivus* destaca-se por habitar diferentes tipos de águas amazônicas ao longo da extensa bacia Amazônica. Conhecida popularmente como acará-boari, bererê, mereê, mojarra e festivo, estes peixes pertencem à família Cichlidae, ordem Perciformes e tem como característica seu porte pequeno (8,2 cm a 20 cm), corpo comprimido lateralmente, cor amarelo esverdeada, uma mancha lateral escura que se inicia atrás dos olhos e se espalha de forma oblíqua até a nadadeira dorsal (KULLANDER, 2003). Por ser encontrada nos três tipos de águas amazônicas, apesar de não possuir hábitos migratórios, acredita-se que esta espécie apresenta plasticidade genética que possibilita o seu desenvolvimento em diferentes condições. Assim, análises citogenéticas clássicas e moleculares foram efetuadas para verificar se esta plasticidade se estende a nível

cromossômico e se a mesma pode estar relacionada a diferentes padrões de organização do genoma, evidenciando variações intraespecíficas, tais como diferentes padrões de distribuição de heterocromatina constitutiva e DNA ribossomal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados seis espécimens (três machos e três fêmeas) de *M. festivus* provenientes do lago Catalão (3°09'57"S, 59°54'44"W - estado do Amazonas) e seis (três machos e três fêmeas) do rio Amazonas (2°28'18,04"S, 54°35'26,56" O - estado do Pará), coletados com autorização do IBAMA (n.º. 10609-1/2007). O lago Catalão (localidade 1) situa-se na confluência do rio Negro (água preta) e rio Solimões (água branca), sofrendo influência dos dois tipos de águas, e o rio Amazonas (localidade 2) foi amostrado nas proximidades de Santarém, no Pará, apresentando águas brancas (Figura 1).

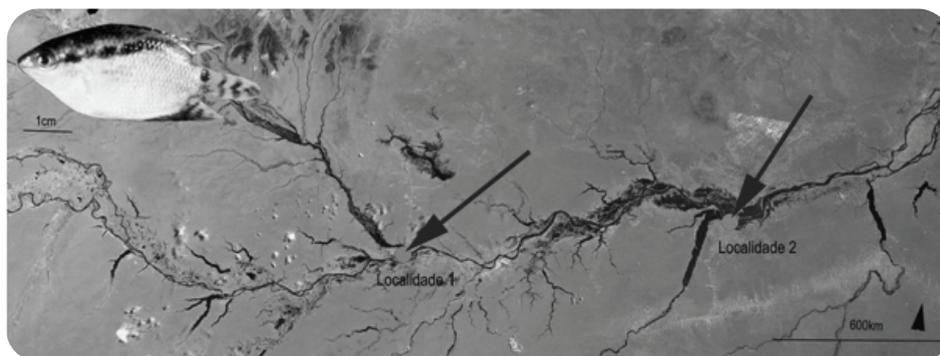


Figura 1

Mapa de satélite da hidrografia amazônica evidenciando as localidades amostradas (setas) e em destaque *Mesonauta festivus*. Fonte do mapa: Landsat.

Os peixes foram anestesiados com óleo de cravo dissolvido em água e posteriormente sacrificados. Estes peixes foram numerados, registrados, fixados em formol 10% por 24h, lavados em água corrente e acondicionados em recipientes contendo álcool 70%. Para a obtenção das preparações cromossômicas foi extraído o órgão hematopoiético de todos

os indivíduos em estudo. As preparações cromossômicas foram obtidas a partir de células renais, usando colchicina *in vitro* (BERTOLLO et al., 1978, com modificações). Para a determinação da fórmula cariotípica e número de braços cromossômicos, as lâminas contendo as preparações cromossômicas foram coradas com Giemsa 5%. O padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva (banda C) foi obtido pela ação do hidróxido de bário (SUMNER, 1972) e a região organizadora de nucléolo (Ag-NORs) pela impregnação com nitrato de prata (HOWELL e BLACK, 1980). Sempre que possível, as lâminas foram submetidas a análises sequenciais com Giemsa, banda C e impregnação com nitrato de prata de acordo com Centofante et al. (2002).

O DNA genômico foi isolado a partir de tecido muscular preservado em álcool 96% seguindo protocolo de extração fenol-clorofórmio (SAMBROOK e RUSSELL, 2001). Amplificação por Reação em Cadeira de Polimerase (PCR) dos genes ribossomais 18S e 5S foram conduzidas com os iniciadores 18Sf (5'-CCG CTT TGG TGA CTC TTG AT- 3'), 18Sr (5'-CCG AGGACC TCA CTA AAC CA-3') (GROSS et al., 2010) e 5Sa (5'-TAC GCC CGA TCT CGT CCG ATC), 5Sb (5'-CAGGCT GGT ATG GCC GTA AGC- 3') (KOMIYA e TAKEMURA, 1979), respectivamente. Estes produtos da PCR foram utilizados como sondas nas hibridizações fluorescentes *in situ* (FISH), que foram conduzidas seguindo protocolo de Pinkel et al. (1986). As sondas DNAs ribossomais 5S e 18S foram marcadas por *Nick translation* utilizando o *Kit BioNick™ Labeling System* (Invitrogen) com biotina-14-dATP e digoxigenina-11-dUTP, respectivamente. Os anticorpos anti-avidina biotina (Sigma-Aldrich) e anti-digoxigenina rodamina (Roche) foram usados para detecção e amplificação do sinal. Os cromossomos foram contracorados com DAPI (Vector).

As lâminas de citogenética clássica foram analisadas em microscopia ótica e 30 metáfases por indivíduo foram contadas para determinar o número diplóide. As melhores metáfases foram fotografadas em objetiva com aumento 100x. As lâminas submetidas à FISH foram analisadas e fotografadas em microscópio de fluorescência Olympus BX51. As imagens foram capturadas através do software Image-PRO MC 6.0. As melhores metáfases tiveram seus cromossomos medidos, emparelhados e organizados em ordem decrescente de tamanho, obedecendo a razão de braços proposta por Levan et al. (1964) e categorias sugeridas por Thompson (1979). A morfologia cromossômica foi determinada de acordo com os critérios de relação de braços (RB=BM/Bm, onde BM = braço maior e Bm = braço menor). O número fundamental (NF) foi determinado de acordo com o número de braços cromossômicos, sendo considerado como portadores de dois braços os cromossomos meta-submetacêntricos e de um braço os subtelo-acrocêntricos.

RESULTADOS

O número diplóide encontrado para *Mesonauta festivus* foi 48 cromossomos, sendo 12 m-sm + 36 st-a e número fundamental igual a 60 (Figura 2a) para os indivíduos de ambas as populações. Ainda, não foi observado nenhum sistema cromossômico de diferenciação de sexo. A heterocromatina constitutiva apresentou-se distribuída na região pericentromérica da maioria dos cromossomos. Contudo as marcações foram diferentes para os indivíduos provenientes das diferentes localidades, sendo que nos exemplares provenientes do lago Catalão os pares cromossômicos 1, 2, 8, 9 e 13 apresentaram blocos mais conspícuos na região centromérica se comparado com os demais pares do complemento. Ainda, no par 7 foi possível evidenciar que um dos homólogos apresenta um bloco heterocromático intersticial em todas as metáfases analisadas (Figura 2b). Já os indivíduos do rio Amazonas (PA) apresentaram blocos mais conspícuos que os do lago Catalão, sendo evidenciado além das marcações centroméricas, a invasão de heterocromatina constitutiva nos braços curtos de alguns cromossomos meta-submetacêntricos (pares 1, 2, 4 e 5), assim como na maioria dos subtelocêntricos. Além disso, os pares de cromossomos 1, 9 e 16 apresentam marcações na região terminal dos braços longos (Figura 2c). Com relação aos sítios ribossomais DNAr 18S e 5S, os indivíduos de ambas as localidades não apresentaram sintenia destes genes e tampouco variabilidade intraespecífica ou interpopulacional quanto à distribuição destas sequências nos cromossomos mitóticos. Foram evidenciados seis sítios do gene RNAr 18S, os quais apresentam-se localizados ao longo dos braços curtos de ambos os homólogos do par 2 e na posição subterminal dos braços curtos de ambos os homólogos dos pares 17 e 18. Os genes RNAr 5S foram evidenciados intersticialmente nos braços longos de ambos os homólogos dos pares 8 e 24 (Figura 2d). A análise das metáfases de *M. festivus* impregnadas por nitrato de prata revelou de 2 a 4 marcações, sendo esta variação intra e inter individual. Contudo, estas marcações estavam sempre relacionadas aos cromossomos dos pares 17 e 18, sempre em posição terminal nos braços curtos, caracterizando um sistema de RONS múltiplas (Figura 2e).

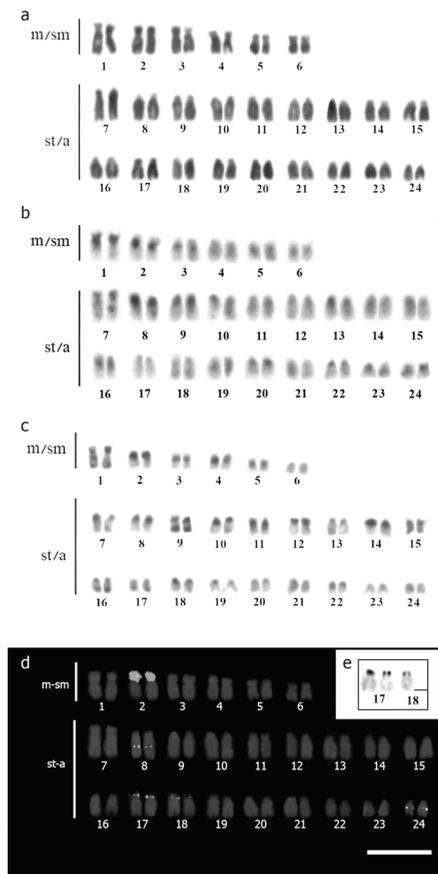


Figura 2

Cariótipos de *Mesonauta festivus*: (A) em coloração convencional; (B-C) evidenciando diferentes padrões de heterocromatina constitutiva em indivíduos provenientes do lago Catalão-AM (B) e rio Amazonas-PA (C); (D) Localização física cromossômica do DNAr 18S (pares 2, 17 e 18) e DNAr 5S (pares 8 e 24); (E) em destaque os pares nucleolares impregnados por nitrato de prata. **m**= Metacêntrico, **sm**= Submetacêntrico, **st**= Subtelocêntrico, **a**= Acrocêntrico. Barra: 10 micrômetros.

DISCUSSÃO

A evolução cromossômica dos ciclídeos tem sido considerada mais conservada que divergente, onde $2n = 48$ cromossomos do tipo subtelocêntrico representaria um caráter plesiomórfico para a família Cichlidae

(THOMPSON, 1979; KORNFELD, 1984; FELDBERG e BERTOLLO, 1985), assim como sistema de RONs simples localizada nos maiores pares cromossômicos, heterocromatina constitutiva com marcações centroméricas (FELDBERG e BERTOLLO, 1985; FELDBERG et al., 2003) e localização separada dos sítios DNAr 45S e DNAr 5S, além de um único par de homólogos portador de cada gene ribossomal (MARTINS e GALETTI JR., 2001; MARTINS, 2007). *Mesonauta festivus* retém a característica basal do número diplóide, mas apresenta região organizadora de nucléolo múltipla, grandes blocos de heterocromatina que invadem braços curtos dos cromossomos e múltiplos sítios de DNAr 18S e DNAr 5S, o que faz com que não possa ser considerada citogeneticamente uma espécie basal. Este dado é congruente com as árvores filogenéticas propostas para os ciclídeos, com base em caracteres morfológicos ou moleculares (FARIAS et al., 1998; KULLANDER, 2003; SMITH et al., 2008). Estes dados reforçam a proposição de que o número fundamental, fórmula cariotípica e número de braços não são caracteres confiáveis na recuperação de relações filogenéticas entre táxons aparentados, sendo necessário analisar diferentes marcadores cromossômicos para obter uma história mais parcimoniosa do grupo (DOBIGNY et al., 2004; SCHNEIDER et al., 2012).

Além disso, muitas vezes estes marcadores cromossômicos podem revelar diferenças populacionais, tais como as existentes para *Mesonauta festivus* do Centro-Oeste e Norte do Brasil, onde os indivíduos provenientes do Mato Grosso apresentam fórmula cariotípica com 14 m-sm + 34 st-a (POLETTTO et al., 2010) e do Amazonas e Pará apresentam 12 m-sm + 36 st-a (presente trabalho). Ainda, o mapeamento cromossômico de genes ribossomais mostra diferenças significativas na composição cariotípica desta espécie se comparado com outros ciclídeos, uma vez que a maioria das espécies de ciclídeos apresenta o gene rRNA 5S alocado em um par de cromossomos, embora sua localização varie entre intersticial ou terminal (SCHNEIDER et al., 2012). Acredita-se que a localização intersticial de sítios de DNAr previna rearranjos que alterem sua posição e seu número (MARTINS e GALETTI JR., 1999), entretanto *Mesonauta festivus* apresenta dois pares com sítios intersticiais de rDNA 5S, evidenciando que esta localização não previne a dispersão destas sequências no genoma durante a evolução.

Apesar da maioria dos ciclídeos neotropicais apresentarem os genes ribossomais da família rDNA 45S alocados em um par de homólogos do tipo subtelo-acrocêntrico (POLETTTO et al., 2010), *M. festivus* apresenta RONs múltiplas. Isso foi evidenciado tanto nos indivíduos provenientes do rio Araguaia (Mato Grosso, Brasil), que apresentam 5 cromossomos do tipo subtelo-acrocêntricos marcados pela sonda de DNAr 18S (POLETTTO

et al., 2010), quanto nos indivíduos do lago Catalão (Amazonas, Brasil) e rio Amazonas (Pará, Brasil). Porém, nas populações amazônicas o segundo par cromossômico do complemento, que é portador de DNAr 18S, não foi impregnado por nitrato de prata em nenhuma metáfase analisada, indicando que estes sítios ribossomais não estavam ativos na intérfase anterior. Provavelmente esta inatividade deve-se ao fato de que esta região está relacionada à heterocromatina constitutiva (ver cromossomos do par 2, Figura 2b; Figura c), que pode estar silenciando o gene neste sítio, já que as atividades gênicas são dependentes do estado de condensação da cromatina, a qual pode mudar em resposta a sinais celulares, respondendo inclusive a mudanças ambientais (GREWAL e JIA, 2007).

Considerando que o remodelamento da cromatina e metilação do DNA auxiliam na compactação e organização do genoma, as variações na quantidade e na distribuição da heterocromatina constitutiva são características importantes na evolução de alguns grupos de peixes e tem permitido a diferenciação de espécies e de populações devido a mecanismos epigenéticos (ANDREATA et al., 2006; TRECO et al., 2008). A heterocromatina em peixes é rica em sequências repetitivas (para revisão ver MARTINS, 2007; FERREIRA e MARTINS, 2008) e desempenham um papel importante na especiação e grandes mudanças evolutivas (BOHNE et al., 2008). Desta forma, diferenças nos padrões de distribuição de heterocromatina encontradas em *Mesonauta festivus* das duas populações amazônicas provavelmente podem estar relacionadas à presença de sequências repetitivas diferenciais entre as populações ou à regulação da expressão gênica, em função das seguintes variáveis: 1) diferentes características físico-químicas das águas em que se encontram, o que favoreceria a sua adaptação a uma ampla gama de habitats; 2) distância geográfica, o que favoreceria que rearranjos organizacionais tenham se fixado nas populações alopátricas do Amazonas, Pará e Mato Grosso. Resultados similares foram evidenciados em outras espécies de ciclídeos amazônicos, tais como *Pterophyllum scalare*, onde indivíduos coletados no rio Jarí (PA) apresentaram diferentes padrões de distribuição de heterocromatina constitutiva, quando comparados aos coletados no estado do Amazonas (NASCIMENTO et al. 2006). Estes dados corroboram a proposição recente de que sequências repetitivas de DNA, neste caso evidenciado pela heterocromatina constitutiva, são promotoras de diversidade cariotípica existente entre os ciclídeos neotropicais (SCHNEIDER et al., 2012), provavelmente porque estão menos sujeitas à pressão seletiva (RIDLEY, 2006).

REFERÊNCIAS

- ANDREATA, A. A.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Karyological characterization of four Neotropical fish species of the genus *Hisonotus* (Teleostei, Loricariidae, Hypoptopomatinae) from distinct Brazilian river basins. *Genetics and Molecular Biology*, v.29, n.1, p.62-66. 2006.
- BERTOLLO, L. A. C.; TAKAHASHI, C. S.; MOREIRA-FILHO, O. Cytotaxonomic considerations on *Hoplias lacerdae* (Pisces, Erytrinae). *Revista Brasileira de Genética*, v.1, p.103-120. 1978.
- BOHNE, A.; BRUNET, F.; GALIANA-ARNOUX, D.; SCHULTHESIS, C.; VOLFFE, J. N. Transposable elements as drivers of genomic and biological diversity in vertebrates. *Chromosome Research*, v.16, p.203-215. 2008.
- CENTOFANTE, L.; PORTO, J. I. R.; FELDBERG, E. Chromosomal polymorphism in *Serrasalmus spilopleura* Kner, 1858 (Characidae, Serrasalminae) from Central Amazon Basin. *Caryologia*, v.55, p.37-45. 2002.
- Dobigny, G.; Ducroz, J.F.; Robinson, T.J.; Volobouev, V. Cytogenetics and Cladistics. *Systematic Biology*, v.53, n.3, p.470-484. 2004.
- FARIAS, I. P.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. Molecular phylogeny of Neotropical cichlids: the relationships of cichlasomines and heroines. In: Malabarba, L.R.; Reis, R.E.; VARI, R. P.; LUCENA, Z. M.; LUCENA, C. A. S. (Eds). *Phylogeny and classification of neotropical fishes*. Porto Alegre: 1998.
- FELDBERG, E.; BERTOLLO, L. A. C. Nucleolar organizing regions in some species of Neotropical cichlid fishes (Pisces, Perciformes). *Caryologia*, v.38, n.3-4, p.319-324. 1985.
- FELDBERG, E.; PORTO, J. I. R.; BERTOLLO, L. A. C. Chromosomal changes and adaptation of cichlid fishes during evolution, p.285-308. In: Val, A.L.; Kapoor, B.G. (Eds). *Fish adaptation*. New Hampshire: Science Publishers, 2003.
- FERREIRA, I. A.; MARTINS, C. Physical chromosome mapping of repetitive DNA sequences in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: evidences for a differential distribution of repetitive elements in the sex chromosomes. *Micron*, v.39, p.411-418. 2008.
- FURCH, K. 1984. Water chemistry of the Amazon Basin: the distribution of chemical elements among freshwaters, p.167-169. In: SIOLI, H. (Ed.). *The Amazon innology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin*. Dordrecht: W. Junk Publications, 1984.
- GOULDING, M.; BARTHEM, R.; FERREIRA, E. The Negro and the Trombetas – black and clear waters from ancient lands. In: GOULDING, M.; BARTHEM, R.; FERREIRA, E. *The Smithsonian Atlas of the Amazon*. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press, 2003. 98p.
- GREWAL S. I. S.; JIA, S. Heterochromatin revised. *Nature Review*, v.8, p.35-46. 2007.

GROSS, M. C.; SCHNEIDER, C. H.; VALENTE, G. T.; MARTINS, C.; FELDBERG, E. Variability inter and intraspecific of 18S rDNA locus among *Symphysodon* fishes: chromosomal rearrangements. *Journal of Fish Biology*, v.76, p.1117-1127. 2010.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, v.3, p.1014-1015. 1980.

KOMIYA, H.; TAKEMURA, S. Nucleotide sequence of 5S ribosomal RNA from rainbow trout (*Salmo gairdnerii*) liver. *Journal of Biochemistry*, v.86, p.1067-1080. 1979.

KORNFIELD, I. L. Descriptive genetics of cichlid fishes, p. 591-610. In: Turner, B. J. (Ed.) *Evolutionary genetics of fishes*. New York: Plenum Press, 1984.

KULLANDER, S.O. Family Cichlidae, p 605-654. In: REIS, R. R.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS, C. J. (Eds.). *Check list of the freshwater of South and Central America*. Editora da Universidade Católica, Porto Alegre: Edipucrs, 2003.

LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, v.52, p.201-220. 1964.

MARTINS, C.; GALETTI JR., P. M. Chromosomal localization of 5S rDNA genes in *Leporinus* fish (Anostomidae, Characiformes). *Chromosome Research*, v.7, p.363-367. 1999.

MARTINS, C.; GALETTI JR., P. M. Two 5S rDNA arrays in Neotropical fish species: is it a general rule for fishes? *Genetica*, v.111, p.439-446. 2001.

MARTINS, C. Chromosomes and repetitive DNAs: a contribution to the knowledge of fish genome, p. 421-453. In: PISANO, E.; OZOUF-COSTAZ, C.; FORESTI, F.; KAPOOR, B. G. (Eds.) *Fish Cytogenetics*. New Hampshire: Science Publisher, 2007.

NASCIMENTO, A.; SOUZA, A. C. P.; FELDBERG, E.; CARVALHO, J. R. C.; BARROS, R. M. S.; PIECZARKA, J. C.; NAGAMACHI, C. Y. Cytogenetic analysis on *Pterophyllum scalare* (Perciformes, Cichlidae) from Jari River, Pará State. *Caryologia*, v.59, n.2, p.138-143. 2006.

PINKEL, D.; STRAUME, T.; GRAY, J. W. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proceedings of the Natural Academy of Science*, v.83, p.2934-2938. 1986.

POLETO, A. B.; FERREIRA, I. A.; CABRAL-DE-MELLO, D. C.; NAKAJIMA, R. T.; MAZ-ZUCHELLI, J.; RIBEIRO, H. B.; VENERE, P. C.; NIRCHIO, M.; KOCHER, T. D.; MARTINS, C. Chromosome differentiation patterns during cichlid fish evolution. *BMC Genetics*, v.11, p.50-62. 2010.

RIDLEY, M. *Evolução*. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 752p.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. *Molecular cloning: a laboratory manual*. v.1. New York: Cold Spring Harbor Press, 2001.

SCHNEIDER, C. H.; GROSS, M. C.; TERCENIO, M. L.; ARTONI, R. F.; VICARI, M. R.; MARTINS, C.; FELDBERG, E. Chromosomal evolution of neotropical cichlids: the role

of repetitive DNA sequences in the organization and structure of karyotype. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, v.23, p.201–214. 2013.

SIOLI, H. The Amazon and its main effluents: Hydrography, morphology of the river courses, and river types, p.127-166. In: SIOLI, H. (Ed.). *The Amazon: limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin*. Netherlands: W. Junk Publications, 1984.

SMITH, W. L.; CHAKRABARTY, P.; SPARKS, J. S. Phylogeny, taxonomy, and evolution of Neotropical cichlids (Teleostei: Cichlidae: Cichlinae). *Cladistics*, v.24, p.625-641. 2008.

SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, v.75, p.304-306. 1972

THOMPSON, K. W.. Cytotaxonomy of 41 species of Neotropical Cichlidae. *Copeia*, v.4, p.679-691. 1979

TRECO, F. R.; MALABARBA, L. R.; GIULIANO-CAETANO, L.; DIAS, A. L. Cytogenetic study of two species of the family Pimelodidae (Siluriformes) collected in lago Guaíba, Rio Grande do Sul, Brazil. *Neotropical Ichthyology*, v.6, n.1, p.87-92. 2008.

WILKELSKI, M.; COOKE, S. J. Conservation physiology. *Trends in Ecology and Evolution*, v.21, p.38-46. 2006.

WOOTON, R. J. *Ecology of teleost fishes*. New York: Chapman and Hall, 1990.





CAPÍTULO 10

VARIAÇÃO INTERANUAL NA FENOLOGIA DE UMA COMUNIDADE ARBÓREA EM UM FRAGMENTO DE FLORESTA DE TERRA FIRME NO MUNICÍPIO DE MANAUS

*Grace de Lourdes CARDOSO; Antônio Carlos WEBBER;
Marisângela dos Anjos VIZCARRA; Pedro Aurélio Costa Lima PEQUENO;
Marcelo GORDO*

Abstract

The understanding of plant phenology in antropized environments is necessary to the conservation and rational management of the ecological functions of urban forest remnants. A long-term (six years) monitoring of reproductive phephases in trees was carried out in a forest located at the Campus of Federal University of Amazonas. Possible relations between climate variables of the city of Manaus and the phonological behavior of the tree community were investigated, as well as between phenophases. The highest number of flowering individuals occurred in the transition from the relatively dry to the wet season, and the highest number of fruiting individuals occurred in the wet season. Mean temperature had a positive effect on the number of flowering individuals, while rainfall had a negative effect on it. In both cases, the response of the community occurred with delays (of three and four months, respectively). However, these variables explained relatively small fractions of the observed phonological variation. Moreover, fruiting was mainly determined by flowering two months earlier. These results corroborate previous suggestions that the adaptive mechanisms of tropical trees should result in weak associations between phenology and climate. Factors such as ecological interactions (e.g. pollination) may account for some of the unexplained phenological variability. It is suggested that future studies integrate the contributions of both biotic and abiotic factors to the phenology of tree communities.

INTRODUÇÃO

A fenologia refere-se ao comportamento dos eventos biológicos vegetativos e reprodutivos das plantas, tais como brotamento e queda foliar, formação de botões, flores e frutos e sua relação com mudanças no ambiente biótico e abiótico (MORELLATO et al., 1990). Os períodos de floração, frutificação e mudança foliar podem ocorrer de acordo com a distribuição de chuvas durante o ano, mas algumas espécies apresentam a expressão das fenofases de modo irregular, não havendo nenhuma relação aparente entre as manifestações fenológicas e as variáveis ambientais (ARAÚJO, 1970; PINTO et al., 2005).

Modificações no ambiente que provocam alterações no período de crescimento e no ciclo reprodutivo das plantas não alteram apenas o comportamento da comunidade vegetal, mas afetam também o crescimento e reprodução dos animais que dependem direta ou indiretamente dos recursos vegetais (NEWSTRON et al., 1994). Assim, os conhecimentos sobre as fenofases das espécies vegetais auxiliam em estudos sobre a disponibilidade de recursos florestais, possibilitando a previsão do período reprodutivo das espécies, o que faz da fenologia uma ferramenta necessária para a ecologia, o manejo florestal e a silvicultura (LIETH, 1974). O estudo da fenologia também se torna muito importante diante do rápido avanço da degradação da cobertura vegetal da Terra e, conseqüentemente, das ameaças de extinção dos organismos (ARAÚJO, 1970; ALENCAR et al., 1979).

A existência de estudos fenológicos na América do Sul é muito desigual entre as diferentes formações vegetacionais e formas de vida. As florestais tropicais pluviais são as mais estudadas, seguidas pelas formações estacionais, as florestas secas e os cerrados (MORELLATO, 2003). Além disso, estudos sobre a fenologia da flora tropical tem sido imprecisos e confusos, em parte por existirem relativamente poucos estudos e, por outro lado, pela falta de padronização dos termos e métodos adotados tanto para a coleta como para a análise dos dados (FRANKIE et al., 1974; NEWSTROM et al., 1994)

Muitos eventos fenológicos, especialmente os reprodutivos, ocorrem com frequência supra-anual e sua detecção depende de estudos de longa duração (NEWSTRON et al., 1994 a, b). Pinto et al. (2008) destacam que estudos fenológicos de longo prazo em florestas tropicais são considerados raros e sugere a realização de mais estudos de longa duração, com o intuito de melhorar a precisão das análises dos resultados e o estabelecimento dos períodos das fenofases. Nessa perspectiva, este estudo teve como objetivos: i) observar os padrões fenológicos em um fragmento florestal, ii) avaliar a regularidade da floração e frutificação num período de oito anos, e iii) determinar os efeitos de variáveis meteorológicas sobre a expressão de fenofases reprodutivas em nível de comunidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi realizado em um fragmento florestal urbano na cidade de Manaus (Figura 1). A área de estudo, denominada “Acariquara”, está situada na parte norte do Campus da Universidade Federal do Amazonas - UFAM (03°04'S, 59°57'W – Figura 1). Com aproximadamente 711 hectares (ha) (GORDO, 2012), o fragmento florestal no qual se situa o Campus é o segundo maior fragmento florestal urbano de mata nativa do Brasil. Esta área fica próxima ao Conjunto Residencial Acariquara e se encontra sob intervenção antrópica leve a moderada (extrativismo e caça).

A temperatura média na região é de 26 °C e a precipitação média anual é de 2362 mm. Uma estação relativamente chuvosa ocorre de novembro a maio, com uma reduzida estação relativamente seca (menor que 100 mm) entre junho e outubro, sendo março e abril os meses com maior precipitação (MARQUES FILHO et al., 1981).

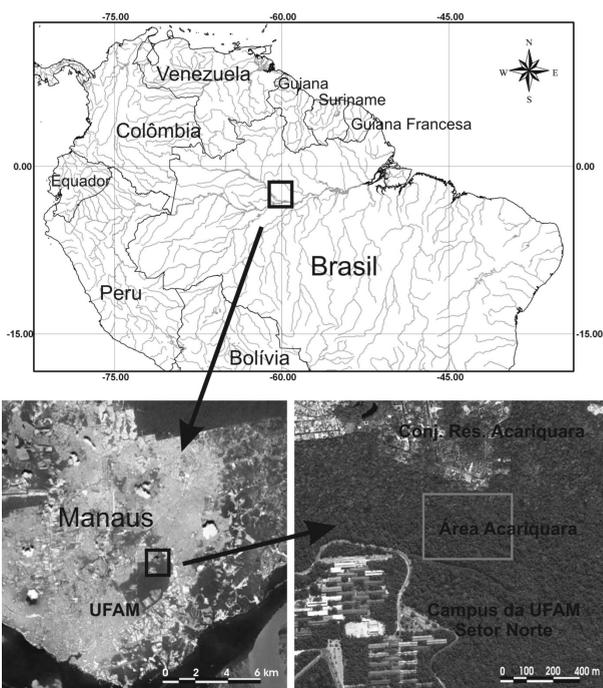


Figura 1

Localização da área de estudo, usando como base as imagens de satélite do Google Earth, 2009.

Coleta dos dados

Foram estabelecidos quatro transectos de 250 x 10 metros (total de 1 ha) com espaçamento de 100 m entre os mesmos. Nestes, foi realizado inventário florístico para caracterização da vegetação e coletados dados sobre a fenologia, de fevereiro de 2003 a dezembro de 2008. Todos os indivíduos marcados no levantamento florístico, com DAP (diâmetro à altura do peito = 1,30 m) igual ou superior a 5 cm, foram monitorados quinzenalmente para registro das fenofases por meio de observação cuidadosa da copa, com o uso de binóculos.

Foram registradas as seguintes fenofases para cada indivíduo marcado, adaptadas de Alencar et al. (1979):

1. **Floração:** presença de botões florais no momento da observação, ou flores parciais ou totalmente abertas.
2. **Frutificação:** presença de frutos maduros ou não maduros.
3. **Queda de folhas:** presença de indivíduos com copa reduzida ou totalmente desfolhada.
4. **Emissão de folhas novas:** presença parcial ou total de folhas novas, estas geralmente menores, mais claras ou avermelhadas que as demais.

Plantas sem possibilidade de identificação, pelo menos em nível de gênero, foram determinadas como morfoespécies para compor as variáveis fenológicas para análise.

Análise dos dados

Foram obtidos dados meteorológicos da região de Manaus em uma base mensal, os quais: precipitação acumulada (mm), umidade relativa do ar (%) e temperatura média (°C). Os dados foram cedidos pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) através do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia). Estes dados foram utilizados como variáveis explanatórias na análise da fenologia reprodutiva.

É difícil descrever quantitativamente a intensidade de eventos fenológicos ao longo do tempo (CHAPMAN et al., 2005). Por isto, para

avaliar a sincronia fenológica ao longo do ano e em anos diferentes na área de estudo, fez-se uma análise exploratória de gráficos do percentual de indivíduos em cada fenofase (i.e. floração, frutificação, folhas novas, perda de folhas) ao longo de cada ano de observação. As variáveis fenológicas, originalmente em escala quinzenal, foram convertidas para escala mensal, de modo a compatibilizar sua comparação com as variáveis ambientais. Também foram feitos gráficos de cada variável ambiental (i.e. precipitação acumulada, umidade relativa do ar e temperatura média) contra o tempo para caracterizar a variação meteorológica.

Modelos lineares generalizados (GLM) foram usados para determinar o efeito das variáveis meteorológicas sobre (1) o número de indivíduos florindo e (2) o número de indivíduos frutificando, assumindo-se a distribuição de Poisson para os resíduos, uma vez que as variáveis dependentes eram contagens. O número de indivíduos florindo também foi incluído como um possível preditor do número de indivíduos frutificando, já que estas fenofases estão ontogeneticamente ligadas. Também foi considerado se a comunidade arbórea respondeu aos preditores com atraso temporal. Assim, foram feitos correlogramas entre as variáveis predictoras e dependentes ao longo do tempo, de modo a determinar se a correlação máxima entre elas ocorreu com alguns meses de atraso. Quando isto foi identificado, as variáveis foram ajustadas para inclusão nos modelos, de modo a levar em conta o atraso.

Observações próximas no tempo tendem a ser mais parecidas entre si que observações mais distantes (autocorrelação temporal). Isto pode induzir autocorrelação nos resíduos de modelos lineares, o que viola um de seus pressupostos básicos e pode levar a resultados espúrios (ZUUR et al., 2009). Normalmente, isto é causado pela não inclusão de variáveis explanatórias importantes no modelo – ou porque elas não foram medidas, ou porque elas são desconhecidas – mas este problema é frequentemente ignorado em estudos fenológicos. A fim de controlar a autocorrelação temporal na análise fenológica, utilizou-se o método de filtragem por autovetores (*eigenvector filtering*) (PERES-NETO, 2006). Para determinar o quanto cada preditor explicou das variáveis fenológicas, independentemente dos demais, fez-se uma partição hierárquica da variância (MACNALLY, 2002).

Gráficos de regressão parcial foram usados para ilustrar as relações entre as variáveis dependentes e independentes, bem como para checar a presença de observações extremas (i.e. *outliers*). Ao se julgar que uma observação foi

excessivamente influente sobre a relação estimada pelo modelo, a mesma foi descartada e o modelo foi reconstruído (ZUUR et al., 2009).

Todas as análises foram executadas no programa R, versão 2.10.1 (R Core Development Team, 2009). A filtragem por autovetores foi implementada pelo pacote “spacemakeR” (DRAY et al., 2010); a partição hierárquica, pelo pacote “hier.part” (WALSH e MACNALLY, 2008); e os gráficos de regressão parcial, pelo pacote “car” (FOX, 2009).

RESULTADOS

Aspectos gerais

Ao todo, foram registrados 1.274 indivíduos distribuídos em 260 espécies, 76 gêneros e 43 famílias. Uma análise florística detalhada desta área pode ser encontrada em Cardoso (2010).

As variáveis ambientais apresentaram sazonalidade acentuada, com picos de temperatura média ocorrendo pouco antes dos picos de precipitação acumulada (Figura 2). No entanto, as maiores oscilações foram observadas nos dados de precipitação. A precipitação acumulada (< 100 mm) ocorreu em julho, agosto, setembro e outubro, caracterizando uma estação relativamente seca. Os máximos de temperatura média entre setembro a novembro ocorreram alguns meses antes dos máximos de precipitação acumulada entre dezembro a maio. A umidade relativa do ar ao longo dos seis anos de estudo apresentou maiores valores na estação chuvosa entre os meses de março a setembro.

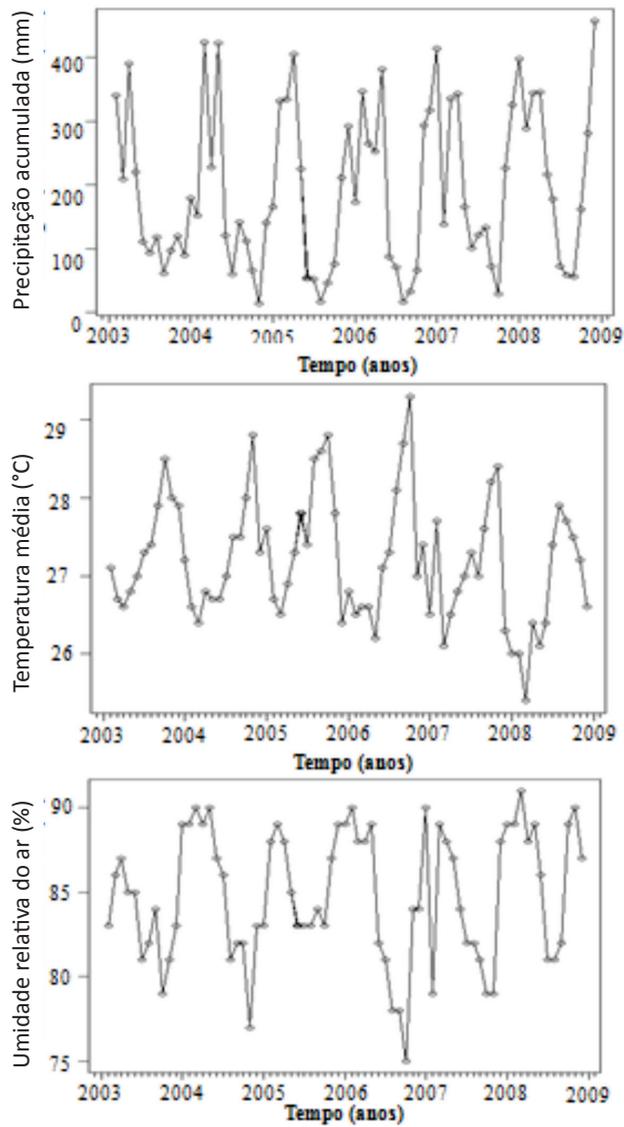


Figura 2

Precipitação, temperatura e umidade anual na cidade de Manaus, Amazonas, no período de fevereiro de 2003 a dezembro de 2008.

O maior número de indivíduos em floração ocorreu no fim da estação seca e no início da estação chuvosa (Figura 3). A frequência e a regularidade da floração é visível na área durante os seis anos observados. Os picos de floração tenderam a ocorrer durante os períodos mais secos ou de transição da estação seca para a chuvosa.

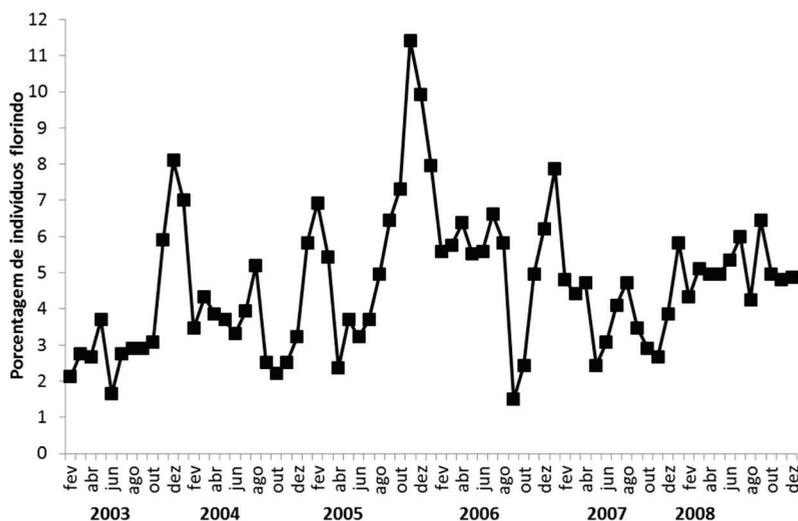


Figura 3

Porcentagem de indivíduos em fase de floração/mês no período de fevereiro de 2003 a dezembro de 2008 na área do Acariquara, Manaus, Amazonas.

A frutificação mostrou um padrão geral de maior quantidade e diversidade (maior porcentagem de indivíduos produzindo frutos) entre os meses de outubro e maio (Figura 4). Os picos de frutificação também foram mais evidenciados na estação chuvosa. No entanto, em fevereiro de 2006, aproximadamente 160 indivíduos frutificaram, sendo este o maior pico durante os seis anos de observação. Nos anos seguintes, os picos continuaram na estação chuvosa, porém com um número bem menor de indivíduos frutificando quando comparados ao ano de 2006. A distância entre picos foi de 6 a 12 meses, sugerindo um padrão semestral a anual em nível de comunidade.

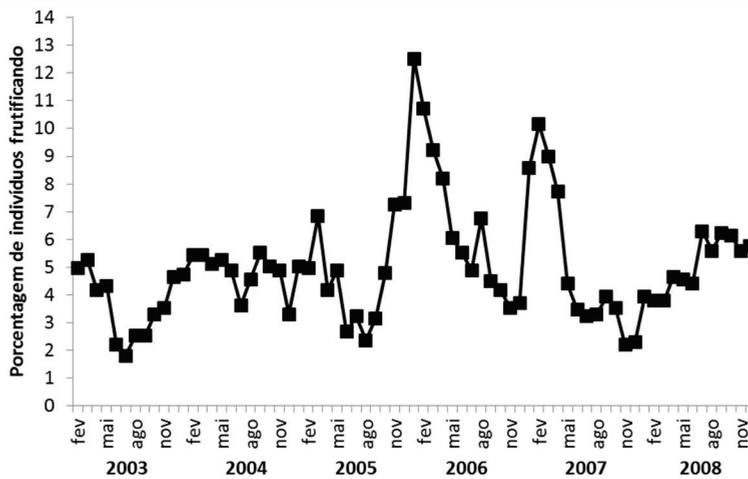


Figura 4

Porcentagem de indivíduos em fase de frutificação/mês no período de fevereiro de 2003 a dezembro de 2008 na área do Acariquara, Manaus, Amazonas.

A emissão de folhas novas ocorreu sempre na estação seca, com maiores picos de produção em 2005, durante os seis anos de estudo (Figura 5).

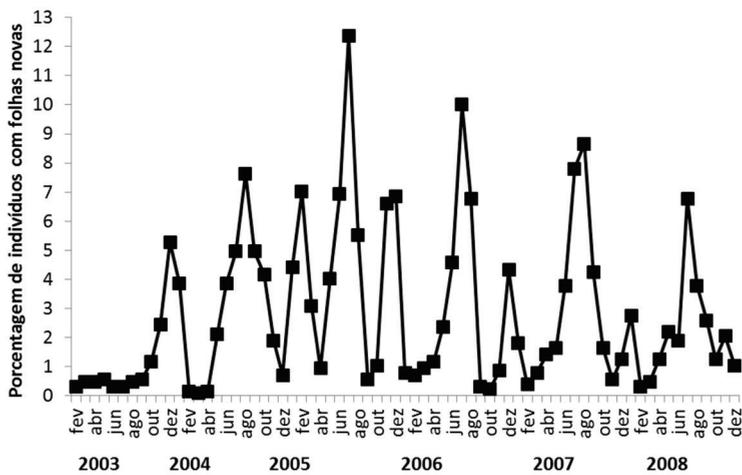


Figura 5

Porcentagem de indivíduos em fase de folhas novas/mês no período de fevereiro de 2003 a dezembro de 2008 na área do Acariquara, Manaus, Amazonas.

A fenofase de perda de folhas apresentou valores baixos de número de indivíduos por mês, com alguns picos ao longo dos anos de estudo. Os picos ocorreram nas estações secas, coincidindo com as observações feitas para folhas novas (Figura 6).

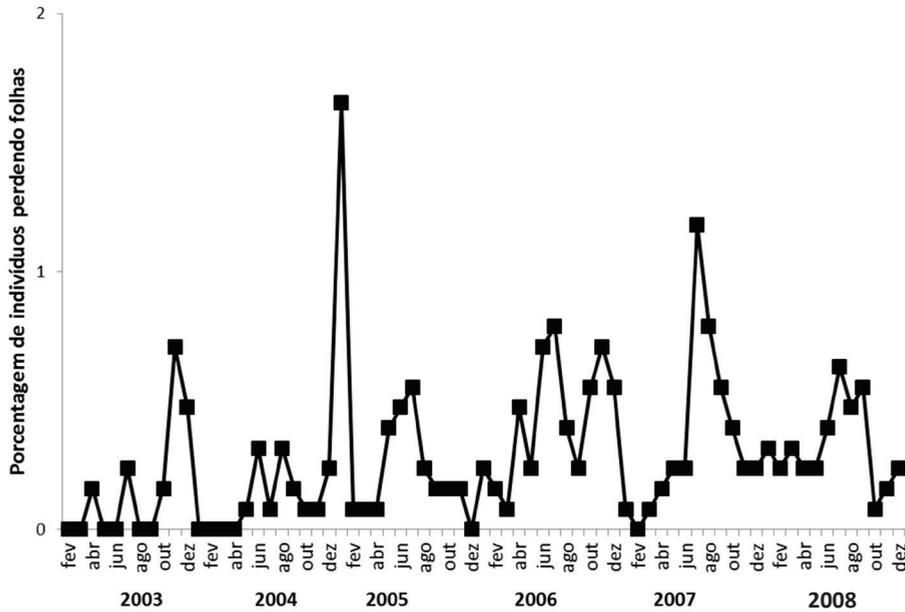


Figura 6

Porcentagem de indivíduos em fase de perda de folhas/mês no período de fevereiro de 2003 a dezembro de 2008 na área do Acariquara, Manaus, Amazonas.

Variáveis ambientais e respostas fenológicas

A análise fenológica através dos modelos lineares generalizados mostrou que as três variáveis ambientais tratadas neste estudo explicaram, independentemente, porções relativamente pequenas da variação no número de indivíduos florindo.

As variáveis preditoras explicaram 62% da variação na floração. Foram incluídos no modelo quatro autovetores e três *outliers* foram retirados da análise. A precipitação apresentou relação negativa com a floração, com atraso de quatro meses, a temperatura, relação positiva com atraso de três

meses e por último o efeito da umidade mostrou-se estatisticamente não significativo (Figura 7).

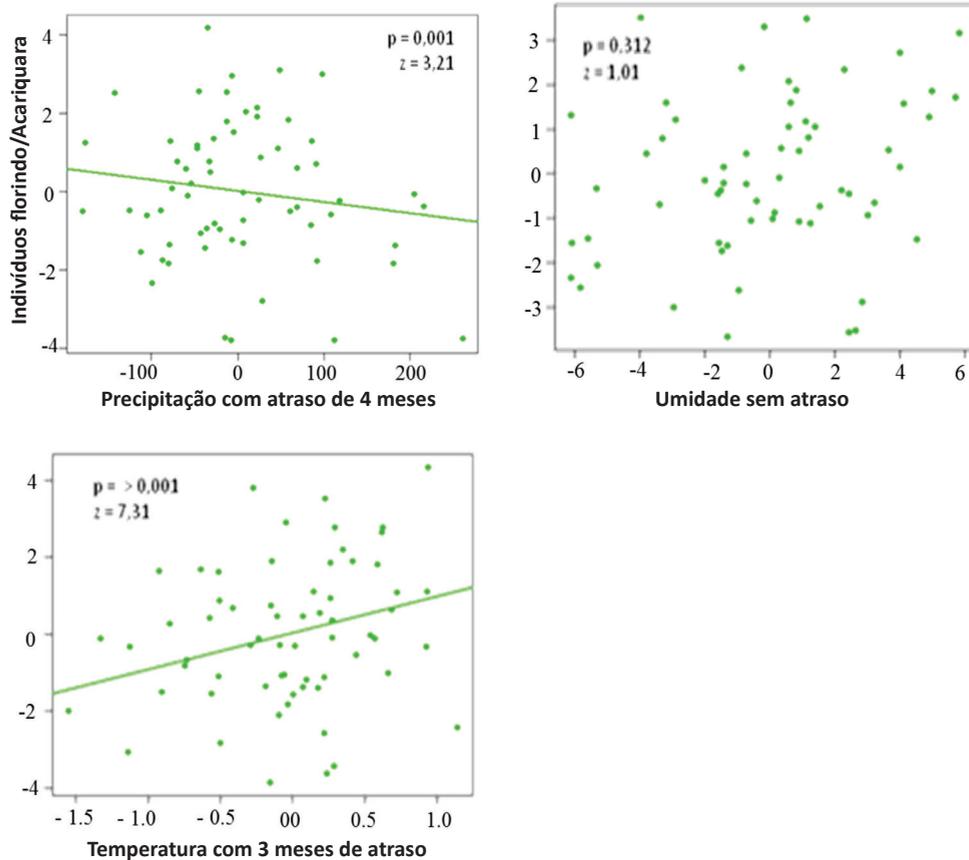


Figura 7. Regressões parciais entre número de indivíduos florindo e variáveis ambientais na área do Acariquara, Manaus, Amazonas.

As regressão parcial entre indivíduos frutificando e indivíduos florindo mostrou-se positivas, e a estimativa do efeito independente, elevada, mostrando que grande parte da frutificação é explicada pela floração (Figura 8 e Figura 9). As variáveis ambientais contribuíram muito pouco independentemente na explicação da frutificação quando comparadas à floração (Figura 9).

As variáveis preditoras explicaram 67% da variação encontrada na frutificação. Dois autovetores foram acrescentados e cinco “outliers” foram retirados. O número de indivíduos florindo dois meses antes explicou 54,09% da frutificação (Figura 9 a, b) e a precipitação, temperatura e umidade não apresentaram relações significativa.

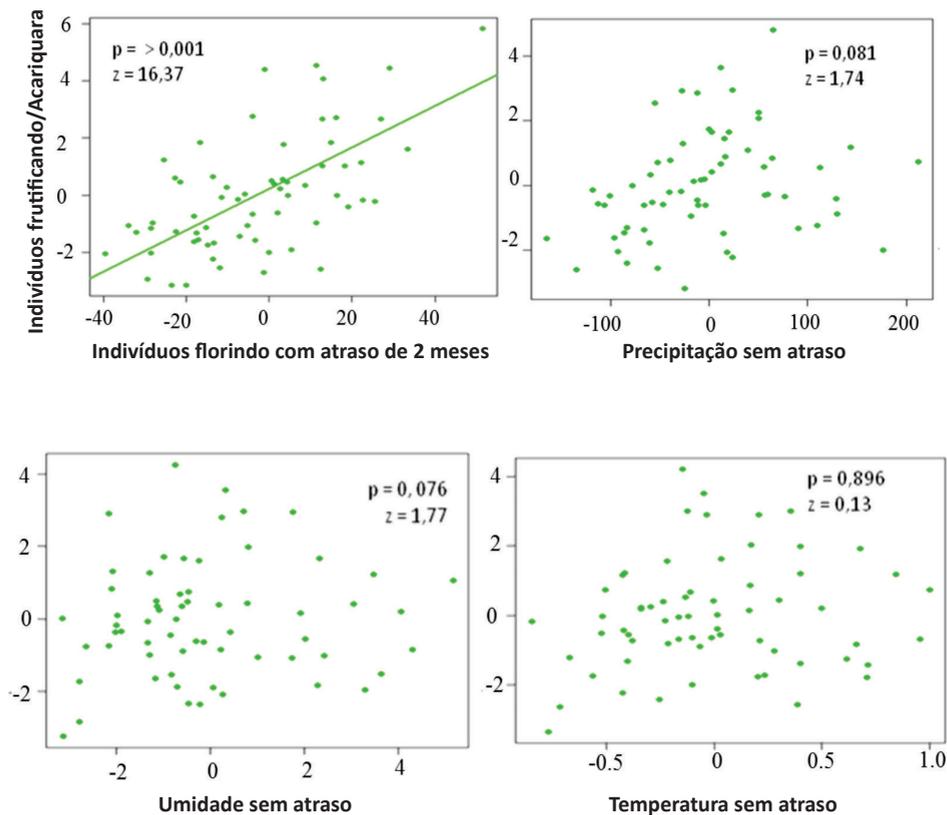


Figura 8

Regressões parciais entre número de indivíduos frutificando e variáveis ambientais na área do Acariquara, Manaus, Amazonas.

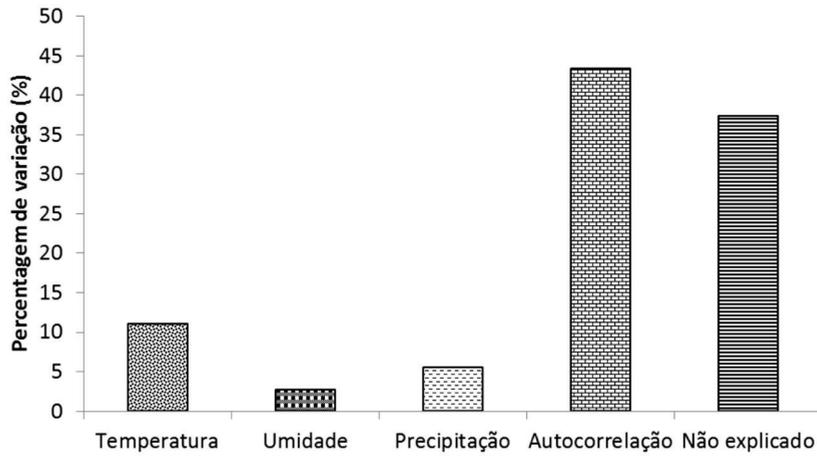


Figura 9a

Efeitos independentes de cada um dos preditores para indivíduos florindo no Acariquara, Manaus, Amazonas.

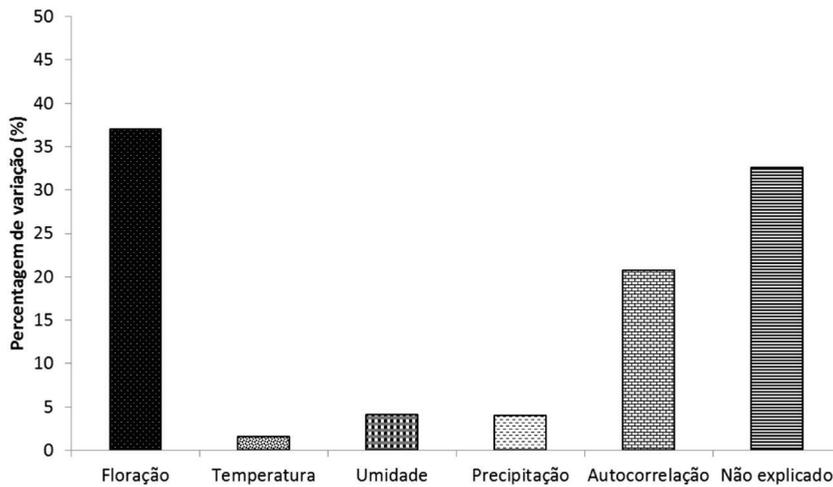


Figura 9b

Efeitos independentes de cada um dos preditores para indivíduos frutificando no Acariquara, Manaus, Amazonas.

DISCUSSÃO

De um modo geral, as séries fenológicas e climáticas estão de acordo com a variedade de padrões já observados em florestas tropicais, com dois picos ao ano nas quatro áreas estudadas. Os padrões descritos para comunidades podem variar desde um pico semestral (ANDERSON et al., 2005), um único pico anual (ALENCAR et al., 1979; TER STEEGE e PERSAUD, 1991; PERES, 1994), um pico bianual (ANDERSON et al., 2005), vários picos de floração ao ano (VAN SCHAIK, 1986) ou nenhum padrão sazonal claro (HILTY, 1980, OPLER et al., 1980; KINNAIRD, 1992; KRISHNAN, 2002). É possível que os picos semestrais das fenofases ocorram em regiões tropicais porque o sol passa pelo zênite celeste duas vezes por ano, influenciando os padrões meteorológicos (ANDERSON et al., 2005).

Neste estudo, os maiores picos de floração tenderam a ocorrer nos períodos mais secos ou de transição da estação seca para a chuvosa, mostrando um padrão sazonal nas quatro áreas de estudo. Vários autores tem associado picos de floração em florestas amazônicas à estação seca (ARAÚJO, 1970; DAUNBEMIRE, 1972; FRANKIE et al., 1974; ALENCAR et al., 1979; CARVALHO, 1980; MUNIZ, 1996; HAMANN, 2004; HAUGAASE e PERES, 2005). Como na floração, a frutificação foi um evento altamente sazonal. A tendência de pulsos de frutificação durante o início da estação chuvosa observada neste trabalho vai ao encontro dos achados em outras partes dos neotrópicos (JANZEN, 1967; SMYTHE, 1970; ALENCAR et al., 1979; FOSTER, 1982; TER STEEGE e PERSAUD, 1991; PERES, 1994). Além disso, a disponibilidade perene de indivíduos com frutos indica que a frutificação nestas comunidades é recurso confiável à assembleia de animais frugívoros associados.

De modo similar, o padrão de mudança foliar observado na área estudada é consistente com outros estudos de florestas tropicais situadas em áreas de alta pluviosidade (FRANKIE et al., 1974; LIEBERMAN, 1982; VAN SCHAIK, 1986; KOPTUR et al., 1988; TER STEEGE e PERSAUD, 1991), mas contrasta com florestas tropicais secas onde os picos de folhas novas tendem a ocorrer antes ou imediatamente após o início da estação chuvosa (DAUBERNMIRE, 1972; FRANKIE et al., 1974; OPLER et al., 1980; BULLOCK e SOLIS-MAGALLANES, 1990). Haugaasen e Peres (2005), ao compararem florestas de várzea, igapó e terra firme, verificaram pouca deciduidade neste último ambiente, o que também está de acordo com o presente estudo.

A análise fenológica com modelos lineares generalizados indicou que algumas das variáveis hipoteticamente importantes no controle das fenofases reprodutivas estão de fato associadas aos padrões fenológicos

observados em nível de comunidade. Entretanto, elas apresentaram poder explanatório relativamente baixo.

Foi detectada uma associação negativa entre a precipitação acumulada e o número de árvores florindo. Vários trabalhos apontam para a disponibilidade de água como um fator importante para a manifestação das fenofases vegetais (ARAÚJO 1970; ALENCAR et al., 1979; REICH, 1995; AIDE e ANGULO-SANDOVAL, 1997; BORCHERT et al., 2004). É possível que uma diminuição da precipitação durante a estação relativamente seca da região seja um sinal direto para a floração. Embora a precipitação não tenha tido um efeito direto sobre o número de indivíduos frutificando, o número de indivíduos florindo dois meses antes explicou uma proporção considerável da variação nesta variável, sugerindo um efeito indireto da precipitação sobre a floração. Este resultado corrobora aquele de Brearley et al. (2007) que, em uma floresta úmida em Borneo, observaram uma forte associação negativa entre a proporção de árvores frutificando na comunidade e a precipitação acumulada três meses antes. É importante notar, porém, que árvores não obtêm água diretamente das chuvas; elas dependem dos depósitos hídricos do solo. Isso pode explicar a contribuição relativamente pequena da precipitação acumulada.

A temperatura mensal média teve um efeito positivo sobre o número de indivíduos florindo três meses depois. Enquanto que em regiões temperadas a variação na temperatura parece ser um dos principais sinais de indução das fenofases vegetais (MENZEL, 2002), nas regiões tropicais a temperatura atmosférica varia relativamente pouco ao longo do ano e seu papel sobre a fenologia de árvores é pouco claro (VAN SHAIK et al., 1993; REICH, 1995). Em todo caso, este resultado pode refletir a conhecida relação entre maiores temperaturas e maior atividade fotossintética (SCHULZE et al., 2002). Vários trabalhos tem indicado um efeito do aumento da temperatura média global sobre o momento da floração de várias espécies (p.e. FITTER e FITTER, 2002; CHAPMAN et al., 2005; LUO et al., 2007), mas a maioria baseia-se em séries fenológicas de regiões temperadas ou subtropicais. Por outro lado, Anderson et al. (2005) identificaram flutuações de curto prazo da temperatura e da precipitação como fatores cruciais à variação fenológica observada em árvores no Parque Nacional de Taï e Costa do Marfim, e Chapman et al. (2005) relataram uma associação entre temperatura mensal mínima e número de árvores frutificando, com diferentes atrasos mensais, nas florestas úmidas do Parque Nacional de Kibale, Uganda. Estes autores sugeriram que a temperatura poderia ter um efeito indireto sobre a frutificação (através da indução da floração) e os resultados do presente trabalho corroboram esta hipótese.

A umidade relativa do ar pode afetar a produção de tecidos vegetais através do controle da atividade estomática: quanto maior o deficit de pressão de vapor d'água do ar, menor a condutância dos estômatos, o que acaba por influenciar a atividade fotossintética (SCHULZE et al., 2002). Logo, o efeito mais provável de um aumento na umidade do ar sobre a fenologia das plantas seria um aumento da produtividade (p.e. ZALAMEA e GONZÁLEZ, 2008), e de sua diminuição, um aumento da deciduidade, a fim de evitar a dessecação. Entretanto, neste trabalho, a umidade relativa não explicou os padrões de variação no número de indivíduos nas fenofases analisadas. Talvez esta variável seja mais importante em interação com outros fatores ambientais, e não necessariamente de forma direta e independente. Por exemplo, a seca fisiológica experimentada por plantas depende não apenas da quantidade de água no solo, mas também das condições atmosféricas (incluindo umidade) e de características intrínsecas à planta (VAN SCHAIK et al., 1993). Poucos estudos trataram diretamente do papel da umidade do ar (em oposição à do solo) na fenologia de árvores tropicais, e são necessárias mais investigações detalhadas a fim de compreender o tipo de efeito e os mecanismos envolvidos.

Embora não analisados neste trabalho, fatores bióticos como a abundância de polinizadores, também podem influenciar a fenologia reprodutiva de árvores tropicais (ADLER e LAMBERT, 2008). Por isto, não se pode descartar a possibilidade de que os padrões fenológicos observados para esta comunidade estejam sob controles outros além dos abordados, como as constituições genética e fisiológica da comunidade, bem como interações ecológicas como polinização, predação e competição.

O presente trabalho sugere um efeito relativamente pequeno para as variáveis ambientais abordadas em relação à variação fenológica em nível de comunidade. Este resultado favorece o argumento de Borchert (1998) de que os mecanismos adaptativos de árvores tropicais deveriam se refletir em fracas associações da fenologia com o clima, tornando difícil prever suas respostas perante mudanças ambientais. Em estudos futuros, seria interessante integrar as contribuições relativas de fatores tanto abióticos quanto bióticos na regulação da fenologia de comunidades vegetais. A fenologia de remanescentes de floresta tropical em matrizes urbanas é pouquíssimo conhecida (NEIL e WU, 2006), mas sua compreensão é fundamental para a conservação e manejo racional das funções ecológicas destas comunidades arbóreas (BENTOS et al., 2008).

AGRADECIMENTOS

A toda família Projeto Sauim-de-Coleira pela ajuda no trabalho de campo, ao Paulinho e Tony pelas identificações, à UFAM por permitir usar a área de estudo, e aos financiadores (Fapeam, Wildlife Conservation Society, Jersey Zoo/Durrell Wildlife Conservation Trust, PROBIO/FNMA-MMA, Conservation International, Apenheul Primate Conservation Trust, Philadelphia Zoo, La Palmyre Zoo, Shaldon Wildlife Trust, Newquay Zoo, Mulhouse Zoo).

REFERÊNCIAS

- ADLER, G. H.; KIEPINSKI, K. A. Reproductive phenology of a tropical canopy tree, *Spondias mombin*. *Biotropica*, v.32, p.686-692. 2000.
- ADLER, G. H.; LAMBERT, T. D. Spatial and temporal variation in the fruiting phenology of palms in isolated stands. *Plant Species Biology*, v.23, p.9-17. 2008.
- AIDE, T. M.; ANGULO SANDOVAL, P. The effect of dry season irrigation on leaf phenology and the implications for herbivory in a tropical understory community. *Caribbean Journal of Science*, v.33, p.142-149. 1997.
- ALENCAR, J. C.; ALMEIDA, R. A.; FERNANDES, N. P. Fenologia de espécies florestais em floresta tropical úmida de terra firme na Amazônia Central. *Acta Amazonica*, v. 9, n.1, p.163-198. 1979.
- ALENCAR, J. C. Fenologia de cinco espécies arbóreas tropicais de Sapotaceae correlacionada a variáveis climáticas na Reserva Ducke, Manaus, AM. *Acta Amazonica*, v.24, n.3-4, p.161-182. 1994
- ANDERSON, D. P.; NORDHEIM, E. V.; MOERMOND, T. C.; BI, Z. B. G. ; BOESCH, C. Factors influencing tree phenology in Taï National Park, Côte d'Ivoire. *Biotropica*, v.37, n.4, p.631-640. 2005.
- ARAÚJO, V. C. Fenologia de essências florestais amazônicas. *Boletim do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia*, v.4, p.1-25. 1970.
- BENTOS, T. V.; MESQUITA, R. C. G.; WILLIAMSON, G. B. Reproductive Phenology of Central Amazon Pioneer Trees. *Tropical Conservation Science*, v.1, n.3, p.186-203. 2008.
- BONACCORSO, F. J.; GLANZ, W. E.; SANDFORT, C. M. Feeding assemblages of mammals at fruiting *Dipteryx panamensis* (Papilionaceae) trees in Panama: seed predation dispersal and parasitism. *Revista de Biologia Tropical*, v.28, n.1, p.61-72. 1980.
- BORCHERT, R. Responses of tropical trees to rainfall seasonality and its longterm changes. *Climatic Change*, v.39, p.381-393. 1998.

- BORCHERT, R.; MEYER, S. A.; FELGER, R. S.; PORTER-BOLLAND, L. Environmental control of flowering periodicity in Costa Rican and Mexican tropical dry forests. *Global Ecology and Biogeography*, v.13, p.409-425. 2004.
- BREARLEY, F. Q.; PROCTOR, J.; SURANTATA, L. N.; DALRYMPLE, G.; VOYSEY, B. C. Reproductive phenology over a 10-year period in a lowland evergreen rain forest of central Borneo. *Journal of Ecology*, v.95, p. 828-839. 2007.
- BULLOCK, S. H.; SOLIS-MAGALLANES, J. A. Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica*, v.22, p.22-35, 1990.
- CARDOSO, G. L. *Estudos florísticos e fenológicos em áreas de florestas de terra firme em diferentes estádios de conservação na Amazônia Central*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2010. 151p. (Tese de Doutorado).
- CARVALHO, J. O. P. Fenologia de espécies florestais de potencial econômico que ocorrem na floresta do Tapajós. *Boletim de Pesquisa da EMBRAPA*, v.20, p.1-15. 1980.
- CHAPMAN, C. A.; CHAPMAN, L. J.; STRUHSAKER, T. T.; ZANNE, A. E.; CLARK, C. J.; POULSEN, J. R. A long-term evaluation of fruiting phenology: importance of climate change. *Journal of Tropical Ecology*, v.21, p.31-45. 2005.
- DAUBENMIRE, B. Phenology and others characteristics of tropical semideciduous forest in North-Western Costa Rica. *Journal of Ecology*, v.60, p.147-170. 1972
- DRAY, S. *SpacemakeR: spatial modelling*. R package version 0.0-4/r78. 2010.
- FITTER, A. H.; FITTER, R. S. R. Rapid Changes in Flowering Time in British Plants *Science*, v.296, n.5573, p.1689-1691. 2002.
- FOSTER, R. B. The seasonal rhythm of fruitfall on Barro Colorado Island, p. 151-172. In: LEIGHT JR., E.; RAND, A. S.; WINDSOR, D. (Eds.). *The ecology of a tropical forest: seasonal rhythms and long-term changes*. Washington: Smithsonian Institutional Press, 1982.
- FOX, J. *Car: companion to applied regression*. R package version 1 2-14. 2009.
- FRANKIE, G. W.; BAKER, H. G.; OPLER, P. A..Comparative phonological studies of trees in tropical lowland wet and dry sites of Costa Rica. *Journal of Ecology*, v.62, p.881-913. 1974
- GORDO, M. *Ecologiaeconservação do sauím-de-coleira, Saguinus bicolor (Primates: Callitrichidae)*. Belém Museu Paraense Emílio Goeldi/UFPA, 2012. (Tese de Doutorado).
- HAMANN, A. Flowering and fruiting phenology of a Philippine submontane rain forest: climatic factors as proximate and ultimate causes. *Journal of Ecology*, v.92, p.24-31. 2004.
- HAUGAASEN, T.; PERES, C. A. Tree phenology in adjacent Amazonian flooded and unflooded forests. *Biotropica*, v.37, p.620-630. 2005.
- HILTY, S. L. Flowering and fruiting periodicity in a pre-montane rain forest in Pacific Colombia. *Biotropica*, v.12, p.292-306. 1980.
- JANZEN, D. H. Synchronization of sexual reproduction of trees within the dry season in Central America. *Evolution*, v.21, p.620-637. 1967.

- KINNAIRD, M. F. Phenology of flowering and fruiting of an east African riverine forest ecosystem. *Biotropica*, v.24, p.187-194. 1992.
- KOPTUR, S.; HABER, W. A.; FRANKIE, G. W.; BAKER, H. G. Phenological studies of shrub and treelet species in tropical cloud forests of Costa Rica. *Journal of Tropical Ecology*, v.4, p.323-346. 1988.
- KRISHNAN, R. M. Reproductive phenology of a wet forest understorey in the Western Ghats, South India. *Global Ecology and Biogeography*, v.11, n.2, p.179-182. 2002.
- LAURANCE, W. F.; DELAMÔNICA, P.; LAURENCE, S. G.; VASCONCELOS, H. L.; LOVEJOY, T. E. Rainforest fragmentation kills big trees. *Nature*, v.404, p.836. 2000.
- LAURANCE, W. F.; MERONA, J. M. R.; ANDRADE, A.; LAURANCE, S. G.; D'ANGELO, S.; LOVEJOY, T. E.; VASCONCELOS, H. L. Rain-forest fragmentation and the phenology of Amazonian tree communities. *Journal of Tropical Ecology*, v.19, p.343-347. 2003.
- LIETH, H. *Phenology and Seasonality Modeling*. Ecological Studies 8. New York: Springer, 1974.
- LIMA JUNIOR, M. J. V. *Fenologia de cinco espécies de Lecythidaceae da Reserva Florestal Ducke, Manaus-AM*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia / Universidade Federal do Amazonas, 1992. 71p. (Dissertação de Mestrado).
- LONGMAN, K. A.; JENIK, J. *Tropical Forest and its environment*. London: Tropical Ecology Series, 1974.196p.
- LONGMAN, K.A.; JENIK, J. *Tropical Forest and its environment*. Nova York: Longman Scientific & Technical, 1987. 347p.
- LUO, Z. K.; SUN, O. J.; GE, Q. S.; XU, W. T.; ZHENG, J. Y. Phenological responses of plants to climate change in an urban environment. *Ecological Research*, v.22, p.507-514. 2007.
- MACNALLY, R. Multiple regression and inference in ecology and conservation biology: further comments on identifying important predictor variables. *Biodiversity and Conservation*, v.11, p.1397-1401. 2002.
- MARQUES FILHO, A. O.; RIBEIRO, M. N. G.; SANTOS, H. M.; SANTOS, J. M. Estudos climatológicos da Reserva Florestal Ducke – Manaus – AM. IV. Precipitação. *Acta Amazonica*, v.11, p.759-768. 1981.
- MENZEL, A. Phenology: its importance to the global change community. *Climatic Change*, v.54, p.379-385. 2002.
- MORELLATO, L. P. C.; LEITÃO FILHO, H. F. Estratégias fenológicas de espécies arbóreas em floresta mesófila na Serra do Japi, Jundiá, SP. *Revista Brasileira de Biologia*, v.50, p.63-173. 1990.
- MORELLATO, L. P. C. Phenological data, networks, and research: South America, p. 75-92. In: SCHWARTZ, M. D. (Ed.) *Phenology: An Integrative Environmental Science*. Tasks for Vegetation. Dordrecht: Sciences Kluwer Academic Publishers, 2003.

MUNIZ, F. H. Floração e frutificação das árvores da Reserva Florestal do Sacavém em São Luís-MA. *Pesquisa em Foco*, v.4, n.4, p.46-61. 1996.

NEIL, K.; WU, J. Effects of urbanization on plant flowering phenology: a review. *Urban Ecosystems*, v.9, p.243-257. 2006.

NEWSTROM, L. E.; FRANKIE, G. W.; BAKER, H. G. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland Tropical Rain Forest trees at La Selva, Costa Rica. *Biotropica*, v.26, n.2, p.141-159. 1994a

NEWSTROM, L. E.; FRANKIE, G. W.; BAKER, H. G.; COLWELL, R. K. Diversity of long-term flowering patterns, p. 142-160. In: HESPENHEIDE, H. A.; HARTSHORN, G. S. (Eds.) *La Selva: Ecology and Natural History of a Neotropical Rain Forest*. Chicago: The University of Chicago Press, 1994b.

OPLER, P. A.; FRANKIE, G. W.; BAKER, H. G. Comparative phenological studies of treelet and shrub species in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. *Journal of Ecology*, v.68, p.167-188. 1980.

PERES, C. A. Primate responses to phenological changes in an Amazonian terra firme forest. *Biotropica*, v.26, p.98-112. 1994.

PERES-NETO, P. R. A unified strategy for estimating and controlling spatial, temporal and phylogenetic autocorrelation in ecological models. *Oecologia Brasiliensis*, v.10, n.5, p.101-119. 2006.

PINTO, A. M.; RIBEIRO, R. J.; ALENCAR, J. C.; BARBOSA, A. P. Fenologia de *Simarouba amara* Aubl. na Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus, AM. *Acta Amazonica*, v.35, n.3, p.347-352. 2005.

PINTO, A. M.; MORELLATO, L. P. C.; BARBOSA, A. P. Fenologia reprodutiva de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd (Fabaceae) em duas áreas de floresta na Amazônia Central. *Acta Amazonica*, v.38, n.4, p.643-650. 2008.

R Development Core Team. *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. 2009.

REICH, P. B. Phenology of tropical forests: patterns, causes, and consequences. *Canadian Journal of Botany*, v.73, n.2, p.164-174. 1995.

SCHULZE, E. D.; BECK, E.; MÜLLER-HOHENSTEIN, K. *Plant Ecology*. Heidelberg: Springer, 2002. 702p.

SMYTHE, N. Relationships between fruiting seasons and seed dispersal methods in a neotropical forest. *The American Naturalist*, v.104, p.25-35. 1970.

STEEGE, H.; PERSAUD, C. A. The phenology of Guyanese timber species - A compilation of a century of observations. *Vegetation*, v.95, p.177-198. 1991.

THOMAS, S. C. Asymptotic height as a predictor of growth and allometric characteristics in Malaysian rain forest trees. *American Journal of Botany*, v.83, p.556-566. 1996.

TUTIN, C. E. G.; FERNANDEZ, M. Relationships between minimum temperature and fruit production in some tropical forest trees in Gabon. *Journal of Tropical Ecology*, v.9, p.241-248. 1993.

VAN SCHAIK, C. P. Phenological changes in a Sumatran rain forest. *Journal of Tropical Ecology*, v.2, p.327-347. 1986.

VAN SCHAIK, C. P.; TERBORGH, J. W.; WRIGHT, J. The phenology of tropical forests: adaptive significance and consequences for primary consumers. *Annual Review Ecology and Systematics*, v.24, p.353-377. 1993.

WALSH, C.; MACNALLY, R. *Hier.part*: hierarchical partitioning. R package version 1.0-3. 2008.

ZALAMEA, M.; GONZÁLEZ, G. Leaf fall phenology in a subtropical wet forest in Puerto Rico: from species to community patterns. *Biotropica*, v.40, n.3, p.295-304. 2008.

ZUUR, A. F.; IENO, E. N.; ELPHICK, C. S. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods in Ecology & Evolution*, v.1, p.3-14. 2009.





CAPÍTULO 11

INFLUÊNCIA DO ESPAÇO E DO AMBIENTE SOBRE A RIQUEZA E A COMPOSIÇÃO DE ESPÉCIES DE ARECACEAE EM UMA ÁREA DE FLORESTA DE TERRA FIRME NA AMAZÔNIA CENTRAL, BRASIL

*Ana Paula Porto FERREIRA, Maria Gracimar Pacheco de ARAÚJO,
Hedinaldo Narciso LIMA, Eduardo Martins VENTICINQUE*

Abstract

Palms (Arecaceae) are conspicuous elements in tropical forests, where they are diverse and abundant. Besides, they are important to frugivores, as some species are considered key resources in ecological communities, and also to men, given their numerous uses. This work evaluated the effects of geographical distance and edaphic and environmental variables on the species richness and composition of a palm community in a non-flooded “terra firme” forest at Fazenda Experimental of Federal University of Amazonas. Species were sampled in 31 plots (250 x 4 m), systematically distributed over an area of 24 km². Data on geographic coordinates, soil features, litter depth, distance to the nearest stream and altitude were previously obtained. Species composition was summarized by non-metric multidimensional scaling (NMDS), and subsequently multiple regressions with variance partitioning were carried out. Forty two taxa were recorded (among them, two forms). Species richness varied from four to 21 species and was not reasonably explained by any of the analyzed variables. Palm community species composition was influenced mainly by physical and chemical soil features and, to a lesser extent, by other environmental attributes (altitude and distance to the nearest stream); it was not significantly influenced by geographic distance. These results strengthen previous suggestions that, at intermediate spatial scales (1-10 km), environmental heterogeneity is the main source of palm species composition structure, and that geographic distance has no strong influence on species composition at this scale.

INTRODUÇÃO

A floresta amazônica abriga uma elevada diversidade de espécies, tanto animais quanto vegetais, diversidade provavelmente ainda subestimada. Uma das maneiras de contribuir com a resolução desta problemática é entender os mecanismos geradores dos padrões de distribuição e abundância dos organismos estudados (ELITH e LEATHWICK, 2009). Segundo Soberón e Peterson (2005) existem quatro tipos de fatores que limitam a distribuição de uma espécie, são eles: condições abióticas, fatores bióticos, capacidade de dispersão e capacidade de se adaptar a novas condições.

Desse modo, para a geração de informações sobre esses fatores uma etapa inicial é o levantamento sistematizado das espécies em um determinado local, das características do ambiente onde essas espécies se encontram e das interações que estas estabelecem com outras espécies, ou seja, estudos básicos sobre a ocorrência, abundância, biologia e ecologia das espécies da fauna e da flora. Grande esforço se tem empreendido, com pesquisas nessas áreas, mas o número de trabalhos dessa natureza ainda é insuficiente até o momento (MAGNUSSON et al., 2005).

Boa parte da imensa diversidade biológica da Amazônia está representada pelas plantas, que são os principais organismos produtores de todo esse sistema, com cerca de 30.000 espécies somente de Magnoliophyta (Angiospermae) (LEWINSOHN, 2005). E como se explica essa diversidade vegetal tão elevada? Muitos dos mecanismos elencados para explicar esta alta diversidade de plantas nos trópicos estão associados à heterogeneidade ambiental em escalas de 1-10 km (JANZEN, 1970; RICKLEFS, 1977; CONNELL, 1978; CLARK et al., 1999; CONDIT et al., 2002).

Um grupo de plantas particularmente diversificado e abundante em florestas tropicais é o das palmeiras (Arecaceae) (HENDERSON et al., 1995), as quais estabelecem inúmeras relações mutualísticas com a fauna (HENDERSON, 2002), além de servirem a vários usos por populações humanas (BALICK e BECK, 1990). Palmeiras são lembradas como símbolo de florestas tropicais, porque quase 70% de suas espécies ocorrem exclusivamente nos trópicos (JONES, 1995) e por pertencerem a uma das maiores famílias de plantas tanto em riqueza quanto em abundância, ocupando quase todos os habitats (HENDERSON et al., 1995).

Por meio do presente estudo realizou-se o levantamento das espécies de palmeiras existentes no sistema de amostragens (protocolo PPBio –

Programa de Pesquisa em Biodiversidade) da Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas e se relacionou a riqueza e a composição de espécies com as características espaciais, edáficas e ambientais já levantadas por outros estudos realizados na Amazônia, no intuito de contribuir para a discussão da influência dos gradientes ambientais e da distância geográfica para a distribuição e abundância desse grupo de plantas.

Material e Métodos

Área de estudo

Este estudo foi realizado na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas (2°38' S; 60°3' W; altitude 50 – 126 m), com área total de aproximadamente 3000 hectares, situada no km 38 da rodovia BR-174, Manaus/AM, Brasil (Figura 1).

Compreende, além de construções e áreas de plantio, uma área verde com floresta de terra firme sobre platôs, vertentes, campinaranas e floresta secundária. Por fazer limite com outras reservas, que pertencem ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e ao Instituto de Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), a vegetação da Fazenda Experimental faz parte de um grande *continuum* (CRUZ, 2001).

Dados de uma área próxima (Reserva do Cuieiras – 2°35'21,08"S, 60°06'53,63"W) indicam que a média da temperatura mensal varia de 24,1°C a 27,1°C. A precipitação anual total é de aproximadamente 2.200 mm, com uma estação relativamente seca de julho a setembro (precipitação < 100 mm). A média da umidade relativa diária varia de 75%, no mês mais seco (agosto), a 95%, durante o pico de chuvas em abril (LUIZÃO et al., 2004).

Na área existe um sistema de trilhas do Programa de Pesquisa em Biodiversidade (PPBio) que conta com uma grade de 24 km², sendo 59 km de trilhas e 41 parcelas instaladas (21 são terrestres e 20 são ripárias – Figura 1) posicionadas seguindo a curva de nível do terreno (MAGNUSSON et al., 2005).

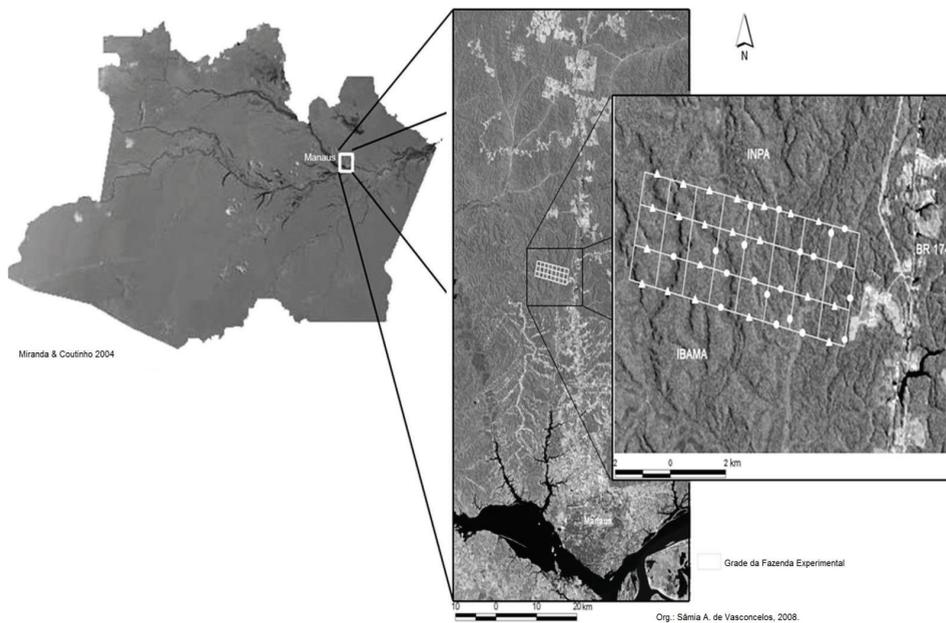


Figura 1

Imagem do estado do Amazonas e do sistema de parcelas estudado. Círculos representam parcelas ripárias ou aquáticas e triângulos parcelas terrestres. Fonte: Programa de Pesquisa em Biodiversidade (PPBio).

Coleta de dados

Das 41 parcelas existentes no sistema de trilhas, 31 parcelas são uniformemente distribuídas a intervalos de 1 km de distância (parcelas localizadas ao longo das trilhas de orientação Leste-Oeste – Figura 1). As amostragens foram realizadas nestas 31 parcelas com dimensões de 250m x 4 m, conforme Costa et al. (2008). Nestas parcelas, todos os indivíduos enraizados dentro da parcela, com mais de 1 m de altura (medido pela altura da folha mais alta) foram incluídos e identificados. Para os indivíduos multicaules (que formam touceiras), cada aglomerado de caules foi contado como um único indivíduo. Os dados foram coletados no período de abril/2010 a fevereiro/2011. A identificação inicial realizada em campo foi feita de acordo com Henderson et al. (1995). Amostras de material testemunho foram coletadas e posteriormente confirmadas por comparação com material do

herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e as dúvidas que permaneceram foram pessoalmente esclarecidas com o especialista no grupo Andrew Henderson do New York Botanical Garden. Posteriormente as amostras serão depositadas no acervo do herbário do INPA.

As coordenadas geográficas foram obtidas no início de cada uma das parcelas com um aparelho de GPS (*Global Positioning System*) Modelo Garmim GPSMap 76 Csx. O Datum utilizado foi o WGS84. Os dados de altitude foram obtidos do SRTM (*Shuttle Radar Topography Mission*). A espessura da camada da serrapilheira foi medida com ajuda de um bastão graduado em centímetros, em seis pontos equidistantes (50 metros) para cada parcela, posteriormente foi calculada uma média aritmética dos valores coletados. A distância do curso d'água mais próximo foi medida com trena.

Amostras da camada superficial do solo (0 - 5 cm de profundidade) foram coletadas em 6 pontos a cada 50 m ao longo de cada parcela. As coletas individuais foram misturadas e homogeneizadas, originando uma amostra composta por parcela, da qual 500 g foram coletados e armazenados em sacos plásticos para análises posteriores. As amostras de solo foram secas e peneiradas em uma peneira de malha de 2 mm. Após o preparo, as amostras foram submetidas a análises físicas e químicas para a determinação dos teores de nutrientes, pH, granulometria, Al^{3+} , H+Al e teor de matéria orgânica.

A classificação das parcelas quanto ao tipo do ambiente (platô, vertente, baixio e campinarana) foi feita com base nas observações de campo quanto à caracterização fitofisionômica, auxiliadas pelas informações posteriores de características do solo e altitude.

Análise dos dados

Para reduzir a multidimensionalidade da composição da comunidade de palmeiras, foi usada ordenação do tipo Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS), disponível no programa R 2.12.2 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011). Foram feitas quatro ordenações: uma quantitativa incluindo todas as espécies, uma qualitativa também incluindo todas as espécies e outras duas quantitativas utilizando as espécies de dossel e sub-bosque, respectivamente. Para as ordenações quantitativas, matrizes de dissimilaridade foram construídas a partir de dados de abundância (espécies/parcela) usando o índice de Bray-Curtis. Para a ordenação qualitativa, a partir de matrizes de dados de presença/ausência, matrizes de dissimilaridade

foram construídas usando o índice de Sorensen. Em todas as ordenações reduziu-se a variação da matriz de dissimilaridade somente para um eixo. Os vetores resultantes das análises de ordenação foram usados como variáveis dependentes nos modelos de regressão múltipla posteriores.

As variáveis explanatórias disponíveis inicialmente foram: latitude, longitude, altitude, distância para o curso d'água mais próximo, espessura da serrapilheira, pH do solo, acidez potencial (H+Al), conteúdo de argila, teor de fósforo (P), alumínio (Al^{3+}), matéria orgânica (M.O.), potássio (K^+), magnésio (Mg^{2+}) e cálcio (Ca^{2+}). Para reduzir o número de variáveis analisadas nos modelos e resolver problemas de multicolinearidade entre as variáveis ambientais e edáficas, realizou-se uma Análise de Componentes Principais (PCA). Nesta PCA utilizou-se a rotação EQUAMAX para equilibrar a quantidade de informação capturada por cada eixo de ordenação e facilitar a interpretação das cargas das variáveis na formação de cada um dos componentes. Pelo resultado da PCA conseguiu-se observar uma separação dessas variáveis entre os eixos. As variáveis mais relacionadas ao eixo 1 foram: pH, P, Al^{3+} e conteúdo de argila, eixo 2: M.O., H+Al e K^+ , eixo 3: Mg^{2+} e Ca^{2+} e eixo 4: altitude e distância para o curso d'água mais próximo (Tabela 1). Sempre que a espessura da serrapilheira era incluída na PCA, não era possível a organização dos eixos de acordo com as classes de variáveis. Deste modo, optou-se por usar os valores reais desta variável.

A partir de então, realizaram-se regressões múltiplas entre as variáveis respostas (riqueza e eixos de ordenação para as composições) e variáveis explanatórias (latitude e longitude como descritores do espaço, eixos 1, 2 e 3 da PCA como descritores do solo e eixo 4 da PCA e espessura da serrapilheira como descritores de ambiente). Particionou-se a variação do modelo resultante entre as variáveis explanatórias e calculou-se a proporção da variação explicada: 1- pelo espaço (latitude e longitude); 2- pelas características físicas e químicas do solo (eixos 1, 2 e 3); 3- pelas características do ambiente (eixo 4 e espessura da serrapilheira); 4- pela variação compartilhada entre espaço e solo; 5- pela variação compartilhada entre espaço e ambiente; 6- pela variação compartilhada entre solo e ambiente; 7- variação compartilhada entre espaço, solo e ambiente; e 8- pela quantidade de variação que permanece não explicada pelo modelo (Tabela 2). Estas regressões com partição de variância foram feitas no *software* SAM 4.0 *Spatial Analysis in Macroecology* (RANGEL et al., 2010).

Tabela 1 - Valores das cargas obtidas na Análise de Componentes Principais (PCA) das variáveis preditoras.

Variável	Eixo (1)	Eixo (2)	Eixo (3)	Eixo (4)
PH	-0,885	-0,016	0,013	-0,230
P	-0,707	0,159	0,338	-0,297
Al	0,671	0,639	0,077	0,298
Argila	0,648	0,331	0,011	0,555
M.O.	-0,067	0,910	0,141	0,264
H+Al	0,219	0,909	0,189	0,177
K	-0,005	0,768	0,537	0,245
Mg	-0,129	-0,05	0,934	0,214
Ca	0,024	0,467	0,835	-0,120
Altitude	0,515	0,243	0,078	0,737
Distância do curso d'água	0,205	0,169	0,116	0,902
Valor de explicação de cada eixo	23,008	28,133	18,661	19,229

Valores em negrito são as variáveis que foram utilizadas para interpretar o eixo e que tem as cargas mais fortes no respectivo eixo

Tabela 2 - Resumo das variáveis usadas nas regressões múltiplas com partição de variância.

Descritores	Variável da regressão	Variável real
Espaço	Latitude	Latitude
	Longitude	Longitude
Solo	Eixo 1	pH Fósforo (P) Alumínio (Al ³⁺) % de Argila
	Eixo 2	Matéria orgânica (M.O.) Acidez potencial (H+Al) Potássio (K ⁺)
	Eixo 3	Magnésio (Mg ²⁺) Cálcio (Ca ²⁺)
Ambiente	Eixo 4	Altitude Distância para o curso d'água
	Espessura da serrapilheira	Espessura da serrapilheira

RESULTADOS

Características gerais da comunidade

Foram registrados 42 táxons incluindo variedades e formas (Tabela 3) totalizando 7.221 indivíduos, o que corresponde a 2.329 ind./ha. As espécies mais abundantes na área amostrada foram as seguintes: *Oenocarpus bataua* Mart., *Attalea attaleoides* (Barb. Rodr.) Wess. Boer, *Astrocaryum sciophilum* (Miq.) Pulle, *Iriartella setigera* (Mart.) H. Wendl., *Oenocarpus bacaba* Mart., *Geonoma aspidiifolia* Spruce, *Astrocaryum gynacanthum* Mart., *Oenocarpus minor* Mart., *Attalea microcarpa* Mart., *Bactris hirta* Mart. (forma pinada), *Manicaria saccifera* Gaertn., *Syagrus* cf. *cocoides* Mart. e *Euterpe precatória* Mart. (Tabela 3).

As espécies mais frequentes, presentes em mais de 20 parcelas, foram: *Astrocaryum gynacanthum* Mart., *Astrocaryum sciophilum* (Miq.) Pulle, *Geonoma aspidiifolia* Spruce, *Oenocarpus bacaba* Mart., *Attalea attaleoides* (Barb. Rodr.) Wess. Boer, *Iriartella setigera* (Mart.) H. Wendl., *Oenocarpus minor* Mart. e *Bactris gastoniana* Barb. Rodr. (Tabela 3).

Tabela 3 - Táxons registrados na área de estudo, nomes populares e respectivos números de indivíduos, números de parcelas em que ocorreram e densidades absolutas médias.

Espécie	Nome popular	NI	NP	DAM
<i>Astrocaryum acaule</i> Mart.	tucumãf	27	4	8,71 ± 25,79
<i>Astrocaryum gynacanthum</i> Mart.	mumbaca	296	27	95,48 ± 63,97
<i>Astrocaryum sciophilum</i> (Miq.) Pulle	murumuru	863	27	278,39 ± 234,49
<i>Attalea attaleoides</i> (Barb. Rodr.) Wess. Boer	palha-branca	1004	24	323,87 ± 309,75
<i>Attalea maripa</i> (Aubl.) Mart.	inajá	88	10	28,39 ± 61,00
<i>Attalea microcarpa</i> Mart.	palha-vermelha	271	8	87,42 ± 254,81
<i>Bactris acanthocarpa</i> var. <i>acanthocarpa</i> Mart.	marajá	64	19	20,65 ± 24,49
<i>Bactris acanthocarpa</i> var. <i>intermedia</i> A.J. Hend.	marajá	17	5	5,48 ± 14,80
<i>Bactris acanthocarpa</i> var. <i>trailiana</i> (Barb. Rodr.) A.J. Hend.	marajá	4	4	1,29 ± 3,41
<i>Bactris acanthocarpoides</i> Barb. Rodr.	marajá	7	3	2,26 ± 8,05
<i>Bactris balanophora</i> Spruce	marajá	2	1	0,65 ± 3,59
<i>Bactris constanciae</i> Barb. Rodr.	marajá, palmeira rambutan	34	14	10,97 ± 19,21
<i>Bactris elegans</i> Barb. Rodr.	marajá	4	1	1,29 ± 7,18
<i>Bactris gastoniana</i> Barb. Rodr.	marajá	98	21	31,61 ± 33,97
<i>Bactris hirta</i> Mart. (forma bifida)	marajá, tucum-mirim	24	9	7,74 ± 15,43
<i>Bactris hirta</i> Mart. (forma pinada)	marajá, tucum-mirim	238	13	76,77 ± 229,96
<i>Bactris killipii</i> Burret	marajá, marajazinho	2	2	0,65 ± 2,50
<i>Bactris maraja</i> Mart. var. <i>maraja</i>	marajá	19	4	6,13 ± 24,18
<i>Bactris maraja</i> var. <i>chaetospatha</i> (Mart.) Henderson	marajá	36	6	11,61 ± 38,82
<i>Bactris simplicifrons</i> Mart.	marajá, ubimzinho, ubim-mirim	34	15	10,97 ± 22,41
<i>Bactris syagroides</i> Trail	marajá, marajazinho-vermelho	8	4	2,58 ± 8,15
<i>Bactris</i> cf. <i>tefensis</i> A. J. Hend.	marajá	38	3	12,26 ± 62,81
<i>Bactris tomentosa</i> Mart.	marajá	16	6	5,16 ± 14,11
<i>Desmoncus polyacanthos</i> Mart.	jacitara	17	11	5,48 ± 9,61
<i>Euterpe precatoria</i> Mart.	açai-solitário, açai-solteiro	99	17	31,94 ± 49,63
<i>Geonoma aspidifolia</i> Spruce	ubim	373	27	120,32 ± 146,80
<i>Geonoma deversa</i> (Poit.) Kunth	ubim	80	20	25,81 ± 31,91
<i>Geonoma maxima</i> var. <i>cheldonura</i> (Spruce) A.J. Hend.	ubim, ubim-do-céu	40	16	12,90 ± 16,16
<i>Geonoma maxima</i> var. <i>maxima</i> (Poit.) Kunth	ubim, açazinho	20	13	6,45 ± 10,82
<i>Geonoma maxima</i> var. <i>spixiana</i> (Mart.) A.J. Hend.	ubim, açazinho	15	5	4,84 ± 11,80
<i>Geonoma</i> sp. 1	ubim	1	1	0,32 ± 1,80
<i>Geonoma stricta</i> (Poit.) Kunth	ubim, ubim-miúdo	3	2	0,97 ± 3,96
<i>Hyospathe elegans</i> Mart.	ubirana, falso-ubim	12	6	3,87 ± 10,22
<i>Iriartella setigera</i> (Mart.) H. Wendl.	paxiubinha, paxiubarana	764	23	246,45 ± 571,06
<i>Manicaria saccifera</i> Gaertn.	bussú	113	1	36,45 ± 202,95
<i>Mauritia flexuosa</i> L. f.	buriti	2	1	0,65 ± 3,59
<i>Mauritiella aculeata</i> (Kunth) Burret	buritirana	40	6	12,90 ± 37,26
<i>Oenocarpus bacaba</i> Mart.	bacaba	639	26	206,13 ± 305,51
<i>Oenocarpus bataua</i> Mart.	patauá	1413	10	455,81 ± 835,77
<i>Oenocarpus minor</i> Mart.	bacabinha	283	23	91,29 ± 137,37
<i>Socratea exorrhiza</i> (Mart.) H. Wendl.	paxiúba	8	6	2,58 ± 5,75
<i>Syagrus</i> cf. <i>cocoides</i> Mart.	piririma	105	17	33,87 ± 56,84

NI = número de indivíduos

NP = número de parcelas em que ocorreu

DAM = densidade absoluta média

Padrões de riqueza e composição

A riqueza variou de quatro espécies na parcela com menor riqueza a 21 espécies na parcela mais rica e não foi satisfatoriamente explicada por nenhuma das variáveis analisadas. O modelo de regressão para a riqueza não foi significativo e explicou apenas 23% da variação na riqueza (Tabela 4).

As ordenações de NMDS quantitativa, qualitativa, dossel e sub-bosque explicaram 76,9%, 83,9%, 60,2% e 70,4%, respectivamente da variação observada nas composições e o *stress* foi de 26,9%, 23,2%, 29,9% e 25,8%, respectivamente.

Todos os modelos gerados para as composições de espécies foram significativos (Tabela 4), e as variáveis preditoras significativas foram as mesmas para as composições gerais qualitativa e quantitativa e para a composição de dossel (eixos 1 e 4 da PCA), mas diferiu para a composição de sub-bosque (eixos 1, 2 e 3 da PCA) (Tabela 4). Na partição de variância a composição de espécies quantitativa, qualitativa e de dossel foi explicada em sua maior parte pelas características do solo e do ambiente, enquanto que a composição do sub-bosque foi principalmente explicada pelo solo (Tabela 5). A maioria das espécies ocorreu ao longo de uma porção bem ampla do gradiente de substituição de espécies (Figura 2). E parcelas localizadas em ambientes de platô e vertente tenderam a ser mais similares do que parcelas de baixio e campinarana (Figura 3).

Tabela 4 - Resultados das regressões múltiplas (R^2 e coeficientes padronizados).

Variável	Riqueza	C. quant.	C. qual.	C. dossel	C. sub-bosque
Espaço	0,130	0,009	0,031	0,007	0,086
Solo	0,148	0,543	0,496	0,500	0,453
Ambiente	0,064	0,257	0,146	0,298	0,079
Espaço X Solo	-0,087	0,029	-0,012	0,032	-0,041
Espaço X Ambiente	-0,014	0,004	-0,028	0,008	-0,017
Solo X Ambiente	-0,005	-0,069	-0,032	-0,033	-0,038
Espaço X Solo X Ambiente	-0,002	0,070	0,046	0,054	0,033
Total da variação explicada	0,234	0,843	0,647	0,866	0,555
Variação não explicada	0,766	0,157	0,353	0,134	0,445

Variáveis em negrito indicam a categoria de variáveis que mais explicaram a variação

C. quant. = composição quantitativa total

C. quali. = composição qualitativa total

C. dossel = composição quantitativa de dossel

C. sub-bosque = composição quantitativa de sub-bosque

Tabela 5 - Partição da variância dos modelos de regressão múltipla para riqueza e composições de espécies.

Variável	Lat	Long	PCA 1	PCA 2	PCA 3	PCA 4	ES	R^2
Riqueza	-0,455	0,078	0,390	-0,252	-0,137	0,046	0,283	0,234
Composição quantitativa	-0,084	0,06	0,793	0,051	-0,11	0,541	0,071	0,843
Composição qualitativa	0,218	-0,042	-0,757	-0,041	0,117	-0,411	-0,018	0,647
Composição dossel	0,07	-0,056	-0,751	-0,134	0,097	-0,588	0,016	0,866
Composição sub-bosque	-0,513	-0,191	0,588	-0,633	-0,424	0,278	0,123	0,555

Valores em negrito indicam relações significativas a $p = 0,05$

ES= espessura da serrapilheira

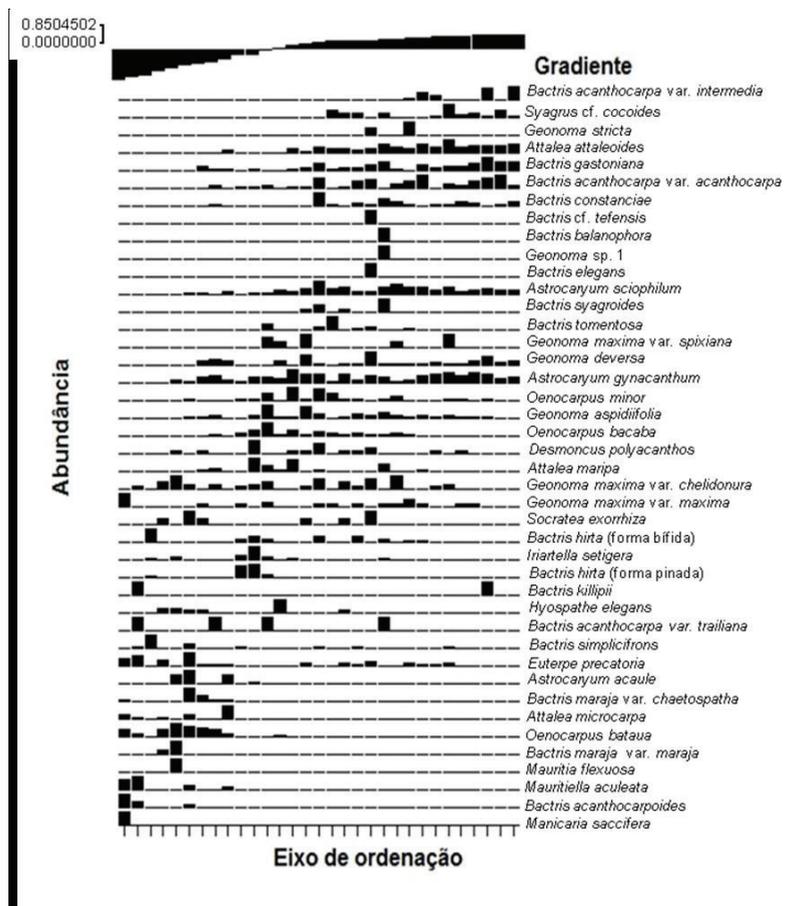


Figura 2

Gradiente de substituição de espécies de palmeiras ao longo das parcelas amostrais na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas (ordenação quantitativa, incluindo todas as espécies).

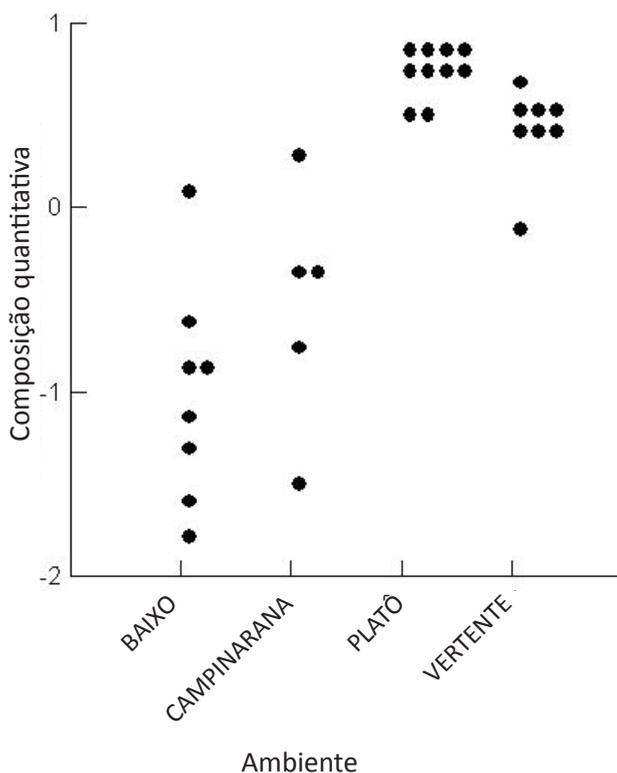


Figura 3

Composição da comunidade de palmeiras nos diferentes ambientes na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas.

DISCUSSÃO

Características gerais da comunidade

A densidade absoluta de palmeiras e o número de táxons registrados neste estudo (2.329 ind./ha e 42 táxons) são semelhantes aos encontrados por Costa et al. (2008) (2.358 ind./ha e 43 táxons) em um trabalho realizado sob os mesmos critérios amostrais na Reserva Florestal Adolfo Ducke (RFAD) a poucos quilômetros de distância desta área de estudo, o que indica padrões semelhantes. Muitas espécies são comuns entre as duas áreas o que está de acordo com Vormisto et al. (2004a), que colocam que áreas adjacentes na Amazônia podem compartilhar mais de 60% das espécies de palmeiras.

Entre as oito espécies mais frequentes encontradas neste estudo, seis estão também entre as mais frequentes na RFAD (*A. gynacanthum*, *A. sciophilum*, *O. bacaba*, *A. attaleoides*, *I. setigera* e *O. minor*). As espécies diferentes para a Fazenda Experimental foram *G. aspidiifolia* e *B. gastoniana* e para a RFAD *Syagrus inajai* e *O. bataua* (COSTA et al., 2008)

Padrões de riqueza e composição

Não foi encontrado um modelo significativo para prever a riqueza de palmeiras na área de estudo. Isto se deu porque mesmo em parcelas com características e composições distintas, o número de espécies é semelhante.

Cerca de 84% da composição quantitativa de espécies foi explicada pelo pH, P, Al^{3+} e argila (solo), altitude e distância para o curso d'água (ambiente). A composição qualitativa seguiu o mesmo padrão de resposta, mas o percentual de explicação diminuiu para 64%. O pH influencia a capacidade de absorção de nutrientes inorgânicos e muitas plantas tem uma faixa estreita de tolerância ao pH (RAVEN et al., 2007). O P faz parte dos compostos energéticos (ATP e ADP), ácidos nucleicos e várias coenzimas, Al^{3+} é conhecido por sua toxicidade para plantas de um modo geral (HARTWIG et al., 2007) e o conteúdo de argila do solo pode determinar as taxas de infiltração, de drenagem e a capacidade do solo em reter água (SOLLINS, 1998). A altitude condiciona uma série de fatores dentro da floresta. Deste modo, é perfeitamente compreensível que influencie a composição de espécies e a distância para o curso d'água é uma medida indireta do encharcamento do solo, pois quanto mais próximo dos cursos d'água mais encharcado é o solo. A água é um recurso importante para as plantas de um modo em geral, mas nem todas as espécies são tolerantes ao encharcamento do solo (LIEBERMAN et al., 1985).

Quando se analisa separadamente as variáveis que influenciam a composição de espécies de dossel/sub-dossel e sub-bosque, pode-se observar que ambas as composições não respondem de maneira igual às variáveis consideradas. A composição de dossel segue o mesmo padrão descrito acima para a comunidade como um todo, mas a composição de sub-bosque foi mais influenciada pelos fatores pH, P, Al^{3+} e argila (eixo 1), M.O., H+Al e K^+ (eixo 2) e Mg^{2+} e Ca^{2+} (eixo 3). Realmente, faz muito sentido pensar que espécies com portes tão diferentes e ocupando estratos diferentes da floresta, com diferentes microclimas, possam ter requerimentos diferentes. A matéria orgânica, embora seja quantificada pela presença de carbono, é um indicativo do quanto de nitrogênio está presente naquele ambiente. O nitrogênio é um elemento envolvido na composição de proteínas, ácidos

nucléicos, clorofilas e coenzimas (RAVEN et al., 2007). A matéria orgânica também está relacionada ao pH, uma vez que atua como um tampão da concentração de prótons disponíveis no solo. O potássio é um elemento importante, pois está envolvido na regulação osmótica, nas trocas gasosas e no metabolismo celular, enquanto que a acidez trocável estabiliza o pH do solo (RAVEN et al., 2007).

Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores de que as características químicas (VORMISTO et al., 2004b; ANDERSEN, 2010) e a textura (VORMISTO et al., 2000; SOUSA, 2007; COSTA et al., 2008) do solo tem um papel importante na estruturação de comunidades de palmeiras. Embora o teor de cátions do solo seja usualmente empregado como uma medida de fertilidade, concentrações excessivas de nutrientes podem ser tóxicas, além da conhecida toxicidade associada ao alumínio em solos tropicais, o que pode explicar o efeito detectado para este elemento neste estudo.

A espessura da serrapilheira e a distância geográfica não foram variáveis significativas para a composição de espécies, contrastando com o que foi encontrado por Sousa (2007) onde a espessura da serrapilheira influenciou significativamente a composição de espécies. Por outro lado, no que diz respeito à distância geográfica, os resultados concordam com Costa et al. (2008) que não encontraram relação significativa entre a distância geográfica e a composição de espécies. Estes autores ainda reforçam que a distância geográfica (espaço) provavelmente é importante para mudanças na composição de espécies, porém em escalas maiores.

Um grupo de espécies está amplamente distribuído ao longo do gradiente de substituição de espécies (Figura 2). Entretanto, também se pode observar que determinadas espécies estão principalmente restritas à extremidade esquerda deste gradiente (*M. saccifera*, *B. acanthocarpoides*, *M. aculeata*, *M. flexuosa*, *B. maraja* var. *maraja*, *O. bataua*, *A. microcarpa*, *B. maraja* var. *chaetospata* e *A. acaule*), enquanto *B. acanthocarpa* var. *intermedia* está restrita ao outro extremo do gradiente. Como grande parte da variação na composição pode ser explicada pela variação edáfica e ambiental, o intervalo ocupado pelas espécies ao longo do gradiente de substituição pode ser tomado como uma indicação da amplitude da tolerância destas espécies à variação edáfica e ambiental.

A maior similaridade de composição de espécies entre parcelas de platô e vertente comparada com a grande variabilidade entre parcelas de baixio e campinarana (Figura 3) pode refletir a maior frequência de perturbações nos baixios, e diferenças topográficas entre as campinaranas.

Baixios estão sujeitos à inundação sazonal e até mesmo diária e dependendo do microrrelevo podem estar sujeitos a diferentes regimes de inundação, que por sua vez pode influenciar o estabelecimento e a persistência das plantas. Duas das campinaranas nesta área de estudo estão localizadas no padrão de relevo “planos arenosos em topo de platô” que pertence, à unidade geomorfológica de Planos Arenosos e outras três no padrão de relevo “tabuleiros pouco dissecados com vales amplos” pertencente à unidade geomorfológica de Superf cias Tabulares (MAIA et al., 2005), sugerindo que ao menos parte dessa variação está associada à topografia.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Andrew Henderson pelo auxílio e esclarecimento de d vidas sobre a identificação das palmeiras (Arecaceae).   M.Sc. Thaise Emilio Lopes de Sousa pelos esclarecimentos sobre o protocolo de amostragem de palmeiras e esclarecimento de d vidas de um modo em geral. Aos M.Sc. Diana Patricia Rojas e Dr. Marcelo Menin, pelos dados fornecidos. À CAPES e a FAPEAM pelos meses de bolsas concedidas. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro ao projeto (CNPq - processos 470375/2006-0 e 558318/2009-6 concedidos ao Dr. Marcelo Menin) e pela bolsa de produtividade a Eduardo Venticinque (processo 307997/2009-0).

REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, K. M.; TURNER, B. L.; DALLING, J. W. Soil-based habitat partitioning in understory palms in lower montane tropical forests. *Journal of Biogeography*, v.37, n.2, p.278-292. 2010.
- BALICK, M. J.; BECK, H. T. *Useful palms of the world. A synoptic bibliography*. New York: Columbia University Press, 1990. 742p.
- CLARK, D. B.; PALMER, M. W.; CLARK, D. A. Edaphic factors and the landscape-scale distributions of tropical rain forest trees. *Ecology*, v.80, p.2662-2675. 1999.
- CONDIT, R.; PITMAN, N.; LEIGH JR., E. G.; CHAVE, J.; TERBORGH, J.; FOSTER, R. B.; N NEZ, P. V.; AGUILAR, S.; VALENCIA, R.; VILLA, G.; MULLER-LANDAU, H. C.; LOSOS, E.; HUBBELL, S. P. Beta-Diversity in Tropical Forest Trees. *Science*, v.295, p.666-669. 2002.
- CONNELL, J. Diversity in tropical rain forest and coral reefs. *Science*, v.199, p.1302-1310. 1978.

COSTA, F. R. C.; GUILLAUMET, J-L.; LIMA, A. P.; PEREIRA, O. S. Gradients within gradients: The mesoscale distribution patterns of palms in a central Amazonian forest. *Journal of Vegetation Science*, v.20, p.69-78. 2008.

CRUZ, J. *Caracterização morfológica, fenológica e produtividade de Oenocarpus bacaba Martius (Palmae) em floresta de terra firme e pastagens na Amazônia Central*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia / Universidade Federal do Amazonas, 2001. 145p. (Tese de Doutorado).

ELITH, J.; LEATHWICK, J. R. Species Distribution Models: Ecological Explanation and Prediction Across Space and Time. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, v.40, p.677-697. 2009.

HARTWIG, I.; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F.; BERTAN, I.; SILVA, J. A. G.; SCHMIDT, D. A. M.; VALÉRIO, I. P.; MAIA, L. C.; FONSECA, D. A. R.; REIS, C. E. S. Mecanismos associados à tolerância ao alumínio em plantas. *Semina: Ciências Agrárias*, v.28, n.2, p.219-228. 2007.

HENDERSON, A. *Evolution ecology of palm*. New York: New York Botanical Garden Press, 2002. 259p.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. *Field guide to the palms of the Americas*. New York: Oxford University Press, 1995. 363p.

JANZEN, D. H. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *American Naturalist*, v.104, p.501-528. 1970.

JONES, D. L. *Palms throughout the world*. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 1995. 410p.

LEWINSOHN, T. M. (Org.). *Avaliação do estado do conhecimento da biodiversidade brasileira*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, Brasil. 2005. 520p.

LIEBERMAN, M.; LIEBERMAN, D.; HARTSHORN, G. S.; PERALTA, R. Small-scale altitudinal variation in lowland wet tropical forest vegetation. *Journal of Ecology*, v.73, p.505-516. 1985.

LUIZÃO, R. C. C.; LUIZÃO, F. J.; PAIVA, R. Q.; MONTEIRO, T. F.; SOUZA, L. S.; KRUIJT, B. Variation of carbon and nitrogen cycling processes along a topographic gradient in a central Amazonian forest. *Global Change Biology*, v.10, p.592-600. 2004.

MAGNUSSON, W. E.; LIMA, A. P.; LUIZÃO, R. C.; LUIZÃO, F.; COSTA, F. R. C.; CASTILHO, C. V.; KINUPP, V. F. *RAPELD: uma modificação do método de Gentry pra inventários de biodiversidade em sítios para pesquisa ecológica de longa duração*. *Biota Neotropica*, v.5, n.2. 2005.

MAIA, M. A. M.; DANTAS, M. E.; HORBE, A. M. C. Geomorfologia, p.46-110. In: FURLAN, L. F.; GROSSO, F. S. B.; SOUZA, W. M.; SILVA, H. A. A.; GOMES, E. M. S.; BRAGA, C. E. S.; VIANA, V. M.; RODRIGUES, O. M.; SOUZA, A. J.; CORRÊA, S.; SILVA, S. R. C.; AZEVEDO, G. C.; DANTAS, A. S. L.; NETO, M. B. R.; MENDES, J. R.; CARVALHO, F. P.; SILVA, A. R. A.; SILVA, C. R.; ARMESTO, R. C. G.; MARQUES, V. J.; NAVA, D. B.; OLIVEIRA, M. A.; REIS, N. J.; MOURA, U. F.; PERDIZ, R. S.; BÔAS, J. M. V.; FERREIRA, A. L.; SILVA, F. A. G.; NERY, M. A. C.; BURGOS, F. L.; GOMES, J. A.; RODRIGUES, R.;

CRESTANA, S.; SOUZA, A. G. C.; GENRO, T.; FROTA, H. O.; MILLIOTTI, C. A.; SILVA, P. B.; NUNES, E. P.; SIMONAI, C. A. A.; MADALENA, H.; FILHO, E. S. F. (Eds.). *Zoneamento Ecológico-Econômico do Distrito Agropecuário da Suframa*. Manaus, Governo Federal, 2005.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. 2011

RANGEL, T. F.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; BINI, L. M. SAM: a comprehensive application for Spatial Analysis in Macroecology. *Ecography*, v.33, p.46-50. 2010.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2007. 830p.

RICKLEFS, R. E. Environmental heterogeneity and plant species diversity: a hypothesis. *American Naturalist*, v.111, p.376-381. 1977.

Shuttle Radar Topography Mission: Mission to Map the World. Disponível em: <<http://www2.jpl.nasa.gov/srtm/>>.

SOBERÓN, J.; PETERSON, A. T. Interpretation of models of fundamental ecological niches and species distributional areas. *Biodiversity Informatics*, v.2, p.1-10. 2005.

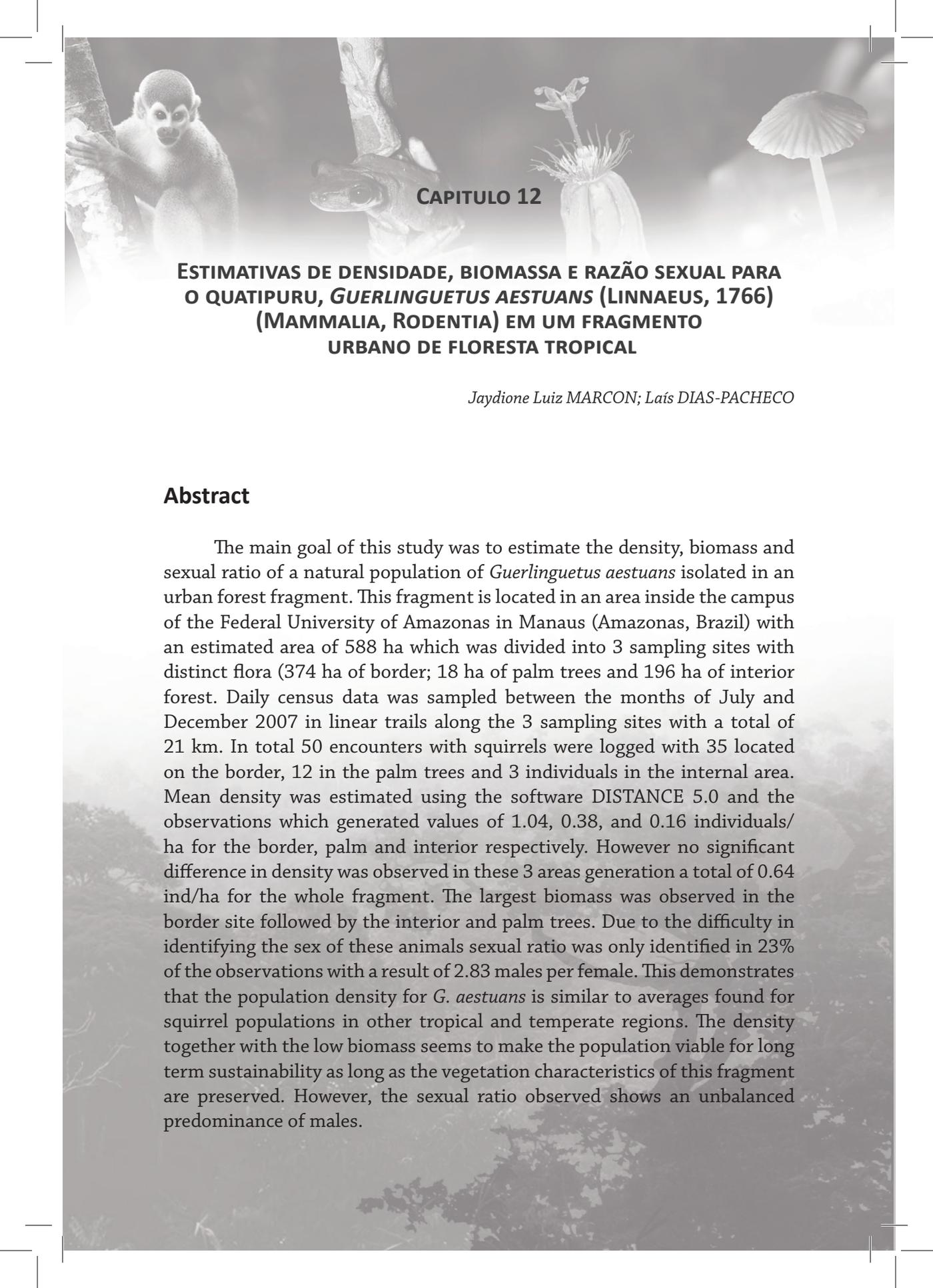
SOLLINS, P. Factors influencing species composition in tropical lowland rain forest: does soil matter? *Ecology*, v.79, p.23-30. 1998.

SOUSA, T. E. L. *Distribuição de palmeiras (Arecaceae) ao longo de gradientes ambientais no baixo interflúvio Purus-Madeira, Brasil*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2007. 33p. (Dissertação de Mestrado).

VORMISTO, J.; PHILLIPS, O. L.; RUOKOLAINEN, K.; TUOMISTO, H.; VÁSQUEZ, R. A comparison of fine-scale distribution patterns of four plant groups in an Amazonian rainforest. *Ecography*, v.23, p.349-359. 2000.

VORMISTO, J.; SVENNING, J. C.; HALL, P.; BALSLEV, H. Diversity and dominance in palm (Arecaceae) communities in *terra firme* forests in western Amazon basin. *Journal of Ecology*, v.92, p.577-588. 2004a.

VORMISTO, J.; TUOMISTO, H.; OKSANEN, J. Palm distribution patterns in Amazonian rainforests: What the role of topographic variation? *Journal of Vegetation Science*, v.15, p.485-494. 2004b.

The background of the page is a grayscale collage of nature-related images. On the left, a squirrel is perched on a tree trunk. In the center, a frog is visible. To the right, there is a plant with a long stem and a flower-like top, and a mushroom with a gilled cap. The overall theme is biodiversity in a tropical forest.

CAPITULO 12

ESTIMATIVAS DE DENSIDADE, BIOMASSA E RAZÃO SEXUAL PARA O QUATIPURU, *GUERLINGUETUS AESTUANS* (LINNAEUS, 1766) (MAMMALIA, RODENTIA) EM UM FRAGMENTO URBANO DE FLORESTA TROPICAL

Jaydione Luiz MARCON; Laís DIAS-PACHECO

Abstract

The main goal of this study was to estimate the density, biomass and sexual ratio of a natural population of *Guerlinguetus aestuans* isolated in an urban forest fragment. This fragment is located in an area inside the campus of the Federal University of Amazonas in Manaus (Amazonas, Brazil) with an estimated area of 588 ha which was divided into 3 sampling sites with distinct flora (374 ha of border; 18 ha of palm trees and 196 ha of interior forest). Daily census data was sampled between the months of July and December 2007 in linear trails along the 3 sampling sites with a total of 21 km. In total 50 encounters with squirrels were logged with 35 located on the border, 12 in the palm trees and 3 individuals in the internal area. Mean density was estimated using the software DISTANCE 5.0 and the observations which generated values of 1.04, 0.38, and 0.16 individuals/ha for the border, palm and interior respectively. However no significant difference in density was observed in these 3 areas generation a total of 0.64 ind/ha for the whole fragment. The largest biomass was observed in the border site followed by the interior and palm trees. Due to the difficulty in identifying the sex of these animals sexual ratio was only identified in 23% of the observations with a result of 2.83 males per female. This demonstrates that the population density for *G. aestuans* is similar to averages found for squirrel populations in other tropical and temperate regions. The density together with the low biomass seems to make the population viable for long term sustainability as long as the vegetation characteristics of this fragment are preserved. However, the sexual ratio observed shows an unbalanced predominance of males.

INTRODUÇÃO

As florestas tropicais abrigam elevados níveis de diversidade biológica e, pelo menos metade desta diversidade mundial, está localizada na América Latina e Caribe (FAO, 2011). Entretanto, com o interesse crescente pelo uso, nem sempre sustentável, dos recursos naturais, grandes áreas de florestas tropicais principalmente na América do Sul (FAO, 2011) vem sendo destruídas, dando origem a fragmentos florestais, florestas secundárias e áreas de pastagem (MALCOLM, 1997).

Na Amazônia, o uso extensivo de grandes áreas florestais, aliada às constantes queimadas e exploração indevida por parte de madeireiros, monocultores, pecuaristas e, mais recentemente, da indústria de petróleo e gás, vem provocando mudanças progressivas na fisionomia da região, com aumentos da perda de habitats e do nível de fragmentação (BROADBENT et al., 2008). Além disso, diversas áreas de floresta primária vem sofrendo alterações marcantes em seu microclima e contribuindo para um declínio progressivo de sua biodiversidade (CHIARELLO, 1999; FEARNSIDE, 2005; KOPROWSKI, 2005).

Laurence et al. (2011), após 32 anos de estudos continuados nos fragmentos de floresta Amazônica do PDBFF (Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais, <http://pdbff.inpa.gov.br>), concluíram que o tamanho dos fragmentos é vital para a manutenção da biodiversidade local. Para diversos grupos de organismos (ex. briófitas, palmeiras, aves, primatas e grandes mamíferos herbívoros), pequenos fragmentos não são capazes de suportar populações viáveis e, além disso, demonstram uma taxa de perda de espécies mais acelerada quando comparados a fragmentos maiores.

No estado do Amazonas, que ocupa o quarto lugar na taxa anual de desmatamento florestal (INPE, 2011), a fragmentação vem se estabelecendo de forma crescente nos arredores da cidade de Manaus, classificado como o sétimo município mais desflorestado (PRODES, 2011), principalmente pelo rápido crescimento populacional horizontal. Como resultado, ilhas e corredores de vegetação primária e secundária vem sendo formados de maneira irregular no perímetro urbano da cidade, entre eles o fragmento do Campus da Universidade Federal do Amazonas, que atualmente encontra-se completamente isolado. Essa área abriga uma diversidade expressiva de espécies vegetais e animais (MARCON et al., este volume), incluindo mamíferos de pequeno porte, como o sauim-de-coleira (*Saguinus bicolor*), um primata endêmico da região e ameaçado de extinção (IUCN, 2012). Ainda neste fragmento, são encontrados diversos representantes da ordem

Rodentia, com destaque para o esquilo *Guerlinguetus aestuans*, conhecido localmente como quati-puru.

Os esquilos possuem alta diversidade, apresentando mais de 50 gêneros e 265 espécies distribuídas em diversos biomas da Terra (ALARCÓN, 2003). Destes, cerca de quatro gêneros e 19 espécies ocorrem em ambientes de floresta neotropical (EMMONS e FEER, 1999; ALARCÓN, 2003). A presença e uso de habitats por estes pequenos roedores tem sido apontados como indicadores da qualidade de ecossistemas florestais em regiões temperadas (KOPROWSKI, 2005; PASCH e KOPROWSKI, 2005). Estudos realizados com dispersão de sementes da palmeira *Eschweilera ovata* demonstram que esta espécie depende da interação com o esquilo *Sciurus aestuans* (= *G. aestuans*) para a remoção de suas sementes (VILELA et al., 2012). Por outro lado, Ribeiro et al. (2010), avaliando a predação e remoção de sementes em cinco espécies de palmeira (*Syagrus pseudococos*, *S. ruschiana*, *Bactris setosa*, *Polyandrococos caudescens* e *Euterpe edulis*), atribuem o papel de predador ao congênera *Guerlinguetus ingrami*, com atuação restrita como dispersor em pequenos fragmentos. Mais recentemente, Ferreira (2011) menciona que o fato dos principais removedores de frutos de *Astrocaryum gynacanthum* e *Attalea attaleoides* serem pequenos roedores reforça a importância desta fauna nas florestas tropicais e questiona a categorização das espécies removedoras, em “dispersoras” e “predadoras” de sementes, entre elas *Guerlinguetus aestuans*.

Estimativas de densidade tem sido conduzidas em florestas neotropicais, abordando principalmente grupos de mamíferos de grande e médio porte, como grandes carnívoros (EMMONS, 1984) e primatas (MENDES-PONTES, 1997, 1999; VIDAL e CINTRA, 2006). Estudos com pequenos mamíferos são relativamente escassos (MALCOLM, 1997), especialmente para roedores ciurídeos. Peres et al. (2003) relatam baixas densidades para três espécies de esquilos (*Sciurillus pusillus*, *Sciurus spadaceus* e *S. aestuans*) em uma área de floresta contínua na Amazônia Central, estimativas semelhantes ao registrado para *Sciurus igniventris* em um contínuo de floresta Amazônica no estado de Roraima (MENDES-PONTES, 2004). Padrões de ocorrência similares foram também observados para *S. aestuans* em áreas de Mata Atlântica e de floresta subtropical semi-decídua (GRELLE, 2003; VILELA et al., 2010). Por outro lado, em diversas regiões dos Estados Unidos, populações urbanas de esquilos, como *Sciurus carolinensis*, tendem a apresentar densidades maiores quando comparadas a ambientes não urbanos (ver HEIN, 1997).

Estudos relacionados à biomassa em comunidades de mamíferos são muito escassos, especialmente para regiões neotropicais. Malcolm (1997) e Mendes-Pontes et al. (2006) enfatizam que, para médios e grandes mamíferos, a baixa densidade de espécies é compensada por elevadas

biomassas em função do tamanho corpóreo destes animais. Esta relação inversamente proporcional entre massa corpórea e densidade de mamíferos também foi confirmada por Robinson e Redford (1986). Por outro lado, pequenos mamíferos tendem a apresentar biomassas menores, já que suas massas corpóreas são pequenas, mesmo em densidades mais elevadas (GRANT, 1971; SCHALLER, 1983; O'FARRELL e CLARK, 1986; NITIKMAN e MARES, 1987; MESERVE et al., 1991). Para roedores ciurídeos arborícolas, considerando seus hábitos solitários e territorialistas, espera-se encontrar valores baixos de biomassa em florestas tropicais (MENDES-PONTES, 2004; SAMPAIO et al., 2010).

Inferindo sobre o estudo da razão sexual, alguns autores (WILLIAMS, 1979; BROWN e SILK, 2002; COCKBURN et al., 2002) discutem que a variação da razão sexual não exibe um padrão consistente nos vertebrados. Em termos ecológicos, a maior proporção de um sexo em relação ao outro pode gerar encontros agonísticos, com defesas territoriais e também disputa por parceiros sexuais. A receptividade das fêmeas durante o período reprodutivo também pode influenciar na presença de machos e no sucesso reprodutivo em determinadas áreas, podendo inclusive influenciar em uma razão sexual desviada para fêmeas (IMS, 1988). Para várias espécies de pequenos mamíferos, é comum observar um desvio na proporção sexual em favor dos machos, especialmente em roedores (GAINES e MCCLENAGHAN, 1980; NITIKMAN e MARES, 1987; PEARSON et al., 2001; GRELE, 2003; GRAIPEL et al., 2006; BOTELHO et al., 2007).

Esse estudo objetivou estimar a densidade, a biomassa e a razão sexual de uma população de vida livre de *Guerlinguetus aestuans* isolada em um fragmento urbano de floresta tropical.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

Este trabalho foi realizado no fragmento florestal urbano da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), localizado na zona centro-sul de Manaus (3°06'00"S; 59°58'32"W), capital do estado do Amazonas. Durante a realização deste trabalho, a área considerada oficial do fragmento foi estimada em 588 ha, com áreas ainda preservadas de mata primária, além das construções funcionais e áreas antropizadas, algumas em regeneração. No entanto, é importante ressaltar que a área atual oficial do Campus da

UFAM foi ampliada para 591,97 ha (ver MARCON e colaboradores, este volume, para mais detalhes).

Observações de campo ($N=40$) foram realizadas para o acompanhamento e registros dos indivíduos de *Guerlinguetus aestuans* (Figura 1), no período de julho a dezembro de 2007, em diversas trilhas retilíneas existentes em três áreas do fragmento com cenários vegetacionais distintos: borda (374 ha), palmeiral (18 ha) e interior da floresta (196 ha).



Figura 1

Indivíduo de *Guerlinguetus aestuans* registrado na área do fragmento urbano (setor Acariquara) do Campus da Universidade Federal do Amazonas, em Manaus. Foto gentilmente cedida por José Anselmo d’Affonseca Neto (INPA).

A área de borda compreende os limites do Campus e a área da estrada que liga os setores Norte e Sul e penetra 200 m dos limites externos para o interior da vegetação. Diversas espécies de sub-bosque, palmeiras e cipós

ocorrem em ambiente de grande penetração de luz solar em terreno que varia de plano a acidentado e cortado por igarapés. Nesses locais existe fluxo de pedestres e corredores, incluindo as trilhas utilizadas para realizar o censo.

A área do palmeiral está localizada próxima à entrada principal do Campus. Como consequência, é exposta a um fluxo intenso de pessoas e veículos. Diversas espécies de palmeiras como tucumãs (*Astrocaryum* sp.), inajás (*Maximiliana maripa*), pupunhas (*Bactrys* sp.) e butiris (*Mauritia flexuosa*), além da grande oferta da banana-brava (*Phenakospermum guyanense*, Strelitziaceae) são encontradas nesta área, em boa parte representada por indivíduos de porte pequeno com troncos finos. A pressão antrópica é intensa sobre os recursos alimentares, principalmente sobre frutos maduros de tucumã.

Fisionomicamente, a área mais interna da floresta se distingue das outras por apresentar mata primária mais fechada, com árvores atingindo até 35 m de altura. Apresenta um dossel mais fechado em relação às outras áreas estudadas, com terreno bastante acidentado de acesso mais restrito, com lianas, pouca densidade de palmeiras, como inajás (*M. maripa*) e ausência de tucumã. Além de duas trilhas já existentes, duas outras trilhas de 1000 m de extensão foram abertas com distância mínima de 250 m a partir da área de borda e separadas lateralmente entre si por uma distância de 500 m. Esta distância foi adotada para diminuir ao máximo a probabilidade de avistamento e contagem do mesmo animal durante o censo em cada uma das trilhas.

Estimativa de Densidade

Para estimar a densidade de esquilos em cada uma das áreas estabelecidas, as trilhas foram percorridas nos horários de maior atividade definidos para o avistamento dos esquilos (DIAS-PACHECO, 2008), durante o período da manhã (07 às 11 horas) e no período da tarde (15 às 17 horas), além de observações do tipo de vegetação existente (EMMONS, 1980; BORDIGNON, 1996; ALVARENGA, 2002; MIRANDA, 2005). Empregou-se o método de Transectos Lineares (BURNHAM et al., 1980; BUCKLAND et al., 1993), que segundo Saiful e Nordin (2004) é aplicável para animais que vivem em habitats onde a visibilidade é restrita como as florestas tropicais e também por ser o método mais usado para estimar densidades de vertebrados como primatas, ungulados e pequenos mamíferos. A adequação

de sua aplicação também foi comprovada para a estimativa da densidade do esquilo cinza (*Sciurus carolinensis*) em uma população urbana (HEIN, 1997). A densidade de esquilos (ind/ha) no fragmento foi estimada com base na aplicação do programa DISTANCE versão 5.0 (BUCKLAND et al., 1993), que considera a distância perpendicular do animal para a trilha para o cálculo da densidade. As densidades foram calculadas separadamente para as diferentes áreas: borda, palmeiral e interior da floresta.

Estimativas de Biomassa e Razão Sexual

A biomassa da espécie (kg/km²) foi calculada levando em consideração a média do peso corporal adulto, obtido de Emmons e Feer (1999) e Alvarenga (2002), multiplicado pela densidade de indivíduos em cada uma das áreas estudadas.

Para a estimativa da razão sexual (macho:fêmea) da população de *G. aestuans* no fragmento, além dos registros coletados durante o censo, foram adicionados registros de esquilos obtidos durante um trabalho complementar sobre comportamento e atividade diária do esquilo nas mesmas áreas do fragmento (N= 81; DIAS-PACHECO, 2008).

Para testar se a proporção entre machos e fêmeas difere da esperada de 1:1, utilizou-se o teste do qui-quadrado para proporções esperadas iguais com Correção de Yates (HITCHCOCK, 2009).

RESULTADOS

Durante as atividades de censo, foram realizados 50 registros de *Guerlinguetus aestuans* para um total de 64,14 km percorridos ao longo das três áreas de amostragens deste estudo (Tabela 1). A maioria dos registros de visualização ocorreu na borda com 35 indivíduos (70,2%), seguido do palmeiral com 12 registros (23,4%) e por último o interior da floresta, com apenas 3 (6,4%) visualizações está repetindo a informação do texto. Seguindo esta tendência, a taxa de encontros em cada área foram as seguintes: borda= 1,49 registros/km, palmeiral = 0,59 registros/km e interior da floresta= 0,14 registros/km.

Tabela 1 - Número total de quatiurus (*Guerlinguetus aestuans*) avistados e esforço de coleta em quilômetros percorridos nas três áreas amostradas no fragmento do Campus da Universidade Federal do Amazonas, em Manaus.

Área	N	Distância percorrida (km)	Taxa de encontro (registros/km)	Avistamentos (%)
Borda	35	23,48	1,49	70,2
Palmeiral	12	20,07	0,59	23,4
Interior	3	20,60	0,14	6,4
Total	50	64,14	2,22	100

A densidade de indivíduos acompanhou a tendência observada para a taxa de encontro, com valores de 1,04, 0,37 e 0,15 ind/ha para as áreas de borda, palmeiral e interior da floresta, respectivamente (Tabela 2). Uma comparação para a par das médias obtidas entre as áreas revelou não haver diferenças significativas (Teste t Student, $p > 0,05$) entre as mesmas. Com base nessas comparações foi possível agrupar os dados relativos às três áreas, resultando em uma densidade média para a área total do fragmento equivalente a 0,64 esquilos/ha. Comparações da densidade de *G. aestuans* obtida no fragmento com esquilos de outras regiões tropicais e temperadas do mundo são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 2 - Estimativa da densidade média de *Guerlinguetus aestuans*, erro padrão e intervalos de confiança para as áreas amostradas do fragmento urbano do Campus da Universidade Federal do Amazonas, em Manaus.

Área	N	PARÂMETROS		95% IC	
		Densidade média	Erro padrão	Mínimo	Máximo
Borda	35	1,041	0,357	0,527	2,057
Palmeiral	12	0,379	0,112	0,210	0,683
Interior	3	0,159	0,149	0,193	1,308
Geral	50	0,646	0,180	0,373	1,120

A borda apresentou uma biomassa maior (0,20 kg/km²), seguido do palmeiral (0,07 kg/km²) e interior (0,03 kg/km²). A biomassa total do fragmento foi estimada em 0,12 kg/km². Os cálculos foram baseados na média do peso corporal de indivíduos adultos para *G. aestuans*, obtidos por Emmons e Feer (1999) e Alvarenga (2002), correspondentes a 0,193 kg.

Tabela 3 - Lista comparativa dos valores de densidade (ind/ha) registrados para diferentes espécies de esquilos de regiões tropicais e temperadas.

Espécie	Densidade (ind/ha)	Ambiente	Área (ha)	Local	Referência
<i>S. igniventris</i>	(0,04 – 0,06)	F. Amazônica	101.300	RR/Brasil	Mendes-Pontes, 2004
<i>S. nayaritensis chiricahuae</i>	0,07	F. Montanha	821	EUA	Pasch e Koprowski, 2005
<i>Sundasciurus hippurus</i>	(0,23 – 0,39)	F. Tropical	1.949	Malásia	Saiful e Nordin, 2004
<i>Callosciurus notatus</i>	(0,17 – 0,53)	F. Tropical	1.949	Malásia	Saiful e Nordin, 2004
<i>S. ingrami</i>	0,59	M. Araucária	72	PR/Brasil	Bordignon, 1996
<i>G. aestuans</i>	0,64	F. Amazônica	588	AM/Brasil	Presente estudo
<i>S. vulgaris</i>	(0,68 – 1,21)	F. Coníferas	540	Reino Unido	Magris e Gurnell, 2002
<i>G. ingrami</i> (= <i>S. ingrami</i>)	1,82	M. Atlântica	7,7	ES/Brasil	Ribeiro et al., 2010
<i>S. vulgaris</i>	(1,00 – 2,20)	F. Coníferas	30	Bélgica	Wauters e Lens, 1995
<i>S. carolinensis</i>	4,70	Vegetação Urbana	565	EUA	Hein, 1997

Do total de 131 registros de avistamento de esquilos obtidos nas amostragens de censo (n=50) e comportamento (n=81), em apenas 23 animais foi possível registrar com confiabilidade o tipo de genitália (17,69% do total de registros). Destes 23 animais, registraram-se 17 machos e apenas seis fêmeas, resultando numa proporção sexual de 2,83. Essa proporção sexual mostrou-se significativamente desviada a favor dos machos ($\chi^2 = 5,303$; gl = 1; $p < 0,05$). Comparações da razão sexual de esquilos e de outros roedores em diversos ambientes vegetacionais do Brasil são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Comparação da razão sexual em diversas espécies de pequenos roedores ocorrentes em diferentes ambientes vegetacionais do Brasil.

Espécie	Razão sexual (♂: ♀)	Local	Referência
<i>Oecomys bicolor</i>	0,68	Maçico Urucum/MT	Mallmann et al., 2011
<i>Akodon toba</i>	1,00	Maçico Urucum/MT	Mallmann et al., 2011
<i>Nectomys squamipes</i>	1,00	M. Atlântica/RJ	D'Andrea et al., 2007
<i>Sciurus ingrami</i>	1,00	M. Atlântica Montana/ES	Ribeiro et al., 2010
<i>Sciurus ingrami</i>	1,04	M. Araucária/PR	Bordignon 1996
<i>Calomys callosus</i>	1,29	Maçico Urucum/MT	Mallmann et al., 2011
<i>Akodon cursor</i>	1,43	M. Atlântica/RJ	D'Andrea et al., 2007
<i>Sciurus aestuans</i>	2,00	F. Subtropical/MG	Grelle, 2003
<i>Gracilinanus agilis</i>	2,30	Capoeira, Divinópolis/MG	Botelho et al., 2007
<i>Akodon cursor</i>	2,33	M. de Galeria, Cerrado/DF	Nitikman e Mares, 1987
<i>Oligoryzomys flavescens</i>	2,41	Restinga, Palhoça/SC	Mozerle, 2008
<i>Nectomys squamipes</i>	2,44	M. Atlântica/SC	Graipel et al., 2006
<i>Guerlinguetus aestuans</i>	2,83	F. Amazônica/AM	Presente estudo
<i>Oryzomys bicolor</i>	3,00	M. de Galeria, Cerrado/DF	Nitikman e Mares, 1987

DISCUSSÃO

Nos meses em que ocorreram os censos para a estimativa de densidade de *G. aestuans* no fragmento, as áreas mais frequentemente ocupadas pelos esquilos foram as que sofreram maior ação antrópica (borda e palmeiral). Koprowski (2005), em seu estudo sobre fragmentação, sugere que uma alta densidade de esquilos em pequenos fragmentos que tenham grandes áreas de borda, proporciona maior qualidade de habitat para esses animais do que em floresta contínua onde a densidade tende a ser menor. Baixas densidades foram relatadas para três espécies de esquilos em uma área de floresta contínua na Reserva Extrativista Tapajós-Arapiuns (657.611 ha) na Amazônia Oriental (*Sciurillus pusillus*= 0,03 ind/ha, *Sciurus spadaceus* = 0,01 ind/ha e *Sciurus aestuans*= 0,05 ind/ha; PERES et al., 2003), estimativas muito semelhantes ao registrado para *Sciurus igniventris* (0,04-0,05 ind/ha; MENDES-PONTES, 2004) em um contínuo de floresta Amazônica no estado de Roraima, assemelhando-se aos valores de densidade da área interna de floresta registrada neste estudo. Esse padrão de ocorrência de ciurídeos é também observado para *Sciurus* (= *Ghuerlinguetus*) *aestuans* em áreas de Mata Atlântica (VILELA et al., 2010) e de floresta subtropical semi-decídua (GRELLE, 2003). Pardini (2004) salienta em seu estudo envolvendo o efeito da fragmentação sobre a comunidade de pequenos mamíferos, que as áreas mais internas de um trecho investigado de Mata Atlântica abrigam menor número de espécies. Koprowski (2005) também reporta que em pequenos fragmentos, mamíferos predadores de grande porte tendem a desaparecer, podendo aumentar a população desses pequenos roedores.

Comparando a densidade de esquilos em diferentes ambientes (Tabela 4), observa-se que a maioria dos esquilos de regiões de floresta tropical possuem baixas densidades se comparado com espécies de esquilos que ocorrem na zona temperada. Porém, *G. aestuans* mostrou uma densidade maior que outros esquilos tropicais, provavelmente pela incapacidade de migração de indivíduos (principalmente machos) para outras áreas, em função do isolamento completo que o fragmento estudado apresenta. Em regiões temperadas, uma das razões para que ocorram altas densidades é a grande urbanização que ocorreu em volta das áreas florestadas, principalmente na Europa e Estados Unidos (HEIN, 1997). Nessas regiões as populações de esquilos estão mais acostumadas à presença humana em seu habitat, tornando assim a sua visualização mais acessível para estudos de densidade. Contrariamente, nas florestas tropicais, em função de sua estrutura vegetacional estratificada e baixo contato dos animais com

humanos, torna-se mais difícil a observação desses pequenos mamíferos, tanto em floresta contínua quanto em áreas fragmentadas.

Inferindo sobre a viabilidade do tamanho do fragmento comportar as populações de esquilos, Pasch e Koprowski (2005) afirmaram que uma área de 821 ha foi viável para abrigar uma população de *Sciurus nayaritensis chiucahuae* com baixa densidade (0,07 ind/ha). Magris e Gurnell (2002) também confirmaram a viabilidade para uma população de *S. vulgaris* em uma área com 540 ha e densidade média equivalente a 0,59 ind/ha. Estes valores se assemelham muito aos apresentados nesse trabalho, tanto em relação à área, quanto para a densidade média estimada, indicando que o fragmento em estudo também é capaz de suportar a atual população de esquilos existente em uma densidade estimada de 0,64 ind/ha.

No último mês de coleta foi registrado um fluxo intenso de pessoas oriundas do bairro adjacente ao fragmento coletando tucumã e, em alguns casos, todos os frutos de uma palmeira, inclusive os imaturos. Redford (1992) comenta que em outras regiões da Amazônia, número apreciável de frutos de palmeiras é retirado das florestas, o que leva a uma diminuição da disponibilidade desses nutrientes no ecossistema. A retirada intensiva de tucumã pode interferir na presença dos esquilos naquele local, uma vez que a época da frutificação e extração coincide com a época de reprodução desses animais (dezembro) e o sucesso reprodutivo está intimamente ligado com a disponibilidade de alimentos no local, principalmente para as fêmeas (WAUTERS et al., 1995). A menor oferta de recursos na área favorece a migração para regiões com recursos alimentares suficientes e isso afeta diretamente a chance de encontro dos animais para registros de censo.

Um das razões para que a densidade de *G. aestuans* no fragmento seja intermediária é a ausência de competição com outras espécies de esquilos por espaço ou alimentação, ao contrário do que ocorre com *S. vulgaris* e *S. carolinensis* na Europa (LURZ et al., 1995), assim como a ausência de grandes predadores no fragmento. Apenas macacos e outros roedores, como cutias e pacas, se utilizam dos mesmos espaços e consomem os alimentos utilizados pelos esquilos (MENDES-PONTES, 1997), o que pode ocasionar competição interespecífica.

Outro fator capaz de interferir na densidade dos esquilos no fragmento é a predação desses animais por gatos e cachorros que transitam na área de bordas, bem como os atropelamentos provocados por veículos que circulam em suas vias de acesso (DIAS-PACHECO, observação pessoal). Esses fatos também foram reportados por Magris e Gurnell (2002) e Wauters et al. (1997) para *S. vulgaris* e por van Der et al. (2005) para pequenos mamíferos

da América do Norte, incluindo esquilos. Visitas de cães domésticos em áreas preservadas de Mata Atlântica (Estação Biológica Santa Lúcia, ES) também foram relatadas, com potencial influência sobre as comunidades de pequenos mamíferos (SRBEK-ARAUJO e CHIARELLO, 2008). Naquela região, a presença de cães domésticos foi maior do que a da jaguatirica e da onça-parda, os dois principais predadores terrestres ocorrentes na área. Durante a realização do censo na área do fragmento do Campus da UFAM, foi possível observar luta corporal entre uma fêmea adulta de *G. aestuans* e um gato doméstico, que resultou na morte da mesma. Esse fato é um indicativo de que a fauna de pequenos mamíferos também está exposta a eventos de predação por animais exóticos que visitam principalmente as áreas de borda, onde a maioria dos esquilos avistados foi registrada.

Os valores de biomassa encontrados no fragmento foram muito baixos se comparados ao registrado por Mendes-Pontes (2004) para *Sciurus igniventris* (3,3 kg/km²), mas similares ao estimado para *Sciurus langsdorffi* (0,1 kg/km²) em diferentes habitats de uma fazenda no Pantanal Mato-grossense (SCHALLER, 1983). Para outros grupos de roedores do Cerrado, Nitikman e Mares (1987) registraram valores de biomassa variando de 6,3 kg/km² (*Oryzomys bicolor*) até 25,2 kg/km² (*Bolomys lasiurus*). Grant (1971) registrou uma biomassa de 1,3 a 15,5 kg/km² para uma espécie de esquilo de chão, *Spermophilus tridecemlineatus*. Para toda a comunidade de pequenos mamíferos, a biomassa total foi estimada entre 10,0 e 111,1 kg/km². Estes valores se aproximam daqueles verificados para uma comunidade de roedores de montanha (MESERVE et al., 1991) que habitam áreas existentes, tanto nos territórios do Chile (0,9 a 37,3 kg/km²), como da Argentina (0,5 a 90,3 kg/km²) envolvidos no estudo.

Na grande maioria dos estudos sobre populações de mamíferos realizados em florestas tropicais e cerrados do Brasil nos quais os esquilos são considerados, observa-se ou ausência decorrente de extinção (TROLLE et al., 2007), ou uma baixa frequência de encontro destes animais, que culmina com baixas densidades e baixos valores de biomassa (GRELLE, 2003; MENDES-PONTES, 2004; SAMPAIO et al., 2010), corroborando o padrão encontrado para *G. aestuans* no presente estudo. A despeito da grande diversidade de mamíferos na Amazônia, estudos sobre densidade e biomassa são ainda restritos e precisam ser estimulados para um entendimento futuro mais amplo dos padrões de distribuição desse grupo na região.

Vários estudos sobre a razão sexual em pequenos mamíferos mostraram maior proporção de machos do que fêmeas nas populações (GAINES e MCCLENAGHAN, 1980; NITIKMAN e MARES, 1987; PEARSON

et al., 2001; GRELLE, 2003; GRAIPEL et al., 2006; BOTELHO et al., 2007). Durante este estudo, a razão sexual estimada para o fragmento foi maior que o registrado por Bordignon (1996) em seu estudo com *S. ingrani*, numa área de floresta ombrófila mista, onde a razão sexual foi 1,04, bem como para outras espécies de roedores (PEARSON et al., 2001; D'ANDREA et al., 2007). Estudos realizados por Gaines e McClenaghan (1980) com *Peromyscus leocopus* e por Nitikman e Mares (1987) com seis espécies de roedores do Cerrado, mostraram que as proporções sexuais nas populações naturais dessas espécies estavam desviadas para machos. Infere-se que a população de *G. aestuans* do fragmento em estudo, ainda que poucos indivíduos tenham sido devidamente sexados, segue a mesma tendência vista por outros trabalhos em relação à proporção sexual. Pode-se dizer que quando os machos estão em sua maioria em uma população, as possibilidades de haver encontros agonísticos, principalmente pela disputa de territórios e prioridade de cópula com a fêmea, aumentam. De fato, encontros agonísticos entre machos foram observados na área do fragmento no mesmo período de estudo (DIAS-PACHECO, 2008).

Como consequência positiva, com um maior número de machos, as fêmeas podem escolher os melhores parceiros para a reprodução, aumentando a variabilidade genética na população. Como consequência negativa, como a área de estudo é um fragmento sem conexões com outras formações vegetacionais, pode haver, em longo prazo, um declínio desta população (LIMA e GASCON, 1999; KOPROWSKI, 2005). A forte ação antrópica que o fragmento sofre atinge estes animais através da captura dos mesmos e na retirada de itens alimentares essenciais. A caça de esquilos por cães e gatos domésticos que frequentam o fragmento do Campus também pode contribuir para a diminuição da população (SRBEK-ARAUJO e CHIARELLO, 2008). Além disso, devem ser considerados os impactos promovidos pelo tráfego diário de milhares de veículos nas vias de acesso do fragmento sobre a população de *G. aestuans* e de outros vertebrados, em especial do primata endêmico da região, sauím-de-coleira (*Saguinus bicolor*). Estes animais dependem da travessia das vias do Campus para realizarem seus deslocamentos, tanto para forrageamento, quanto para a busca de parceiros no período reprodutivo. Estudos de maior duração são necessários para avaliar a dinâmica e a capacidade de manutenção em longo prazo desta população isolada de *G. aestuans*, assim como a de outros mamíferos de pequeno porte que habitam a área do fragmento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Técnico Florestal Cleber Galúcio e ao biólogo William Ferreira pelo auxílio nas observações de campo, ao Doutor Antonio Rossano Mendes Pontes (UFPE), pelas sugestões e direcionamento no trabalho, ao Doutor André Hirsch (UFMG) pelo auxílio na interpretação dos resultados de densidade e ao Doutor Jay Malcolm (University of Florida) pelo fornecimento de literatura específica para este artigo. JLM é bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq. LDP agradece a CAPES pela bolsa de Mestrado cedida durante a permanência no Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica da UFAM.

REFERÊNCIAS

- ALARCÓN, M. V. Las ardillas de México. *Biodiversitas*, v.8, p. 1-7. 2003.
- ALVARENGA, C. A. *Estudo de uma população de Sciurus ingrami Thomas, 1901 (Rodentia, Sciuridae) na Reserva particular do Patrimônio Natural Serra do Caraça, Minas Gerais, Brasil*. Belo Horizonte: Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, 2002. 47p. (Dissertação de Mestrado).
- BORDIGNON, M. *Comportamento, atividades e área de vida do serelepe Sciurus ingrami Thomas, 1901 em área de floresta Ombrófila Mista no Estado do Paraná, Brasil (Rodentia, Sciuridae)*. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1996. 85p. (Dissertação de Mestrado).
- BOTELHO, H. A.; BORGES, E. C.; LOPES, M. O. G.; WACHLEVSKI, M. Pequenos mamíferos terrestres em um fragmento em Divinópolis, MG: composição, abundância relativa e razão sexual. *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*, Caxambu, 2007.
- BROADBENT, E.; ASNER, G. P.; KELLER, M.; KNAPP, D.; OLIVEIRA, P.; SILVA, J. Forest fragmentation and edge effects from deforestation and selective logging in the Brazilian Amazon. *Biological Conservation*. v.140, p.142-155. 2008.
- BROWN, G. R.; SILK, J. B. Reconsidering the null hypothesis: is material rank associated with birth sex ratios in primates groups. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, v.99, p.11252-11255. 2002.
- BUCKLAND, S. T.; ANDERSON, D. R.; BURNHAM, K. P.; LAAKE, J. L. *Distance sampling: estimating abundance of biological population*. London: Chapman & Hall, 1993. 446p.
- BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R.; LAAKE, J. L. Estimation of density from line transect sampling of biological populations. *Wildlife Monograph*, v.72, p.1-202. 1980.
- CHIARELLO, A. G. Effects of fragmentation of the Atlantic forest on mammal communities in south-eastern Brazil. *Biological Conservation*, v.89, p.71-82. 1999.

COCKBURN, A.; LEGGE, S.; DOUBLE, M. C. Sex ratio in birds and mammals: can the hypotheses be disentangled? p.266-286. In: HARDY, I. C. W. (Ed.). *Sex ratios: concepts and research methods*. Cambridge: Cambridge University Press, 2002.

D'ANDREA, P. S.; GENTILE, R.; MAROJA, L. S.; FERNANDES, F. A.; COURA, R.; CERQUEIRA, R. Small mammal populations of an agroecosystem in the Atlantic Forest domain, southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v.67, p.179-186. 2007.

DIAS-PACHECO, L. *Padrões comportamentais e uso de recursos alimentares por Sciurus aestuans (Rodentia; Sciuridae) em um fragmento de floresta tropical urbano, Amazônia-Brasil*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas. 2008. 33p. (Dissertação de Mestrado).

EMMONS, L. H. Ecology and resource partitioning among nine species of African rain forest squirrels. *Ecological Monographs*, v.50, p.31-54. 1980.

EMMONS, L. H. Geographic variation in densities and diversities of non-flying mammals in Amazonia. *Biotropica*, v.16, p.210-222. 1984.

EMMONS, L. H.; FEER, F. *Neotropical rainforest mammals: a field guide*. 2 ed. Chicago: The University of Chicago, 1999. 396p.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. State of the World's Forests. 2011. 179p. Disponível em: <<https://www.fao.org.br/download/i2000e.pdf>>. Acesso em 25/11/2012.

FEARNSIDE, P. M. Desmatamento na Amazônia brasileira: histórias, índices e consequências. *Megadiversidade*, v.1, p.113-122. 2005.

Ferreira, A. P. P. *Composição da comunidade de palmeiras (Arecaceae) e remoção de frutos de Attalea attaleoides (Barb. Rodr.) Wess. Boer e Astrocaryum gynacanthum Mart. em uma floresta de terra-firme na Amazônia Central*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2011. 92p. (Dissertação de Mestrado).

GAINES, M. S.; MCCLENAGHAN, L. R. Dispersal in small mammals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v.11, p. 163-96. 1980.

GRAIPEL, J.; CHEREM, J.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A.; GLOCK, L. Dinâmica populacional de marsupiais e roedores no Parque Municipal da Lagoa do Peri, Ilha de Santa Catarina, Sul do Brasil. *Mastozoologia Neotropical*, v.13, n.1, p.31-49. 2006.

GRANT, W. E. Comparisons of small mammal biomass at eight U.S. IBP Grassland biome research sites 1970 season. *U.S. International Biological Program, Technical Report 130*. 1971. 22p.

GRELLE, C. E. V. Forest Structure and vertical stratification of small mammals in a secondary Atlantic Forest, southeastern Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, v.38, n.2, p.81-85. 2003.

HEIN, E. W. Demonstration of Line Transect Methodologies to Estimate Urban Gray Squirrel Density. *Environmental Management*, v.21, n.6, p.943-947. 1997.

HITCHCOCK, D. B. Yates and Contingency Tables: 75 Years Later. *Electronic Journal for History of Probability and Statistics*, v.5, n.2, p.1-14. 2009.

- IMS, R.A. The potential for sexual selection in males: Effect of sex ratio and spatiotemporal distribution of receptive females. *Evolutionary Ecology*, v.2, n.4, p.338-352. 1988.
- INPE - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Disponível em: <<http://www.inpe.br/>>. Acesso em: 12/09/2012.
- IUCN - International Union for Conservation of Nature. The Red List of Threatened Species. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/>>. Acesso em: 11/09/2012.
- KOPROWSKI, J. L. 2005. The response of tree squirrels to fragmentation: a review and synthesis. *Animal Conservation*, v.8, p.369-376.
- LAURANCE, E. W.; CAMARGO, J. L. C.; LUIZÃO, R. C. C.; LAURANCE, S. G.; PIMMD, S. L.; BRUNA, E. M.; STOUFFER, P. C.; WILLIAMSON, G. B.; BENÍTEZ-MALVIDO, J.; VASCONCELOS, H. L.; VAN HOUTAN, K. S.; ZARTMAN, C. E.; BOYLE, S. A.; DIDHAMM, R. K.; ANDRADE, A.; LOVEJOY, T. E. The fate of Amazonian forest fragments: A 32-year investigation. *Biological Conservation*, v.144, p.56-67. 2011.
- LIMA, M.; GASCON, C. The conservation value of linear forest remnants in central Amazonia. *Biological Conservation*, v.91, p.241-247. 1999.
- LURZ, P. W. W.; GARSON, P. J.; RUSHTON, S. P. The ecology of squirrels in spruce dominated plantations: implications for forest management. *Forest Ecology and Management*, v.79, p.79-90. 1995.
- MAGRIS, L.; GURNELL, J. Population ecology of the red squirrel (*Sciurus vulgaris*) in a fragmented woodland ecosystem on the Island of Jersey, Channel Islands. *Journal of Zoology*, v.256, p.99-112. 2002.
- MALCOLM, J. R. Biomass and diversity of small mammals in amazonian forest fragments, p.207-223. In: Laurance, W. F.; Bierregaard, R. O. (Eds.). *Tropical Forest Remnants*. Chicago: The University of Chicago Press, 1997.
- MARCON, J. L.; CRUZ, J.; MENIN, M.; CAROLINO, O. T.; GORDO, M. Biodiversidade fragmentada na floresta do Campus da Universidade Federal do Amazonas: conhecimento atual e desafios para a conservação. (Este volume). 2012
- MALLMANN, A. S.; FINOKIET, M.; DALMASO, A. C.; MELO, G. L.; FERREIRA, V. L.; CÁCERES, N. C. Dinâmica populacional e reprodução de pequenos mamíferos de uma Floresta Estacional do Maciço do Urucum, oeste do Pantanal, Brasil. *Neotropical Biology and Conservation*, v.6, n.2, p.94-102. 2011.
- MENDES-PONTES, A. R. Habitat partitioning among primates in Maracá Island, Roraima, Northern Brazilian Amazonia. *International Journal of Primatology*, v.18, p.131-157. 1997.
- MENDES-PONTES, A. R. Environmental determinants of primate abundance in Maracá Island, Roraima, Brazilian Amazonia. *Journal of Zoology London*, v.247, p.189-199. 1999.
- MENDES-PONTES, A. R. Ecology of a community of mammals in a seasonally dry Forest in Roraima, Brazilian Amazon. *Mammalian Biology*, v.69, p.319-336. 2004.

MENDES-PONTES, A. R.; CHIVERS, D. J.; LEE, P. C. Effect of biomass on assemblages of large mammals in a seasonally dry forest in the Brazilian Amazonia. *Journal of Zoology*, v.271, p.278-287. 2006.

MESERVE, P. L.; LANG, B. K.; MURUA, R.; MUÑOZ-PEDREROS, A.; GONZALEZ, L. A. Characteristics of a terrestrial small mammal assemblage in a temperate rainforest in Chile. *Revista Chilena de História Natural*, v.64, p.157-169. 1991.

MIRANDA, J. M. D. Dieta de *Sciurus ingrami* Thomas (Rodentia: Sciuridae) em um remanescente de Floresta com Araucária, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v.22, p.1141-1145. 2005.

MOZERLE, H. B. Dinâmica populacional de *Oligoryzomys flavescens* (Waterhouse, 1837) na restinga do Parque Estadual da Serra do Tabuleiro, Santa Catarina. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, 2008. 28p. (Trabalho de Conclusão de Curso).

NITIKMAN, L. Z.; MARES, M. A. Ecology of small mammals in a gallery forest of Central Brazil. *Annals of the Carnegie Museum*, v.56, n.2, p.75-95. 1987.

O'FARRELL, M. J.; CLARK, W. A. Small mammal community structure in Northeastern Nevada. *The Southwestern Naturalist*, v.31, n.1, p.23-32. 1986.

PARDINI, R. Effects of forest fragmentation on small mammals in an Atlantic Forest landscape. *Biodiversity and Conservation*, v.13, p.2567-2586. 2004.

PASCH, B. S.; KOPROWSKI, J. L. *Correlates of vulnerability in Chiricahua Fox Squirrels*. USDA Forest Service Proceedings RMRS-P36. p. 426-428. 2005.

PEARSON, D. E.; ORTEGA, Y. K.; MCKELVEY, K. S.; RUGGIERO, L. F. Small mammals communities and habitat selection in northern Rocky Mountain bunchgrass: implications for exotic plant invasions. *Northwest Science*, v.75, p.107-117. 2001.

PERES, C. A.; BARLOW, J.; HAUGAASEN, T. Vertebrate responses to surface wildfires in a central Amazonian forest. *Oryx*, v.37, p.97-109. 2003.

PRODES – Projeto de Monitoramento da Floresta Amazônica Brasileira por Satélite. Disponível em: <<http://www.obt.inpe.br/prodes/index.php>>. Acesso em: 11/08/2012.

REDFORD, K. H. The empty Forest. *Bioscience*, v.42, p.412-422. 1992.

RIBEIRO, L. F.; CONDE, L. O. M.; TABARELLI, M. Predação e remoção de sementes de cinco espécies de palmeiras por *Guerlinguetus ingrami* (Thomas, 1901) em um fragmento urbano de Floresta Atlântica Montana. *Revista Árvore*, v.34, n.4, p.637-649. 2010.

ROBINSON, J. G.; REDFORD, K. H. Body size, diet and population density of Neotropical forest mammals. *American Naturalist*, v.128, p.665-680. 1986.

SAIFUL, A. A.; NORDIN, M. Diversity and density of diurnal squirrels in a primary hill dipterocarp forest, Malaysia. *Journal of Tropical Ecology*, v.20, p. 45–49. 2004.

SAMPAIO, R.; LIMA, A. P.; MAGNUSSON, W. E.; PERES, C. A. Long-term persistence of midsized to large-bodied mammals in Amazonian landscapes under varying contexts of forest cover. *Biodiversity Conservation*, v.19, p.2421-2439. 2010.

- SCHALLER, G. B. Mammals and their biomass on a Brazilian Ranch. *Arquivos de Zoologia*, v.31, p.1-36. 1983.
- SRBEK-ARAUJO, A. C.; CHIARELLO, A. G. Domestic dogs in Atlantic forest preserves of south-eastern Brazil: a camera-trapping study on patterns of entrance and site occupancy rates. *Brazilian Journal of Biology*, v.68, n.4, p.771-779. 2008.
- TROLLE, M.; BISSARO, M. C.; MEDEIROS PRADO, H. M.. Mammal survey at a ranch of the Brazilian Cerrado. *Biodiversity and Conservation*, v.16, p.1205-1211. 2007.
- VAN DER, M. M.; BROWN, J. S.; JACKSON, W. M. The coexistence of Fox (*Sciurus niger*) and gray (*S. Carolinensis*) squirrels in the Chicago metropolitan area. *Urban Ecosystems*, v.8, p.335-347. 2005.
- VIDAL, M. D.; CINTRA, R. Effects of Forest structure components on the occurrence, group size and density of group of bare-face tamarin (*Saguinus bicolor* - Primates: Callitrichinae) in Central Amazonia. *Acta Amazonica*, v.36, p.237-248. 2006.
- VILELA, F. S.; FLESHER, K. M.; RAMALHO, M. Dispersal and predation of *Eschweilera ovate* seeds in the Atlantic Forest of Southern Bahia, Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, v.28, p.223-226. 2012.
- WAUTERS, L. A.; LENS, L.; DHONDT, A. A. Variation in territory fidelity and territory shifts among red squirrel, *Sciurus vulgaris*, females. *Animal Behaviour*, v.49, p.187-193. 1995.
- WAUTERS, L. A.; SOMERS, L.; DHONDT, A. A. Settlement behaviour and population dynamics of reintroduced red squirrels *Sciurus vulgaris* in a park in Antwerp, Belgium. *Biological Conservation*, v.82, p.101-107. 1997.
- WILLIAMS, G. C. The question of adaptive sex ratio in outcrossed vertebrates. *Proceedings of Royal Society of London B*, v.205, p.567-580. 1979.





CAPITULO 13

OCORRÊNCIA E HORA-ATIVIDADE DE MAMÍFEROS TERRESTRES NO PARQUE NACIONAL DE ANAVILHANAS, AMAZÔNIA BRASILEIRA

Bruno Marchena Romão TARDIO; Ronis DA SILVEIRA

Abstract

Mammals are not randomly distributed, but respond directly to ecological gradients, to circadian rhythms or to the intensity of natural resource use by human populations. We measured the diversity, patterns of activity, and influence of forest structure on the occurrence of terrestrial-mammal species in the Anavilhanas National Park in Central Amazonia. Diurnal and nocturnal sampling was conducted in terra-firme forest to detect mammal species. Forest structure was measured as the number of trees, number of palms, canopy openness and diameter at breast height (DBH) of trees. Biomass of fleshy fruits found on the ground was used as an index of rood resources. We detected 469 individuals of 26 species of medium- and large-sized mammals. Diurnal rodents were more commonly encountered during the early morning or late afternoon, with the exception of *Cuniculus paca*, which was more common at night. Primates were usually encountered during the day, especially early in the morning. Ungulates were more commonly encountered between 3 and 7 h, with exception of deer, which were more frequently encountered in the late afternoon. The occurrence of *Myoprocta acouchy* was positively associated with canopy openness and DBH of trees. The occurrence of *Dasyprocta agouti* was positively associated with the DBH of trees. The occurrence of *C. paca* was positively associated with biomass of fleshy fruits and DBH of trees. Canopy openness was positively associated with the occurrence of *Saimiri sciureus* but negatively associated with occurrence of *Sapajus apella*. *Mazama nemorivaga* was positively associated with the number of trees, but it was not associated with the

biomass of fruits. Medium- and large-sized mammals were associated forest-structure components that are affected by human activities, which indicates their abundance or behavior will change with changes in human activities within the Anavilhanas National Park.

INTRODUÇÃO

A relação entre os processos ecológicos e o padrão de distribuição e abundância das espécies é importante na avaliação da diversidade biológica (BEGON et al., 2005). Essa abordagem é ainda mais relevante em mamíferos de médio e grande porte, pois a maioria destas espécies realiza algum serviço ambiental ecossistêmico importante, como a polinização e a dispersão de frutos e de sementes de árvores de grande porte (BODMER, 1991; GALETTI et al., 2001; FRAGOSO et al., 2003; RUSSO e AUGSPURGER, 2004), auxiliando na regeneração da floresta (STONER et al., 2007). Vários mamíferos também são predadores de topo de cadeia alimentar (GITTLEMAN et al., 2000), ou figuram como espécies-bandeira da educação ambiental e na sensibilização da opinião pública para captação de recursos para a pesquisa e a conservação (CULLEN et al., 2003).

A estrutura da floresta afeta a distribuição e a abundância das espécies de mamíferos tropicais (MCELHINNY, 2002). Essa representa o arranjo espaço-temporal dos atributos da vegetação, incluindo componentes como a altura e a abertura do dossel, o diâmetro das árvores, a densidade de espécies arbóreas ou de palmeiras, a disponibilidade de frutos e de sementes, dentre várias outras características da formação vegetal. Essas variáveis de estrutura também estão fortemente relacionadas aos processos de produção e decomposição de matéria orgânica, crescimento primário, entre outros, que por sua vez também influenciam na ocorrência da mastofauna no ambiente (FRANKLIN, 1988; NOSS, 1990, 1999; FRANKLIN, et al., 2002).

O conhecimento da relação entre a estrutura da floresta e a ocorrência de mamíferos ainda é incipiente no neotrópico, onde a maioria dos esforços foi centrada em primatas (RYLANDS, 1986; PERES, 1992, 1993, 1997; RYLANDS e FARIA, 1993; VIDAL e CINTRA, 2006). Sendo a maioria das espécies de primatas facilmente detectadas durante o dia (PERES, 1997; HAUGAASEN e PERES, 2005; MUNARI, 2008), a técnica de levantamento diurno foi a mais empregada na Amazônia, resultando em poucos estudos

focados nas demais ordens de mamíferos neotropicais, que em sua maioria possui hábito crepuscular ou noturno (EMMONS, 1997).

O Parque Nacional (PARNA) de Anavilhanas é a unidade federal de proteção integral mais emblemática do baixo rio Negro, inserida em uma das regiões menos estudadas da Amazônia brasileira (TROLLE, 2003). A informação disponível sobre mamíferos no Plano de Manejo do PARNA Anavilhanas é incipiente, limitando-se ao registro da ocorrência de duas espécies de primatas, uma de carnívoro e duas de cetáceos. Inventários e pesquisas ecológicas sobre a mastofauna foram considerados prioritários para a gestão mais efetiva da biodiversidade em Anavilhanas (IBAMA, 2002).

Nesse Capítulo apresentamos a fauna de mamíferos terrestres de médio a grande porte que detectamos durante levantamentos visuais diurnos e noturnos, em transectos lineares na terra firme do Parque Nacional de Anavilhanas. Também inferimos o padrão de hora-atividade das espécies, e analisamos a ocorrência das seis espécies mais abundantes em função da abertura do dossel, diâmetro das árvores, abundância de árvores ou palmeiras e a massa de frutos carnosos disponíveis no solo.

MÉTODOS

Área de estudo

O Parque Nacional (PARNA) de Anavilhanas localiza-se no baixo rio Negro no estado do Amazonas, na Amazônia Central brasileira. O extremo leste do PARNA Anavilhanas situa-se a cerca de 40 km (03°03'13" S, 60°25'15" W) de Manaus e estende-se até 130 km (02°08'06" S, 61°09'01" W) à montante do rio Negro. Essa unidade de conservação federal de proteção integral possui 350.018 ha, abrangendo 140.000 ha de floresta de terra firme (não inundável) e o restante compreende um dos maiores arquipélagos fluviais do mundo, composto por ilhas que delimitam centenas de lagos e canais. As ilhas são cobertas por floresta inundável de igapó (Figura 1).

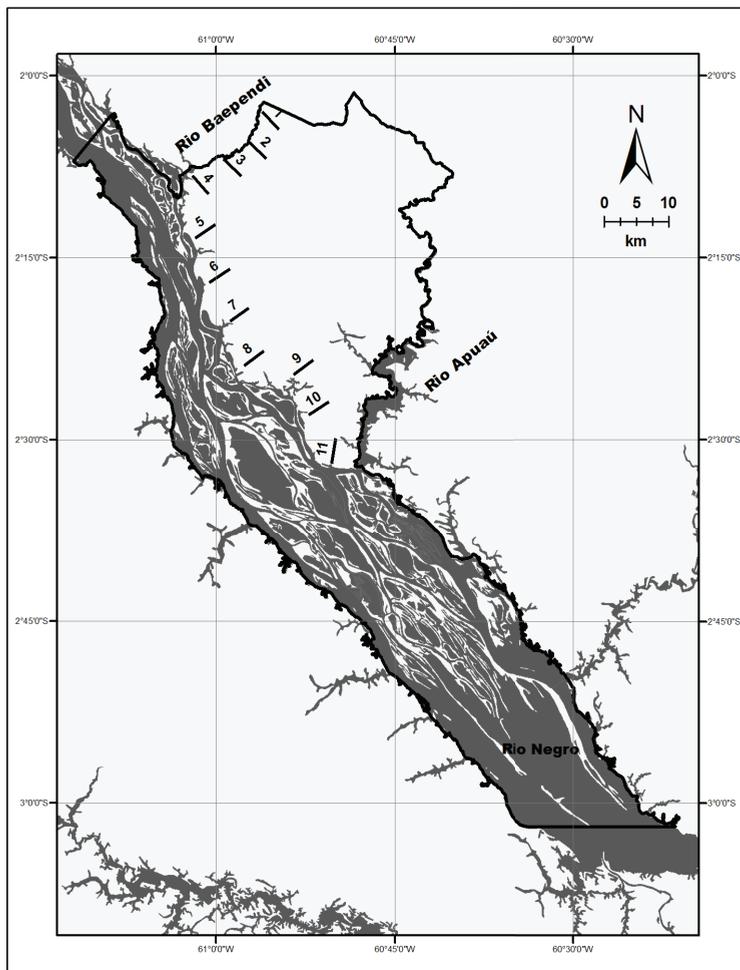


Figura 1

Limites do Parque Nacional de Anavilhanas e disposição dos 11 transectos lineares de quatro quilômetros cada na floresta de terra firme, sendo quatro dispostos na margem esquerda do rio Baependi e sete na margem esquerda (norte) do rio Negro.

O clima no PARNA Anavilhanas é do tipo Tropical Chuvoso Af de Köppen, onde as mínimas variam entre 22 e 23,3 °C e máximas de 31,4 a 31,7 °C. A precipitação média anual na região é de 2.286 mm, concentrando-se no primeiro semestre do ano (IBAMA, 2002).

O PARNA Anavilhanas situa-se em platô de solo ácido e pobre em nutrientes. A água superficial é preta com pouco material sólido em

suspensão, pH ácido e concentração elevada de ácido húmico, caracterizando ambiente com oligotrofia acentuada e de equilíbrio frágil em relação aos demais ecossistemas amazônicos (GOULDING et al., 1988).

Levantamento da mastofauna

A amostragem de mamíferos na terra firme foi realizada em 11 transectos lineares de 4 km cada, estabelecidos com distância mínima de 8 km entre si e dispostos perpendicularmente ao rio mais próximo. Quatro transectos estavam na margem esquerda do rio Baependi, e sete na margem esquerda (norte) do rio Negro, entre os rios Apuaú e o Baependi (Figura 1). O levantamento dos mamíferos foi realizado entre 12/2007 e 05/2008, que corresponde ao período de menor variação da precipitação e da temperatura na região do baixo rio Negro (IBAMA, 2002).

Os transectos foram percorridos pelo autor sênior e um auxiliar de campo na velocidade média de 1,5 km/h, com paradas de dois minutos a cada 50 m. As paradas visaram minimizar o ruído do deslocamento e facilitar a detecção dos mamíferos. Cada transecto foi percorrido durante seis dias consecutivos, sendo que em cada dia o levantamento foi realizado em dois períodos distintos, sendo o primeiro referente à ida até o final do transecto e o segundo período referente ao retorno ao ponto inicial (rumo ao rio mais próximo). Assim sendo, os levantamentos em cada transecto foram realizados durante dois dias em cada um dos seguintes horários: (a) das 5 às 9 h e das 11 às 15 h, (b) das 9 às 13 h e das 15 às 19 h, (3) das 18 às 22 h e (4) de 0 as 4 h. Foi registrado o horário da visualização de cada mamífero durante os levantamentos.

Uma parcela de 10 m x 10 m foi montada no local exato da visualização de cada mamífero, onde foram mensurados os seguintes aspectos da estrutura da floresta: abertura do dossel, abundância de árvores e de palmeiras, diâmetro das árvores e a massa de frutos carnosos disponíveis no solo.

Na tentativa de representar os locais de não observação das espécies-alvo, foram aleatoriamente estabelecidas no mesmo transecto parcelas de mesmas dimensões em pontos onde a espécie-alvo não foi visualizada, em número igual aos de parcelas de ocorrência da espécie-alvo. Nestas parcelas foram mensurados os mesmos fatores da estrutura da floresta avaliados nas parcelas de ocorrência da espécie-alvo. Na aleatorização dos locais das parcelas de ausência foi utilizado como premissa única que os locais selecionados estivessem distantes ≥ 500 m das respectivas parcelas onde indivíduos da espécie-alvo foram observados durante os levantamentos.

Estrutura da floresta

A estimativa da abertura do dossel foi obtida através de fotografias digitais de alta resolução obtidas com câmera Nikon D40X. A câmera foi disposta horizontalmente sobre solo, e foi nivelada com um suporte de nível graduado. Uma fotografia do dossel foi tomada no centro de cada parcela e a cada 100 m sobre o transecto, resultando em 56 fotografias do dossel por transecto. No *Gap Light Analyser 2.0* (FRAZER et al., 1999), cada fotografia foi convertida em preto e branco para o cálculo da porcentagem de abertura do dossel através da proporção de pixels brancos nas imagens. Mediante inúmeras comparações entre as fotografias originais capturadas em horários diferentes do dia e as em preto e branco ($N = 150$), o programa foi calibrado para considerar como área aberta do dossel apenas os pixels de valor ≥ 130 . Essa calibragem foi necessária para que o programa não considerasse as folhas mais claras como área aberta do dossel, principalmente para as fotografias que foram retiradas em horários de maior exposição à luz.

As abundâncias de árvores e de palmeiras em cada parcela foram representadas pelo número de árvores com diâmetro à altura do peito ≥ 10 cm, e o de palmeiras pelo número daquelas de altura ≥ 1 m, medida até a última folha. O diâmetro das árvores foi expresso pela média do diâmetro à altura do peito (DAP) das dez árvores mais espessas de cada parcela.

A massa de frutos carnosos caídos no solo foi mensurada através da pesagem de todos os frutos recolhidos em cada parcela por dois coletores durante dez minutos. Foram considerados apenas os frutos recentes, aparentemente em bom estado para consumo por mamíferos.

Hora-atividade das espécies

As espécies de mamíferos foram agrupadas em roedores, primatas e ungulados, que juntos representaram 65% das espécies registradas. O padrão de hora-atividade de cada um desses grupos foi obtido dividindo o número de encontros pela duração do levantamento realizado em cada horário do ciclo circadiano. A distribuição das taxas de avistamentos por unidade de esforço no decorrer do ciclo circadiano foi demonstrada por gráfico de barra de eixo circular.

Ocorrência das espécies

A associação entre as variáveis de estrutura da floresta foi avaliada pela matriz de correlação de Pearson. Modelos de regressão logística simples ou múltipla foram utilizados para avaliar o efeito das variáveis da estrutura da floresta na presença ou ausência das espécies de mamíferos mais abundantes visualizados durante os levantamentos. Os dados sobre a estrutura da floresta obtidos nas parcelas de presença e de ausência de cada espécie foram analisados conjuntamente, independentes do transecto. Variáveis de estrutura com grau de associação alto ($r > 0,60$) não foram utilizadas num mesmo modelo de regressão.

O número de variáveis independentes testadas em um mesmo modelo de regressão dependeu do número de detecções dos indivíduos de cada espécie. Por exemplo, se 20 indivíduos de uma mesma espécie foram observados, 20 outras parcelas onde a espécie não ocorreu foram incluídas na análise, de forma que o tamanho amostral para esta espécie foi igual a 40. Para a seleção das variáveis independentes a serem incluídas em cada modelo foram consideradas informações prévias sobre a biologia e a ecologia de cada espécie.

RESULTADOS

Detectamos 469 indivíduos pertencentes a seis ordens e 26 espécies de mamíferos de médio a grande porte na terra firme do Parque Nacional (PARNA) de Anavilhanas. Sete dessas eram espécies de carnívoros, sete de primatas, cinco de roedores, quatro de artiodátilos, dois de cingulados e um perissodátilo (Tabela 1). A grande maioria (91%) das detecções individuais ocorreu no período diurno. Registramos 11 espécies nos períodos diurno e noturno, dez somente durante o dia e cinco somente nos levantamentos noturnos.

Tabela 1 - Ordem, espécie, nome popular e período de detecção dos mamíferos visualizados nos levantamentos diurnos e noturnos no Parque Nacional de Anavilhanas. D = diurno; N = noturno. * = espécies utilizadas nas análises de ocorrência.

Ordem	Espécie	Nome popular	Período
Primates	<i>Alouatta seniculus</i>	guariba	D; N
	<i>Ateles paniscus</i>	macaco-aranha; coatá	D
	<i>Sapajus apella</i> *	macaco-prego	D
	<i>Cebus olivaceus</i>	macaco-prego	D
	<i>Chiropotes chiropotes</i>	cuxiú	D
	<i>Saguinus midas niger</i>	sauim	D
	<i>Saimiri sciureus</i> *	macaco-de-cheiro	D; N
	Carnívora	<i>Nasua nasua</i>	quati; quatipuru
<i>Panthera onca</i>		onça-pintada	D; N
<i>Eira Barbara</i>		irara	D
<i>Galictis vitata</i>		furão	D
<i>Herpailurus yaguarondi</i>		gato-mourisco	D
<i>Leopardus pardalis</i>		maracajá-açu; jaguaririca	N
<i>Leopardus wiedii</i>		gato-maracajá	N
Rodentia		<i>Cuniculus paca</i> *	paca
	<i>Sphigurus melanurus</i>	ourico-cacheiro	N
	<i>Dasyprocta agouti</i> *	cutia-vermelha	D; N
	<i>Dasyprocta fuliginosa</i>	cutia-preta	D
	<i>Myoprocta acouchy</i> *	cutiara-vermelha	D; N
Artiodactyla	<i>Mazama americana</i>	veado-vermelho	N
	<i>Mazama nemorivaga</i> *	veado-roxo	D; N
	<i>Pecari tajacu</i>	caititu; cateto	D; N
	<i>Tayassu pecari</i>	queixada	D; N
Cingulata	<i>Dasybus novencinctus</i>	tatu-galinha	D; N
	<i>Priodontes maximus</i>	tatu-canastra	N
Perissodactyla	<i>Tapirus terrestris</i>	anta	D; N

A cutia-vermelha (*Dasyprocta agouti*), a cutia-preta (*Dasyprocta fuliginosa*) e a cutiara-vermelha (*Myoprocta acouchy*) apresentaram atividade bimodal, com a maior parte dos encontros ocorrendo principalmente no início da manhã (7h) e no final da tarde (16h), sendo raro o encontro desses roedores

durante a noite. Em oposição, a maioria (67%) dos encontros noturnos com roedores a partir das 19h foi com pacas (*Cuniculus paca*), principalmente nos horários próximos às 21h. Os demais roedores registrados durante a noite foram vistos principalmente entre as 18 e 19h30 (Figura 2A).

Visualizamos primatas durante quase todo o período diurno. No entanto, a maioria dos encontros ocorreu no final da madrugada ou início da manhã (4-8h), sendo raramente visualizados no início da noite, com apenas um encontro com um grupo de macaco-de-cheiro (*Saimiri sciureus*) às 18h15 (Figura 2B).

Os encontros com ungulados, principalmente caititu (*Pecari tajacu*), queixada (*Tayassu pecari*) e anta (*Tapirus terrestris*), concentraram-se no alvorecer (4-6h30). Os encontros com ungulados durante o final da tarde (16-17h30) foram representados principalmente pelo veado-roxo (*Mazama nemorivaga*) e pelo veado-vermelho (*Mazama americana*; Figura 2C).

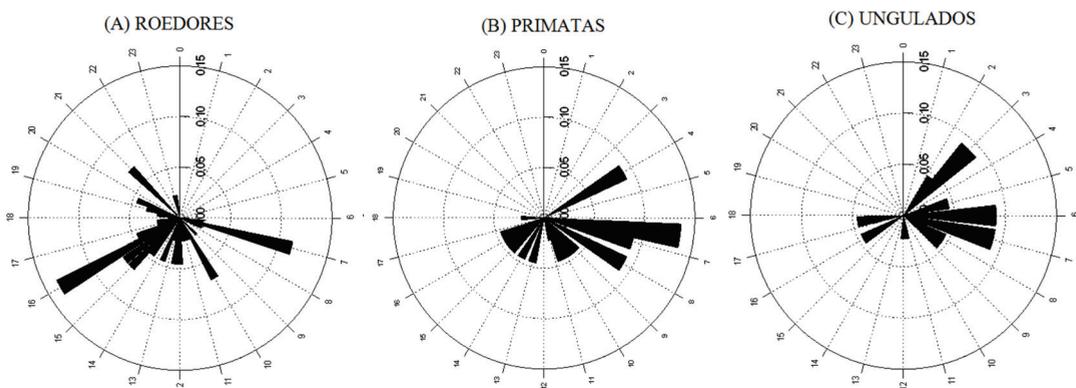


Figura 2

Hora de atividade de mamíferos de médio a grande porte na floresta de terra firme do Parque Nacional de Anavilhanas. As barras representam a taxa de avistamento (número de encontros/hora de procura) de roedores (A), primatas (B) e ungulados (C) em cada horário do ciclo circadiano. Os números dispostos externamente representam os horários e as linhas que cortam os raios representam a escala das taxas de avistamento.

Ocorrência das espécies

A associação entre as variáveis estruturais da floresta foi reduzida, exceto na relação entre o número de árvores e a massa de frutos carnosos no solo ($r = -0,708$; Tabela 2). Dessa forma, excluímos das análises seguintes o número de árvores da modelagem de regressão logística múltipla em que a massa de frutos foi incluída.

Tabela 2 - Matriz de correlação de Pearson (r) entre os valores de abertura média do dossel, número de árvores, número de palmeiras, massa de frutos e diâmetro médio das árvores à altura do peito (DAP), nas 174 parcelas de 100 m² avaliadas ao longo dos 11 transectos amostrados no Parque Nacional de Anavilhanas.

Variáveis	Dossel	Árvores	Palmeiras	Frutos	DAP
Dossel	1,000				
Árvores	-0,345	1,000			
Palmeiras	0,162	-0,430	1,000		
Frutos	0,224	-0,708	0,292	1,000	
DAP	-0,301	0,162	0,393	0,041	1,000

A *M. acouchy* teve 68 amostras (34 presenças e 34 ausências) possibilitando a análise simultânea de quatro parâmetros de estrutura da floresta. A ocorrência desta espécie apresentou relação (*McFadden's Rho-Squared* = 0,175; $P = 0,037$) negativa com a abertura do dossel ($p = 0,030$; Figura 3A) e positiva com o DAP médio das árvores ($p = 0,008$; Figura 3B). No entanto, o número de palmeiras ($p = 0,668$) e a massa de frutos ($p = 0,606$) não tiveram efeito significativo na ocorrência desta espécie.

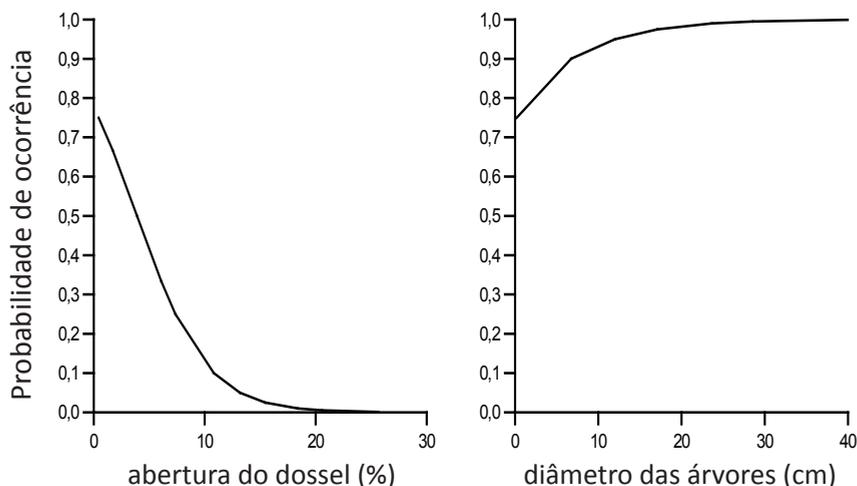


Figura 3

Relações logísticas parciais da abertura do dossel (A) e diâmetro das árvores (B) com a probabilidade de ocorrência de cutiara-vermelha (*Myoprocta acouchy*) na terra firme do Parque Nacional de Anavilhanas.

A *D. agouti* (N = 30) e a *C. paca* (N = 28) atingiram número suficiente de amostras para uso de duas variáveis independentes. Nesses casos utilizamos as variáveis DAP médio das árvores e a massa de frutos. O DAP representa de forma indireta o estágio sucessional da floresta (SPIES, 1998; ZIEGLER, 2000) e os frutos são essenciais na dieta das duas espécies (HALLWACHS, 1986; SMYTHE et al., 1996; LASKA et al., 2003). A ocorrência de *D. agouti* apresentou relação (*McFadden's Rho-Squared* = 0,532; $P < 0,001$) positiva com o DAP médio das árvores ($p = 0,013$; Figura 4), mas não com a massa de frutos ($p = 0,124$). A *C. paca* apresentou relação (*McFadden's Rho-Squared* = 0,511; $P < 0,001$) positiva com o DAP médio das árvores ($p = 0,046$; Figura 5A) e com a massa de frutos ($p = 0,044$; Figura 5B).

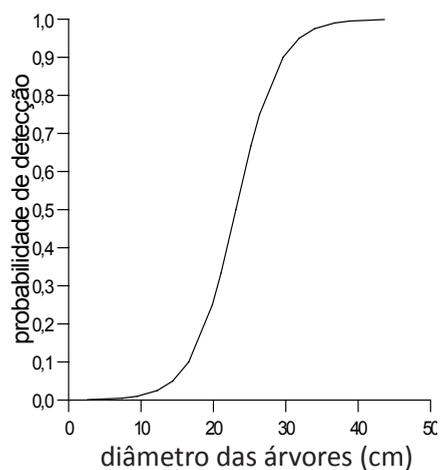


Figura 4

Relação logística parcial entre o diâmetro das árvores e a probabilidade de ocorrência de cutia-vermelha (*Dasyprocta agouti*) na terra firme do Parque Nacional de Anavilhanas.

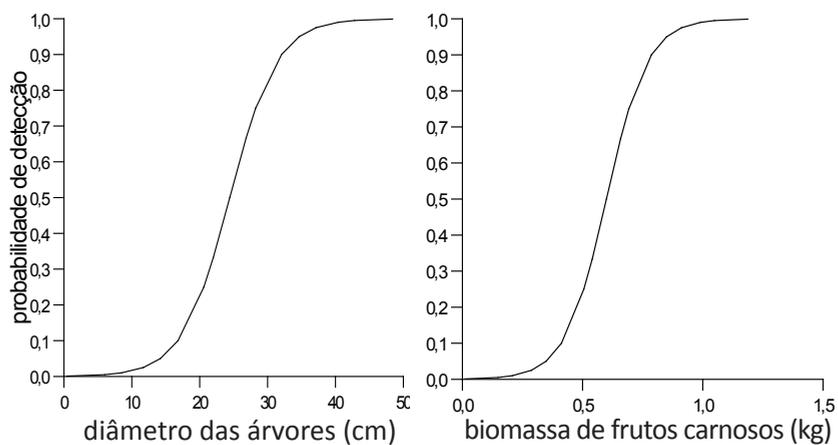


Figura 5

Relações logísticas parciais do diâmetro das árvores (A) e massa de frutos carnosos (B) com a probabilidade de ocorrência de paca (*Cuniculus paca*) na terra firme do Parque Nacional de Anavilhanas.

O macaco-prego (*Sapajus apella*) e o *S. sciureus* apresentaram número pequeno de amostras (N = 14 e 12, respectivamente), o que limitou a análise a somente uma variável de estrutura da floresta. Utilizamos a abertura do dossel por estar diretamente ligado à locomoção, o forrageio e a proteção contra predadores desses primatas arborícolas (OATES, 1987; RYLANDS, 1986; ANDERSON, 1984; VIDAL e CINTRA, 2006; KASECKER, 2008). O *S. sciureus* apresentou tendência de relação positiva (*McFadden's Rho-Squared* = 0,435; $p = 0,047$; Figura 6A), enquanto que o *S. apella* teve relação negativa (*McFadden's Rho-Squared* = 0,258; $p = 0,025$; Figura 6B) com a abertura do dossel.

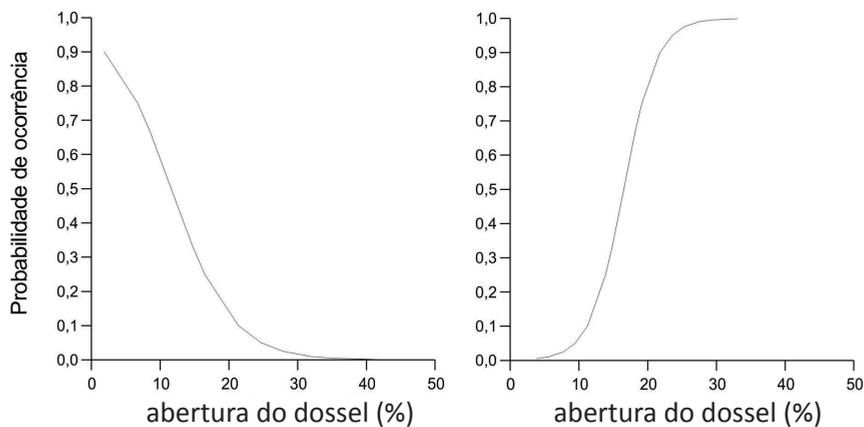


Figura 6

Relações logísticas entre a probabilidade de ocorrência de macaco-de-cheiro (*Saimiri sciureus* - A) e macaco-prego (*Sapajus apella* - B) com a abertura do dossel na terra firme do Parque Nacional de Anavilhanas.

A amostra pequena (N = 14) de *M. nemorivaga* permitiu a modelagem com somente uma variável de estrutura da floresta. Inicialmente tratamos esse cervídeo como essencialmente frugívoro-herbívoros (EMMONS, 1997; EISENBERG e REDFORD, 1999). No entanto, os nossos dados não resultaram em relação entre a ocorrência desta espécie e a massa de frutos carnosos disponíveis no solo (*McFadden's Rho-Squared* = 0,280; $p = 0,169$). A seguir, substituímos a massa de frutos pelo número de árvores como variável independente, pois na escassez de frutos *M. nemorivaga* alimenta-se também de folhas jovens, caules finos e brotos (RICHARD et al., 1995; RICHARD e

JULIÁ, 2001; RICHARD e RADA, 2006). A relação entre a ocorrência de *M. nemorivaga* apresentou relação positiva com o número de árvores (McFadden's *Rho-Squared* = 0,628; *p* = 0,043; Figura 7).

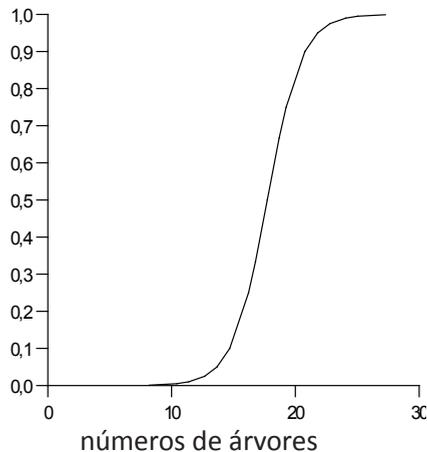


Figura 7

Relação logística entre a probabilidade de ocorrência de veado-roxo (*Mazama nemorivaga*) e o número de árvores na terra firme do Parque Nacional de Anavilhanas.

DISCUSSÃO

O decréscimo na riqueza de espécies de mamíferos no sentido oeste-leste na Amazônia (EMMONS, 1984) não foi evidente em meso-escala ao longo da margem direita (sul) do rio Negro, na Amazônia Central. No extremo oeste dessa região, no alto rio Negro, foram identificadas 24 espécies de mamíferos de médio a grande porte (ENDO, 2005) e no rio Jauaperi, mais a leste na calha do médio rio Negro, foram registradas 21 espécies (TROLLE, 2003), enquanto que no extremo leste do baixo rio Negro, localizamos 26 espécies de mamíferos na terra firme do Parque Nacional (PARNA) de Anavilhanas.

Vale destacar ainda que o nosso esforço de amostragem da mastofauna em Anavilhanas foi centrado somente em levantamentos visuais, enquanto nas outras duas áreas do rio Negro foram utilizadas também as técnicas de armadilha fotográfica ou de pegada, além de entrevista (TROLLE, 2003; ENDO, 2004). Incluindo todas estas informações, o número de mamíferos de médio a grande porte no alto rio Negro sobe para 36 e no médio vai para 42.

O acréscimo de espécies nessas áreas sugere que a inclusão dessas técnicas de amostragem em Anavilhanas poderá aumentar consideravelmente a riqueza de espécies no baixo rio Negro.

O maracajá-açu (*Leopardus pardalis*), o gato-maracajá (*Leopardus wiedii*), o veado-vermelho (*Mazama americana*), o tatu-canastra (*Priodontes maximus*) e o ouriço-cacheiro (*Sphigurus melanurus*) foram detectados no Parque Nacional (PARNA) de Anavilhanas somente nos levantamentos noturnos. Essas ocorrências ratificaram a relevância da técnica para inventariar espécies crípticas de hábito noturno, possibilitando estimativas mais acuradas da composição de assembleias de mamíferos (CULLEN JR., 2003; MUNARI, 2008). Em contrapartida, os levantamentos realizados no alvorecer ou entardecer (crepúsculo) foram ideais para a detecção da maioria das espécies de roedores de médio porte, como a cutia-vermelha (*Dasyprocta agouti*), a cutia-preta (*Dasyprocta fuliginosa*) e a cutiara-vermelha (*Myoprocta acouchy*).

A taxa de encontro com primatas foi maior ao amanhecer (4-8 h), destacando a importância de que a amostragem desses vertebrados seja iniciada previamente ao alvorecer. Os ungulados apresentaram padrão de atividade similar aos primatas, sendo mais visualizados antes e no início do amanhecer (3-7h), com exceção dos cervídeos que foram visualizados com frequência no final da tarde (16-18 h).

A ocorrência de *M. acouchy* no PARNA Anavilhanas foi mais relacionada aos locais com árvores mais grossas, corroborando a ocorrência da cutiara-vermelha principalmente em florestas primárias, sendo incomum em florestas secundárias (DUBOST, 1988; EMMONS, 1997). Esse roedor ocorre principalmente em ambientes sombreados pelo dossel mais fechado (DUBOST, 1988), assim como verificamos em Anavilhanas. Florestas com dossel mais fechado estão geralmente associadas com abundância maior de troncos caídos no solo, que são utilizados como locais para proteção e dormida de *M. acouchy* (DUBOST, 1988; EMMONS, 1997; EISENBERG e REDFORD, 1999). Este tipo de ambiente também proporciona maior durabilidade aos frutos e sementes estocados (SMYTHE, 1986; EMMONS, 1997; EISENBERG e REDFORD, 1999; ROSE, 2000; JANSEN et al., 2006), além de proporcionar maior perenidade aos cotilédones de árvores clímax da floresta, recursos estes muito utilizados na dieta desse roedor (EMMONS, 1997).

O diâmetro das árvores também teve efeito positivo sobre a ocorrência de *D. agouti* e de *C. paca* em Anavilhanas, o que ratifica a relevância do serviço ambiental desses roedores como importantes dispersores de frutos e sementes, principalmente de árvores de grande porte (HALLWACHS, 1986;

FORGET e MILLERON, 1991; SMYTHE et al., 1996; PERES e BALDER, 1997; WENNY, 1999; ENZO, 2004).

Vários autores sugeriram associação entre a abundância de frutos carnosos e a ocorrência de *C. paca* e de *D. agouti* (SMYTHE, 1986; PERES, 1997; SILVIUS e FRAGOSO, 2003). Em Anavilhanas, essa relação foi evidente apenas para *C. paca*, que se alimenta principalmente da polpa de frutos e parecem ser incapazes de abrir frutos de casca muito rígida (LASKA et al., 2003). A disponibilidade deste tipo de fruto pode, portanto, afetar diretamente a distribuição desta espécie, uma vez que na escassez deste tipo de fruto esse roedor limita sua área de uso às proximidades das poucas árvores em frutificação (PEREZ, 1992; LASKA et al., 2003). A baixa oferta de frutos carnosos na região do rio Negro (BOUBLI, 2005) pode, portanto, ter afetado a ocorrência de *C. paca*, que aparentemente concentrou-se nas áreas onde havia abundância de frutos carnosos no PARNA Anavilhanas.

A ausência de relação entre a massa de frutos e a ocorrência de *D. agouti* em Anavilhanas pode ser explicada por este roedor ser primariamente herbívoro-frugívoro, mas que também pode consumir grande quantidade de sementes e, em menor proporção, folhas ou fungos, além de estocar alimento para períodos de escassez (SMYTHE, 1986; EMMONS, 1997; EISENBERG e REDFORD, 1999; HENRY, 1999; ENZO, 2004; JANSEN et al., 2006).

A associação positiva que verificamos entre o *S. sciureus* e a abertura do dossel corrobora a hipótese de que o macaco-de-cheiro possui preferência por dossel mais aberto (MITTERMEIER e COIMBRA-FILHO, 1977; TERBORGH, 1983; MITTERMEIER e VAN ROSMALEN, 1981; EMMONS, 1997; EISENBERG e REDFORD, 1999; KASECKER, 2006). Esse primata é um saltador de porte pequeno, sendo adaptado a explorar ambientes onde o dossel é menos contínuo e suporta menos peso. Aproximadamente 75% da dieta dessa espécie é composta por invertebrados, recurso este mais abundante em locais onde o dossel é mais aberto (MITTERMEIER e COIMBRA-FILHO, 1977; FLEAGLE e MITTERMEIER, 1981; MITTERMEIER e VAN ROSMALEN, 1981).

O *S. apella* apresenta locomoção essencialmente quadrúpede, possui cauda preênsil e explora estratos mais altos da floresta, onde o dossel é mais denso e firme para a locomoção (FLEAGLE e MITTERMEIER, 1981). Porém, o comportamento generalista desse primata lhe permite também explorar estratégias distintas de forrageio e de uso do espaço em função da variação sazonal dos recursos. Kasecker (2006) concluiu que a abundância de grupos de *S. apella* foi afetada positivamente pela abertura do dossel na Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) Piagaçu-Purus. Uma das explicações

é que em ambientes mais abertos é maior a abundância de artrópodes, recurso este consumido secundariamente por essa espécie (MITTERMEIER e COIMBRA-FILHO, 1977). No entanto, em Anavilhanas houve tendência oposta, sendo que a espécie foi mais frequente em locais onde o dossel era mais fechado. Estes resultados, aparentemente contraditórios, podem ser explicados pela variação sazonal da disponibilidade dos recursos na floresta. Durante o período seco, quando os frutos são mais escassos, *S. apella* pode utilizar recursos disponíveis no solo e em ambientes de dossel mais aberto, como os invertebrados (SIEMERS, 2000). No período de chuva, quando a abundância de frutos é maior, a espécie realiza a maioria de suas atividades no estrato mais superior do dossel, utilizando com menor frequência áreas mais abertas dos estratos inferiores (SIEMERS, 2000).

Na RDS Piagaçu-Purus, a relação positiva da abundância de grupos de *S. apella* com a abertura do dossel pode estar associada à escassez de frutos no período em que foi realizada a amostragem, além da disponibilidade alta de tecidos com alto valor energético resultante do brotamento foliar acentuado do sub-bosque ou de árvores maiores em crescimento (KASECKER, 2006). Os nossos levantamentos da mastofauna concentraram-se no período chuvoso, quando a abundância de frutos nas florestas de terra-firme é maior, podendo também explicar a forte relação entre a ocorrência de *S. apella* com áreas de dossel mais fechado em Anavilhanas. O uso de áreas com o dossel mais fechado pode estar relacionada não só com a locomoção ou a dieta destes primatas, mas também com a maior proteção contra predadores, como pequenos carnívoros ou aves de rapina (SIEMERS, 2000; VIDAL e CINTRA, 2006).

As poucas informações disponíveis sobre a disponibilidade de frutos e a ocorrência de *M. nemorivaga* foram obtidas fora da Amazônia brasileira (STALLINGS, 1984; BRANAN et al., 1985; BODMER, 1989, 1991). Quando frutos carnosos se tornam abundantes, a dieta do veado-roxo é primariamente frugívora. No entanto, nas florestas de terra firme do rio Negro a abundância de frutos carnosos é menor que a de frutos secos (BOUBLI, 2005), o que ajuda a explicar o fato da espécie ter ocorrido principalmente em locais do PARNA Anavilhanas onde o número de árvores é maior e, conseqüentemente, onde há oferta maior de outros recursos alimentares utilizados pela espécie, pois na oferta baixa de frutos carnosos este cervídeo consome flores, folhas, gramíneas, plântulas ou fungos, recursos esses com fácil digestibilidade e teor energético alto (EMMONS, 1997; RICHARD e JULIÁ, 2001).

A realização de outros estudos de longa duração sobre a história natural das espécies de mamíferos, incluindo aplicação de radiotelemetria

para avaliação da movimentação e ainda modelagens mais refinadas sobre a relação da estrutura da floresta e a ocorrência dos mamíferos, possibilitará entendimento maior sobre mudanças sazonais na distribuição geográfica das espécies e sobre a resposta das populações de mamíferos frente às alterações antrópicas em cenários pretéritos ou futuros (MCELHINNY, 2002; GRELE e CERQUEIRA, 2006).

AGRADECIMENTOS

Somos gratos ao Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pela oportunidade da pesquisa e publicação; aos servidores Tatiana Alves e Igor Soares do Parque Nacional de Anavilhanas/ICMBio pelo apoio logístico e pela licença de pesquisa; aos assistentes de campo Maque Cativo de Oliveira, Edson Ferreira Vinhorte e André Oliveira da Silva pela essencial ajuda prestada; aos professores doutores Marcelo Menin, Renato Cintra e Thierry Gasnier pelas críticas valiosas no transcorrer desse estudo; e aos doutores Leandro Castello e William E. Magnusson pela revisão do Abstract.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, J. R. Ethology and ecology of sleeping in monkeys and apes. *Study Behavior*, v.14, p.165-229. 1984.
- BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER, J. L. *Ecology: from individuals to ecosystems*. 4 ed. Australia: Blackwell Publishing, 2006. 738p.
- BODMER, R. Strategies of seed dispersal and seed predation in Amazonian ungulates. *Biotropica*, v.23, p.255-261. 1991.
- Bodmer, R.E. 1989. Ungulate biomass in relation to feeding strategy within Amazonian forest. *Oecologia*, 81: 547-550.
- BOUBLI, J. P. Floristics, Primary Productivity and Primate Diversity in Amazonia: Contrasting a Eutrophic Varzea Forest and an Oligotrophic Caatinga Forest in Brazil, p.59-73. In: DEW, J. L.; BOUBLI, J. P. (Co-editors). *Fruits and Frugivores: In Search for Strong Interactors*. Holanda: Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2005.
- BRANAN, W. V.; WEKHOVEN, M. C.; MARCHINTON, R. L. Food habits of brocket and White-tailed deer in Suriname. *Journal of Wild Management*, v.49, p.972-976. 1985.

CULLEN JR., L.; RUDRAN, R.; VALLADARES-PADUA, C. (Orgs.). *Métodos de Estudos em Biologia da Conservação e Manejo da Vida Silvestre*. Curitiba: Editora da Universidade Federal do Paraná, 2003.

DUBOST, G. Ecology and social life of the red acouchy, *Myoprocta exilis*, comparison with the orange-rumped agouti, *Dasyprocta leporina*. *Journal of Zoology (London)*, v.214, p.107-123. 1988.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. *Mammals of the Neotropics*. The Central Neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil. v.3. Chicago: The University of Chicago Press., 1999. 449p.

EMMONS, L. H. Geographic Variation in Densities and Diversities of Non-Flying Mammals in Amazonia. *Biotropica*, v.16, n.3, p.210-222. 1984

EMMONS, L. H. *Neotropical Rainforest Mammals, a field guide*. Second Edition. Chicago and London: The University of Chicago Press., 1997. 307 p.

ENDO, W. *Campinarana e Índios Baniwa*: Influências ambientais e culturais sobre a comunidade de vertebrados terrestres no Alto Rio Negro, AM. Manaus: Universidade Federal do Amazonas / Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2005. (Dissertação de Mestrado).

ENZO, R. A. Landscape use, ecology and home range of the agouti (*Dasyprocta punctata*). New York, University of New York, 2004. 206p. (Dissertação de Mestrado).

FEAGLE, J. G.; MITTERMEIER, R. A. Differential Habitat Use by *Cebus apella* and *Saimiri sciureus* in Central Surinam. *Primates*, v.22, n.3, p.361-367. 1981.

FORGET, P. M.; MILLERON, T. Evidence of secondary seed dispersal by rodents in Panama. *Oecologia*, v.87, p.596-599. 1991.

FRAGOSO, J. M. V.; SILVIUS, K. M.; CORREA, J. A. Long-distance dispersal by tapirs increases seed survival and aggregates tropical trees. *Ecology*, v.84, p.1998-2006. 2003.

FRANKLIN, J. F. Structural and functional diversity in temperate forests, p.166-175. In: WILSON, E. O.; PETERS, F. M. (Eds.). *Biodiversity*. Washington D.C.: National Academy Press, 1988.

FRANKLIN, J.F.; SPIES, T.A.; VAN PELT, R.; CAREY, A.B.; THORNBURGH, D.A.; BERG, D.R.; LINDENMAYER, D.B.; HARMON, M.E.; KEETON, W.S.; SHAW, D.C.; BIBLE, K.; CHEN, J. Disturbances and structural development of natural forest ecosystems with silvicultural implications, using Douglas-Fir forests as an example. *Forest Ecology and Management*, v.155, p.399-423. 2002.

FRAZER, G.W.; CANHAM, C.D.; SALLAWAY, P.; MARINAKIS, D. *Gap Light Analyzer versio 2.0*. New York: Simon Frazer University, Burnaby, British Columbia, Canadá and Institute of Ecosystem Studies, Milbrook, 1999.

GALETTI, M.; KEUROGHLIAN, A.; HANADA, L.; MORATO, M. I. Frugivory and seed dispersal by the lowland tapir (*Tapirus terrestris*) in Southeast Brazil. *Biotropica*, v.33, p.723-726. 2001.

GOULDING, M.; CARVALHO, M. L.; FERREIRA, E. G. Rio Negro: Rich life in poor water. Netherlands: SBP Academic Publishing, 1988. 200p.

GRELLE, C. E. V.; CERQUEIRA, R. Determinantes da distribuição geográfica de *Callithrix flaviceps* (Thomas) (Primates; Callitrichidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, v.23, n.2, p.414-420. 2006.

HALLWACHS, W. Agoutis (*Dasyprocta punctata*): the inheritors of guapinol (*Hymenaea courbaril*: Leguminosae), p.285-304. In: ESTRADA, A.; FLEMING, T. H. (Eds.). *Frugivores and seed dispersal*, Holanda, 1986.

HAUGAASEN, T.; PERES, C. A. Mammal assemblage structure in Amazonian Flooded and Unflooded forests. *Journal of Tropical Ecology*, v.21, p.133-145. 2005.

HENRY, O. Frugivory and the importance of seeds in the diet of the orange-rumped agouti (*Dasyprocta leporina*) in French Guiana. *Journal of Tropical Ecology*, v.15, p.291-300. 1999.

IBAMA. *Plano de Manejo da Estação Ecológica de Anavilhanas*. Brasília/DF: Ministério do Meio Ambiente / Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2002.

JANSEN, P. A.; BONGERS F.; PRINS, H. H. T. Tropical rodents change rapidly germinating seeds into long-term food supplies. *Oikos*, v.113, p.449-458. 2006.

KASECKER, T. P. *Efeito da estrutura do hábitat sobre a composição de comunidades de primatas da RDS Piagaçu-Purus, Amazônia Central, Brasil*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas / Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2006. 94p. (Dissertação de Mestrado).

LASKA, M.; BALTAZAR, J. M. L.; LUNA, E. R. Food preferences and nutrient composition in captive pacas, *Agouti paca* (Rodentia, Dasyproctidae). *Mammalian Biology*, v.68, n.1, p.31-41. 2003.

MCELHINNY, C. Forest and woodland structure as an index of biodiversity: a review. Action Act 200, Department of Forestry, Australian University, 2002.

MITTERMEIER, R. A.; COIMBRA-FILHO, A. F. Primate Conservation in Brazilian Amazônia, p.117-166. In: PRINCE RAINIER III OF MONACO, H. S. H.; BOURNE, G. H. (Eds.). *Primate Conservation*. London: Academy Press, 1977.

MITTERMEIER, R. A.; VAN ROOSMALEN, M. G. M. Preliminary observations on habitat utilization and diet in eight Surinam monkeys. *Folia Primatologica*, v.36, p.1-39. 1981.

MUNARI, D. P. *Técnicas de amostragem e detecção de mamíferos na Amazônia*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas / Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2008. (Dissertação de Mestrado).

MYERS, N. Florestas tropicais e suas espécies sumindo, sumindo...?, p.36-45. In: WILSON, E. O.; PETER F. M. (Eds.). *Biodiversidade*. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997.

- NOSS, R. F. 1990. Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology*, v.4, n.4, p.355-364.
- NOSS, R. F. Assessing and monitoring forest biodiversity: a suggested framework and indicators. *Forest Ecology and Management*, v.115, p.135-146. 1999.
- OATES, J. F. Food distribution and foraging behavior, p.197-209. In: SMUTS, B.B.; CHENEY, D. L.; SEYFARTH, R. M.; WRANGHAM, R. W.; STRUHSAKER, T. T. (Eds.). *Primate Societies*. Chicago: Chicago University Press, 1987.
- PERES, C. A.; BALDER, C. Seed dispersal, spatial distribution and population structure of Brazil tree (*Bertholetia excelsa*) in southeastern Amazonia. *Journal of Tropical Ecology*, v.13, n.1, p.69-79. 1997.
- PERES, C. A. S. Diet and feeding ecology of saddle-back (*Saguinus fuscicollis*) and moustached (*Saguinus mystax*) tamarins in a Amazonian terra firme forest. *Journal of Zoology*, v.230, p.567-592. 1992.
- PERES, C. A. S. Structure and spatial organization of an Amazonian terra firme forest primate community. *Journal of Tropical Ecology*, v.9, p.259-276. 1993.
- PERES, C. A. S. Primate community structure at twenty western Amazonian flooded and unflooded forests. *Journal of Tropical Ecology*, v.13, p.381-405. 1997.
- PÉREZ, E. M. *Agouti paca*. *Mammalian Species*, v.404, p.1-7.1992.
- REDFORD, H. K.; Eisenberg, J. F. *Mammals of the Neotropics. The southern cone*. Chicago: University of Chicago, 1992. 430 p.
- RICHARD, E.; JULIÁ, J. P. Dieta de *Mazama gouazoubira* (Mammalia, Cervidae) en un ambiente secundária de Yungas, Argentina. *Iheringia, Ser. Zoológica*, 90: 147-156. 2001.
- RICHARD, E.; RADA, F. F. Analisis de las relaciones de preferência entre frutos componentes de la dieta de la corzuela parda *Mazama gouazoubira* Fischer (Mammalia, Cervidae), en un ambiente secundária de Yungas (Tucumán-Argentina). *Ecologia Aplicada*, Departamento Acadêmico de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima – Peru, n.5, 2006.
- RICHARD, E.; JULIÁ, J. P.; ACENOLAZA, P. Hábitos frugívoros de la corzuela parda (*Mazama gouazoubira*, Fischer, 1814) (Mammalia: Cervidae), en un ambiente secundária de Yungas. *Doñana Acta Vertebrata*, v.22, n.1-2, p.19-28. 1995.
- ROSE, S. A. Seeds, seedlings and gaps – size matters: a study in the tropical rain forest of Guyana. Guyana: Tropenbos-Guyana Programme, 2000.
- RUSSO, S. E.; AUGSPURGER, C. K. Aggregated seed dispersal by spider monkeys limits recruitment to clumped patterns in *Virola calophylla*. *Ecol. Lett.*, v.7, p.1058-1067. 2004.
- RYLANDS, A. B. Ranging behaviour and *hábitat* preference of a wild marmoset group, *Callithrix humeralifer* (Callitrichidae, Primates). *Journal of Zoology*, v.210 p.489-513. 1986.

RYLANDS, A. B.; FARIA, D. S. *Habitats, feeding ecology, and home range size in the genus Callithrix*, p.262-272. In: RYLANDS, A. B. (Ed.). *Marmosets and tamarins: Systematics, Behaviour and Ecology*. New York: Oxford University Press, 1993.

SIEMERS, B. M. Seasonal variation in food resource and forest strata use by brown capuchin monkeys (*Cebus apella*) in a disturbed forest fragment. *Folia Primatologica*, v.71, n.3, p.181-184. 2000.

SILVIUS, K. M.; FRAGOSO, J. M. V. Red-rumped agouti (*Dasyprocta agouti*) home range use in an Amazonian forest: implications of aggregated distribution of forest trees. *Biotropica*, v.35, n.1, p.74-83. 2003.

SMYTHE, N. Competition and resource partitioning in the guild of neotropical terrestrial frugivorous mammals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v.17, p.169-188. 1986.

SMYTHE, N.; GLANZ, W. E.; LEIGH JR., E. G. Population regulation in some terrestrial frugivores, p.227-238. In: LEIGH JR., W.E. RAND, A.S.; WINDSOR, D.M. (Eds.). *The ecology of a tropical forest: seasonal rhythms and long-term changes*. 2 ed. Washington, D.C.: Smithsonian Institution, 1996.

SPIES, T.A. Forest structure: a key to the ecosystem. *Northwest Science*, v.72, n.2, p.34-39. 1998.

STALLINGS, J. R. Notes on feedings habitats of *Mazama gouazoubira* in the Chaco Boreal of Paraguay. *Biotropica*, v.16, n.2, p.155-157. 1984.

STONER, K. E.; RIBA-HERNÁNDEZ, P.; VULINEC, K.; LAMBERT, J. E. The role of mammals in creating and modifying seed shadows in tropical forests and some possible consequences of their elimination. *Biotropica*, v.39, n.3, p.316-327. 2007.

TERBORGH, J. *Five new world primates: a study in comparative ecology*. Princeton: Princeton University Press., 1983. 260p.

TROLLE, M. Mammal survey in the Rio Jauaperi region, Rio Negro Basin, the Amazon, Brazil. *Mammalia*, v.67, n.1, p.75-83. 2003.

VIDAL, M. D; CINTRA, R. Effects of forest structure components on the occurrence, group size and density of groups of bare-face tamarin (*Saguinus bicolor* – Primates: Callitrichinae) in Central Amazonia. *Acta Amazônica*, v.36, n.2, p.237-248. 2006.

WENNY, D. G. Two-stage seed dispersal of *Guarea glabra* and *G. Kunthiana* (Meliaceae) in Monteverde, Costa Rica. *Journal of Tropical Ecology*, v.15, p. 481-496. 1999.

WILSON, E. O. A situação atual da diversidade biológica, p.3-24. In: WILSON, E. O.; PETER, F. M. (Eds.). *Biodiversidade*. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997.

ZIEGLER, S. S. A comparison of structural characteristics between old-growth and postfire second growth hemlock-hardwood forests in Adirondack Park, New York, U.S.A. *Global Ecology and Biogeography*, v.9, p.373-389. 2000.



CAPÍTULO 14

BIODIVERSIDADE FRAGMENTADA NA FLORESTA DO CAMPUS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS: CONHECIMENTO ATUAL E DESAFIOS PARA A CONSERVAÇÃO

*Jaydione Luiz MARCON; Jefferson da CRUZ; Marcelo MENIN;
Orion Teixeira CAROLINO; Marcelo GORDO*

Abstract

The main goal of this study was to compiling the existing knowledge about the diversity of organisms in the fragmented area in the Campus of the Federal University of Amazonas looking into the historic occupation of the Campus and the research that has measured abiotic factors and what groups of organisms were investigated. To conclude we analyzed the institutional actions and policies utilized to manage and conserve this fragment on Campus and make suggestions and recommendations to help conservation efforts. When analyzing the data generated over 40 years of Campus existence we observed that even though there are significant increases in the quality and quantity of data over these years several knowledge gaps were noticed specially dealing with environmental and biological conditions of the forest and organism diversity. Changes are widely observed in the actions of the university community towards preserving and valuing environmental issues on campus. However there is still along path to follow towards conserving and generating knowledge which will create a great relationship with this urban fragment with enhanced ecosystem services.

1. INTRODUÇÃO

A despeito da diversidade de formas de vida encontradas nos diferentes biomas do planeta, a grande maioria dos países, principalmente aqueles de grande magnitude e detentores de elevada riqueza biológica, compartilha um aspecto em comum: o crescente processo de urbanização (ZIPPERER, 2002; MCKENNEY, 2006). No Brasil, a evidência de que os centros urbanos

serão cada vez maiores e mais habitados foi confirmada recentemente no último censo do IBGE (2010), com pelo menos 84% da população brasileira vivendo em áreas urbanas e suburbanas.

O processo de urbanização traz consigo uma série de transformações ambientais e biológicas em seus diversos níveis de organização (BRUNA, 2004; HAMER e MCDONELL, 2008), não apenas nas áreas florestais urbanizadas, como também na forma de utilização e na estrutura física das áreas vegetacionais localizadas no entorno destes grandes centros e nas partes mais interioranas, especialmente nos países em desenvolvimento (PAUCHARD et al., 2006). Efeitos indiretos sobre os ambientes de florestas, como incrementos na luminosidade e temperatura e redução da umidade relativa da floresta e do solo são observados especialmente em fragmentos em que a relação área/perímetro é pequena (LAURANCE et al., 2002; BRUNA, 2004; LAURANCE et al., 2011). Estas interferências podem alterar o regime de distúrbios que os organismos enfrentam com a mudança das características vegetacionais originais, afetando assim a saúde das florestas (ZIPPERER, 2002). Segundo McKinney (2006), a urbanização leva a uma forte homogeneização das características físicas e biológicas do ambiente, em função do próprio perfil das cidades que são destinadas ao atendimento das necessidades de uma única espécie, o homem.

Estudos em diversas partes do mundo tem apontado eventos de perda de habitat e fragmentação como as principais consequências da urbanização (SILVA-FORSBERG, 1999; ZIPPERER, 2002; MCKINNEY, 2006; HAMER e MCDONELL, 2008). Fragmentos e remanescentes de vegetação são progressivamente formados nas cidades e seus entornos, com perda de conectividade de habitats (LAURANCE et al., 2002, 2011). Frequentemente são registrados aumentos da abundância de espécies oportunistas, invasoras e exóticas adaptadas aos ambientes urbanos, alterados e instáveis em detrimento do decaimento e até extinção de espécies nativas, principalmente aquelas mais sensíveis aos efeitos da fragmentação, com necessidade de grandes áreas e/ou populações ou especializadas em ambientes específicos e estáveis (CROOKS, 2002; BRUNA, 2004; VIVEIROS DE CASTRO e FERNANDEZ, 2004). A urbanização causa respostas diferenciadas e complexas nas comunidades de diferentes organismos. Em várias regiões urbanas do mundo, mamíferos (CROOKS, 2002; GOMES et al., 2011; MAGNUS e CÁCERES, 2012) e aves (CORRÊA e LOUZADA, 2010) generalistas se beneficiam por sua maior plasticidade à matriz urbanizada, como marsupiais, ratos, camundongos, gatos e cães domésticos, pardais e pombos, que historicamente já habitam estes ambientes e, em contrapartida, limita espécies com hábitos especialistas e mais dependentes dos recursos disponíveis no fragmento.

A fragmentação leva a alterações da riqueza (aumento ou diminuição) ou mudanças relevantes na composição de espécies de diferentes grupos taxonômicos (GASCON e LOVEJOY, 1998). Estas alterações ocorrem na riqueza de comunidades vegetais (GODEFROID e KOEDAM, 2003), no sucesso germinativo de sementes em plantas (BRUNA, 1999), na riqueza de diversos grupos de insetos (HUTCHINGS, 1991; BROWN e HUTCHINGS, 1997; BROWN e FREITAS, 2002; NEMÉSIO e SILVEIRA, 2007; LAURANCE et al., 2002, 2011), assim como na riqueza e composição de anfíbios e répteis (TOCHER et al., 1997; CUSHMAN, 2006; HAMER e MCDONELL, 2008), de aves (CORRÊA e LOUZADA, 2010) e de mamíferos (MALCOLM, 1991, 1997; CHIARELLO, 1999). Eventos como a instabilidade em populações de borboletas e a assincronia em populações de pequenos mamíferos (ADLER, 1994), além de mudanças na composição de espécies por efeito de borda (CROOKS, 2002; TSUJI-NISHIKIDO e MENIN, 2011), entre outros, também podem ser citados.

Muitos trabalhos tem demonstrado os impactos da perda de habitat e fragmentação nas florestas tropicais, especialmente na Amazônia Central através do Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (PDBFF) que há mais de 35 anos vem trazendo contribuições relevantes nesse tema (LAURANCE et al., 2011). Contudo, pouco se sabe sobre os efeitos da fragmentação dentro da cidade de Manaus (BORGES e GUILHERME, 2000; MESQUITA, 2003; GORDO, 2012). A conservação da biodiversidade em Manaus, por ter a peculiaridade de abrigar inúmeros fragmentos florestais nativos espalhados em seu perímetro urbano, requer um maior conhecimento sobre os efeitos da fragmentação dentro de uma matriz extremamente agressiva e sobre os fatores que afetam a distribuição natural das espécies, uma vez que as abundâncias e ocorrências comumente não são homogêneas ao longo do espaço (MESQUITA, 2003; GUALBERTO et al., 2012), dando a cada fragmento ou ambientes dentro deles um valor intrínseco para a conservação (TURNER e CORLETT, 1996).

A área destinada ao Campus da Universidade Federal do Amazonas, para receber e centralizar progressivamente as unidades funcionais da Instituição espalhadas em diversos bairros de Manaus, foi criada em 1968 a partir da compra e doações de diversos terrenos e sítios, contendo áreas degradadas, pomares e florestas primárias. Inicialmente, esses terrenos possuíam conectividade com as florestas contínuas principalmente ao norte/nordeste da então cidade de Manaus (FUA-PDI, 1977). Já em 1977 a floresta era interrompida apenas pela estrada do Aleixo, ainda sem pavimentação, e alguns desmatamentos menores, provavelmente ainda permitindo o fluxo da flora e da fauna dentro de grandes populações. Entretanto, entre 1985 e 1986, com a construção da atual Avenida Autaz Mirim foi criada uma

nova barreira a este fluxo. A partir de 1988, todo o perímetro do Campus foi ocupado pelas comunidades que habitam os bairros de entorno (SILVA-FORSBERG, 1999), provocando uma enorme pressão das bordas sobre a diversidade biológica existente no fragmento.

Em fragmentos isolados, mudanças ainda mais marcantes das características abióticas dos ecossistemas são observadas (BRUNA, 2004; FIGUEIRÓ e COELHO NETO, 2007), que podem ser também acentuadas pela forma destes fragmentos. Entretanto, este conjunto de informações levantadas em outras áreas da Amazônia (LAURANCE et al., 2002, 2011) ainda não são conhecidas para a área do Campus da UFAM. Sabe-se que, para espécies com baixas densidades e populações pequenas existentes no fragmento, como o esquilo *Guerlinguetus aestuans* (ver MARCON e DIAS-PACHECO, este volume), o tamanho atual e a diversidade de plantas existentes no fragmento, especialmente palmeiras, podem eventualmente suportar a manutenção desta população em longo prazo. Por outro lado, na mesma área de estudo foi registrado um efeito negativo da proximidade da borda sobre a riqueza de espécies de anuros que habitam as áreas ripárias de diversos igarapés ali existentes (TSUJI-NISHIKIDO e MENIN, 2011), bem como foi estimada que a população de sauins-de-coleira (*Saguinus bicolor*) não é viável em longo prazo dentro deste fragmento (GORDO, 2012). Borges e Guilherme (2000) detectaram diferenças na composição da avifauna do Campus em relação à Reserva Adolpho Ducke, principalmente nas espécies de subosque, com a possível extinção local de algumas delas, mas abrigando uma população de uma espécie pouco comum de gralha (*Cyanocorax cayanus*; S.H. BORGES, comunicação pessoal). Mesquita (2003) registrou diferenças relevantes na composição de espécies de plantas da família Rubiaceae em relação a outros fragmentos da cidade. Estes exemplos ressaltam a necessidade de aprimoramento do entendimento dos efeitos desta interface para diferentes espécies com a matriz urbana e da própria pressão interna do Campus causada principalmente pelas edificações e estradas, fluxo diário de pessoas, incluindo nas áreas de floresta, sobre as comunidades e populações dos diferentes grupos de organismos que ainda habitam este fragmento florestal.

Avaliando os estudos realizados na área do Campus nestes quase 40 anos de existência, foi observado que ainda existem lacunas referentes a registros formais (publicados) que abordem as características ambientais e biológicas da floresta do Campus, a diversidade de organismos, além de reflexões sobre o manejo e a conservação deste fragmento. Uma análise geral deste cenário revela que o fragmento do Campus ainda é insatisfatoriamente conhecido, apesar dos avanços alcançados no conhecimento básico em vários aspectos da geografia e biofísica das áreas verdes, bem como em relação à diversidade de espécies existentes. Contudo, estes conhecimentos gerados já formam

uma base sólida para a realização futura de estudos mais sistematizados. É importante ressaltar que o presente trabalho não tem a pretensão de cobrir em sua totalidade os estudos, que direta ou indiretamente, foram desenvolvidos sobre a estrutura física ou com o material biológico existente nas áreas verdes do Campus, mas sim servir de referência para a construção de uma memória histórica do uso da área do Campus da UFAM no âmbito das pesquisas relacionadas à diversidade biológica desse importante fragmento florestal urbano. Os estudos usados nesse capítulo incluem resumos publicados em Anais de Eventos de Iniciação Científica, relatórios finais de Iniciação Científica, monografias de conclusão de cursos de graduação, dissertações, teses, além de livros e artigos publicados em periódicos científicos.

Nesse contexto, o presente trabalho buscou avaliar o conhecimento existente sobre a diversidade de organismos na área do fragmento do Campus da Universidade Federal do Amazonas, abordando os seguintes aspectos: i) breve relato sobre a história de ocupação do Campus, com avaliação da progressão da relação entre as áreas construídas e desmatadas desde o início de sua implantação, ii) avaliação do volume de informação sobre as pesquisas realizadas com os aspectos abióticos e os principais grupos de organismos investigados na área do Campus, e iii) análise das políticas institucionais e ações destinadas ao manejo e conservação do fragmento do Campus, com sugestões e recomendações nesta direção.

2. BREVE HISTÓRICO DA OCUPAÇÃO INSTITUCIONAL DO CAMPUS DA UFAM

A área conhecida na época como Campus da Universidade do Amazonas (UA) foi adquirida pela instituição em 1968, por um processo coletivo de desapropriação envolvendo 36 propriedades com distintas áreas (de 0,5 a 375 ha) e diferentes histórias de uso. Esse processo se arrastou por sete anos, até que a Fundação Universidade do Amazonas (FUA) incorporasse definitivamente a área ao patrimônio institucional (SILVA-FORSBERG, 1999).

Na área do Campus, localizada a cerca de 8 km do centro de Manaus, foram identificados dois platôs como locais mais favoráveis para a construção do novo Campus, sendo um mais ao sul, com maior proximidade e comunicação com a Via Expressa do Contorno (atual Avenida Rodrigo Otávio) e outro mais centralizado com vegetação mais densa e circundado por nascentes nas partes mais baixas (FUA-PDI 1977). Estes platôs foram selecionados para a implantação progressiva das unidades acadêmicas e administrativas da Instituição.

No início da década de 1970, uma área correspondente a 119 ha foi invadida e perdida para a comunidade do entorno constituindo a maior área do atual bairro do Coroado (Figura 1). Como destacado por Silva-Forsberg (1999), essa invasão foi, em parte, consequência da incapacidade de controle total da propriedade do Campus pela Universidade, que não possuía infraestrutura condizente para executar o manejo adequado de suas áreas. Entretanto, uma outra parte da área invadida foi recuperada pela Universidade através de negociações, que também incluíram a indenização por parte do governo do Estado das áreas que permaneceram invadidas.

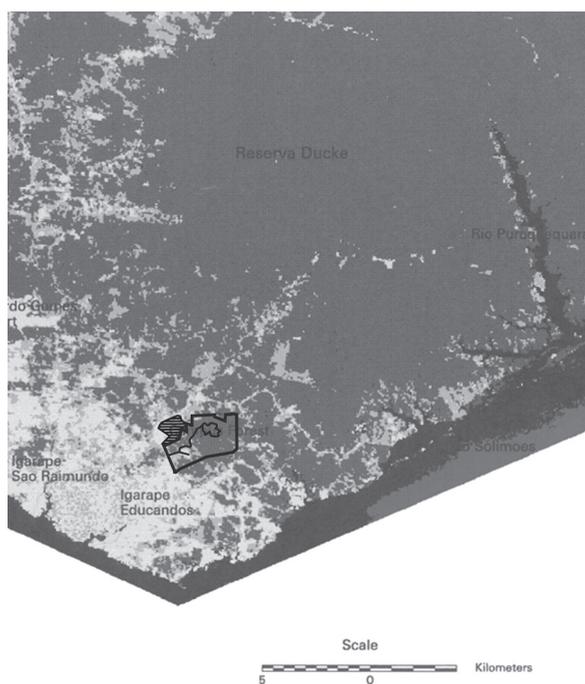


Figura 1

Imagem de Landsat registrando a distribuição espacial das áreas mais urbanizadas da cidade de Manaus no ano de 1977. A região inserida na imagem delimitada por linhas sólidas em destaque se refere à área total do Campus da UFAM. A área hachuriada representa a parte de vegetação perdida (119 ha) para a comunidade de entorno do bairro do Coroado. Note que neste período a floresta da área do Campus ainda estava inserida na matriz de floresta contínua, incluindo a área da Floresta Ducke ao norte.

Em 1974 foram inauguradas as primeiras edificações e parte do complexo esportivo destinado à Faculdade de Educação Física (FEF) no platô

da parte sul (atual Setor Sul) denominado, àquela época, Mini Campus da UFAM. Esta infraestrutura foi construída em áreas já antropizadas, com predominância de capoeiras (Figura 2). Nesta primeira etapa apenas parte das obras da FEF (campo de futebol, pista de atletismo, quadras polivalentes, piscinas, vestuário, etc.) foram concluídas.

No ano de 1977 foram transferidas, ainda para a área do Mini Campus, atual Setor Sul, as unidades acadêmicas denominadas Faculdade de Tecnologia (FT), Instituto de Ciências Exatas (ICE) e Instituto de Ciências Biológicas (ICB; Figura 3), que anteriormente ocupavam prédios alugados no centro de Manaus (FUA-PDI, 1977). É importante registrar que, segundo o planejamento da Instituição, as edificações destinadas a abrigar as unidades acadêmicas citadas acima deveriam estar concluídas em 1978 e tinham claramente um caráter provisório (FUA-PDI, 1977). No entanto, estas edificações permanecem em uso até o presente momento, servindo basicamente ao ICB, até que a nova sede venha a ser concluída, com previsão de finalização para 2014. Em 1986, a Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) se desmembrou oficialmente do ICB e continuou a funcionar no Mini Campus compartilhando as instalações provisórias.

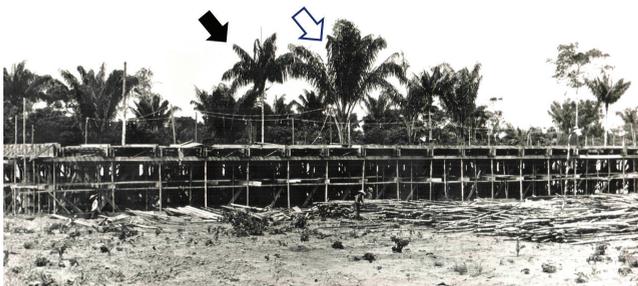


Figura 2

Obras da atual Faculdade de Educação Física em 1973. *Oenocarpus bacaba* (seta escura); *Attalea maripa* (seta branca). Fonte: Arquivos da Prefeitura do Campus da UFAM.



Figura 3

Obras do atual Instituto de Ciências Biológicas em 1980. *Oenocarpus bacaba* (seta escura); *Attalea maripa* (seta branca). Fonte: Arquivos da Prefeitura do Campus da UFAM.

Na década de 1980, foi construída parte das edificações no platô central, situado no Setor Norte do Campus e destinadas a abrigar o Instituto de Ciências Humanas e Letras (ICHL), que foi transferido definitivamente em 1984, assim como a vinda da Faculdade de Educação (FACED) em 1986. Nesta área foi implantada uma nova concepção de estrutura arquitetônica, desenvolvida pelo Engenheiro Severiano Mario Porto, que preservava ao máximo a cobertura vegetal e previa a construção das edificações direcionadas para as rotas de maior ventilação natural. Essa nova arquitetura adotada permitiu a inserção das construções em harmonia com as características vegetacionais daquele platô. Por outro lado, essa concepção não foi adotada para a área do Setor Sul, provavelmente pelas características diferenciadas de sua estrutura vegetacional e da área já ocupada na época com as “construções provisórias”.

As manchetes e artigos dos jornais da época expressavam toda a expectativa e divergência de opiniões sobre as instalações do “Campus Novo”. No artigo do Jornal A Crítica, de 27/05/1984 (MAIA, 1984), intitulado “O novo Campus na selva”, encontram-se as expressões “...sair do conforto proporcionado pelo Centro da cidade...”, “...os pontos de referência estão mudando, o Parque Dez hoje é perto, a favela do Coroadó está à vista de todos os olhos...”, “...o arquiteto, ao receber a missão de mexer naquele imenso espaço verde, soube respeitar as árvores, os igarapés e até as ondulações do terreno”. Referindo-se à estrada de acesso ao novo campus cita “...a emoção é grande quando se passa por ela: é a própria Amazônia que Manaus não conhece mais. O último reduto verde e espaçoso do perímetro urbano”. No entanto, todo este espírito se solidifica na expressão em destaque “uma área de mais de 665 hectares de floresta. O ponto de partida definitiva de uma Universidade que pretende alcançar a dimensão de museu verde amazônico, disponível à utilização de todos os habitantes de Manaus e visitantes de outros locais”. Em 1986 a Prefeitura do Campus foi instalada no Setor Sul e, em 1989, a Faculdade de Tecnologia foi transferida definitivamente para o Setor Norte do Campus.

Na década de 1990 a ocupação institucional do Campus se restringiu à vinda da Reitoria, que se instalou em 1991 em um bloco inteiro situado no Setor Norte, atualmente ocupado pela FACED. No entanto, esta década ficou marcada pelos conflitos entre a administração do Campus e as comunidades do entorno que passaram a frequentar as áreas verdes para recreação e utilização dos recursos naturais (SILVA-FORSBERG, 1999; REBOUÇAS, 1999). Essa década foi extremamente crítica para a conservação da floresta do Campus, já que a partir de 1988 a mesma foi completamente isolada em seu perímetro pelas populações que se instalaram em seu entorno. Segundo

o estudo socioambiental realizado por Rebouças (1999), a percepção e o grau de impacto pelo uso da área foram diferenciados entre as populações circunvizinhas. Comunidades com maior grau de formação escolar defendiam a preservação da floresta (integral e sem uso), enquanto as populações menos instruídas defendiam o uso, que incluía a exploração dos recursos naturais, a construção de áreas de lazer e de serviços (postos de saúde, creches, etc.) e até mesmo a substituição da floresta por um ambiente urbano (loteamentos para moradia) que favorecessem os moradores do entorno. Até 1998, mais de 15 áreas foram desmatadas ao longo da floresta para a formação de campos de futebol, sem contar as inúmeras áreas “bosqueadas” que serviam para reunir as famílias mais pobres que utilizavam o Campus para prática de lazer, já que não tinham acesso a estas atividades em outras partes da cidade. Da população de entorno incluída na pesquisa feita por Rebouças (1999), mais de 45% utilizavam indiscriminadamente a área do Campus para coleta de frutos e retirada de madeira, argila e areia, atividades estas que persistem até os dias atuais, mas em menor intensidade.

A década de 2000 se destacou principalmente pela vinda da Faculdade de Estudos Sociais (FES), que se instalou definitivamente em 2001, no Setor Norte do Campus, em blocos próximos ao prédio da antiga Reitoria. Entre os anos de 2004 e 2005, outro passo importante na estratégia de centralização das unidades na área do Campus foi efetuado com a transferência da Faculdade de Direito (FD), de um prédio antigo situado no centro de Manaus, que impossibilitava a expansão desta, para o Setor Norte próximo aos prédios da FT. A transferência destas duas importantes unidades acadêmicas causou um aumento expressivo na movimentação de veículos e na quantidade de pessoas que circulam naquele platô. Com esse crescimento das instalações edificadas, diversas espécies de animais foram afetadas tendo que ajustar suas rotas de movimentação e áreas de vida dentro da floresta do Campus, além de uma diminuição nas áreas de platô disponíveis para as plantas restritas a esse tipo de ambiente.

Na década de 2010, houve a construção do novo centro administrativo da UFAM no Setor Norte próximo à FD, uma edificação que abriga, além da Reitoria, todas as pró-reitorias e setores específicos que apoiam a estrutura administrativa e acadêmica da Instituição. Em operação desde 2011, essa iniciativa foi extremamente positiva, já que permite a resolução de diversos problemas em um mesmo espaço físico e com menor tempo para a conclusão das demandas. Outro aspecto importante foi a mudança da estrutura física do Instituto de Ciências Exatas (ICE) para um novo prédio localizado no Setor Norte e a construção já adiantada do novo prédio do Centro de Apoio Multidisciplinar (CAM), destinado a abrigar equipamentos complexos e de

alto custo que servem de apoio a toda a comunidade científica da UFAM e de outras instituições colaboradoras. No Setor Sul merece destaque a inauguração em 2012 dos novos blocos da FCA, as obras em fase de conclusão do prédio da Pós-Graduação em Diversidade Biológica e Ciências Agrárias (Posbioagro), da nova estrutura física da Faculdade de Ciências Farmacêuticas e, principalmente, o início das obras dos dois novos prédios destinados ao ICB situados paralelamente atrás dos blocos da FCA.

Dentro deste contexto que envolve todo o processo de ocupação da área do Campus, de 1974 até 2012, incluindo as previsões para 2013, uma análise da relação entre as áreas desmatadas e construídas ao longo desta ocupação, revela que o impacto mais significativo promovido pelas obras e benfeitorias sobre a cobertura vegetal da área do Campus ocorreu nas fases iniciais, entre os anos de 1974 e 1989 (Figura 4a), como resultado da transferência das unidades acadêmicas citadas acima, construção da estrada de ligação entre os Setores Norte e Sul, além das vias de acesso à granja e viveiro da FCA e dos estacionamentos. Mesmo com a definição de uso de áreas de capoeira situadas no Setor Sul, como tentativa de minimizar o desmatamento para a construção dos blocos da FEF, a proporção obtida entre as áreas desmatada e construída foi elevada e equivalente a 6,4 no primeiro período (1974/1979) e 5,9 para a década seguinte (Figura 4b). No entanto, a partir de 1990 é possível observar que se inicia uma inversão desse cenário, pois mesmo com o aumento crescente das áreas construídas nos dois platôs, o nível de desmatamento regrediu progressivamente, atingindo os menores valores desta razão (área desmatada: construída $<1,0$; Figura 4b) nos últimos anos (2010-2013). Em parte, este resultado reflete a adoção de ações institucionais voltadas à mitigação dos impactos e à conservação da cobertura vegetal da área do Campus, principalmente a utilização de espaços anteriormente ocupados por prédios antigos que vem sendo demolidos para a construção das novas edificações e também a verticalização das construções. Além de uma maior fiscalização e restrição das empreiteiras durante as obras, por parte do NUCAM (Núcleo para Conservação Ambiental do Campus) e PCU (Prefeitura do Campus Universitário), restringindo o acesso à vegetação circundante à construção.

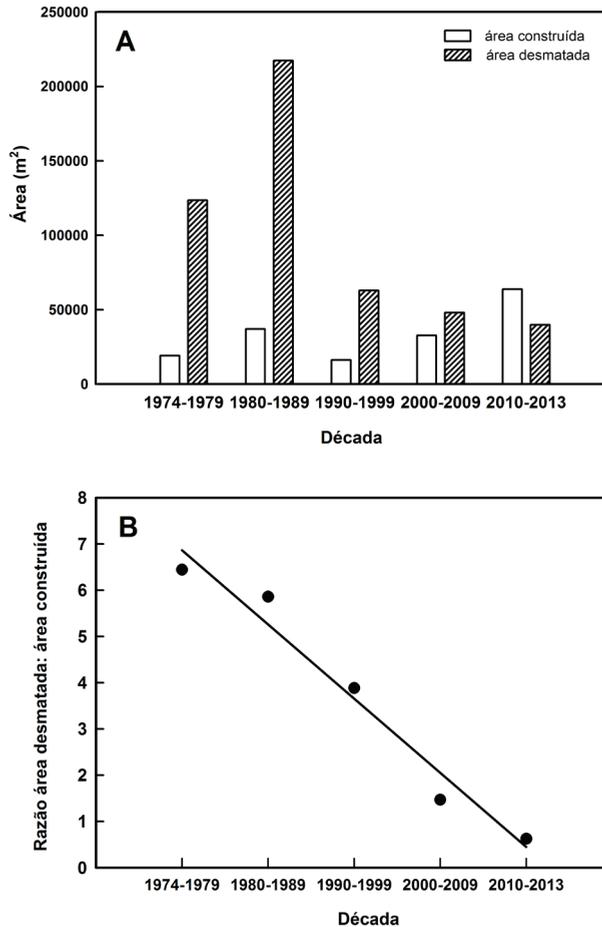


Figura 4

(A) Ocupação Institucional do Campus da UFAM no período de 1974 e 2012, incluindo as obras a serem concluídas em 2013 (valores não cumulativos). (B) Relações entre a proporção das áreas desmatadas e áreas construídas no fragmento do Campus da UFAM no mesmo período citado acima.

Atualmente, o Campus encontra-se inserido em um fragmento florestal estimado em 776 ha (GORDO, 2012), dos quais 591,97 ha pertencem à UFAM e mais 43,65 ha foram concedidos para a Universidade pela SUFRAMA (Figura 5). Os 140,38 ha restantes pertencem a um conjunto de propriedades privadas e outras instituições. Dentro da área pertencente à UFAM, estradas, edificações e estacionamentos somam 7,8%, sendo a maior parte, i.e., mais de 92% representada por diferentes tipos de cobertura vegetal, predominando florestas primárias e capoeiras.



Figura 5

Localização atual do fragmento florestal do Campus da UFAM (776 ha). O contorno preto destaca a área institucional (591,97 ha), a área hachuriada em branco representa a área perdida para o bairro Coroado (119 ha), enquanto que a área contornada em branco tem ao centro o Conjunto Residencial Eliza Miranda, cuja área do entorno (43,65 ha) foi cedida à UFAM pela SUFRAMA.

3. CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS E DIVERSIDADE BIOLÓGICA CONHECIDAS NO CAMPUS

a) Topografia, características dos solos e tipos de vegetação

As primeiras representações cartográficas para a área do Campus da UFAM datam principalmente da década de 1970 (SHUSTER, 1974, 1979). Algumas destas mostram as diferentes composições dos terrenos que foram desapropriados para formar a área do Campus e outros são baseados em levantamentos plani-altimétricos. No primeiro Plano Diretor da Fundação Universidade do Amazonas consta o mapa que representa a “Universidade no contexto urbano” (FUA-PDI, 1977), mostrando um Campus com uma área maior que a atual e ainda não isolado (Figura 1). Em 1980 foi produzido o primeiro mapa que faz referência aos tipos de vegetação existentes no Campus àquela época (PREFEITURA DO CAMPUS UNIVERSITÁRIO, 1980). Neste estão representados: a composição de terrenos, a hidrologia, estradas e caminhos, e os tipos de vegetação denominados à época como “mata alta”, “mata baixa”, “capoeiras”, “roças” e “areiais” (Figura 6).

Nos primeiros anos da década de 1990 foram realizados alguns estudos sobre as características físico-químicas dos solos arenosos presentes no Campus, determinando a granulometria, o conteúdo de água e a temperatura (MENDONÇA et al., 1992), a condutividade térmica (SILVA et al., 1992a) e o enriquecimento de areia (GEISSLER et al., 1993). Geissler et al. (1994) fizeram a análise física do solo de seis áreas cobertas por floresta ombrófila densa, sendo três no platô e três no riacho (=baixio com igarapé) e seis cobertas por campinarana, sendo três no platô e três no riacho. Segundo os autores, na floresta ombrófila densa sobre platô foram dominantes os solos argilosos de cor variando entre o marrom e o amarelo; na floresta ombrófila densa sobre baixio os solos areno-argilosos, variando de preto a castanho escuro; na campinarana sobre platô foram predominantes os areno-argilosos e subordinadamente argilosos, de cor preta a marrom amarelado; na campinarana de baixio predominaram os arenosos, seguidos dos areno-argilosos, com cores variando entre preto e cinza escuro. O que os autores chamaram de campinarana sobre platô muito provavelmente trata-se de vegetação secundária do tipo “capoeirão”. Em 1994, Coutinho produziu a “Carta da vegetação da Área do Campus”, onde indica a presença de Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Aberta, Vegetação de Campina e Área antrópica, além de estradas pavimentadas e não pavimentadas e caminhos.

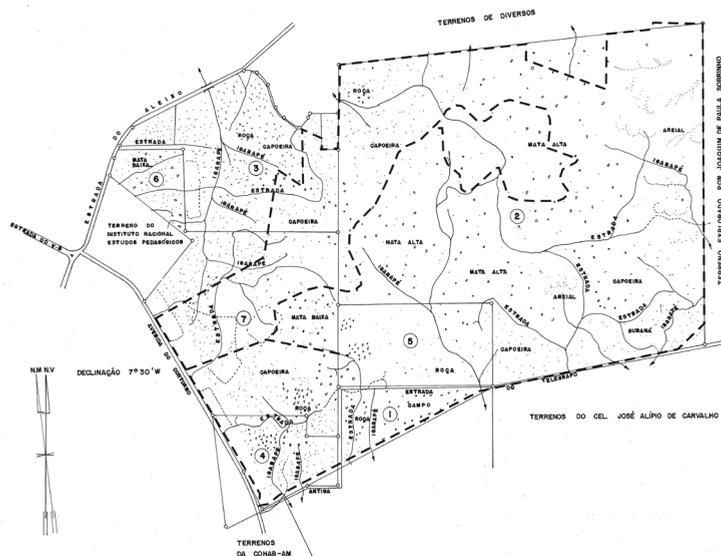


Figura 6

Mapa do Campus representando os principais tipos de vegetação observadas em 1980 (modificado de Prefeitura do Campus, 1980).

Izel e Custódio (1996) produziram o “Mapa da Cobertura Florestal da Área do Campus Universitário-UA”, mapeando os mesmos tipos de florestas, no entanto, nomeando a área indicada como vegetação de campina por Coutinho (1994) como floresta ombrófila aberta, indicando o que chamou de campinarana mais para o nordeste, como uma pequena mancha. As áreas indicadas por ambos como floresta ombrófila densa são coincidentes ao norte da mata do Campus nos limites com os bairros Acariquara e Ouro Verde, sendo mais ampliada a noroeste por Izel e Custódio, o mesmo ocorrendo para as áreas com este tipo de vegetação mais ao sul, no limite com o bairro Nova República, somente com duas manchas de floresta ombrófila aberta. Estes últimos autores também indicam áreas de areial, de cultivo e de ação antrópica.

Em 1997, Pena e Leite verificaram as propriedades físicas e químicas de um solo podzólico amarelo em uma área de encosta e vegetação secundária no Campus, através de um perfil. Já Monteiro e Leite (1998) verificaram as características de infiltração do mesmo tipo de solo, comparando três diferentes ambientes: sob floresta, cultivado e em capoeira no Campus. Um levantamento detalhado dos solos do Campus Universitário foi realizado por Barros (1998), descrevendo, mapeando e quantificando a área de três tipos de solos: Latossolos Amarelos com uma área de 334,94 ha (56,58% do total da área), Podzólicos Amarelos (219,74 ha/37,12%) e Areias Quartzosas (37,29 ha/6,30%). O autor considerou a área total do Campus como 591,97 ha.

Em 1999, Silva-Forsberg cita o “Mapa patrimonial da floresta do Campus”, produzido provavelmente a partir dos mapas da década de 1970. Esta representação mostra, além da distribuição das propriedades desapropriadas, uma divisão da área em “fragmentada” e “não fragmentada”, de acordo com o histórico do uso da terra pelos antigos proprietários. Também está indicada a localização dos pontos amostrados pela autora para caracterização da vegetação. Utilizou ainda uma setorização intermediária entre os mapas de Coutinho (1994) e Izel e Custódio (1996) para interpretar os dados gerados pelos “plots” instalados nos diferentes tipos de vegetação. No entanto, após analisar seus resultados, sugeriu uma reclassificação para os tipos de vegetação presentes na área verde do Campus da UFAM. Manteve a indicação das áreas de floresta ombrófila densa, entretanto nos locais onde os mapeamentos anteriores indicavam floresta ombrófila aberta, indicou tratar-se de floresta secundária enriquecida por umas poucas manchas de floresta mais preservada, próxima à floresta clímax. A área adjacente ao bairro Coroadó mostrou tratar-se de uma sucessão vegetal secundária mais

jovem devido à intensidade de uso, principalmente à época da invasão que formou o referido bairro. A área indicada por Izel e Custódio (1996) como vegetação de campina, na realidade, segundo Silva-Forsberg (1999), também é coberta por vegetação secundária, com exceção de cerca de três hectares de campinarana menos perturbada. Cardoso (2011), doze anos mais tarde, também reforça as afirmações de que a área adjacente ao bairro Coroado trata-se de vegetação de capoeira, em regeneração recente e sob influência antropogênica moderada (extrativismo, caça e deposição de resíduos). Em um hectare estudado nesta área, a autora encontrou um grande número de indivíduos de *Astrocaryum aculeatum* (65 indivíduos), *A. gynacanthum* (35), *Attalea maripa* (35) e *Syagrus inajai* (25), cuja abundância por si só indica vegetação que sofreu perturbação antrópica; além disso, a primeira espécie é exclusiva de locais perturbados, juntamente com *Myrcia servata* (139), *Ficus maxima* (16) e *Myrcia* sp. (2), também amostradas no local. A floresta adjacente ao Conjunto Acariquara foi descrita pela autora como floresta primária com intervenção antrópica leve a mediana, com extrativismo e caça.

Quanto às subdivisões dos tipos de vegetação em comunidades vegetais, a primeira vez em que se usaram os termos floresta de terra firme sobre platô e floresta de terra firme sobre baixio foi em levantamentos de epífitas do Campus (LIMA e CRUZ, 1995, 1996; NARA e CRUZ, 1995, 1996; SANTOS e FRANCISCON, 1995, 1996). Outros dois levantamentos fitossociológicos utilizaram os termos equivalentes, respectivamente, floresta ombrófila densa (comunidade vegetal do platô) em Irmão e Tello (1996) e floresta densa aluvial (baixio) em Amancio e Tello (1999, 2000). Em excursões que realizamos por mais de 15 anos ao longo de várias áreas de floresta de baixio no Campus sempre observamos uma profusão de palmeiras. No entanto, com variação da espécie mais abundante de um local a outro. Em alguns, *Mauritia flexuosa* forma “buritizais”, em outras *Oenocarpus bataua* forma “patuazais”; *Mauritiella aculeata* eventualmente também formam populações relativamente homogêneas, o mesmo acontecendo com *Euterpe precatória*, *Socratea exorrhiza* e *Astrocaryum acaule*. As espécies mais abundantes em determinada área estão sempre acompanhadas de outras com menor abundância (J. DA CRUZ, observação pessoal).

Na segunda metade da década de 1990, Cavicchioli orientou projetos de iniciação científica que fizeram o tratamento digital dos mapas do Campus através do geoprocessamento (BARRERA e CAVICCHIOLLI, 1997, 1999a, 1999b; BARREIRA et al., 1998). Já na década de 2000, com a implantação do Laboratório de Geoprocessamento da Faculdade de Ciências Agrárias,

novamente foram orientados projetos de iniciação científica e monografias que tiveram como foco a representação do Campus utilizando tanto mapas produzidos anteriormente quanto imagens de satélite (OLIVEIRA e COSTA, 2004; CUNHA e COSTA, 2006), culminando com a estruturação de um Atlas Biofísico e um projeto de Sistema de Informações Geográficas para a área verde do Campus da UFAM (respectivamente BUHRING e COSTA, 2006; AGUIAR, 2011), representando temas referentes à hidrografia, tipos de solos, estradas, trilhas, limites da UFAM, tipos de florestas e a localização de algumas pesquisas realizadas na área.

Estudos que tratam dos fragmentos florestais urbanos de Manaus, de diversas formas, enfatizaram a importância da área verde do Campus da UFAM e o aumento da pressão que vem sofrendo a cada década (ALVES e COSTA, 2006; CUNHA e COSTA, 2006; BASTOS, 2008; CANCELLI, 2008; OLIVEIRA e PINHEIRO, 2009; MARQUES e PINHEIRO, 2011; SANTOS, 2011).

b) Flora de Plantas Vasculares

O Herbário da Universidade Federal do Amazonas foi fundado no final de 1979, primeiramente como espaço didático e posteriormente como depositário de exsicatas testemunho das coletas de vários projetos, principalmente do estado do Amazonas. Neste acervo devem estar os testemunhos das primeiras coletas realizadas no Campus da UFAM e também aquelas realizadas nestes últimos 33 anos. No entanto, este Herbário ainda encontra-se em processo de informatização do material já incorporado no acervo e grande parte das exsicatas ainda está por ser incorporada. Desta forma, não é possível a elaboração de um *check list* para esta coleção. Muitas coletas realizadas no Campus da UFAM tem sido depositadas no Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. Em consulta prévia ao banco de dados disponível *on line* foram encontradas 115 espécimes de plantas vasculares pertencentes a 41 famílias, 71 gêneros e cerca de 93 espécies.

Estudos sobre a composição florística propriamente dita passaram a ser realizados no final da década de 1980 e principalmente na década de 1990 (Tabela 1). O primeiro registro das palmeiras do Campus foi feito por Rabelo (1987) em monografia de conclusão de curso, cuja lista somente foi publicada posteriormente em Miranda e Rabelo (2006). Os autores citam 23 espécies para esta área, três das quais são exóticas.

O próximo grupo de plantas estudadas no Campus foi a sinússia epifítica, através dos Levantamentos botânicos das Orchidaceae (LIMA e CRUZ, 1995, 1996), Bromeliaceae (NARA e CRUZ, 1995, 1996) e Araceae (SANTOS e FRANCISCON, 1995, 1996). Estes estudos compunham projetos de iniciação científica da UFAM e, apesar de serem detalhados, com descrições botânicas, ilustrações originais e chaves de identificação de gêneros e espécies, não foram publicados, senão como resumos nos Anais das Jornadas de Iniciação Científica institucionais. As coletas das três famílias concentraram-se em epífitas na floresta de baixio e campinarana, com eventuais coletas em floresta de platô e áreas antrópicas e alguns registros de plantas de hábito terrestre. As plantas epífitas foram coletadas em troncos caídos sob a mata ou através de escaladas nas árvores. Nos relatórios finais constam 33 espécies de 22 gêneros de Orchidaceae, sendo 29 espécies de epífitas, duas saprófitas, uma terrestre e uma trepadeira. De Bromeliaceae foram identificadas 11 espécies (três ao nível de morfoespécies) de quatro gêneros, das quais sete eram epífitas e quatro eram terrestres. Para Araceae foram identificadas 26 espécies (oito ao nível de morfoespécies), de seis gêneros, sendo 22 epífitas e quatro terrestres.

Tabela 1 - Levantamentos de plantas vasculares registradas para a área do Campus da UFAM.

Referências	(A) Espécie(s) registrada(s) ou (B) Espécies registradas mais abundantes e/ou com > IVI (para estudos mais amplos)
Rabelo (1987), Miranda e Rabelo (2006)	(A): <i>Acrocomia aculeata</i> , <i>Astrocaryum acaule</i> , <i>A. aculeatum</i> , <i>A. gynacanthum</i> , <i>Bactris gasipaes</i> , <i>B. hirta</i> , <i>B. simplicifrons</i> , <i>B. tomentosa</i> , <i>Elaeis oleifera</i> , <i>Euterpe oleracea</i> , <i>E. precatoria</i> , <i>Geonoma maxima</i> var. <i>cheldonura</i> , <i>Iriarotella setigera</i> , <i>Mauritia flexuosa</i> , <i>Mauritiella aculeata</i> , <i>Maximiliana maripa</i> , <i>Oenocarpus bacaba</i> , <i>O. bataua</i> , <i>Socratea exorrhiza</i> e <i>Syagrus inajai</i> .
Lima e Cruz (1995, 1996, 1998)	(A) Epifitas e trepadeiras: <i>Acacallis fimbriata</i> , <i>Batemannia lepida</i> , <i>Catasetum discolor</i> , <i>C. gnomus</i> , <i>C. tigrinum</i> , <i>Cattleya violacea</i> , <i>Caularthron bicornutum</i> , <i>Encyclia frangrans</i> , <i>E. vespa</i> , <i>Epidendrum nocturnum</i> , <i>E. ottonis</i> , <i>E. rigidum</i> , <i>E. sculptum</i> , <i>E. strobiliferum</i> , <i>Maxillaria amazonica</i> , <i>M. camaridii</i> , <i>M. tarumaensis</i> , <i>Nanodes discolor</i> , <i>Oncidium ceboleto</i> , <i>Orleanesia amazonica</i> , <i>Ornithidium parviflorum</i> , <i>Polystachya estrellensis</i> , <i>P. stenophylla</i> , <i>Rudolfiella aurantiaca</i> , <i>Scaphyglottis amazonica</i> , <i>S. sickii</i> , <i>Schomburkia crispa</i> , <i>Sobralia fragrans</i> , <i>Trigonidium acuminatum</i> e <i>Vanilla</i> sp.;
Nara e Cruz (1995, 1996)	(A) Terrestres: <i>Oeceoclades maculata</i> , <i>Uleiarchis ulaei</i> e <i>Wulschlaegelia aphylla</i>
Santos e Franciscon (1995, 1996)	(A) Epifitas: <i>Aechmea beeriana</i> , <i>A. bromelifolia</i> , <i>A. castelnavii</i> , <i>A. contracta</i> , <i>A. longifolia</i> , <i>A. mertensii</i> e <i>Araeococcus micranthus</i> . (A) Terrestres: <i>Aechmea</i> sp., <i>Ananas</i> sp. 1, <i>Ananas</i> sp. 2 e <i>Pitcairnia sprucei</i> .
Irmão e Tello (1996)	(A) Epifíticas ou hemi-epifíticas: <i>Anthurium atropurpureum</i> var. <i>arenicola</i> , <i>A. eminens</i> , <i>A. gracile</i> , <i>A. sinuatum</i> , <i>Monstera obliqua</i> , <i>M. adansonii</i> , <i>Philodendron billietiae</i> , <i>P. cuneatum</i> , <i>P. fragrantissimum</i> , <i>P. goeldii</i> , <i>P. hylaeae</i> , <i>P. laciniatum</i> , <i>P. linnæi</i> , <i>P. megalophyllum</i> , <i>P. sphalarum</i> , <i>P. weddellianum</i> , 6 mofoespécies de <i>Philodendron</i> ; (A) Terrestres: <i>Diffembachia elegans</i> , <i>Diffembachia</i> sp., <i>Dracontium</i> sp. e <i>Xanthosoma</i> sp.
Ferreira e Silva (1996)	(B) (> nº de indivíduos/>IVI): <i>Oenocarpus bacaba</i> (99/17,84), <i>Eschwellera coriacea</i> (93/22,40), <i>Prothium</i> sp. (56/12,29), <i>Chrysophyllum sanguinolentum</i> (38/11,00), <i>Holopyxidium jarana</i> (30/7,71), <i>Ocotea</i> sp. (27/6,64), <i>Inga</i> sp. (25/6,44), <i>Talisia</i> sp. (21/6,17), <i>Miconia</i> sp. (20/4,51), <i>Sacoglottis</i> sp. (20/8,59), e <i>Virola venosa</i> (20/5,97), 49 spp. com apenas um indivíduo.
Arévalo (1997)	(B) Destacaram-se: <i>Andropogon bicornis</i> , <i>Borreria capitata</i> , <i>Cyperus laxum</i> , <i>Gymnopogon foliosus</i> , <i>Ipomea</i> sp., <i>Miconia</i> sp., <i>Panicum rudgei</i> , <i>Vismia guianensis</i> . (A) Na amostragem: <i>Adiantum tetraphyllum</i> , <i>A. tomentosum</i> , <i>Asplenium serratum</i> , <i>Campyloneurum phyllitidis</i> , <i>C. repens</i> , <i>Cyclodium meniscaioides</i> var. <i>meniscaioides</i> , <i>Lindsaea divaricata</i> , <i>L. lancea</i> var. <i>falcata</i> , <i>L. lancea</i> var. <i>lancea</i> , <i>Lycopodiella cernua</i> , <i>Metaxya rostrata</i> , <i>Microgramma baldwinii</i> , <i>Nephrolepis beserrata</i> , <i>N. pectinata</i> , <i>Phlebodium decumanum</i> , <i>Pteridium aquilinum</i> , <i>Salpichaena hooknana</i> , <i>Schizaea elegans</i> , <i>S. incurvata</i> , <i>S. pennula</i> , <i>Selaginella asperula</i> , <i>S. conduplicata</i> , <i>Thelypteris arborescens</i> , <i>Trichipteris microdonta</i> , <i>Trichomanes ankersii</i> , <i>T. pinnatum</i> , <i>Triplophyllum funestum</i> var. <i>funestum</i> ;
	(A) Fora da amostragem: <i>Oleandra pilosa</i> , <i>Ophioglossum palmatum</i> , <i>Polypodium triseriale</i> .

Referências	<p>(A) Espécie(s) registrada(s) ou (B) Espécies registradas mais abundantes e/ou com > IVI (para estudos mais amplos)</p> <p>(B) (> nº de indivíduos/>IVI): <i>Eschweilera coriacea</i> (51/38,69), <i>Jessenia bataua</i> (31/17,58), <i>Virola pavonis</i> (22/15,49), <i>Cecropia scyadophylla</i> var. <i>juranyana</i> (22/14,23) e <i>Goupia glabra</i> (13/15,118), <i>Protium apiculatum</i> (10/6,09), <i>Hevea guianensis</i> (10/7,34), <i>Chrysophyllum sanguinolentum</i> ssp. <i>sanguinolentum</i> (10/6,80), <i>Gustavia augusta</i> (9/5,34), <i>Iryanthera tricornis</i> (9/6,02) e <i>Croton lanjouuensis</i> (8/5,39). 132 spp. com apenas um indivíduo.</p>
Amancio e Tello (1999, 2000)	<p>(B) Considerando toda a área verde do campus como unidade ecológica, (> nº de indivíduos/>IVI): <i>Oenocarpus bacaba</i> (109/0,21), <i>Attalea maripa</i> (87/0,24), <i>Myrcia fallax</i> (50/0,10), <i>Tapirira guianensis</i> (48/0,11), <i>Croton lanjouuensis</i> (29/0,06), <i>Eschweilera odora</i> (28/0,07), <i>Miconia myriantha</i> (26/0,06), <i>Casearia grandiflora</i> (20/0,04), <i>Simarouba amara</i> (19/0,04), <i>Gutterria discolor</i> (16/0,04) e <i>G. olivacea</i> (16/0,04); espécies com > IVI: as mesmas espécies com algumas inversões de posições e a inclusão de <i>Astrocrarium aculeatum</i> (13/0,04);</p>
Silva-Forsberg (1999)	<p>(B) Por tipo de vegetação (> nº de indivíduos/>IVI):</p> <p>- Floresta densa: <i>Oenocarpus bacaba</i> (82/0,14), <i>Attalea maripa</i> (52/0,14), <i>Eschweilera odora</i> (27/0,07), <i>Croton lanjouuensis</i> (17/0,03), <i>Tapirira guianensis</i> (14/0,04), <i>Miconia myriantha</i> (12/0,04), <i>Myrcia fallax</i> (12/0,04), <i>Protium</i> sp. (10/0,04), <i>Goupia glabra</i> (8/0,03), <i>Couepia longipendula</i> (7/0,04), <i>Buchenavia macrophylla</i> (1/0,04), apesar de apenas um indivíduo possuir área basal que aumenta seu IVI (salvo <i>A. maripa</i>, as demais prevalecem em florestas maduras ou pousios antigos. <i>O. bacaba</i> e <i>E. odora</i> são comumente encontradas em florestas não perturbadas;</p> <p>- Floresta aberta (matas secundárias) (> nº de indivíduos/>IVI): <i>Attalea maripa</i> (18/0,26), <i>Myrcia fallax</i> (17/0,18), <i>Casearia grandiflora</i> (13/0,13), <i>Croton lanjouuensis</i> (12/0,15), <i>Oenocarpus bacaba</i> (11/0,13), <i>Miconia myriantha</i> (8/0,09), <i>Byrsonima spicata</i> (7/0,07), <i>Astrocrarium aculeatum</i> (7/0,11), <i>Leucaena latisiliqua</i> (6/0,05) e <i>Trattinnickia lursifolia</i> (6/0,05). <i>Enterolobium schomburgkii</i> (2/0,11), apesar de estar representado por apenas 2 indivíduos, apresenta o quinto IVI, devido à área basal. - Campinarana: <i>Tapirira guianensis</i> (27/0,28), <i>Myrcia fallax</i> (22/0,18), <i>Simarouba amara</i> (17/0,19), <i>Attalea maripa</i> (15/0,27), <i>Oenocarpus bacaba</i> (15/0,13), <i>Byrsonima spicata</i> (8/0,10), <i>Heterostemum</i> sp. (6/0,13), <i>Humiria balsamifera</i> (6/0,07), <i>Miconia myriantha</i> (6/0,06). <i>Aldina heterophylla</i> (2/0,14) aparece como a 5ª com maior IVI (devido à dominância, comum em campinaranas).</p>
Fabiano (2008)	<p>(A) <i>Mauritia flexuosa</i></p>
Cardoso (2011), Gordo (2012)	<p>(B) Acariquara (> nº de indivíduos): <i>Oenocarpus bacaba</i> (152), <i>Theobroma sylvestre</i> (70), <i>Protium</i> sp. (34), <i>Helicostylis scabra</i> (32), <i>Rinorea racemosa</i> (31), <i>Astrocrarium gynacanthum</i> (30), <i>Virola venosa</i> (29), <i>Miconia</i> sp. (28), <i>Helicostylis tomentosa</i> (23), <i>Syagrus inajai</i> (22), <i>Amajoua guianensis</i> (19), <i>Eschweilera truncata</i> (18), <i>Ocotea cujumari</i> (17), <i>Attalea maripa</i> (15), <i>Iryanthera juruensis</i> (15) e <i>Rinorea</i> sp. (15).</p> <p>(B) Coroadó (> nº de indivíduos): <i>Casearia manausensis</i> (144), <i>Myrcia servata</i> (139), <i>Astrocrarium aculeatum</i> (65), <i>Croton lanjouuensis</i> (38), <i>Miconia</i> sp. (37), <i>Astrocrarium gynacanthum</i> (35), <i>Attalea maripa</i> (35), <i>Miconia poeppigii</i> (35), <i>Tapirira guianensis</i> (31), <i>Palicourea guianensis</i> (31), <i>Syagrus inajai</i> (25), <i>Rinorea</i> sp. (25), <i>Bocageopsis multiflora</i> (22), <i>Cordia</i> sp. (19) e <i>Miconia dispar</i> (17).</p>

Irmão e Tello (1996) e Amancio e Tello (1999, 2000), também em projetos de iniciação científica com dados não publicados, utilizaram parcelas de 10 x 500 m (0,5 ha) para descrição da vegetação do Campus, sendo três parcelas para cada levantamento. Primeiramente em floresta ombrófila densa (platô), seguido pelo levantamento em floresta densa aluvial (baixio). Sempre amostrando árvores com Diâmetro à Altura do Peito (DAP) > ou = a 10 cm. Para o platô amostrado encontraram 876 indivíduos, 44 famílias, 95 gêneros e 126 espécies. As dez famílias com maior número de indivíduos foram Lecythidaceae (153), Arecaceae (108), Burseraceae (56), Sapotaceae (52), Lauraceae (44), Mimosaceae (39), Sapindaceae (24), Myristicaceae (53), Humiriaceae (33), Melastomataceae (38), perfazendo 51,3% do total. Para o baixio encontraram 400 indivíduos, 27 famílias, 60 gêneros e 164 espécies; o maior número de indivíduos por família registrados foi: Lecythidaceae (71), Myristicaceae (58), Arecaceae (38), Caesalpiniaceae (29), Chrysobalanaceae (26), Burseraceae (24), Cecropiaceae (22), Sapotaceae (19), Mimosaceae (19), Euphorbiaceae (18).

Arévalo (1997) fez o levantamento de pteridófitas no Campus verificando sua distribuição ao longo de três parcelas estreitas contínuas que foram instaladas na vegetação de campinarana e no gradiente topográfico baixio/encosta/platô, totalizando 2,2 ha. As pteridófitas encontradas distribuem-se em 12 famílias, 17 gêneros, 24 espécies e quatro variedades. A maioria das espécies foi encontrada em baixio (60%). O autor também verificou as preferências por tipos de solos e habitats destas plantas. Em torno de 68% das espécies de pteridófitas do Campus são terrestres, 24% são epífitas e 8% tiveram ambas as preferências. Para caracterizar a vegetação do Campus, Silva-Forsberg (1999) adotou duas abordagens: na primeira considerou a área florestal como uma unidade ecológica, com 71 *plots* selecionados randomicamente; na segunda os mesmos *plots* selecionados foram analisados por tipo de vegetação, sendo 37 em floresta densa, 15 em floresta aberta e 19 em campinarana. A autora considerou uma composição mista entre o mapa proposto por Coutinho (1994) e Izel e Custódio (1996) para análise dos *plots* por vegetação. Cada *plot* foi composto por três círculos concêntricos de um, três e 10 metros de raio, centrado a partir do ponto selecionado randomicamente na floresta. No círculo maior, árvores com DAP igual ou maior que 10 cm. No círculo mediano foram examinadas árvores jovens (diâmetro entre 2,5 e 10 cm), arvoretas e arbustos e, no menor, as plântulas e a porcentagem de cobertura. No Campus considerado como unidade ecológica foram encontradas 449 espécies, 217 gêneros, 77 famílias, incluindo árvores, arbustos, ervas, trepadeiras, lianas e epífitas (do total 151 espécies identificadas até gênero e 45 até família). As famílias

com maior número de espécies foram Leguminosae (58, sendo Fabaceae/28, Mimosaceae/17 e Caesalpiniaceae/13), Moraceae (23), Rubiaceae (23), Melastomataceae (21), Annonaceae (19), Lauraceae (17), Myristicaceae (17), Euphorbiaceae (16), Burseraceae (15), Sapotaceae (15), Sapindaceae (13), Chrysobalanaceae (13), Lecythidaceae (12), Myrtaceae (12), Apocynaceae (11) e Arecaceae (11). Na análise por tipo de vegetação foram amostradas 169 espécies na floresta densa, 81 na floresta aberta (na realidade matas secundárias) e 70 espécies na campinarana. Dezoito espécies foram comuns (oito estão entre as dominantes nos três tipos de vegetação), difundidas em diferentes tipos de solo e vegetação.

No inventário fitossociológico que realizaram Monteiro e Albuquerque (2001) estabeleceram 12 parcelas (20 x 20 m), cada uma subdividida em quatro subparcelas de 10 x 10 m, distribuídas quatro parcelas por comunidade vegetal (matas de platô, encosta e baixio). Estudaram principalmente a estrutura da vegetação. Foram também identificadas algumas espécies e famílias para estudo de composição florística e de heterogeneidade da floresta. Fabiano (2008) estudou a estrutura populacional de *Mauritia flexuosa* L. f. em duas populações do Campus com diferentes graus de antropização. Foram avaliadas a densidade populacional, densidade de pneumatóforos, a estimativa da altura, e o registro das fenofases. As estruturas físicas das duas populações estudadas foram similares, com predominância de indivíduos adultos no intervalo de oito a 12 metros de altura.

Cardoso (2011) estabeleceu quatro parcelas de 250 x 10 m (total de um hectare) com espaçamento de 100 m entre elas, duplicadas em duas áreas dentro do Campus da UFAM. A primeira, em floresta próxima ao Conjunto Acariquara, e a outra próxima ao Bairro Coroado I, cujos tipos de vegetação já foram citados anteriormente. Parcelas de igual tamanho foram estabelecidas na Reserva Florestal Adolpho Ducke (RFAD), com floresta primária e no Clube do Trabalhador do Serviço Social da Indústria (SESI), um fragmento florestal com vegetação bastante alterada, solo arenoso, com várias clareiras e sob forte pressão antrópica (extrativismo, caça, resíduos domésticos e hospitalares, corte de madeira, desabrigados). Todos os indivíduos com DAP igual ou superior a 5 cm foram marcados, coletados e identificados. Na floresta próxima ao Acariquara registrou a presença de 1274 indivíduos, pertencentes a 260 espécies, 76 gêneros e 43 famílias. Destas famílias, 14 foram representadas por 82,65% dos indivíduos. São elas: Arecaceae (quatro espécies/219 indivíduos), Myristicaceae (18/108), Moraceae (15/107), Malvaceae (3/84), Burseraceae (20/83), Fabaceae (30/68), Lecythidaceae (9/54), Chrysobalanaceae (18/51), Meliaceae (12/44), Violaceae (5/51), Annonaceae (12/44), Lauraceae (11/41), Sapotaceae

(15/45) e Melastomataceae (9/54). Na área vizinha ao Coroado foram 1043 indivíduos representando 153 espécies, 58 gêneros e 36 famílias, com 71,24% do total de indivíduos distribuídos em sete famílias: Arecaceae (seis espécies/166), Salicaceae (5/158), Myrtaceae (10/155), Melastomataceae (10/115), Euphorbiaceae (3/52), Fabaceae (21/51) e Moraceae (14/46). Na comparação da composição de espécies/famílias entre as áreas estudadas, a autora chama atenção ao fato de que 135 espécies foram compartilhadas entre RFAD e Acariquara. A composição de famílias do Acariquara é, em grande parte, um subconjunto da composição da RFAD, assim como a composição do Coroado representa principalmente um subconjunto de Acariquara e RFAD. Registrou 213 espécies que ocorreram apenas na RFAD. Dentre estas mesmas espécies também estão as mais abundantes. No Acariquara, 34 espécies apresentaram um número igual ou superior a dez indivíduos, no entanto apenas cinco foram exclusivas desta área e 108 espécies (41,53% da riqueza) foram representadas por apenas um indivíduo. No Coroado, 21 espécies apresentaram mais de 10 indivíduos, com apenas três exclusivas desta área e 81 espécies foram representadas por apenas um indivíduo. Cardoso (2011) considerou os resultados para as duas florestas do Campus (Acariquara e Coroado) como estando de acordo com a grande diversidade relatada por outros levantamentos realizados em diferentes locais da Amazônia (SILVA et al., 1992b; LIMA FILHO et al., 2001; SAITO et al., 2003) e que as mesmas são dominadas por espécies localmente raras. Indicou ainda que a vegetação próxima ao Coroado mostra evidências de ser uma capoeira recente com famílias típicas de início de sucessão secundária e comuns em capoeiras de até 30 anos.

Estudos cujo foco não era levantamentos florísticos, tais como aqueles estudos de biologia reprodutiva e/ou fenologia também contribuíram com o número de ocorrências de plantas para o Campus (Tabela 2) e, principalmente, com informações sobre o comportamento destas plantas em uma área fragmentada. As Annonaceae são de longe a família botânica com maior número de referências para estudo de biologia reprodutiva e fenologia na área do Campus da UFAM (WEBBER, 1996; CARMO e WEBBER, 1997, 1998; KÜCHMEISTER et al., 1998; WEBBER e GOTTSBERGER, 1999; JÜRENS et al., 2000; MARTINIANO e WEBBER, 2000, 2001), seguidas pelas Rubiaceae (WEBBER e SILVA, 2009; COSTA, 2011), Euphorbiaceae (MELLO e WEBBER 2002, 2003), Malpighiaceae (LAMEGO et al., 1996), Orchidaceae (LIMA e CRUZ, 1998), Erythroxylaceae (SILVA et al., 2007), Arecaceae (FABIANO, 2008) e Flacourtiaceae (VÁSQUEZ e WEBBER, 2010).

Tabela 2 - Trabalhos de fenologia e/ou biologia reprodutiva desenvolvidos no Campus da UFAM.

Referências	(A) Espécie (s) estudada (s) ou (B) Espécies estudadas mais abundantes (para estudos de comunidades)
Webber (1996)	(A) <i>Xylopia excellens</i> , <i>X. benthamii</i> , <i>Guatteria foliosa</i> , <i>Guatteria</i> sp., <i>Anaxagorea brevipes</i> , <i>Pseudoxandra coriacea</i>
Lamego et al. (1996)	(A) <i>Byrsonima chrysophila</i>
Carmo e Webber (1997, 1998)	(A) <i>Rollinia insignis</i> , <i>R. exsucca</i> , <i>Bocageopsis multiflora</i> , <i>Unonopsis stiptata</i> e <i>Ephedranthus amazonicus</i>
Küchmeister et al. (1998)	Não separa quais espécies foram observadas em qual local
Webber e Gottsberger (1999)	(A) <i>Xylopia benthamii</i> (campinarana pouco perturbada), <i>Xylopia excellens</i> (vegetação secundária pouco perturbada)
Lima e Cruz (1998)	(A) <i>Encyclia fragans</i> , <i>Epidendrum strabiiferum</i> , <i>Maxillaria camaridii</i> , <i>Maxillaria tarumaensis</i> e <i>Oleanesia amazonica</i> , epífitas sobre <i>Aldina heterophylla</i> (Fabaceae)
Jürens et al. (2000)	(A) <i>Anaxagorea brevipes</i> (floresta ao longo de igarapé), <i>Rollinia insignis</i> (floresta secundária), <i>Xylopia benthamii</i> (campinarana)
Martiniano e Webber (2000, 2001)	(A) <i>Annona sericea</i> , <i>Guatteria olivacea</i> , <i>G. scytophylla</i> e <i>Guatteriaopsis blepharophylla</i>
Jabs (2001)	(B) Não tivemos acesso aos dados de abundância.
Mello e Webber (2002)	(A) <i>Aparisthium cordatum</i> e <i>Alchornea discolor</i>
Mello e Webber (2003)	(A) <i>Aparisthium cordatum</i> , <i>Alchornea discolor</i> e <i>Croton lanjouwensis</i>
Martiniano (2004)	(B) <i>Pleurostachys sparsiflora</i> (192), <i>Ryania speciosa</i> (78), <i>Ichnanthus panicoides</i> (41), <i>Piper erectipilum</i> (39), <i>Piper alatabacum</i> (34), <i>Ischnosiphon puberulus</i> (22), <i>Heliconia acuminata</i> (21), <i>Psychotria polycephala</i> (21), <i>Psychotria idiotricha</i> (16), <i>Calathea altissima</i> (14), <i>Psychotria brachybotrya</i> (14), <i>Rinorea racemosa</i> (13), <i>Amaioua guianensis</i> (12), <i>Ischnosiphon martianus</i> (12), <i>Helimantia cf. leptantha</i> (11), <i>Geonoma maxima</i> var. <i>chelidonura</i> (12), <i>Diplasia karataefolia</i> (9), <i>Ischnosiphon puberulus</i> var. <i>scaber</i> (8), <i>Guatteriaopsis blepharophylla</i> (7) e <i>Pariana radiceflora</i> (7).
Moura e Webber (2006, 2007)	(B) <i>Pleurostachys sparsiflora</i> (192), <i>Ryania speciosa</i> (34), <i>Piper erectipilum</i> (34), <i>Amaioua guianensis</i> (17), <i>Astrocaryum gynacanthum</i> (17) e <i>Faramea capillipes</i> (16).
Silva et al. (2007)	(A) <i>Erythroxylum</i> cf. <i>macrophyllum</i>
Webber e Silva (2009)	(A) <i>Warszewiczia coccinea</i>
Vásquez e Webber (2010)	(A) <i>Casearia grandiflora</i> , <i>Casearia javitensis</i> e <i>Lindackeria paludosa</i>
Costa (2011)	(A) <i>Palicourea nitidella</i>
Cardoso (2011)	(B) Idem tabela 1
Gordo (2012)	(A) estudo da fenologia da frutificação na comunidade vegetal em duas áreas

Outros estudos de fenologia trataram da comunidade de plantas de sub-bosque do Campus (Tabela 2). Jabs (2001) estudou a composição de flores no sub-bosque da floresta (até 5 m de altura) procurando identificar diferenças na biologia floral entre floresta de platô, de vertente e de baixio, com cada tipo de floresta sendo representada por um terço da área de pesquisa, totalizando um hectare. Foram encontradas 82 espécies, pertencentes a 62 gêneros e 34 famílias. As famílias com maior número de gêneros foram Melastomataceae (6), Arecaceae e Poaceae (4), Annonaceae, Menispermaceae e Rubiaceae (3). Nove famílias apresentaram dois gêneros e as demais 19 famílias foram representadas por um gênero. Quanto a riqueza de espécies por família, Araceae e Rubiaceae (8), Melastomataceae (6), Arecaceae, Marantaceae e Poaceae (5), Annonaceae (4) e Menispermaceae (3). Sete famílias apresentaram duas espécies e 18 apenas uma espécie. Os gêneros com maior número de espécies foram *Piper* (8), *Philodendron* (7), *Psychotria* (4) e *Calathea* (3). Oito gêneros apresentaram duas espécies e os demais 43 apenas uma espécie. A biologia floral e diversidade de recursos também foram abordadas por Martiano (2004). A autora trabalhou em quatro transectos paralelos, distantes 40 m entre si. Cada um deles, com cerca de 100 a 300 m de comprimento por 10 m de largura (total de um hectare). Cinco espécies foram selecionadas para estudos da biologia floral, sistema reprodutivo e polinização. Quanto ao hábito, as arvoretas foram as mais representativas (n=20; 43,5%), seguidas das herbáceas (n=11; 24%), arbustos (n=8; 17,5%), cespitosas (n=3; 6,5%), e apenas uma espécie de liana lenhosa (n=1; 2%). Foram encontradas em flor 46 espécies pertencentes a 35 gêneros distribuídos em 23 famílias; Rubiaceae foi a que apresentou maior número de representantes (nove espécies em quatro gêneros), Piperaceae (cinco espécies do mesmo gênero), Marantaceae (quatro espécies em dois gêneros), Annonaceae e Arecaceae com três gêneros cada e Poaceae, Myristicaceae, Lauraceae e Cyperaceae com dois representantes. Durante os censos de floração (2002/2003), foi observado um total de 659 indivíduos distribuídos em 46 espécies, tanto na área de estudo como em áreas adjacentes. Das 46 espécies observadas, 14 (30,4 %) tiveram apenas um representante. Moura e Webber (2006, 2007) deram continuidade aos estudos em sub-bosque, registrando e avaliando os padrões de frutificação nas mesmas parcelas. De agosto de 2003 a maio de 2006 encontraram 53 espécies em frutificação, pertencentes a 25 famílias representadas por 464 indivíduos. Parte do estudo realizado por Cardoso (2011) referiu-se ao monitoramento fenológico em quatro áreas formando um gradiente de grau de perturbação antrópica, duas das quais no Campus da UFAM, cujo método de amostragem e grupos taxonômicos encontrados já foram citados

anteriormente. A autora acompanhou quinzenalmente 3.801 indivíduos, distribuídos em 628 espécies para as fenofases floração, frutificação, queda de folhas e emissão de folhas novas.

Outros estudos contribuíram para o conhecimento da morfologia e/ou anatomia de plantas do Campus (Tabela 3). Os mais antigos trataram de estudo anátomo-físio-ecológico foliar de Orchidaceae epífitas em vegetação de campinarana (LIRA e BONATES, 1996) e estudos da morfologia de frutos de sete espécies de Annonaceae. Mas o grupo de plantas mais estudado no campus sob os aspectos da morfo-anatomia foram as Arecaceae, nos trabalhos realizados pelo grupo de pesquisa ligado ao Laboratório de Botânica Agroflorestal (LABAF-UFAM). Foram estudos de morfologia das sementes (PEREIRA e MENDONÇA, 1998), de frutos e sementes (LAY et al., 2000), da germinação e plântulas (LAY et al., 2001), morfologia e germinação morfométrica das plântulas (OLIVEIRA et al., 2000), caracterização morfo-anatômica de embriões (MENEZES e MENDONÇA, 2000), morfologia do fruto e semente (ARAÚJO et al., 2000), aspectos morfológicos da germinação e plântula (OLIVEIRA e ARAÚJO, 2001), e morfoanatomia do desenvolvimento dos frutos e sementes (ARAÚJO, 2005). As demais famílias com estudos de morfologia foram Myristicaceae (SILVA et al., 2000) e Euphorbiaceae, incluindo caracterização histoquímica (BARROS e ARAÚJO, 2011). Foram também realizados estudos dendrológicos com Lecythidaceae (MELO e TELLO, 1999; MELO et al., 2000).

A floresta do Campus também tem sido um grande repositório de plantas para estudos de fitoquímica (Tabela 3), tais como os estudos com Arecaceae (MIRANDA et al., 2001) e Annonaceae (XAVIER e PINHEIRO, 2003; CAVALCANTE e PINHEIRO 2006; PEREIRA e PINHEIRO, 2009).

Tabela 3 - Trabalhos de anatomia e/ou morfologia vegetal incluindo trabalhos com caracterização dendrológica e fitoquímica, com espécies do Campus da UFAM.

Referências	Espécie(s) estudada(s)
ANATOMIA e/ou MORFOLOGIA VEGETAL e CARACTERIZAÇÃO DENDROLÓGICA	
Lira e Bonates (1996)	<i>Caularthron bicornutum</i> , <i>Maxillaria tarumaensis</i> e <i>Acacallis fimbriata</i>
Santos e Franciscon (1997)	<i>Xilopia amazonica</i> , <i>X. aromatica</i> , <i>X. bentharii</i> , <i>X. excellens</i> , <i>Guatteria megalophylla</i> , <i>G. scytophylla</i> e <i>G. olivacea</i>
Pereira e Mendonça (1998)	<i>Attalea maripa</i> , <i>Oenocarpus bataua</i> e <i>Syagrus inajai</i>
Melo e Tello (1999)	<i>Eschweilera coriacea</i>
Lay et al. (2000)	<i>Astrocaryum acaule</i> , <i>Astrocaryum aculeatum</i> , <i>A. gynacanthum</i> , <i>Bactris acanthocarpoides</i> e <i>B. tomentosa</i>
Lay et al. (2001)	<i>Astrocaryum aculeatum</i> e <i>A. gynacanthum</i>
Oliveira et al. (2000)	<i>Syagrus inajai</i>
Menezes e Mendonça (2000)	<i>Socratea exorrhiza</i>
Araújo et al. (2000)	<i>Attalea maripa</i>
Melo et al. (2000)	<i>Eschweilera coriacea</i>
Silva et al. (2000)	<i>Virola carinata</i> , <i>V. divergens</i> e <i>V. multinervia</i>
Oliveira e Araújo (2001)	<i>Euterpe oleracea</i> , <i>Socratea exorrhiza</i>
Araújo (2005)	<i>Astrocaryum acaule</i>
Barros e Araújo (2011)	<i>Mabea uleana</i>
FITOQUÍMICA	
Miranda et al. (2001)	<i>Bactris gasipaes</i> e <i>Maximiliana maripa</i>
Xavier e Pinheiro (2003)	<i>Annona sericea</i>
Cavalcante e Pinheiro (2006)	<i>Annona amazônica</i>
Pereira e Pinheiro (2009)	<i>Annona muricata</i> , <i>Annona sericea</i> e <i>Annona ambotay</i>

As interações entre plantas e animais estão representadas principalmente nas informações referentes às síndromes de polinização das flores e síndromes de dispersão dos frutos e sementes, como parte dos trabalhos citados anteriormente sobre biologia reprodutiva de plantas (Tabela 4). Informações adicionais podem ser encontradas no levantamento de artrópodes visitando flores de diferentes espécies de plantas em três trilhas de 1 km ao longo de áreas de floresta primária, floresta secundária e campinarana (PENA e SANTOS, 2002). Neste estudo foram encontradas 52 espécies vegetais, pertencentes a 49 gêneros e 33 famílias (floresta secundária/28 espécies, floresta primária/25 e campinarana/10). Outros acréscimos vem dos estudos de artrópodes em palmeiras, nas inflorescências e infrutescências (RAIZER e AGUIAR, 2006), em frondes (JUREMA e AGUIAR, 2006) e bainhas foliares (OLIVEIRA e GIANIZELLA, 2008; FREITAS e GIANIZELLA, 2009). O uso de recursos, área de vida e comportamento do primata *Saguinus bicolor* também traz informações significativas sobre estas interações por meio de dez anos de acompanhamento do animal e registro e coleta das plantas que lhe servem de alimento (ANDRADE e GORDO, 2002, 2003; GORDO, 2012).

A ocorrência de determinadas espécies de palmeiras ou mesmo a ausência de outras nos principais levantamentos feitos no Campus (SILVA-FORSBERG, 1999; CARDOSO, 2011) podem ser usadas como indicadores dos tipos de vegetação no Campus e indícios de seu histórico de ocupação e perturbações antrópicas. A forte presença de *Attalea maripa* (= *Maximilliana maripa*) nas áreas erroneamente denominadas de floresta ombrófila aberta já indica serem as mesmas uma vegetação secundária em diferentes estágios de sucessão. Mapas mais antigos da área (PREFEITURA DO CAMPUS UNIVERSITÁRIO, 1980) registram a presença de roças, capoeiras e matas baixas, ambientes onde a disseminação de *A. maripa* é estimulada. Esta espécie é resistente à ação do fogo das queimadas porque seu meristema apical está sob o solo nas fases mais jovens e seu estipe está recoberto por bainhas foliares nas plantas no início da fase adulta. Quando áreas destinadas a roçados e/ou pastagens são cortadas e queimadas sucessivas vezes as plantas jovens de *A. maripa* não morrem e acabam por formar densas populações da espécie, inviabilizando economicamente estas áreas (MIRANDA e RABELO, 2006). Quanto à frequência e abundância, *Astrocaryum gynacanthum* também reforça os mesmos indícios da espécie anterior e as diferenças na conformação das touceiras, com vários estipes adultos mais baixos em áreas de capoeira do Campus e touceiras com no máximo um ou dois estipes adultos na floresta densa mais preservada (J. DA CRUZ, observação pessoal). A presença de manchas com muitos indivíduos de *Astrocaryum aculeatum* (“tucumã”) nestes mesmos “capoeirões” também são indícios de antigos

assentamentos humanos e áreas com pastagens. A presença desta espécie frequentemente é associada à presença remota de atividades antrópicas envolvendo desmatamentos e estabelecimento de pastagens, sendo rara na floresta primária (HENDERSON et al., 1995).

Tabela 4 – Levantamentos de fauna de artrópodes e uso de recursos por primatas em plantas no Campus da UFAM

Referências	(A) Espécie(s) estudada(s) ou (B) Espécies estudadas mais abundantes (para estudos de comunidades)
Pena e Santos (2002)	52 espécies vegetais, 49 gêneros e 33 famílias; Floresta secundária (28 spp.), floresta primária (25) e campinarana (10).
Andrade e Gordo (2002, 2003)	(B) - dentre as espécies mais consumidas pelo primata foram identificadas: <i>Inga edulis</i>, <i>I. alba</i>, <i>I. paraensis</i>, <i>I. laurina</i>, <i>Byrsonima</i> sp., <i>Lacmellea gracilis</i>, <i>L. arborescens</i>, <i>Rollinia insignis</i>, <i>Guatteria olivacea</i>, <i>Tapirira guianensis</i>, <i>Cecropia distachia</i>, <i>Pouroma</i> sp., <i>Protium</i> sp., <i>Simaba poliphylla</i>.
Raizer e Aguiar (2006)	(A) <i>Bactris acanthocarpoides</i>, <i>B. maraja</i> e <i>B. hirta</i>
Jurema e Aguiar (2006)	<i>Bactris acanthocarpoides</i>
Oliveira e Gianizella (2008)	(A) <i>Maximilliana maripa</i>
Freitas e Gianizella (2009)	(A) <i>Astrocaryum aculeatum</i> e <i>Bactris gasipaes</i>
Gordo (2012)	(B) Acariquara: <i>Oenocarpus bacaba</i> , <i>Theobroma sylvestre</i> , <i>Helicostylis tomentosa</i> , <i>Eschweleira coriacea</i> , <i>Rinorea racemosa</i> , <i>Astrocaryum gynacanthum</i> , <i>Syagrus inajai</i> , <i>Paraia bracteata</i> , <i>Protium decandrum</i> , <i>Virola calophylla</i> , <i>Virola michelii</i> , <i>Amatoua guianensis</i> , <i>Bocoa viridiflora</i> , <i>Licania longistyla</i> , <i>Virola venosa</i> (B) Coroadó: <i>Myrcia paivae</i> , <i>Casearia grandiflora</i> , <i>Astrocaryum aculeatum</i> , <i>Croton matourensis</i> , <i>Tapirira guianensis</i> , <i>Miconia poeppigii</i> , <i>Astrocaryum gynacanthum</i> , <i>Attalea maripa</i> , <i>Bocageopsis multiflora</i> , <i>Syagrus inajai</i> , <i>Miconia holocercea</i> , <i>Chimarris duckeana</i> , <i>Leonia cymosa</i> , <i>Ocotea longifolia</i> , <i>Cordia exaltata</i>

A ocorrência de *A. maripa* na floresta ombrófila densa do Campus (SILVA-FORSBERG, 1999; CARDOSO, 2011) também é significativa e pode indicar que estas áreas sofreram influência antrópica significativa no passado, já que comumente a espécie ocorre em densidade reduzida ou está ausente neste tipo de vegetação. Devendo-se também levar em consideração que a presença de densas populações da espécie na vegetação secundária que circunda a floresta mais preservada também favorece a disseminação de *A. maripa* nas mesmas. *Oenocarpus bacaba* está como a espécie mais abundante nos três levantamentos realizados na floresta densa do campus (IRMÃO e TELLO, 1996; SILVA-FORSBERG, 1999; CARDOSO, 2011). O estabelecimento das plântulas desta espécie não ocorre em áreas totalmente desprovidas de vegetação, no entanto parece ser estimulada ao longo da sucessão vegetal em áreas de capoeiras, formando populações de muitos indivíduos que podem também interferir na abundância da espécie em áreas de floresta mais preservadas adjacentes. A ausência de *Oenocarpus minor*, *Attalea attaleoides* e *Astrocaryum sciophyllum* no Campus em oposição à sua frequência e abundância em florestas próximas a Manaus também deve ser considerada como uma informação interessante (RIBEIRO et al., 1999).

Baseados nas informações acima, sugerimos a elaboração de um mapa de vegetação do Campus utilizando o termo genérico floresta tropical úmida, com as subdivisões já comumente utilizadas em trabalhos na região, principalmente após serem reforçadas por Ribeiro et al. (1999) na “Flora da Reserva Ducke”, guia referência na Amazônia. Os autores utilizam o conceito de floresta de terra firme, em oposição às florestas sazonalmente inundadas na Amazônia. E a exemplo dos mesmos, a vegetação do Campus seria subdividida em floresta de platô, floresta de vertente, floresta de campinarana e floresta de baixio, com nuances para o estado de conservação em relação à maior ou menor proximidade das características de uma floresta primária. Para a vegetação secundária as nuances seriam para fazer referência ao estágio de sucessão em que se encontra. Essa nova subdivisão deve ser realizada baseada na localização de amostragens já realizadas no Campus e novas verificações *in loco*, principalmente no que se refere aos limites reais da floresta de campinarana.

Inventários em andamento devem trazer novas informações sobre a flora do campus, ampliando a lista de espécies e também trazendo novas conjecturas sobre os ambientes presentes na área. Dentro da área de abrangência do Programa de Pesquisa em Biodiversidade (PPBio; ppbio.inpa.gov.br) foram instaladas 10 parcelas nas margens de igarapés, denominadas parcelas ripárias. Cada parcela tem 250 m de comprimento e largura variando de acordo com o grupo taxonômico a ser amostrado (MAGNUSSON et al., 2005), com método de amostragem e análise que possibilitarão comparações com outros inventários realizados em outras regiões da Amazônia. Outras

informações virão do inventário Florestal para a Coleta de Sementes Arbóreas Tropicais que está sendo realizado pelo Centro de Sementes Nativas da Amazônia – CSNAM, núcleo de pesquisa da UFAM vinculado à Rede de Sementes da Amazônia (LIMA JÚNIOR et al., 2012). O acesso para a realização do inventário de prospecção será feito por meio das trilhas existentes dentro do Campus, em uma área de aproximadamente 140 ha, com a instalação de parcelas em torno das árvores matrizes, sendo a mais externa com 2700 m² e a mais interna com 900 m². Já foram selecionados indivíduos de 43 espécies para serem matrizes na floresta do Campus.

c) Fauna do Campus

Os estudos sobre a fauna no Campus da UFAM iniciaram-se em 1989 (Tabela 5), com a produção de dissertações de mestrado sobre revisões taxonômicas de espécies de Insecta (Lepidoptera e Coleoptera) (MOTTA, 1989; SILVA, 1991). Posteriormente, foram publicados artigos e livro (AGUIAR e BÜHRNHEIM, 1992; AGUIAR et al., 1992; HÖFER et al., 1994) também com enfoque taxonômico, onde foram citadas espécies de aracnídeos (Arachnida, Pseudoscorpionida e Araneae) coletadas no Campus e depositadas na atual Coleção Zoológica Paulo Bührnheim (CZPB-UFAM).

Estudos com levantamentos de fauna foram desenvolvidos inicialmente por alunos de iniciação científica com determinados grupos taxonômicos de insetos (Diptera e Coleoptera, MARICAU e SILVA, 1996; TEIXEIRA e SILVA, 1996; ALMEIDA et al., 1996; CAVERO et al., 1996), peixes Teleostei, Crustacea (GALVÃO-NETO et al., 1996) e Aves (ALENCAR e RÊGO, 1996). No entanto, nenhum desses estudos foi publicado. A primeira publicação com vertebrados foi a de Borges e Guilherme (2000), também com levantamento da diversidade de Aves (cinco ordens principais, 15 famílias e 44 espécies). Em 2003, Cordeiro e Sanaiotti publicaram o primeiro Guia de Campo de anfíbios para fragmentos florestais de Manaus, onde a principal área de amostragem foi a floresta do Campus, com o registro de 30 espécies de Anura - sapos, rãs e pererecas. Estudos posteriores também tiveram por objetivo gerar listas de espécies de diversos grupos taxonômicos, principalmente invertebrados como artrópodes Insecta (FRANKEN et al., 2002; FRANKEN e PARALUPPI, 2003; PENA e SANTOS, 2002; RAIZER e AGUIAR, 2006; ALVAREZ et al., 2008; AZEVEDO e GODOI, 2012; CHAGAS e GODOI, 2012) e Arachnida (GOMES e AGUIAR, 2004; CARVALHO e GASNIER, 2012), utilizando diferentes métodos de amostragem. Levantamentos de Insecta vetores de doenças tropicais, tais como Diptera e Hemiptera, Reduviidae (NERY et al., 2004; ALMEIDA e GIANIZELLA 2008; OLIVEIRA e GIANIZELLA, 2008; SOUZA e GIANIZELLA, 2008; BARBOSA e GIANIZELLA, 2009; FREITAS e GIANIZELLA, 2009; PAIVA e GIANIZELLA, 2009), foram desenvolvidos em diversas áreas do Campus da UFAM. Monteiro Neto (2009) fez o

Tabela 5 - Estudos desenvolvidos com inventários, aspectos taxonômicos, populacionais, genéticos, fisiológicos e ecológicos da fauna do Campus da UFAM.

Referências	Táxons estudados
Motta (1989)	Lepidoptera: Sphingidae: <i>Erinnyis ello ello</i>
Silva (1991)	Coleoptera: Curculionidae: Platypodinae: 5 espécies
Aguiar e Bührnheim (1992), Aguiar et al. (1992)	Arachnida: Pseudoscorpionida: Chernetidae, Cheliferidae, Withiidae: 3 espécies Coleoptera: Cerambycidae: <i>Acrocinus longimanus</i>
Oliveira e Falcão (1992)	Teleostei: Lebiasinidae: <i>Pyrrhulina</i> sp.
Höfer et al. (1994)	Arachnida: Ctenidae: <i>Ctenus amphora</i>
Almeida et al. (1996)	Acari, Hymenoptera Formicidae, Collembola, Symphila, Aranea, Pseudoscorpiones, Isoptera
Maricaua e Silva (1996)	Diptera: Tephritidae: <i>Anastrepha fraterculus</i> , Hymenoptera: Braconidae: <i>Doryctobracon areolatus</i>
Teixeira e Silva (1996)	Diptera: Tephritidae
Alencar e Régo (1996)	Aves: 48 famílias, 128 gêneros e 195 espécies
Cavero et al. (1996)	Diptera: Cecidomyiidae, Phoridae, Coleoptera: Staphylinidae, Nitidulidae
Galvão-Neto et al. (1996)	Teleostei: <i>Erythrinus erythrinus</i> , <i>Pyrrhulia</i> sp., <i>Crenuchus spirulus</i> , <i>Hyla geographica</i> , Crustacea: Palaemonidae: <i>Macrobrachium inpa</i> e <i>Macrobrachium nattereri</i>
Bührnheim et al. (1999)	Teleostei: <i>Erythrinus erythrinus</i> , <i>Hoplias</i> sp., <i>Crenuchus spilurus</i> , <i>Copella nigrofasciata</i> , <i>Pyrrhulina brevis</i> , <i>Bryconops</i> aff. <i>melanurus</i> , <i>Hyphessobrycon</i> sp., <i>Helogenes marmoratus</i> , <i>Gymnotus</i> sp., <i>Aequidens pallidus</i> , <i>Apistogramma</i> gr. <i>agassizi</i> , <i>Crenicichla</i> gr. <i>saxatilis</i> , <i>Rivulus</i> gr. <i>urophthalmusi</i> , <i>Poecilocharax weitzmani</i>
Borges e Guilherme (2000)	Aves: 5 ordens principais, 15 famílias e 44 espécies
Carmo (2002)	Mammalia: Xenarthra: <i>Bradypus tridactylus</i>
Pena e Santos (2002)	Hymenoptera: Apidae (gêneros <i>Euglossa</i> , <i>Trigona</i> , <i>Melipona</i> , <i>Eulaema</i> ; espécies <i>Trigona fulviventris</i> , <i>Eulaema nigrita</i> , <i>Ptilotrigona lurida</i>), Anthrophoridae, Megachilidae e Halictidae
Franken et al. (2002)	Hymenoptera: Formicidae, Coleoptera: Scolytidae, Staphylinidae e Nitidulidae, Diptera: Phoridae, Cecidomyiidae e Dolichopodidae, Orthoptera: Gryllidae

Albano e Gordo (2002, 2003)	Mammalia (8 espécies), Amphibia: Anura (7 espécies), Reptilia: Squamata (21 espécies), Aves (5 espécies)
Andrade e Gordo (2002, 2003)	Mammalia: Primates: <i>Pithecia pithecia</i> , <i>Saguinus bicolor</i>
Franken e Paraluppi (2003)	Arthropoda: 40 gêneros e 129 espécies. <i>Pheidole</i> , <i>Labidus</i>
Silva e Paraluppi (2003)	Insecta: Hymenoptera: Formicidae, Diptera: Cecidomyiidae, Coleoptera: Scarabaeidae, Orthoptera: Gryllidae e Acrididae; Arachnida; Diplopoda; Isopoda: Malacostraca
Cordeiro e SanaIotti (2003)	Amphibia: Anura: 6 famílias e 30 espécies
Gomes e Aguiar (2004)	Arachnida: Scorpiones: Buthidae e Chactidae: 7 espécies
Nery et al. (2004)	Diptera: Psychodidae: <i>Lutzomia umbratilis</i> , <i>L. spathotrichia</i> , <i>L. anduzei</i> , <i>L. grupo shannoni</i>
Santos (2005)	Primates: Callitrichidae: <i>Saguinus bicolor</i>
Raizer e Aguiar (2006)	Insecta: 4 classes, 17 ordens e 28 famílias. Mais abundantes Coleoptera (Curculionidae, Staphylinidae), Acari, Hymenoptera (Formicidae), Colembola (Entomobryidae), Hemiptera (Membracidae), Isoptera (Termitidae)
Jurema e Aguiar (2006)	Material coletado em palmeiras de Itacoatiara e do Campus da UFAM. Registros não separados para as duas áreas. Insecta: 3 classes, 18 ordens e 41 famílias. Mais abundantes: Coleoptera, Hymenoptera (Formicidae)
Vasconcelos e Gordo (2006)	Mammalia: Primates: <i>Saguinus bicolor</i>
Silva Jr et al. (2006)	Reptilia: Crocodylia: <i>Paleosuchus trigonatus</i>
Mendes e Marcon (2007)	Reptilia: Crocodylia: <i>Paleosuchus trigonatus</i>
Almeida e Menin (2007, 2008), Almeida (2009)	Amphibia: Anura: <i>Leptodactylus andreae</i> e <i>Leptodactylus hylaedactylus</i>
Almeida e Gianizella (2008)	Diptera: <i>Lutzomyia</i> spp.
Alvarez et al. (2008)	Coleoptera: Scarabaeidae: <i>Coelosis biloba</i> , <i>Strategus aloeus</i>
Araújo (2008)	Primates: Callitrichidae: <i>Saguinus bicolor</i>
Oliveira e Gianizella (2008)	Hemiptera: <i>Rhodnius robustus</i> , <i>Rhodnius pictipes</i>
Souza e Gianizella (2008)	Diptera: <i>Culex</i> spp., <i>Psorophora</i> spp., <i>Wyeomyia</i> spp.
Barbosa e Gianizella (2009)	Diptera: <i>Lutzomyia anduzei</i> , <i>Lutzomyia clausenae</i> , <i>Lutzomyia davisii</i> , <i>Lutzomyia eurypyga</i> , <i>Lutzomyia ruii</i> , <i>Lutzomyia sordellii</i> , <i>Lutzomyia trichopyga</i> , <i>Lutzomyia ubiquitalis</i> , <i>Lutzomyia umbratilis</i> .

Freitas e Gianizella (2009)	Hemiptera: <i>Rhodnius robustus</i>
Luiz (2009), Luiz <i>et al.</i> (2009)	Reptilia: Squamata: 8 Famílias e 19 Espécies
Monteiro Neto (2009)	Mammalia: Primates: <i>Pithecia pithecia</i> e <i>Saguinus bicolor</i> ; Rodentia: <i>Myoprocta acouchy</i> , <i>Dasyprocta leporina</i> e <i>Guerlinguetus aestuans</i> ; Xenarthra: <i>Bradypus tridactylus</i> e <i>Choloepus didactylus</i> ; Carnivora: <i>Potos flavus</i>
Paiva e Gianizella (2009)	Diptera: <i>Culex</i> spp., <i>Mansonia</i> spp., <i>Uranotaenia</i> spp., <i>Psorophora</i> spp.
Silva (2009)	198 vertebrados de 16 espécies diferentes: 4 espécies de Amphibia, 6 espécies de Reptilia Squamata, 6 espécies de Mammalia
Tsuji-Nishikido (2009); Tsuji-Nishikido e Menin (2009, 2011)	Amphibia: Anura: 7 famílias e 17 espécies
Py-Daniel (2009)	Amphibia: Anura: <i>Leptodactylus hylaedactylus</i>
Almeida e Menin (2009, 2010)	Decapoda: Palaemonidae: <i>Macrobraichium</i> spp., <i>Pseudopalaemon amazonensis</i>
Menin <i>et al.</i> (2009)	Amphibia: Anura: Leptodactylidae: <i>Leptodactylus hylaedactylus</i>
Borges (2011)	Diptera: Calliphoridae: <i>Phaenicia eximia</i> , <i>Chloroprocta idioidea</i> , <i>Chrysomya megacephala</i> , <i>Chrysomya albiceps</i> , <i>Chrysomya putoria</i> , <i>Cochliomyia macellaria</i> , <i>Hemilucilia segmentaria</i> , <i>Hemilucilia semidiaphana</i> , <i>Paralucilia paraenses</i>
Duarte e Da Silveira (2011)	Teleostei: 6 ordens, 12 famílias e 30 espécies
Martins e Da Silveira (2011)	Reptilia: Crocodylia: <i>Caiman crocodilus</i> , <i>Paleosuchus trigonatus</i>
Faria-da-Costa (2011)	Amphibia: Anura: Leptodactylidae: <i>Leptodactylus pentadactylus</i>
Telles (2011)	Amphibia: Anura: Hylidae: <i>Hypsiboas cinerascens</i>
Azevedo e Godoi (2012)	Diptera: Stratiomyidae: 6 gêneros e 24 espécies
Carvalho e Gasnier (2012)	Arachnida: Aranea: 26 famílias, 66 gêneros, 155 morfoespécies
Chagas e Godoi (2012)	Diptera: 25 famílias. Mais abundantes: Cecidomyiidae, Chironomidae e Sciaridae
Gordo (2012)	Mammalia: Primates: <i>Saguinus bicolor</i>
Gualberto <i>et al.</i> (2012)	Decapoda: Palaemonidae: <i>Macrobraichium</i> spp., <i>Pseudopalaemon amazonensis</i>
Melo (2012)	Amphibia: 32 espécies, Reptilia: 49 espécies, Aves: 37 espécies, Mammalia: 20 espécies
Pinto e Menin (2012)	Amphibia: Anura: Hylidae: <i>Phyllomedusa bicolor</i>
Vaz e Menin (2012)	Amphibia: Anura: Hylidae: <i>Hypsiboas cinerascens</i>

levantamento de mamíferos diurnos não voadores na área, tendo registrado a ocorrência de oito espécies.

Carmo (2002) estudou a distribuição, a densidade e padrão de atividade da preguiça-de-bentinho (*Bradypus tridactylus*) na área do Campus. Em 2002 teve início o “Projeto Sauim-de-Coleira”, buscando caracterizar a ecologia, a área de vida e o uso de recursos do primata *Saguinus bicolor* (ANDRADE e GORDO, 2002, 2003), endêmica da região de Manaus e ameaçada de extinção (MITTERMEIER et al., 2008). Vasconcelos e Gordo (2006) ao avaliarem diferentes cenários para a área de distribuição do sauim-de-coleira enfatizam a relevância do Campus para conservação da espécie dentro da paisagem urbana. Ao longo de mais de dez anos de monitoramento e coleta de dados, incluindo a área do Campus, Gordo (2012) traz informações sobre o efeito da fragmentação, demografia, interação com a vegetação, dados sobre atropelamentos e análises de viabilidade populacional do *Saguinus bicolor*. Santos (2005) realizou estudos sobre a genética desta espécie incluindo a população de sauins do Campus, assim como Araújo (2008) avaliou as características hematológicas dessas populações. Procurando estimar os atropelamentos de vertebrados nas estradas internas do Campus, Albano e Gordo (2002, 2003) em vinte e um meses de monitoramento, e Melo (2012) em quatro meses registraram altos índices de atropelamento. Foram identificadas 41 espécies atropeladas entre aves, mamíferos, répteis e anfíbios.

A partir de 2008, vários estudos com fauna foram desenvolvidos em 22 parcelas do Programa de Pesquisa em Biodiversidade (PPBio), sendo 10 parcelas instaladas nas margens de igarapés – chamadas de parcelas ripárias (LUIZ, 2009; TSUJI-NISHIKIDO, 2009; TSUJI-NISHIKIDO e MENIN, 2011) – e 12 parcelas instaladas nos igarapés – parcelas aquáticas (DUARTE e DA SILVEIRA 2011; MARTINS e DA SILVEIRA, 2011; GUALBERTO et al., 2012). As parcelas ripárias possuem 250 m de comprimento e as parcelas aquáticas possuem 50 m de comprimento (ALMEIDA e MENIN, 2009). Nas parcelas ripárias os estudos abordaram a ecologia de comunidades e populações de anfíbios e répteis (LUIZ, 2009; LUIZ et al., 2009; TSUJI-NISHIKIDO, 2009; TSUJI-NISHIKIDO e MENIN, 2009, 2011; FARIA-DACOSTA, 2011; TELLES, 2011). Estudos com herpetofauna, utilizando amostragens padronizadas diurnas e noturnas, demonstraram claramente o efeito de borda, determinando uma menor riqueza de espécies de anuros (TSUJI-NISHIKIDO e MENIN, 2011) e répteis esquamata (LUIZ, 2009) próximos às bordas, além de permitir estimativas da abundância de cada espécie. Outros estudos permitiram a descrição de aspectos populacionais de anuros, envolvendo a estrutura de tamanhos, período de reprodução e distribuição (FARIA-DACOSTA, 2011; TELLES, 2011; VAZ e MENIN,

2012) ou aspectos taxonômicos, como a descrição de vocalizações, larvas e osteologia de algumas espécies de anuros (ALMEIDA e MENIN, 2007, 2008; ALMEIDA, 2009; MENIN et al., 2009; PY-DANIEL, 2009; PINTO e MENIN, 2012). Nas parcelas aquáticas foram desenvolvidos estudos com: 1) peixes Teleostei (DUARTE e DA SILVEIRA, 2011), onde foram detectadas seis ordens, 12 famílias e 30 espécies; 2) Crustacea (ALMEIDA e MENIN, 2009, 2010; GUALBERTO et al., 2012), onde a estrutura de tamanhos, fecundidade e razão sexual foram determinadas para quatro espécies de camarões encontradas nos igarapés, e 3) Crocodylia (MARTINS e DA SILVEIRA, 2011) onde foi determinada a estrutura de tamanhos, sexo e a dieta de jacarés-coroa (*Paleosuchus trigonatus*).

Parte do material coletado nos estudos citados anteriormente está depositado na Coleção Zoológica Paulo Bührnheim da Universidade Federal do Amazonas (CZPB-UFAM), vinculada ao Instituto de Ciências Biológicas (ICB). A CZPB foi iniciada em 1982, pelo Prof. Dr. Paulo Friedrich Bührnheim (professor de Zoologia da UFAM; *in memoriam*), como uma Coleção Entomológica. Atualmente, a coleção científica conta com um acervo composto por vertebrados e invertebrados contendo, juntamente com as coleções do INPA, os principais acervos de exemplares coletados no Campus.

d) Microorganismos

O primeiro estudo a referir-se às bactérias presentes em amostras de solo do Campus foi realizado por Shimizu et al. (1993). Ainda na década de 1990 foram desenvolvidos alguns trabalhos de isolamento e identificação de Fungos, seja de amostras de solo coletado no Campus para caracterização de antibióticos, tendo se destacado os gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* e *Fusarium* (JANSEN et al., 1996). Silva et al. (1996) isolaram fungos endofíticos de *Piper marginatum* Jacq., encontrando *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Paecilomyces*, tendo sido selecionadas colônias para caracterização enzimática. A detecção de enzimas para aplicação industrial foi feita a partir de fungos isolados e identificados tanto em solo quanto no ar do Campus (PICANÇO et al., 1996).

A micobiota tanto da água quanto do solo das margens de igarapés no Campus foi isolada e identificada (SILVA, 2002), em um total de 187 entidades taxonômicas distribuídas em 73 gêneros. O filo Deuteromycota foi predominante apresentando 128 táxons (69%), distribuídos em 40 gêneros, seguidos de Chytridiomycota com 24 táxons (13%) em 15 gêneros, Oomycota com 21 táxons (11%) dentro de oito gêneros, Ascomycota com nove táxons (4,8%) e seis gêneros e Zygomycota com cinco táxons (2,7%) e quatro gêneros. Já em coletas realizadas em lagos e áreas de represamentos nos igarapés (nove áreas ao todo) foram isolados e identificados 28 entidades

taxonômicas (SILVA et al., 2005), distribuídas em 19 gêneros. *Chytriumyces*, *Karlingea* e *Rhizophidium* foram representados por três espécies cada, seguidos por *Achlya*, *Cladochytrium* e *Diplophyctis* com três espécies cada. Os demais 13 gêneros apresentaram apenas uma espécie.

Cunha e Silva (2007, 2008) realizaram coletas de solo para identificação de Zygomycetes do solo de pontos de amostragem no Setor Sul e Norte do Campus, tendo sido isolados sete representantes distribuídos nos gêneros *Mucor* (três espécies, família Mucoraceae), *Rhizopus* (duas espécies, família Mucoraceae), *Cunninghamella* (uma espécie, família Cunninghamellaceae), *Syncephalastrum* (uma espécie, família Syncephalastraceae). A espécie *Mucor hiemalis* foi a mais frequente.

Fungos filamentosos amazônicos foram isolados do solo no Campus da UFAM para avaliação da produção de enzimas hidrolíticas através de testes qualitativos e quantitativos (PAIVA e SILVA, 2009) e bactérias produtoras de celulase foram isoladas de solo rizosférico do Mini Campus (Setor Sul) (VALENTE e FILHO, 2010).

4. POLÍTICAS, AÇÕES INSTITUCIONAIS E DESAFIOS PARA A CONSERVAÇÃO DO FRAGMENTO

A primeira iniciativa institucional voltada ao uso e conservação da área do Campus se deu por meio da criação do Grupo de Trabalho Biota (GT-Biota, Port. GR 886/77) em 22 de setembro de 1977, que tinha a designação de criar um plano preliminar de manejo da área da floresta do Campus. O GT-Biota foi efetivo em avaliar e monitorar as atividades e espaços físicos a serem implantados na área, no entanto não tiveram muito controle sobre os limites e as comunidades do entorno do Campus. Vale ressaltar que as ações do GT-Biota também tiveram impacto positivo sobre decisões relacionadas à questão ambiental da cidade de Manaus, influenciando a opinião pública e também a própria administração Municipal, por meio de manifestos e de diversas matérias publicadas na mídia local.

Em 1985 o GT-Biota foi substituído pela Comissão de Zoneamento (Port. GR 812/85), que produziu o primeiro mapa do Campus indicando oito zonas com diferentes propostas de manejo e encerrou suas atividades em 1992. Para uma visão mais detalhada sobre os papéis destas duas Comissões ver Silva-Forsberg (1999).

Um avanço significativo na amplitude da discussão sobre o destino e conservação do Campus ocorreu a partir do evento denominado “Workshop sobre a Área do Campus Universitário” realizado em 1994, que contou

com a presença de professores de diversas áreas do conhecimento, além de representantes de algumas comunidades do entorno. A geração de subsídios para a elaboração de um Plano de Ação emergencial para a conservação da área e a definição do tipo de unidade de conservação mais viável para as condições e os diversos propósitos do Campus Universitário para uma possível inserção da área na rede de unidades de conservação do Ministério do Meio Ambiente estiveram entre os objetivos principais do Workshop. Na ocasião, se avaliou a possibilidade de implementação de uma área de “Refúgio da Vida Silvestre”, como tentativa de preservação da floresta e da criação de um Museu Verde, como havia sido planejado ainda no período de estabelecimento da nova área institucional no início da década de 1970 (UFAM-PDI, 1977). É importante lembrar que naquela época ainda não havia sido criado o Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC), havendo ainda muita controvérsia nas discussões em nível nacional, o que refletia na própria escolha de qual seria a melhor categoria de unidade de conservação para encaixar a área do Campus. Contudo, a principal contribuição deste evento foi evidenciar as problemáticas para a conservação e as “maravilhas” do Campus, demonstrando todo o seu potencial para a pesquisa, ensino, visitação e qualidade de vida. A partir deste evento surgiram muitas das iniciativas de execução de projetos dentro do Campus.

Em 1995, por meio de uma lei municipal (Lei 321 de 20 de dezembro de 1995, publicada no DOU Nº 28369 ano CII, de 31/01/1996), a Prefeitura da cidade de Manaus criou a Unidade Ambiental (UNA) do Campus da UFAM sem consulta prévia à administração ou quadro técnico da Universidade. Essa criação, no entanto, trouxe um ponto positivo bastante significativo. Ao ser uma unidade de conservação, a Resolução nº 13/1990 do CONAMA obriga que empreendimentos no entorno de qualquer unidade de conservação tenham o consentimento dos administradores da mesma. Com base nessa resolução, a Administração da Universidade teve argumentos para que alguns empreendimentos de grande impacto ambiental não fossem autorizados pela Prefeitura Municipal ou mesmo pelo Estado. Alguns empreendimentos via SUFRAMA, que não foram autorizados e o próprio Projeto Inicial do Condomínio Elisa Miranda teve autorização negada em 2000. Com a elaboração do Plano Diretor de Manaus em 2002 (Lei Municipal 671, de 04 de novembro de 2002) ficou a proposta de um redirecionamento da área do Campus para uma nova categoria, tendo em vista que esta categoria UNA não se encaixava dentro daquelas propostas pelo SNUC, o que criava uma fragilidade na regulamentação e implementação das categorias Municipais, até que se criasse um sistema municipal de unidades de conservação. A criação do Sistema Municipal de Unidades de Conservação de Manaus foi proposta e

debatida junto à comunidade e pesquisadores em anos posteriores, mas até o momento não foi oficializada.

Em 1999, por iniciativa própria, a Fundação Vitória Amazônica (FVA), procurou a UFAM (Reitoria, Centro de Ciências do Ambiente e o Professor Marcelo Gordo) para criar uma campanha de preservação do primata sauim-de-coleira, de duração pouco superior a um mês, com envolvimento da imprensa, instalação de *outdoors*, distribuição de material de divulgação (cartazes, folderes, cartilhas), a custo zero para a UFAM. Concomitantemente, neste mesmo período, houve dois episódios marcantes dentro da UFAM: i) Protesto de discentes pelo corte de uma mangueira na praça ao lado do Anfiteatro no ICHL, e ii) a morte de dois sauins-de-coleira com tiro de espingarda por um morador do Conjunto Ouro Verde, que usou os animais para praticar tiro ao alvo, fato presenciado por um servidor da UFAM, que fez a denúncia tanto para a Reitoria, quanto para a imprensa local. Como na ocasião iria ser iniciada a Campanha do sauim-de-coleira encampada pela FVA, o então Reitor Walmir Albuquerque, como forma de resposta aos episódios e aproveitando o lançamento da campanha, decidiu criar o NUCAM (Núcleo para a Conservação Ambiental do Campus; Portaria GR 1769/99) vinculado ao CCA, com a função de orientar as Unidades Administrativas e Acadêmicas da UFAM nas questões ambientais em geral, visando evitar ou mitigar os impactos gerados na área do Campus. Sendo, portanto, um órgão consultivo que sugere procedimentos a serem seguidos pelos gestores, o NUCAM funciona com uma coordenação (coordenador, Prof. Marcelo Gordo) que convoca consultores conforme a necessidade técnica.

A partir de 2001, como parte da iniciativa da Divisão de Projetos da Prefeitura da UFAM, do NUCAM e com a colaboração do Projeto Sauim-de-Coleira, houve a indicação de diversas práticas a serem seguidas pelas empresas de construção contratadas pela UFAM para diminuir impactos ambientais provocados pelas obras, destacando-se as seguintes ações:

a) Prática de realocação de material vegetal/orgânico e a primeira camada do solo removida contendo raízes e principalmente o banco de sementes, que são “raspados” dos locais da obra, para áreas degradadas dentro do próprio Campus e indicadas previamente pelo NUCAM. Com esta iniciativa, diversas clareiras e/ou campos de futebol clandestinos que se encontravam em uso na área do Campus foram desativados e rapidamente transformados em capoeiras que vem sendo enriquecidas com mudas de árvores nativas produzidas pelo viveiro do Projeto Sauim-de-Coleira.

b) Vinculação do tamanho da área construída ao plantio de um determinado número de mudas com o preparo adequado das covas e com os custos da mão-de-obra e terra preta já inseridos no custo da obra. Estas mudas de espécies nativas são também produzidas pelo viveiro do Projeto

Sauim-de-Coleira e é uma medida compensatória exigida inclusive para as licenças de desmate, emitidas pela SEMMAS ou IPAAM.

c) Demolição e uso de áreas já construídas para novos prédios, vinculada ao processo de verticalização destes prédios no Campus. Este aspecto contou com o apoio da comunidade universitária em geral, por meio de uma mudança da consciência ambiental que influenciou diretamente as decisões a serem tomadas pela administração superior da Instituição.

Ainda em 2001, a Reitoria permitiu que o NUCAM fizesse parcerias com diversos órgãos como a Polícia Federal, IBAMA, SEDEMA (atual SEMMAS) para a vigilância e proteção da área verde do Campus. A partir destas visitas foram relatadas situações de risco de novas invasões e mau uso da área do Campus pela comunidade do entorno, bem como da própria comunidade universitária. Diante destes fatos, a Reitoria da época foi conduzida aos locais pelo coordenador do NUCAM para reconhecimento da situação, resultando numa reação imediata do Reitor Hidemberg O. da Frota em criar uma política em suas duas gestões de promover a proteção da área do Campus tendo como uma das estratégias a construção de muros e cercas em diferentes locais dos limites do terreno. Entretanto, na gestão atual, tal estratégia vem recebendo menos atenção e investimento, visto que muitos desses trechos de muro foram derrubados e furados e cercas foram danificadas sem a devida reconstrução por parte da Prefeitura do Campus ou empresas contratadas.

Já o Serviço de Segurança da UFAM, apesar de ter oscilado ao longo do tempo quanto à sua efetividade na proteção ambiental, com épocas de rondas mais efetivas (após a invasão), intercalada por épocas de total abandono da área verde, atualmente possui uma equipe destinada especialmente à área ambiental, ainda que com efetivo insuficiente.

O NUCAM tem instigado discussões sobre a necessidade de uma política e gestão moderna sobre gestão de resíduos e efluentes dentro do Campus e de manejo da vegetação circundante às construções. Esse Núcleo vem atuando na revisão de muitos contratos com as prestadoras de serviços em questões referentes ao meio ambiente do Campus e chamando a atenção para diversas atividades e atitudes da própria comunidade e da administração universitária. Como exemplos destacam-se o acompanhamento das atividades da Conservadora quanto ao descarte de resíduos, as formas de poda e supressão de vegetação e varredura de folhas; as ações junto à contratada para administrar o Restaurante Universitário envolvendo modificações relativas ao descarte de alimentos e matéria orgânica; sugestões à administração da Prefeitura do Campus quanto a um melhor descarte e controle relativos aos dejetos gerados pela troca de óleo e lavagem de veículos da UFAM, que são lançados de forma inadequada para um dos igarapés do

Campus, comprometendo a qualidade ambiental. Entretanto, as questões mencionadas acima ainda não foram solucionadas de forma satisfatória.

Entre 2006 e 2007, após três tentativas, os contrutores do novo projeto residencial Eliza Miranda aceitaram e incorporaram as restrições impostas pela Universidade, i.e., i) recuo entre 300 e 400 metros do empreendimento até a cerca da área do Campus, com o repasse de área restante à Universidade como área de preservação permanente (43,65 ha), ii) o loteamento deveria ser murado em todo o perímetro com pelo menos 2 m de altura e iii) o desmatamento deveria ser conduzido sob orientação da UFAM com o deslocamento da fauna de fora para dentro da área do Campus. Além da área solicitada, os empreendedores e a SUFRAMA concederam todas as Áreas de Proteção Ambiental que acompanham os dois afluentes do Igarapé do Quarenta, entre os quais o condomínio se encontra, e a Área de Preservação Permanente do Igarapé do Quarenta no trecho entre os dois afluentes citados (Figura 5), que fica entre o condomínio e a Avenida Buriti, no Distrito Industrial.

Após cerca de dois anos, a SUFRAMA novamente, e de forma arbitrária, embargou a cessão de uso deste terreno. No início de 2012, após uma ação da Universidade junto ao Ministério Público Federal, a UFAM recebeu novamente a cessão de uso do terreno. Em função da forma de cessão, a UFAM deverá “ocupar” o terreno de maneira efetiva o quanto antes (cercar, colocar placas de identificação, vigilância).

Em 2012, a Prefeitura Municipal de Manaus, mais uma vez sem consulta prévia à UFAM, criou a Área de Proteção Ambiental UFAM, INPA, ULBRA, ELISA MIRANDA, LAGOA DO JAPIIM e ACARIQUARA (APA - Decreto Municipal n.º 1.503, de 27 de março de 2012), na qual está inserida toda a área do Campus. A UFAM tem representantes no Conselho desta APA, que está sendo formado, mas mesmo assim há controvérsias dentro da comunidade universitária e administrativa sobre as vantagens e desvantagens da criação desta UC, principalmente no que se refere a possíveis ingerências dos gestores da APA na forma de uso do Campus pela Universidade.

Ainda na segunda gestão do Reitor Hidembrgue O. da Frota, foi criado o Comitê Gestor Ambiental, com caráter acessor da Reitoria (não deliberativo), composto por representantes de diferentes Unidades da UFAM, com a finalidade de elaborar um Regimento Ambiental para a Universidade. Entretanto, o Comitê acabou desviado de sua atribuição inicial e “patinando” em amplas discussões e propostas. Até que, na atual gestão administrativa, seus objetivos foram reformulados, sua composição de integrantes foi modificada e foi elaborada a Política Ambiental da UFAM (Resolução CONSUNI 002/2012). Atualmente, está sendo discutido um sistema integrado de gestão ambiental, além de ainda haver a proposta de

elaboração de um regimento ambiental e de criação de Parque (e respectivo Zoneamento Ecológico) com administração interna da UFAM, que seria um Órgão Suplementar ligado à Reitoria para executar diversas atividades voltadas para a gestão e conservação ambiental do Campus, em parceria com diversos setores, como a prefeitura do Campus, serviço de segurança, CCA, unidades acadêmicas, entre outros.

Apesar de inúmeros projetos de pesquisa e de extensão envolvendo as comunidades do entorno que usufruem ou interagem com a mata do Campus em algum grau, a relação em geral não é positiva e o Campus não recebe a devida proteção e valorização pela maior parte da comunidade. A criação de um Parque com programas que apoiassem visitas, educação ambiental e pesquisas, certamente modificaria o status atual de conservação e valorização da área verde do Campus.

O fragmento florestal onde está inserido o Campus da UFAM tem fundamental e crescente importância para Manaus, seja por questões microclimáticas, por ser um local estratégico para o ensino, pesquisa e extensão, ou mesmo para a conservação da biodiversidade num contexto urbanizado. Entretanto, fica evidente que ainda há inúmeras lacunas no conhecimento sobre vários aspectos, principalmente acerca da biodiversidade.

Também podemos visualizar um avanço na quantidade e qualidade do conhecimento gerado ao longo do tempo, assim como são visíveis as mudanças nas ações, valorização e sensibilização das questões ambientais dentro do Campus. Mas ainda há um longo caminho a ser trilhado para assegurarmos a conservação, o conhecimento e uma boa relação com o patrimônio ambiental do Campus, privilégio sem igual em qualquer grande cidade do planeta.

5. NECESSIDADES E RECOMENDAÇÕES

- construção e implementação de um regimento ambiental interno para definir procedimentos frente às ações que possam acarretar danos ambientais, dando respaldo legal para os agentes executores, inclusive a aplicação de punições;

- criação de um órgão suplementar para gerenciar as questões ambientais do Campus, tratando a área como um grande parque;

- realização de um diagnóstico ambiental e do zoneamento ecológico do Campus;

- criação de uma memória sobre o fragmento do Campus, não apenas em suas dimensões biológicas e físicas, mas também das interrelações com a comunidade de entorno e comunidade interna;

- incorporação de programas de ação conservacionista pela Universidade e com execução do órgão suplementar, tais como: mitigação dos atropelamentos de animais na estrada do Campus, recuperação de áreas degradadas, arborização e paisagismo, vigilância, Educação Ambiental interna e com a população do entorno, acervo do conhecimento sobre o Campus (passado, presente e futuro) com estímulo a publicações, conservação dos limites físicos do Campus (muros e cercas), monitoramento e manejo voltados para a conservação da fauna e da flora e erradicação de espécies exóticas (principalmente cães e gatos);

- política de estímulo à pesquisa e extensão na área do Campus e no entorno, com cotas de bolsas e apoio financeiro específicos, tanto no nível de graduação quanto de pós-graduação;

- elaboração de um grande projeto institucional (pesquisa e extensão) em acordo com o Comitê Gestor do Campus, que direcione e indique os rumos e as prioridades para o Campus incluindo, quando for o caso, a efetivação de programas, estimulando desta forma a presença de estudantes e pesquisadores na área do Campus, inibindo a ação de degradadores, bem como estimulando a interação entre pesquisadores, coordenadores de projetos, administradores, estudantes e comunidade em geral, provocando um sinergismo inédito na geração de conhecimento sobre aspectos ambientais e na divulgação destes para diferentes setores da população.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos pesquisadores Nair Otaviano Aguiar, Thierry R. J. Gasnier, Laerzio Chiesorin Neto do Centro de Triagem de Animais Silvestres da Secretaria Municipal de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável (CETAS-SEMMAS), Natália Penhalosa Duarte (*in memoriam*), Michel Catarino, Jansen A. Zuanon, Ronis Da Silveira, Antonio Carlos Webber e Maria Gracimar Pacheco de Araújo, pelo fornecimento de bibliografia e listas de espécies ocorrentes no fragmento. Jaydione L. Marcon e Marcelo Menin são bolsistas de Produtividade em Pesquisa do CNPq.

REFERÊNCIAS

- ADLER, G. H. Tropical forest fragmentation and isolation promote asynchrony among populations of a frugivorous rodent. *Journal of Animal Ecology*, v.63, n.4, p.903-911. 1994.
- AGUIAR, E. A. L. S. P. *Desenvolvimento de um Projeto de Sistema de Informações Geográficas (SIG) para a Floresta Urbana da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Manaus, AM*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2011. 53p. (Monografia).
- AGUIAR, N. O.; BÜHRNHEIM, P. F. Pseudoscorpions foréticos de Cerambycidae (Coleoptera) e ocorrência de *Parachelifer lativittatus* Chamberlim, 1932 (Pseudoscorpiones, Cheliferidae) na Amazônia. *Boletim do Museu Emílio Goeldi, série Zoologia*, v.8, n.2, p.343-348.1992.
- AGUIAR, N. O.; VICENTE-DA-SILVA, J.; BÜHRNHEIM, P. F. *Dolichowithius mediofasciatus* Mahnert, 1979 (Arachnida, Pseudoscorpiones, Withiidae) em forésia com Platipodidae (Insecta, Coleoptera), no Amazonas, Brasil. *Amazoniana*, v.12, n.2, p.181-185. 1992.
- ALBANO, A. R.; GORDO, M. *Corredores naturais e o efeito da estrada no campus da Universidade do Amazonas sobre a mortalidade de vertebrados*. Manaus: Anais do XI Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, 2002.
- ALBANO, A. R.; GORDO, M. *Corredores naturais e o efeito da estrada no campus da Universidade do Amazonas sobre a mortalidade de vertebrados*. Manaus: Anais do XII Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, 2003.
- ALENCAR, L. M. D.; RÊGO, J. F. *Levantamento das populações da Avi-fauna do Campus Univeristário/UA*. Manaus: Anais da V Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1996.
- ALMEIDA, A. P. *Biologia reprodutiva de duas espécies de Leptodactylus (Anura, Leptodactylidae) na Amazônia Central: implicações taxonômicas*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2009. 27p. (Monografia).
- ALMEIDA, A. P.; MENIN, M. *Biologia reprodutiva de duas espécies de Leptodactylus (Anura, Leptodactylidae) na Amazônia Central: implicações taxonômicas*. Manaus: Anais do XVI Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2007.
- ALMEIDA, A. P.; MENIN, M. *Biologia reprodutiva de Leptodactylus cf. hylaedactylus (Anura, Leptodactylidae) na Amazônia Central*. Curitiba: Anais do XXVII Congresso Brasileiro de Zoologia, 2008.
- ALMEIDA, L. O.; GIANIZELLA, S. L. *Levantamento sazonal de anofelinos (Dípteros, Culicidae, Anophelinae) no Campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brasil*. Manaus: Anais do XVII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2008.
- ALMEIDA, L. O.; MENIN, M. *Distribuição espacial da fauna de camarões nos igarapés do Campus da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas*. Manaus: Anais do XVIII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2009.

ALMEIDA, L. O.; MENIN, M. *Estrutura populacional das espécies de camarões (Crustacea: Decapoda) dos igarapés do Campus da Universidade Federal do Amazonas, Manaus*. Manaus: Anais do XIX Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2010.

ALMEIDA, M. O. P.; COSTA, H. P.; SILVA, S. M.; AGUIAR, N. O. *Abundância relativa e composição da fauna dos micro-artrópodos de solo em uma área de platô e outra de baixio da mata do Campus da Fundação Universidade do Amazonas em Manaus-AM*. Manaus: Anais da IV AMAPET, Universidade do Amazonas, 1996.

ALVAREZ, J. G.; FONSECA, C. R. V.; RATCLIFFE, B. C. Synopsis of the Oryctini (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae) from the Brazilian Amazon. *Insecta Mundi, A Journal of World Insect Systematics*, v.61, p.1-62. 2008.

ALVES, J. L.; COSTA, L. A. *Estudo qualitativo e quantitativo dos fragmentos florestais urbanos da cidade de Manaus, por meio de técnicas de geoprocessamento*. Manaus: Anais do XV Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2006.

AMANCIO, A. B.; TELLO, J. C. R. *Composição florística e estrutura da floresta densa aluvial (baixio) da área verde do Campus da Universidade do Amazonas*. Manaus: Anais da VIII Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1999.

AMANCIO, A. B., TELLO, J. C. R. *Composição florística e estrutura da floresta densa aluvial (baixio) da área verde do Campus da Universidade do Amazonas*. Manaus: Anais da IX Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 2000.

ANDRADE, E. S.; GORDO, M. *Uso de recursos, área de vida e comportamento do macaco Saguinus bicolor em pequenos fragmentos florestais urbanos*. Manaus: Anais do XI Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2002.

ANDRADE, E. S.; GORDO, M. *Uso de recursos, área de vida e comportamento do macaco Saguinus bicolor em pequenos fragmentos florestais urbanos*. Manaus: Anais do XII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2003.

ARAÚJO, M. G. P. *Morfoanatomia de desenvolvimento dos frutos e sementes de três espécies da subfamília Arecoideae (Arecaceae)*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia / Universidade Federal do Amazonas, 2005. 189p. (Tese de Doutorado).

ARAÚJO, M. G. P.; LEITÃO, A. M.; MENDONÇA, M. S. Q. *Morfologia do fruto e semente de inajá (Attalea maripa (Aubl.) Mart. – Palmae)*. Manaus: Anais da II Mostra Técnico-Científica da Universidade do Amazonas, 2000.

ARAÚJO, S. B. *Perfil hematológico e bioquímica do plasma do Sauim-de-coleira, Saguinus bicolor (Callitrichinae; Primata) em diferentes fragmentos florestais*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2008. 56p. (Dissertação de Mestrado).

ARÉVALO, M. F. *Caracterização florística e estrutural das pteridófitas em uma área de floresta do Campus da Universidade do Amazonas*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia / Universidade Federal do Amazonas, 1997. 114p. (Dissertação de Mestrado).

AZEVEDO, S. S.; GODOI, F. S. P. *Estudo dos Stratiomyidae (Insecta: Diptera) do campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Amazonas, Brasil*. Manaus, Universidade Federal do Amazonas, 2012. (Relatório de Iniciação Científica).

- BARBOSA, W. S.; GIANIZELLA, S. L. *Levantamento temporal de dípteros flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) no Campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brasil*. Manaus: Anais do XVIII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2009.
- BARREIRA, G. R. B.; CAVICCHIOLLI, M. A. B. *A importância da representação cartográfica no estudo do espaço geográfico: o mapeamento do Campus Universitário*. Manaus: Anais da VI Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1997.
- BARREIRA, G. R. B.; CAVICCHIOLI, M. A. B. *Campus Universitário: tratamento digital das informações*. Geoprocessamento. Manaus: Anais da VIII Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1999a.
- BARREIRA, G. R. B.; CAVICCHIOLI, M. A. B. *O Campus Universitário da Universidade do Amazonas na ótica da Cartografia Digital - Manaus/AM*. Manaus: Anais da IX Semana de Geografia do Amazonas, Universidade do Amazonas, 1999b.
- BARREIRA, G. R. B.; TOLEDANO, L. S. O. R.; CAVICCHIOLI, M. A. B. *Campus Universitário: tratamento digital das informações (Geoprocessamento)*. Manaus: Anais da VII Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1998.
- BARROS, A. R. *Levantamento detalhado dos solos do Campus da Universidade do Amazonas como subsídios na implantação de Sistemas Agroflorestais – SAF's*. Manaus: Universidade do Amazonas, 1998. 79p. (Dissertação de Mestrado).
- BARROS, T. P.; ARAÚJO, M. G. P. *Caracterização anatômica e histoquímica de espécies do Gênero Mabea (Euphorbiaceae)*. Manaus: Anais do XX Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2011.
- BASTOS, A. B. *Análise da expansão urbana no entorno do Campus Universitário com apoio do Sensoriamento Remoto*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2008. (Monografia, Aperfeiçoamento/Especialização em Geografia da Amazônia Brasileira).
- BORGES, L. P. 2011. *O uso de pseudo-réplica altera a composição de califorídeos em um estudo de entomologia forense?* Manaus: Universidade Federal do Amazonas. 34p. (Monografia).
- BORGES, S. H.; GUILHERME, E. Comunidade de aves em um fragmento florestal urbano em Manaus, Amazonas, Brasil. *Ararajuba*, v.8, n.1, p.17-23. 2000.
- BROWN, K. S.; FREITAS, A. V. L. Butterfly communities of urban forest fragments in Campinas, São Paulo, Brazil: structure, instability, environmental correlates, and conservation. *Journal of Insect Conservation*, v.6, p.217–231. 2002.
- BROWN, K. S.; HUTCHINGS, R. W. Disturbance, fragmentation and the dynamics of diversity in Amazonian forest butterflies, p.91-110. In: LAURANCE, W. F.; BIERREGAARD JR., R. O. (Eds). *Tropical forest remnants: ecology, management, and conservation of fragmented communities*. Chicago: University of Chicago Press, 1997.
- BRUNA, E. M. Seed germination in rainforest fragments. *Nature*, v.402, p.139. 1999.
- BRUNA, E. M. Biological impacts of deforestation and fragmentation, p.85-90. In: BURLEY, J.; EVANS, J.; YOUNGQUIST, J. (Eds). *The Encyclopaedia of Forest Sciences*. London: Elsevier Press, 2004.

BUHRING, R.; COSTA, L. A. *Estruturação de um Atlas Biofísico para a área verde do Campus da Universidade Federal do Amazonas*. Manaus: Anais do XV Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2006.

BÜHRNHEIM, C. M.; OLIVEIRA, E. C.; GUALBERTO, T. L. *Ictiofauna de igarapés do campus da Universidade do Amazonas, Manaus*. Manaus: Anais da I Mostra da Produção Técnico-Científica da Universidade do Amazonas, 1999.

CANCELLI, J. *Uso e características dos fragmentos florestais urbanos da cidade de Manaus/AM*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2008. 99p. (Dissertação de Mestrado).

CARDOSO, G. L. *Composição florística e fenologia de quatro áreas de floresta de terra firme com diferentes históricos de alteração antrópica no Município de Manaus*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2011. 154 p. (Tese de Doutorado).

CARMO, N. A. S. *Distribuição, densidade e padrão de atividades de Bradypus tridactylus (Mammalia, Xenarthra) em fragmento florestal na Amazônia Central*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia / Universidade Federal do Amazonas, 2002. 59p. (Dissertação de Mestrado).

CARMO, N. A. S.; WEBBER, A. C. *Fenologia e sistema reprodutivo de cinco espécies da família Annonaceae*. Manaus: Anais da VI Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1997.

CARMO, N. A. S.; WEBBER, A. C. *Fenologia e sistema reprodutivo de cinco espécies da família Annonaceae*. Manaus: Anais da VII Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1998.

CARVALHO, T. G.; GASNIER, T. R. J. *Variação temporal na comunidade de aranhas de sub-bosque em uma floresta primária e uma secundária no campus da UFAM, Manaus, Brasil*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2012. 27p. (Relatório Final de Iniciação Científica).

CAVALCANTE, D. F.; PINHEIRO, M. L. B. *Avaliação química e biológica de Annona amazonica (Annonaceae) contra leishmaniose*. Manaus: Anais do XV Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2006.

CAVERO, B. A.; NASCIMENTO, M. S.; PARALUPPI, N. D. *Comparação da diversidade de artrópodes de solo em duas áreas distintas, utilizando-se armadilhas do tipo Pitfall*. Manaus: Anais da V Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1996.

CHAGAS, A. C.; GODOI, F. S. P. *Levantamento da fauna de Diptera (Insecta) da área florestada do campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Amazonas, Brasil*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2012. 21p. (Relatório Final de Iniciação Científica).

CHIARELLO, A. G. Effects of fragmentation of the Atlantic forest on mammal communities in south-eastern Brazil. *Biological Conservation*, v.89, p.71-82. 1999.

CORDEIRO, A. C.; SANAIOTTI, T. M. *Conhecendo os anfíbios de fragmentos florestais em Manaus: um roteiro prático*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2003. 15p.

- CORRÊA, B. S.; LOUZADA, J. N. C. Bioma cerrado, fragmentação florestal e relações ecológicas com a avifauna. *Revista Agrogeoambiental*, v.2, n.3, p.57-72. 2010.
- COSTA, C. S. *Biologia floral, polinização e fenologia de Palicourea nitidella (Müll. Arg.) Standl. (Rubiaceae)*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2011. 39p. (Monografia).
- COUTINHO, E. *Carta da vegetação da área do Campus Universitário*. Folha 2. Manaus: Universidade do Amazonas, 1994.
- CROOKS, K. R. Relative sensitivities of mammalian carnivores to habitat fragmentation. *Conservation Biology*, v.16, n.2, p.488-502. 2002.
- CUNHA, E. F.; COSTA, L. A. *Estudo temporal e simulação futura das alterações do uso do solo na cidade de Manaus durante o período de 1992 a 2016*. Manaus: Anais do XV Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2006.
- CUNHA, R. G.; SILVA, M. I. L. *Isolamento e identificação de Zygomycetes de solo do Campus da UFAM*. Manaus: Anais do XVI Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2007.
- CUNHA, R. G.; SILVA, M. I. L. *Isolamento e identificação de Zygomycetes de solo do Campus da UFAM*. Manaus: Anais do XVII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2008.
- CUSHMAN, S. A. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biological Conservation*, v.128, n.2, p.231-240. 2006.
- MARCON, J. L., DIAS-PACHECO, L. Estimativas de densidade, biomassa e razão sexual para o quatipuru, *Guerlinguetus aestuans* Linnaeus, 1766 (Mammalia, Rodentia) em um fragmento urbano de floresta tropical. (este volume), 2012.
- DUARTE, N. P.; DA SILVEIRA, R. *Ictiofauna no Maior Fragmento Florestal Urbano da Amazônia Central*. Manaus:, Anais do XX Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2011.
- FABIANO, M. P. *Estrutura populacional de Mauritia flexuosa L. f. em duas populações do Campus da Universidade Federal do Amazonas – UFAM*. Manaus: Centro Universitário do Norte, Manaus. 2008. 18p. (Monografia).
- FARIA-DA-COSTA, N. M. *Aspectos morfológicos e reprodutivos de Leptodactylus pentadactylus (Anura: Leptodactylidae) em duas áreas na Amazônia Central*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2011. 21p. (Monografia).
- FERREIRA, J. R. F.; SILVA, K. E. Caracterização de áreas degradadas do Campus Universitário / UA para fins de recuperação. Manaus, V Jornada de Iniciação Científica do Amazonas, 1996.
- FIGUEIRÓ, A. S.; COELHO NETO, A. L. Análise da variabilidade térmica em zonas de bordas florestais com interface urbana no maciço da Tijuca Rio de Janeiro-RJ. *Ciência e Natura*, v.29, n.2, p.173-186. 2007.
- FRANKEN, E. P.; SILVA, A. C. K.; PARALUPPI, N. D. *Abundância de artrópodes de solo em área de mata no Campus Universitário da Universidade do Amazonas*. Manaus: Anais do XI Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2002.

FRANKEN, E. P.; PARALUPPI, N. D. *Influência da pluviosidade sobre a atividade dos formicídeos (Hymenoptera: Formicidae) da mata do Campus Universitário*. Manaus: Anais do XII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2003.

FREITAS, S. M.; GIANIZELLA, S. L. *Levantamento temporal de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) em Astrocaryum aculeatum e Bactris gasipaes (Arecales: Arecaceae) na Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil*. Manaus: Anais do XVIII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2009.

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DO AMAZONAS. 1977. *I Plano Diretor da Universidade do Amazonas, 1978 – 1982*. Manaus, 1977. 125p.

GALVÃO-NETO, A.; RABELLO-NETO, J. G.; FREITAS, C. E. C. *Levantamento e ecologia da ictiofauna dos igarapés da reserva florestal do Campus da Universidade do Amazonas / UA*. Manaus: Anais da V Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1996.

GASCON, C.; LOVEJOY, T. E. Ecological impacts of forest fragmentation in central Amazonia. *Zoology, Analysis of Complex Systems*, v.101, p.273-280. 1998.

GEISSLER, R.M.O.; ALECRIM, J.D.; CRUZ, A.C.; FARACHE, S.B. *Caracterização pedogeológica no Campus Universitário da U.A*. Manaus: Anais do III Congresso de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1994.

GEISSLER, R. M. O.; CRUZ, A. C.; ALECRIM, J. D. *Resultados preliminares dos estudos sobre o enriquecimento de areia de um areial do Campus Universitário da U.A*. Manaus: Anais do II Congresso de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1993.

GODEFROID, S.; KOEDAM, N. Distribution pattern of the flora in a peri-urban forest: an effect of the city-forest ecotone. *Landscape and Urban Planning*, v.65, p.169-185. 2003.

GOMES, A. W. M.; AGUIAR, N. O. *Composição da fauna e história natural dos escorpiões (Scorpiones, Arachnida) do campus universitário da UFAM, em Manaus-Amazonas*. Manaus: Anais do XIII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2004.

GOMES, V.; RIBEIRO, R.; CARRETERO, M. A. Effects of urban habitat fragmentation on common small mammals: species versus communities. *Biodiversity and Conservation*, v.20, p.3577-3590. 2011.

GORDO, M. *Ecologia e conservação do sauíim-de-coleira, Saguinus bicolor (Primates; Callitrichidae)*. Belém: Universidade Federal do Pará / Museu Paraense Emílio Goeldi, 2012. 144p. (Tese de Doutorado).

GUALBERTO, T. L.; ALMEIDA, L. O.; MENIN, M. 2012. Population structure, fecundity and ecological aspects of freshwater shrimp species (Decapoda, Palaemonidae) of an urban forest fragment in Central Amazonia, Brazil. *Crustaceana*, v.85, n.10, p.1205-1219.

HAMER, A. J.; MCDONNELL, M. J. Amphibian ecology and conservation in the urbanising world: A review. *Biological Conservation*, v.141, p.2432-2449. 2008.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. *Fild guide to the palms of the Americas*. New Jersey: Princeton University Press, 1995. 420p.

HÖFER, H.; BRESOVIT, A. D.; GASNIER, T. The wandering spiders of the genus *Ctenus* (Ctenidae, Araneae) of Reserva Ducke, a rainforest reserve in central Amazonia. *Andrias*, v.13, p.81-100. 1994.

HUTCHINGS, R. *The dynamics of three communities of Papilionoidea (Lepidoptera: Insecta) in forest fragments in central Amazonia*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 1991. (Dissertação de Mestrado).

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. Censo Demográfico. Disponível em: <ftp://ftp.ibge.gov.br/Censos/Censo_Demografico_2010/Entorno_dos_Domicilios/entorno.pdf>. Acesso em: 29/08/2012.

IRMÃO, M. N.; TELLO, J. C. R. *Caracterização fisionômico – florística e pedológica das comunidades vegetais da área verde do Campus da U.A. AM – BR*. Manaus: Anais da V Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1996.

IZEL, A. I. B.; CUSTÓDIO, P. *Mapeamento da cobertura florestal da área do Campus através da utilização de fotografias aéreas*. Manaus: Anais da V Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1996.

JABS, J. *Blütenbiologische Untersuchungen im Unterwuchs eines terra-firme-Regenwaldes in Manaus (Zentralamazonien)*. München: Institut für Systematische Botanik. Ludwig-Maximilians-Universität München, 2001. 104p.

JANSEN, T. C.; FERNANDES, O. C. C.; SILVA, M. I. L.; GAMA, J. *Caracterização de antibióticos, a partir de fungos isolados do solo na área do projeto frutífera (Mini-Campus, U.A.)*. Manaus: Anais da IV AMAPET: encontro de grupos PET da Universidade do Amazonas, 1996.

JUREMA, M. L. S.; AGUIAR, N. O. *Artrópodes em fronde de palmeiras, de algumas espécies do gênero Bactris, do sub-bosque de floresta de terra firme, na Amazônia Central*. Manaus: Anais do XV Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2006.

JÜRENS, A.; WEBBER, A. C.; GOTTSBERGER, G. Floral scent compounds of Amazonian Annonaceae species pollinated by small beetles and thrips. *Phytochemistry*, v.55, p.551-558. 2000.

KÜCHMEISTER, H.; WEBBER, A.C.; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I.; GOTTSBERGER, G. A polinização e sua relação com a termogênese, em espécies de Arecaceae e Annonaceae da Amazônia Central. *Acta Amazonica*, v.28, n.3, p.217-245. 1998.

LAMEGO, A. P. S.; SILVA, M. L.; BARBOSA, W. B.; WEBBER, A. C. *Aspectos da biologia floral e fenologia de Byrsonima chrysophila H.B.K. ocorrentes no Campus Universitário/FUA*. Manaus: Anais da IV AMAPET: encontro de grupos PET da Universidade do Amazonas, 1996.

LAURANCE, W. F.; CAMARGO, J. L. C.; LUIZÃO, R. C. C.; LAURANCE, S. G.; PIMMD, S. L.; BRUNA, E. M.; STOUFFER, P. C.; WILLIAMSON, G. B.; BENÍTEZ-MALVIDO, J.;

VASCONCELOS, H. L.; VAN HOUTAN, K. S.; ZARTMAN, C. E.; BOYLE, S. A.; DIDHAM, R. K.; ANDRADE, A.; LOVEJOY, T. E. The fate of Amazonian forest fragments: A 32-year investigation. *Biological Conservation*, v.144, p.56-67. 2011.

LAURANCE, W. F.; LOVEJOY, T.; VASCONCELOS, H. L.; BRUNA, E. M.; DIDHAN, R. K.; STOUFFER, P. C.; GASCON, C.; BIERREGAARD, R. O.; LAURANCE, S. G.; SAMPAIO, E. Ecosystem decay of Amazonian forest fragments: a 22 year investigation. *Conservation Biology*, v.16, n.3, p.605-618. 2002.

LAY, C. Z. E.; MENDONÇA, M. S.; ARAÚJO, M. G. P. *Morfologia dos frutos e sementes de algumas palmeiras dos gêneros Bactris e Astrocaryum ocorrentes na área verde do Campus Universitário*. Manaus: Anais da IX Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 2000.

LAY, C. Z. E.; MENDONÇA, M. S.; ARAÚJO, M. G. P. *Morfologia da germinação e plântulas de palmeiras do Gênero Astrocaryum*. Manaus: Anais da X Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 2001.

LIMA, R. C.; CRUZ, J. *Levantamento das espécies epifíticas da família ORCHIDACEAE de ocorrência na Reserva Florestal do Campus da UA – AM*. Manaus: Anais da IV Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1995.

LIMA, R. C.; CRUZ, J. *Levantamento das espécies epifíticas da família ORCHIDACEAE de ocorrência na Reserva Florestal do Campus da UA, Manaus – AM*. Manaus: Anais da V Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1996.

LIMA, R. C.; CRUZ, J. *Fenologia de cinco espécies de Orchidaceae epifíticas de ocorrência na Reserva florestal do Campus da Universidade do Amazonas*. Manaus: Anais da VII Jornada de Iniciação Científica da Universidade do Amazonas, 1998.

LIMA FILHO, D. A.; MATOS, F. D. A.; AMARAL, I. L.; REVILLA, J.; COELHO, L. S.; RAMOS, J. F.; SANTOS, J. L. Inventário florístico de floresta ombrófila densa de terra firme, na região do Rio Urucu-Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, v.31, p.565-579. 2001.

LIMA JR., M. J. V.; PINTO, A. C. M.; FREITAS, J. V.; CUNHA, U. S.; ALMEIDA, N. O.; FERREIRA, M. J. *Inventário florestal para a coleta de sementes arbóreas tropicais, silvicultura e manejo florestal*. Manaus: Centro de Sementes Nativas da Amazônia – CSNAM, Departamento de Ciências Florestais – DCF, Faculdade de Ciências Agrárias – FCA, Universidade Federal do Amazonas – UFAM, 2012. 10p.

LIRA, M. P. S.; BONATES, L. C. M. *Estudo anátomo-físio-ecológico foliar de Orchidaceae epifitas ocorrentes no Campus da Universidade do Amazonas*. Manaus: Anais da V Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1996.

LUIZ, L. F. *Distribuição de lagartos e serpentes (Reptilia: Squamata) associados a ambientes aquáticos no campus da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas*. Manaus, Universidade Federal do Amazonas, 2009. 25p. (Monografia).

LUIZ, L. F.; MENIN, M.; OLIVEIRA, M. E. *Distribuição de lagartos e serpentes (Reptilia: Squamata) associados a ambientes aquáticos no campus da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas*. Pirenópolis: Anais do 4º Congresso Brasileiro de Herpetologia, 2009.

- MAGNUS, L. Z.; CÁCERES, N. C. Efeito do tamanho de área sobre a riqueza e composição de pequenos mamíferos da floresta Atlântica. *Mastozoología Neotropical*, 2012. (in press).
- MAGNUSSON, W. E.; LIMA, A. P.; LUIZÃO, R.; LUIZÃO, F.; COSTA, F. R. C.; CASTILHO, C. V.; KINUPP, V. F. RAPELD: a modification of the Gentry method for biodiversity surveys in long-term ecological research sites. *Biota Neotropica*, v.5, n.2, p.19-24. 2005.
- MAIA, M. T. O novo Campus na selva: mesmo se não mudar em julho, o ICHL merece um sonho como este. *A Crítica, caderno cidade*. Manaus, 27 de maio de 1984, p. 6.
- MALCOLM, J. R. *The small mammals of Amazonian Forest Fragments: Pattern and process*. Gainesville: University of Florida, 1991. (Tese de Doutorado).
- MALCOLM, J. R. Biomass and diversity of small mammals in amazonian forest fragments, p.207-223. In: LAURANCE, W. F.; BIERREGAARD, R. O. (Eds.). *Tropical Forest Remnants*. Chicago, The University of Chicago Press, 1997.
- MARICAUA, M. J. N.; SILVA, N. M. *Estudo de sucessão hospedeira e parasitismo de Anastrepha fraterculus (Diptera, Tephritidae) em Terminalia catappa no Amazonas*. Manaus: Anais da V Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1996.
- MARQUES, J. P. C.; PINHEIRO, E. S. *Análise da estrutura da paisagem do município de Manaus, AM*. Manaus: Anais do XX Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2011.
- MARTINIANO, T. M. *Biologia floral e diversidade de recursos de espécies de sub-bosque em um fragmento florestal urbano no Município de Manaus – AM*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia / Universidade Federal do Amazonas, 2004. 125p. (Dissertação de Mestrado).
- MARTINIANO, T. M.; WEBBER, A. C. *Fenologia de quatro espécies de Annonaceae*. Manaus: Anais da IX Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 2000.
- MARTINIANO, T. M.; WEBBER, A. C. *Fenologia de quatro espécies de Annonaceae*. Manaus: Anais da X Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 2001.
- MARTINS, J. F. L.; DA SILVEIRA, R. *Abundância, estrutura dos tamanhos, razão sexual e dieta de Caiman crocodilus e Paleosuchus trigonatus nos Igarapés urbanos de Manaus, Amazônia Central*. Manaus: Anais do XX Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2011.
- MCKINNEY, M. L. Urbanization as a major cause of biotic homogenization. *Biological Conservation*, v.127. p.247-260. 2006.
- MELLO, N. C. S.; WEBBER, A. C. *Biologia floral e polinização de duas espécies de Euphorbiaceae*. Manaus: Anais do XI Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2002.
- MELLO, N. C. S.; WEBBER, A. C. *Biologia floral e polinização de três espécies de Euphorbiaceae*. Manaus: Anais do XII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2003.

MELO, E. C. S.; TELLO, J. C. R. *Caracterização dendrológica do Gênero Eschweilera na área verde do Campus Universitário da U.A.* Manaus: Anais da VII Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1999.

MELO, E. C. S.; TELLO, J. C. R.; TEIXEIRA, M. F. S. *Caracterização dendrológica do gênero Eschweilera na área verde do Campus Universitário da U.A.* Manaus: Anais da IX Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 2000.

MELO, R. T. L. *Riqueza e atropelamento de vertebrados terrestres no segundo maior fragmento urbano na Amazônia Central.* Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2012. 72p. (Monografia).

MENDES, H. N.; MARCON, J. L. *Propriedades do sangue do jacaré-coroa, Paleosuchus trigonatus (Schneider) coletado em igarapés da floresta do Campus Universitário da UFAM, Manaus, Amazonas.* Manaus: Anais do XVI Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2007.

MENDONÇA, K. R. N.; SILVA, C. L.; ARAÚJO, R. L. C. *Determinação granulométrica, conteúdo de água e temperatura em solos arenosos.* Manaus: Anais do I Congresso de Iniciação Científica do Amazonas, 1992.

MENEZES, C. R.; MENDONÇA, M. S. Q. *Caracterização morfo-anatômica de embriões de Socratea exorrhiza (Mart.)H. wendl. – Arecaceae.* Manaus: Anais da II Mostra Técnico-Científica da Universidade do Amazonas, 2000.

MENIN, M.; ALMEIDA, A. P.; KOKUBUM. Reproductive aspects of *Leptodactylus hylaedactylus* (Anura: Leptodactylidae), a member of the *Leptodactylus marmoratus* species group, with a description of tadpoles and calls. *Journal of Natural History*, v.43, n.35-36, p.2257-2270. 2009.

MESQUITA, M. R. *Efeito da fragmentação florestal sobre as espécies de Rubiaceae da zona urbana de Manaus, Amazonas.* Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia / Universidade Federal do Amazonas, 2003. 85p. (Dissertação de Mestrado).

MIRANDA, A. S.; ARAÚJO, L. M.; GALOTTA, A. L. Q.; CORDEIROM, M. S. *Caracterização química e físico-química de palmito das espécies Bactris gasipaes HBK e Maximiliana maripa Aublet.* Manaus: Anais da X Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 2001.

MIRANDA, I. P. A.; RABELO, A. *Guia de identificação das palmeiras de um fragmento florestal urbano.* Manaus: EDUA/INPA, 2006. 228p.

MITTERMEIER, R. A.; BOUBLI, J.P.; SUBIRÁ, R.; RYLANDS, A. B. 2008. *Saguinus bicolor*. In: IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 22/01/2013.

MONTEIRO, S. T.; ALBUQUERQUE, A. R. C. *Inventário fitossociológico de um fragmento florestal urbano: reserva do Campus da Universidade do Amazonas (Manaus-AM).* Manaus: Anais da X Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 2001.

MONTEIRO NETO, B. D. *Estimativas populacionais de mamíferos diurnos não voadores em um fragmento urbano, Manaus, AM.* Manaus: UNINORTE, 2009. 15p. (Monografia).

MONTEIRO, J. O.; LEITE, J. A. Características de infiltração de um Podzólico Amarelo, sob floresta, cultivado e em capoeira no Campus Universitário, Manaus-AM. Manaus: VII Jornada de Iniciação Científica da Universidade do Amazonas, 1998.

MOTTA, C. S. *Uma revisão das espécies Amazônicas de Errinnyis Huebner, 1819 (Lepidoptera, Sphingidae)*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia / Universidade do Amazonas, 1989. 138p. (Dissertação de Mestrado).

MOURA, T. N.; WEBBER, A. C. *Padrões de frutificação em plantas do sub-bosque*. Manaus: Anais do XV Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2006.

MOURA, T. N.; WEBBER, A. C. Padrões de frutificação em plantas do sub-bosque na Amazônia Central: implicações ecológicas. *Revista Brasileira de Biociências*, v.5, p.306-308. 2007.

NARA, A. K.; CRUZ, J. *Levantamento das espécies epifíticas de Bromeliaceae de ocorrência na reserva florestal do Campus da UA, Manaus-AM*. Manaus: Anais da IV Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1995.

NARA, A. K.; CRUZ, J. *Levantamento das espécies epifíticas e terrestres de Bromeliaceae de ocorrência na área verde do Campus da UA, Manaus-AM*. Manaus: Anais da V Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1996.

NEMÉSIO, A.; SILVEIRA, F. A. Orchid bee fauna (Hymenoptera: Apidae: Euglossina) of Atlantic forest fragments inside an urban area in Southeastern Brazil. *Neotropical Entomology*, v.36, n.2, p.186-191. 2007.

NERY, L. C. R.; LOROSA, E. S.; FRANCO, A. M. R. Feeding preference of the sand flies *Lutzomia umbratilis* and *L. spathotrichia* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in an urban forest patch in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.99, n.6, p.571-574. 2004.

OLIVEIRA, A. B.; ARAÚJO, M. G. P. *Aspectos morfológicos da germinação e plântula de três palmeiras da Amazônia Central*. Manaus: Anais da X Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 2001.

OLIVEIRA, A. B.; ARAÚJO, M. G. P.; MENDONÇA, M. S. Q. *Morfologia e germinação morfológica das plântulas de Syagrus inajai (Palmae), ocorrentes na área verde do Campus da Universidade do Amazonas*. Manaus: Anais da IX Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 2000.

OLIVEIRA, M. I. B.; FALCÃO, J. N. *Caracterização cariotípica em algumas espécies de peixes dos igarapés do município de Manaus*. Manaus: Anais do I Congresso de Iniciação Científica do Amazonas, Universidade do Amazonas, 1992.

OLIVEIRA, M. S.; PINHEIRO, E. S.. *Geoprocessamento aplicado a identificação de corredores ecológicos em Manaus/AM*. Manaus: Anais do XVIII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2009

OLIVEIRA, R. A.; COSTA, L. A. *Mapeamento das áreas de preservação permanente do Campus da Universidade Federal do Amazonas-UFAM, Manaus, AM*. Manaus: Anais do XIII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2004.

OLIVEIRA, S. N.; GIANIZELLA, S. L. *A ocorrência de triatomíneos (Hemiptera, Triatomidae, Triatominae) em palmeiras no Campus da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brasil*. Manaus: Anais do XVII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2008.

Paiva, A. A.; Gianizella, S. L. *Levantamento de dípteros culicídeos (Diptera, Culicidae) no campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brasil*. Manaus: Anais do XVIII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2009.

PAIVA, F. C.; SILVA, L. A. O. *Seleção de fungos filamentosos isolados do solo do Campus da UFAM produtores de enzimas hidrolíticas*. Manaus: Anais do XVIII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2009.

PAUCHARD, A.; AGUAYO, M.; PEÑA, E.; URRUTIA, R. Multiple effects of urbanization on the biodiversity of developing countries: The case of a fast-growing metropolitan area (Concepción, Chile). *Biological Conservation*, v.127, n.3, p.272-281. 2006.

PENA, M. A. A.; LEITE, J. A. *Propriedades físicas e químicas de um podzólico amarelo do Campus Universitário*. Manaus: Anais da VI Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1997.

PENA, M. R.; SANTOS, A. G. *Levantamento da entomofauna (Hymenoptera: Apoidea) do Campus da Universidade do Amazonas*. Manaus: Anais do XI Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2002.

PEREIRA, J. L. S.; PINHEIRO, M. L. B. *Avaliação do potencial citotóxico e leishmanicida e estudo do perfil alcaloídico de espécies do gênero Annona (Annonaceae) no Campus da Universidade Federal do Amazonas*. Manaus: Anais do XVIII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2009.

PEREIRA, L. C.; MENDONÇA, M. S. Q. *Morfologia das sementes de palmeiras do Campus da Universidade do Amazonas*. Manaus: Anais da VII Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1998.

PICANÇO, D. B.; SOUZA, L. P.; SILVA, M. L.; BARROS, O. G.; MORAES, R. P. G.; JANZEN, T. C.; SILVA, M. I. L.; FERNANDES, O. C. C. *Isolamento, identificação e caracterização enzimática de fungos isolados do solo e do ar do Campus da Universidade do Amazonas*. Manaus: Anais da IV AMAPET - encontro de grupos PET da Universidade do Amazonas, 1996.

PINTO, R. M. C.; MENIN, M. *Redescrição da larva e caracterização dos sítios reprodutivos de Phyllomedusa bicolor (Boddaert, 1772) (Amphibia, Anura, Hylidae)*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 2012. 24p. (Relatório Final de Iniciação Científica).

PREFEITURA DO CAMPUS UNIVERSITÁRIO. *Levantamento planialtimétrico do Campus Universitário*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 1980.

PY-DANIEL, T. R. *Caracterização da morfologia externa e osteologia craniana de Leptodactylus hylaedactylus (Cope, 1868) (Anura: Leptodactylidae)*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas. 2009. 47p. (Monografia).

RABELO, A. *Palmeiras do campus da Universidade do Amazonas*. Manaus: Universidade do Amazonas, 1987. 44p. (Monografia).

RAIZER, M. D. M.; AGUIAR, N. O. *Artrópodes associados a inflorescências e infrutescências de algumas espécies de palmeiras do gênero Bactris, em floresta de terra firme, na Amazônia Central*. Manaus: Anais do XV Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2006.

REBOUÇAS, M. A. F. *Pressões Antrópicas em Florestas Urbanas: um estudo sócio-ambiental da população circunvizinha à Floresta do Campus da Universidade do Amazonas – UA*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 1999. 103p. (Dissertação de Mestrado).

RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. L. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C. A.; COSTA, M. A. S.; BRITO, J. M.; SOUZA, M. A. D.; MARTINS, L. H. P.; LOHMANN, L. G.; ASSUNÇÃO, P. A. C. L.; PEREIRA, E. C.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R.; PROCÓPIO, L. X. *Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central*. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 1999. 816p.

SAITO, S.; SAKAI, T.; NAKAMURA, S.; HIGUCHI, N. Three types of seedlings establishments of tree species in Amazonian terra-firme forest, p.31-41. In: HIGUCHI, N.; SANTOS, J.; SAMPAIO, P.T.B.; MARENCO, R.A.; FERRAZ, J.; SALES, P.C.; SAITO, M.; MATSUMOTO, S. (Eds.). *Projeto Jacaranda fase II: pesquisas florestais na Amazônia Central*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2003.

SANTOS, W. G. *Genética das populações do saim-de-coleira (Saguinus bicolor - Callitrichidae) em fragmentos florestais e floresta contínua: implicações para conservação*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia / Universidade Federal do Amazonas, 2005. 65p. (Dissertação de Mestrado).

SANTOS, R. M. S. *Avaliação da pressão antrópica sobre a cobertura vegetal da área verde do campus da UFAM utilizando imagens LANDSAT e Sistemas de Informações Geográficas (SIG)*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 2011. (Monografia).

SANTOS, R. S.; FRANCISCON, C. H. *Levantamento das espécies epifíticas da família Araceae de ocorrência em áreas de campinarana e baixio da Reserva Florestal do Campus da Universidade do Amazonas (U.A.)*. Manaus: Anais da IV Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1995.

SANTOS, R. S.; FRANCISCON, C. H. *Levantamento das espécies epifíticas da família Araceae de ocorrência em áreas de campinarana e baixio da Reserva Florestal do Campus da Universidade do Amazonas (U.A.)*. Manaus: Anais da V Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1996.

SANTOS, R. S.; FRANCISCON, C. H. *Estudo da morfologia de frutos dos gêneros Guatteria e Xylopia (Annonaceae) de ocorrência no Campus da U.A.* Manaus: Anais da VI Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1997.

SHIMIZU, F. M. M.; MATSURA, T.; PEREIRA, E. V.; SANTOS, R. L.; SANTOS, J. G. *Análise bacteriológica em amostras de solo do Campus Universitário em Manaus – AM*. Manaus: Anais do II Congresso de Iniciação Científica do Amazonas, 1993.

SHUSTER, R. *Levantamento taqueométrico: alti e planimetria*. Universidade do Amazonas Escala 1:2000. 2fl. 1974.

SHUSTER, R. LEVANTAMENTO TAQUEOMÉTRICO: alti e planimetria. Universidade do Amazonas Escala 1:1000. 1fl. 1979.

SILVA, A. B. *Influência da estrutura da floresta sobre a intensidade de uso do habitat por pequenos vertebrados em dois fragmentos urbanos de Manaus – AM*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2009. 48p. (Monografia).

SILVA, A. K.; PARALUPPI, N. D. *Estudo da macrofauna de artrópodes da liteira do Campus Universitário: abundância, sazonalidade e levantamento taxonômico*. Manaus: Anais do XII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2003.

SILVA, C. L.; MENDONÇA, K. R. N.; ARAÚJO, R. L. C. *Determinação da condutividade térmica em solos arenosos*. Manaus: Anais do I Congresso de Iniciação Científica do Amazonas, 1992a.

SILVA, A. S. L.; LISBOA, P. L. B.; MACIEL, U. N.. Diversidade florística e estrutura em floresta densa da bacia do rio Juruá - AM. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Botânica*, v.8, n.2, p.203-258. 1992b.

SILVA, F. J. T.; SCHWADE, M. R. M.; WEBBER, A. C. Fenologia, biologia floral e polinização de *Erythroxylum cf macrophyllum* (Erythroxylaceae) na Amazônia Central. *Revista Brasileira de Biociências*, v.5, p.186-188. 2007.

SILVA, J. V. *Tesserocerus Saunders, 1836 (Coleoptera, Curculionidae, Platypodinae) de Manaus e Arredores*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia / Universidade do Amazonas, 1991. 74 p. (Dissertação de Mestrado).

SILVA, M. I. L. *Microbiota da água e solo das margens de igarapés situados na área de mata do Campus da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM*. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2002. 175p. (Tese de Doutorado).

SILVA, M. I. L.; LOPES, M. A. C.; SOUZA, J. E. *Diversidade de fungos zoospóricos em áreas de represamento de igarapés no Campus da UFAM*. Santos: XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2005.

SILVA, M. L.; SILVA, M. I. L.; FERNANDES, O. C. C. *Isolamento de fungos endofíticos da caapeba (Piper marginatum Jacq.) e caracterização qualitativa de suas enzimas*. Manaus: Anais do IV AMAPET - encontro de grupos PET da Universidade do Amazonas, 1996.

SILVA, S. M. G.; TELLO, J. C. R.; BILBY, M. R. C.; CARVALHO, P. M. *Análise das variações morfológicas de algumas espécies do gênero Virola na área verde do Campus da Universidade do Amazonas*. Manaus: Anais da IX Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 2000.

SILVA-FORSBERG, M. C. *Protecting an urban forest reserve in the Amazon: a multi-scale analysis of edge effects population pressure, and institutions*. Indiana University, 1999. 218p. (Tese de Doutorado).

SILVA JR., G. T.; VOGT, R. C.; DA SILVEIRA, R. *Estrutura populacional e reprodução de (jacaré-coroa) Paleosuchus trigonatus na área da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2006. 16p. (Relatório de Iniciação Científica).

- SOUZA, M. M.; GIANIZELLA, S. L. *Sazonalidade e diversidade de dípteros culicíneos (Culicidae, Culicinae, Aedini) no Campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brasil*. Manaus: Anais do XVII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2008.
- TEIXEIRA, E. C.; SILVA, N. M. *Dinâmica populacional de moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) no Campus da Universidade do Amazonas*. Manaus: Anais da V Jornada de Iniciação Científica, Universidade do Amazonas, 1996.
- TELLES, D. O. C. *Distribuição e reprodução de Hypsiboas cinerascens (Anura: Hylidae) no fragmento florestal da Universidade Federal do Amazonas*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2011. 25p. (Monografia).
- TOCHER, M. D.; GASCON, C.; ZIMMERMAN, B. L. Fragmentation effects on a Central Amazonian frog community: a ten-year study, p.124-137. In: LAURANCE, W.F.; BIERREGAARD, R.O. (Eds.). *Tropical forest remnants: ecology, management and conservation of fragmented communities*. Chicago: University of Chicago Press, 1997.
- TSUJI-NISHIKIDO, B. M. *Distribuição da anurofauna associada a igarapés do fragmento florestal da Universidade Federal do Amazonas*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2009. 18p. (Monografia).
- TSUJI-NISHIKIDO, B. M.; MENIN, M. *Distribuição da anurofauna associada a igarapés do fragmento florestal da Universidade Federal do Amazonas*. Manaus: Resumo Expandido, 61ª Reunião Anual da SBPC, Universidade Federal do Amazonas, 2009.
- TSUJI-NISHIKIDO, B. M.; MENIN, M. Distribution of frogs in riparian areas of an urban forest fragment in Central Amazonia. *Biota Neotropica*, v.11, n.2, p.63-70. 2011.
- TURNER, I. A.; CORLETT, R. T. The conservation value of small, isolated fragments of lowland tropical rain forest. *Trends in Ecology and Evolution*, v.11, p.330-333. 1996.
- VALENTE, R. M.; FILHO, R. F. C. *Screening de Bactérias Produtoras de Celulase Isoladas de Solo Rizosférico do Mini Campus da UFAM, Manaus-AM*. Manaus: Anais do XX Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2011.
- VASCONCELOS, S. A.; GORDO, M. *Possíveis cenários para conservação do sauim-de-coleira (Saguinus bicolor)*. Manaus: Anais do XV Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2006.
- VASQUEZ, S. P. F.; WEBBER, A. C. Biologia floral e polinização de *Casearia grandiflora*, *Casearia javitensis* e *Lindackeria paludosa* (Flacourtiaceae) na região de Manaus, AM. *Revista Brasileira de Botânica*, v.33, n.1, p.131-141. 2010.
- VAZ, S. A. F.; MENIN, M. *Reprodução e dieta de Hypsiboas cinerascens (Spix, 1824) (Amphibia, Anura, Hylidae) em um fragmento florestal da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, Brasil*. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2012. 24p. (Relatório Final de Iniciação Científica).
- VIVEIROS DE CASTRO, E. B.; FERNANDEZ, F. A. S. Determinants of differential extinction vulnerabilities of small mammals in Atlantic forest fragments in Brazil. *Biological Conservation*, v.119, p.73-80. 2004.

WEBBER, A. C. *Biologia floral, polinização e aspectos fenológicos de algumas Annonaceae na região de Manaus AM*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 1996. 118p. (Tese de Doutorado).

WEBBER, A. C.; GOTTSBERGER, G. Phenological patterns of six *Xylopia* (Annonaceae) Species in Central Amazonia. *Phyton*, v.39, n.2, p.293-301. 1999.

WEBBER, A. C.; SILVA, F. J. T. *Biologia floral e polinização de Warszewiczia coccinea (VAHL) Klotzsch (RUBIACEAE), em um fragmento urbano em Manaus, Amazonas*. Feira de Santana: Anais do 60º Congresso Nacional de Botânica, 2009

Workshop sobre a Área do Campus Universitário. Manaus, 13 a 17 de junho de 1994. Série A. *Universidade Debate*, n.2. 1994. 40p

XAVIER, C. M.; PINHEIRO, M. L. B. *Avaliação química e biológica de espécies da família Annonaceae contra leishmaniose*. Manaus: Anais do XII Congresso de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, 2003.

ZIPPERER, W. C. Urban influences on forests, p.73-91. In: MACIE, E.A.; HERMANSEN, L.A. (Eds.). *Human influences on forest ecosystems: the Southern wildland-urban interface assessment*. General Technical Report SRS-55. Asheville: Department of Agriculture, Forest Service, Southern Research Station, 2002.



CAPÍTULO 15

EFEITO DA CONTAMINAÇÃO DA ÁGUA POR PETRÓLEO SOBRE A FAUNA DE INVERTEBRADOS AQUÁTICOS ASSOCIADA À *SALVINIA AURICULATA* AUBLET (SALVINEACEAE) E SEU USO COMO BIOINDICADORA DE POLUIÇÃO AMBIENTAL

Ilton OLIVEIRA-SOARES; Maria José do Nascimento FERREIRA;
Sergio Luiz Rodrigues da SILVA; Andrea Viviana WAICHMAN;
Thierry Ray GASNIER

Abstract

The effect of the exposition of aquatic invertebrates associated with the roots of the *Salvinia auriculata* in a white water lake of the Amazonian basin to petroleum was analyzed on four concentrations (control, 0.05, 0.5, 5 ml/l) and on six times of exposition (10 min, 60 min, 6 hs, 24 hs, 3 days and 10 days). The collections occurred between the months of March and November of 2007, contemplating the regional hydrologic cycle, to allow the detection of seasonal variations in the populations of the invertebrates. We used the activity of the live organisms to separate live and dead organisms after the time of exposition. The analyses of data had shown a reduction of 39% in the richness of taxa in the highest concentration of oil, but this effect was not detected in lower concentrations. The taxa that showed significant decrease in abundance with oil were Diptera, Acari, Ostracoda and Cladocera of the *Simocephalus* genus and of the Chydoridae family. In contrast, the groups Anelida (Oligochaeta), Cladocera of the genus *Diaphanosoma* and Copepoda of the sub-order Cyclopoida were well represented but had not presented significant reductions in the presence of oil, indicating that they may be tolerant or relatively tolerant groups to this pollutant. The fauna found in *Salvinia auriculata* is rich in species and has a great potential to be used to evaluate the effects of environmental impacts. We recommend the method of using activity to separate live and dead animals to evaluate these effects when it is necessary a minimum of interference of manipulation. However,

caution is necessary when using organisms of this fauna as bioindicators because they show a high seasonal variation.

INTRODUÇÃO

A maioria das pesquisas relacionadas ao efeito da poluição dos ambientes aquáticos por petróleo e seus derivados foram realizadas em sistemas marinhos. Como a maior parte dos grandes derramamentos de petróleo ocorreu nestes ambientes, o interesse por estudos em ambientes dulcícolas não se desenvolveu da mesma maneira (BHATTACHARYYA et al., 2003). Entretanto, derramamentos de petróleo e seus derivados também ocorrem nos ambientes de água doce como consequência de atividades relacionadas ao transporte e processamento deste produto (GREEN e TRETT, 1989). Desta maneira, os estudos sobre os impactos ambientais e as opções para o monitoramento da recuperação de ambientes dulcícolas lênticos impactados tornam-se importantes, haja vista que o óleo é retido por muito mais tempo nestes ambientes (BACA et al., 1985). Na Amazônia, o risco de acidentes com petróleo e seus derivados aumentou consideravelmente com o incremento das atividades de exploração e transporte, principalmente entre a bacia do rio Urucu, município de Coari e Manaus (Amazonas - Brasil) pela Petrobrás, o que resultou em um sistema de transporte fluvial de gás natural e petróleo através dos rios Solimões, Amazonas e Negro, transpassando também ambientes lênticos, como lagos (FREITAS e RIVAS, 2003).

A província petrolífera do rio Urucu, a maior do Brasil em terra firme, possui uma produção de aproximadamente 60 mil barris por dia (WANDERLEY FILHO e CARNEIRO, 2008). O escoamento da produção desde o local de exploração no rio Urucu até Coari na margem do rio Solimões se dá por meio de polidutos ao longo de 270 km. Neste local o petróleo é transferido para navios petroleiros e levado para a refinaria de Manaus (Reman/Petrobrás), a 600 quilômetros de Coari. Estes processos aumentaram não só os riscos de possíveis derramamentos de óleo cru sobre as comunidades aquáticas, mas também o efeito cumulativo de pequenos derramamentos oriundos destas ações ao longo do tempo.

Estudos realizados nos últimos anos (LYTLE e PECKARSKY, 2001; BHATTACHARYYA et al., 2003) mostraram que a abundância e a riqueza de grupos de invertebrados marinhos em ambientes que sofreram impacto por petróleo e ou seus derivados pode declinar em até 90% em relação a ambientes não impactados. Estes autores observaram também que os resíduos do derramamento podem ficar em suspensão na coluna d'água ou na região superficial por vários anos. Segundo Perelo (2010), estes resíduos

constituídos principalmente por hidrocarbonetos também se acumulam nos sedimentos e substratos, devido aos processos de associação com materiais particulados em suspensão.

De forma análoga, Couceiro et al. (2007) observaram uma redução na abundância e riqueza de invertebrados edáficos em um igarapé no município de Manaus, impactado por petróleo e efluentes domiciliares. Outro estudo com macroinvertebrados aquáticos (COUCEIRO et al., 2010) e sedimentos da região petrolífera de Urucu, demonstrou que sedimentos contaminados por petróleo e seus derivados apresentam impactos negativos sobre a abundância de organismos e a diversidade desta comunidade.

A resposta das comunidades a esses poluentes pode ser muito variada dependendo do ambiente e da intensidade do impacto, incluindo uma rápida recuperação (GUINEY et al., 1987; COUCEIRO et al., 2006), efeitos mínimos (MASNIK et al., 1976; ANSARI e INGOLE, 2002), e recuperação a longo prazo (POULTON et al., 1998). Assim, para a compreensão dos efeitos do derramamento de petróleo nas comunidades aquáticas, é necessário um maior número de estudos, simulando diversos ambientes, principalmente com a presença de vegetação com poder de remediação. Neste sentido, processos de bioacumulação de contaminantes em macrófitas, especialmente *Salvinia auriculata* vem sendo objeto de estudos no campo da biorremediação de ecossistemas aquáticos (SOARES et al., 2008; ESPINOZA-QUIÑONES et al., 2009).

Considerando-se que a comunidade zooplanctônica é fortemente influenciada pelo despejo de petróleo na água (LYTLE e PECKARSKY, 2001; ANSARI e INGOLE, 2002; BHATTACHARYYA et al., 2003; COUCEIRO et al., 2003) e que existem poucos estudos relacionados à ambientes dulcícolas, analisamos a influência da concentração e do tempo de exposição da comunidade de invertebrados aquáticos associados às raízes de *Salvinia auriculata* a esse poluente, e avaliamos quais grupos tem melhor potencial como bioindicadores da presença de petróleo em lagos na região amazônica.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

As coletas de material foram realizadas no lago do Xiborena, localizado a aproximadamente 5 km da cidade de Manaus (3°10'03"S 59°55'29"O) na região da várzea do rio Solimões, próximo à sua confluência com o rio Negro (Figura 1). Essa região corresponde a uma zona de terras baixas, com uma série de lagos interconectados (JUNK, 1980).

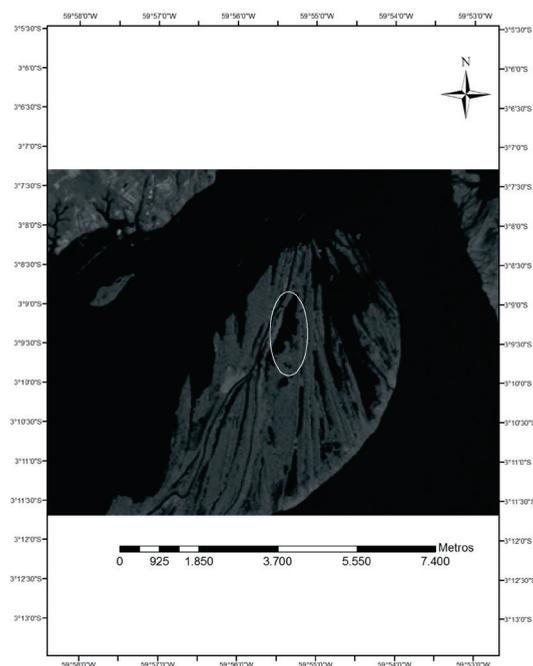


Figura 1

Local onde foram realizadas as coletas de *Salvinia auriculata*. Lago do Xiborena (elipse branca), localizado a aproximadamente 5 km da cidade de Manaus. Fonte: INPE, 2008.

A área de estudo apresenta topografia uniforme e plana resultante da acumulação fluvial, está localizada na planície de inundação da Amazônia Central sendo submetida a inundações periódicas (JUNK, 1980).

O clima é tropical quente e chuvoso, com temperaturas médias anuais ao redor de 26 °C e pluviosidade média de 2100 mm.ano⁻¹, com chuvas mais frequentes entre os meses de dezembro a junho e o de estiagem no restante do ano. No entanto, a variação entre os períodos pluviométricos é bastante acentuada, de modo que o nível dos principais rios da Amazônia chega a variar em até 16 m, conseqüentemente a diluição provocada pelo aumento da pluviosidade influencia diretamente a composição físico-química das águas (SANTOS et al., 2006)

Em relação às variáveis físico-químicas, a área estudada apresenta águas turvas com valor médio de transparência em torno de 0,76 metros. A temperatura apresenta valor médio de 29,3 °C, enquanto que o nível de oxigênio dissolvido pode ser considerado baixo, com valor médio de 2,06

mg/L, correspondente a 27,0% de saturação de oxigênio. A condutividade elétrica apresenta média em torno de 68,6 μ S/cm e os valores de pH da água indicam um caráter ácido a levemente alcalino com média de 6,68 (BRITO, 2006).

Montagem do experimento

As coletas no lago do Xiborena foram realizadas em quatro excursões nos meses de março, junho, agosto e novembro de 2007; estas coletas contemplaram os quatro diferentes períodos do ciclo hidrológico da região (enchente, cheia, vazante e seca). Nestas excursões foram coletadas plantas da espécie *Salvinia auriculata* (Pteridophyta, Salviniaceae), juntamente com a fauna que vive em suas raízes.

Nestas quatro coletas, foi recolhido material para cinco séries experimentais, pois na quarta excursão foi possível coletar material para duas séries de experimentos. As plantas foram recolhidas com recipientes plásticos de 500 mL que foram submergidos abaixo das raízes e emergidos lentamente de forma a retirá-las juntamente com a fauna associada às suas raízes (Figura 2). Após a coleta, os recipientes foram fechados e acondicionados em caixas com isolamento térmico para o transporte até o Campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Posteriormente, as macrófitas foram imediatamente transferidas para os recipientes em que ocorreram os experimentos. O petróleo utilizado para a montagem dos experimentos foi fornecido pela Refinaria de Petróleo de Manaus - Reman/Petrobrás. O resíduo de petróleo ao final do experimento foi encaminhado à empresa, para seu adequado descarte.



Figura 2

Coleta de *Salvinia auriculata* juntamente com a fauna associada as suas raízes, lago do Xiborena, município de Iranduba, Amazonas.

Os experimentos foram realizados em recipientes plásticos de 1530 mL de capacidade (16cm x 16cm x 6cm), contendo 1000 ml (16cm x 16cm x 3,9 cm) de água. Este volume foi obtido com a água da amostra mais água proveniente do próprio local de coleta das plantas, após filtragem com rede de plâncton de 55 μ . Esta filtragem foi necessária para que animais externos às raízes das plantas não fossem introduzidos nos experimentos. Cada série experimental foi composta de 24 recipientes (Figura 3), nos quais foram utilizadas as seguintes quantidades de petróleo: 0 mL (controle); 0,05 mL; 0,5 mL e 5,0 mL de forma a se ter um gradiente de exposição. Os recipientes foram cobertos com telas para evitar a contaminação por organismos externos e acondicionados em local protegido da chuva e de luz direta, mas com entrada de luz suficiente para permitir a sobrevivência das plantas. O nível de água foi controlado diariamente para evitar o ressecamento e a mudança na concentração do petróleo.



Figura 3

Série com 24 recipientes contendo *Salvinia auriculata* em diferentes concentrações de petróleo.

Nos períodos de exposição equivalentes a 10 minutos, 60 minutos, 6 horas, 24 horas, 3 dias e 10 dias, um recipiente (unidade amostral) foi retirado de cada concentração de petróleo e do grupo controle. Os rametes de *S. auriculata* e aproximadamente um terço da água de cada recipiente foram transferidos para um recipiente de 500 mL e agitados por 30 segundos, de forma a remover a fauna aderida às suas raízes. Os rametes foram descartados e a água (juntamente com a fauna, partículas de folhas, solo, etc.) foi filtrada em rede de plâncton 55 μ , e o material retido e concentrado na rede foi transferido para uma placa de Petri, que foi colocada

novamente no recipiente de 500 mL. Em seguida adicionou-se água até aproximadamente um terço do recipiente de modo que os organismos vivos pudessem nadar para fora da placa de Petri, após exatamente 30 minutos a placa com os detritos foi cuidadosamente retirada. A água restante (com os organismos que nadaram) foi novamente filtrada e os organismos foram transferidos para um frasco contendo álcool 70%. Todo esse procedimento foi necessário para separar os animais vivos dos mortos (que ficaram retidos junto com o material filtrado). Após este procedimento foi feita a triagem e identificação da fauna de invertebrados aquáticos no nível de grupos taxonômicos operacionais (MERRITT e CUMMINS, 1996) com o uso de lupa e microscópio estereoscópico.

Análise dos dados

Foram utilizados dois índices para a avaliação do efeito do petróleo sobre a fauna: a riqueza de taxa (número de grupos taxonômicos operacionais por amostra) e a abundância de indivíduos por grupo taxonômico operacional (nos grupos com mais de 50 indivíduos coletados). Os grupos taxonômicos foram definidos em função da abundância e da facilidade para a identificação, prevendo a possibilidade de tornar este método um padrão de fácil triagem para utilização posterior. Maior detalhamento nas triagens foi dado aos microcrustáceos, pois é um grupo muito abundante, de identificação relativamente simples e que recebeu maior atenção em estudos semelhantes (PETRUCCI et al., 1995; MARANHÃO et al., 2001; MEZQUITA et al., 2001; SCHULZ, 2003). Para a identificação dos organismos foi seguida a classificação de Ruppert et al. (2005).

Nas avaliações da sensibilidade ao petróleo, utilizaram-se apenas os dados dos experimentos com exposição prolongada ao petróleo (igual ou maior que 24hs), para reduzir a chance da não obtenção de respostas em relação a tempos muito curtos de exposição. Antes dos testes, observou-se que na maioria dos casos as premissas dos testes paramétricos não se aplicavam, pois os dados não apresentaram normalidade na sua distribuição, de forma que se optou por utilizar apenas testes não paramétricos. Na primeira avaliação de sensibilidade, foi utilizado o teste de correlação de Spearman com todas as concentrações para avaliar se houve uma correlação entre o efeito do petróleo e o aumento de sua concentração. Na segunda avaliação, utilizou-se o teste de Mann-Whitney para comparar apenas o controle com a maior concentração de petróleo. Esta segunda análise tem mais poder

estatístico se o efeito só ocorrer nas concentrações mais altas e possibilita uma medida simples da dimensão do efeito do petróleo: a porcentagem de variação das médias ($\Delta\%$).

O programa utilizado para a realização das análises foi o SYSTAT 12 (WILKINSON, 1998). O α adotado foi de 0,05 e foi apresentada uma correção para testes múltiplos (RICE, 1989), entretanto, a interpretação da tabela foi feita considerando as convergências em tendências (MORAN, 2003).

RESULTADOS

Foram encontrados 11.076 invertebrados, dos quais 68% foram microcrustáceos, 23,7% insetos, 4,9% aracnídeos (ácaros aquáticos), 3,2% anelídeos oligoquetos e 0,35% moluscos gastrópodes. Os 17 taxa encontrados durante a triagem e que foram incluídos nas análises foram: insetos das ordens Coleoptera, Diptera, Ephemeroptera, Odonata, Hemiptera, Lepidoptera e Trichoptera; aracnídeos do grupo Acari; crustáceos dos grupos Ostracoda, Conchostraca, Cyclopoida, Calanoida, Cladóceros dos gêneros *Diaphanosoma*, *Simocephalus* e da família Chydoridae; Anelídeos da classe Oligochaeta, e moluscos da classe Gastropoda.

A riqueza de taxa sofreu uma redução média de 39% na concentração de 5,0 mL em relação ao controle (Tabela 1). Os efeitos sobre alguns dos grupos taxonômicos mais amostrados foram significativos na comparação com todas as concentrações de petróleo em períodos longos (teste de correlação de Spearman; Tabela 1) e na comparação entre controle e a maior concentração em períodos longos (teste de Mann-Whitney; Tabela 1). Dentre os grupos analisados, os taxa que mostraram maior sensibilidade ao petróleo foram Diptera, Acari, Ostracoda e Cladocera do gênero *Simocephalus* e da família Chydoridae. Por este motivo, estes taxa foram selecionados para as análises seguintes de efeito temporal do petróleo e da variação temporal de suas abundâncias ao longo do ciclo hidrológico anual. Os grupos Anelida (Oligochaeta), Cladocera do gênero *Diaphanosoma* e Copepoda da subordem Cyclopoida foram bem amostrados e não apresentaram reduções significativas na presença do petróleo. Entretanto, considerando que todos os grupos analisados sofreram redução nas abundâncias, é provável que mesmo estes grupos sejam afetados negativamente pelo petróleo.

Tabela 1 - Efeito do petróleo sobre o número de taxa e sobre a abundância de grupos de invertebrados aquáticos com mais de 50 indivíduos coletados. Abreviações: N= Número total de indivíduos; X_0 = Média dos valores para grupo controle; Ep_0 = Erro padrão de X_0 ; X_5 = Média dos valores para concentração 5,0 mL, Ep_5 = Erro padrão de X_5 ; $\Delta\%$ = Variação das médias em porcentagem, P1= Probabilidade através do teste de Mann-Whitney (N=30), P1corr= Significância de P1 após correção para testes múltiplos; P2= Probabilidade através do teste de Correlação de Spearman (N=60), P2corr= Significância de P2 após correção para testes múltiplos (S= significativo e NS= não significativo), NGT= Número de grupos taxonômicos.

Grupo	N	X_0	Ep_0	X_5	Ep_5	$\Delta\%$	P1	P1corr	P2	P2corr
Cyclopoida	3876	30,10	6,21	25,77	4,91	-14	0,633	NS	0,5123	NS
NGT	-	10,10	0,60	6,13	0,55	-39	<0,001	S	<0,0001	S
<i>Diaphanosoma</i>	131	1,00	0,50	0,51	0,32	-49	0,231	NS	0,6261	NS
Anelidae	355	3,10	1,25	1,40	0,46	-55	0,504	NS	0,6162	NS
Odonata	537	6,70	1,33	2,80	0,76	-58	0,007	S	0,0444	NS
Diptera	1792	19,20	4,80	6,60	2,34	-65	0,006	S	0,0009	S
Acari	545	5,80	1,20	1,80	0,47	-69	0,004	S	0,0001	S
Ephemeroptera	88	1,30	0,56	0,27	0,27	-79	0,085	NS	0,0148	NS
Conchostraca	300	2,27	0,99	0,40	0,21	-82	0,244	NS	0,0304	NS
Chydoridae	1255	20,90	6,14	2,93	1,40	-86	0,003	S	0,0008	S
Coleoptera	60	1,10	0,40	0,13	0,09	-88	0,015	NS	0,0025	S
<i>Simocephalus</i>	181	1,90	0,72	0,20	0,15	-89	0,009	S	0,0037	S
Ostracoda	1809	37,60	19,40	1,53	1,10	-96	<0,001	S	<0,0001	S
Trichoptera	100	2,60	1,37	0,00	0,00	-100	0,017	NS	0,0015	S

A riqueza média de taxa não sofreu uma forte redução até três dias de experimento no tratamento de 5,0 mL de petróleo (Figura 4); nas outras concentrações, não houve uma clara redução da riqueza mesmo após 10 dias de experimento. Devido ao menor efeito do petróleo em concentrações menores, e para simplificar a análise, o efeito deste sobre os grupos taxonômicos selecionados restringiu-se ao tratamento de 5,0 mL. A abundância variou muito em função da data da coleta de cada série experimental (especialmente na 5ª coleta), de forma que as tendências em relação ao tempo de exposição não permitem uma percepção detalhada de quanto tempo o petróleo leva para afetar a mortalidade nestes grupos (Figura 5); em geral, a abundância tendeu a se reduzir gradualmente ao longo do tempo (escala logarítmica). Os grupos que não apresentaram uma redução gradual foram Odonata e *Simocephalus*, mas o primeiro teve um único dado extremo que fugiu ao padrão de redução gradual e o segundo teve poucos indivíduos nas amostras de 5,0 mL. A densidade de Ostracoda declinou muito da 1ª para a 6ª hora de exposição, indicando um curto período de resistência, entretanto, esta tendência necessitará ser corroborada, pois se baseia em dados de apenas uma série de coleta.

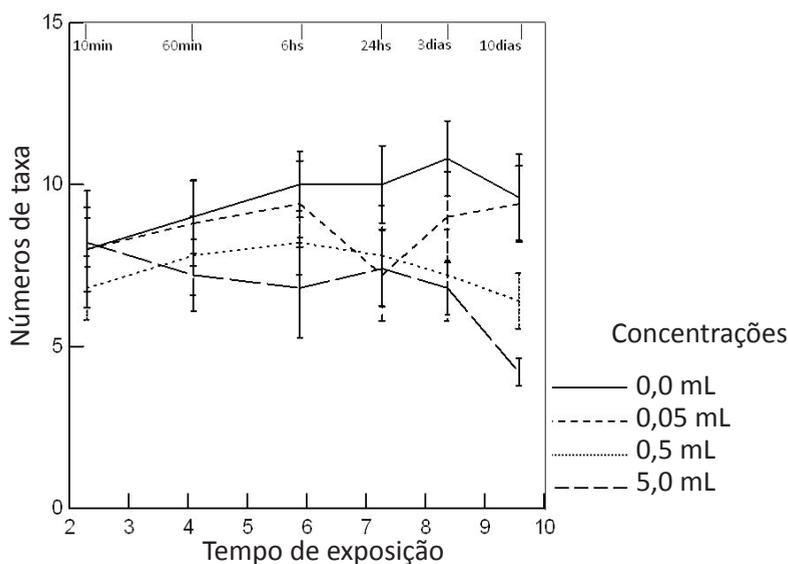


Figura 4

Variação da riqueza de taxa em função do tempo de exposição (log. minutos) para cada concentração de petróleo.

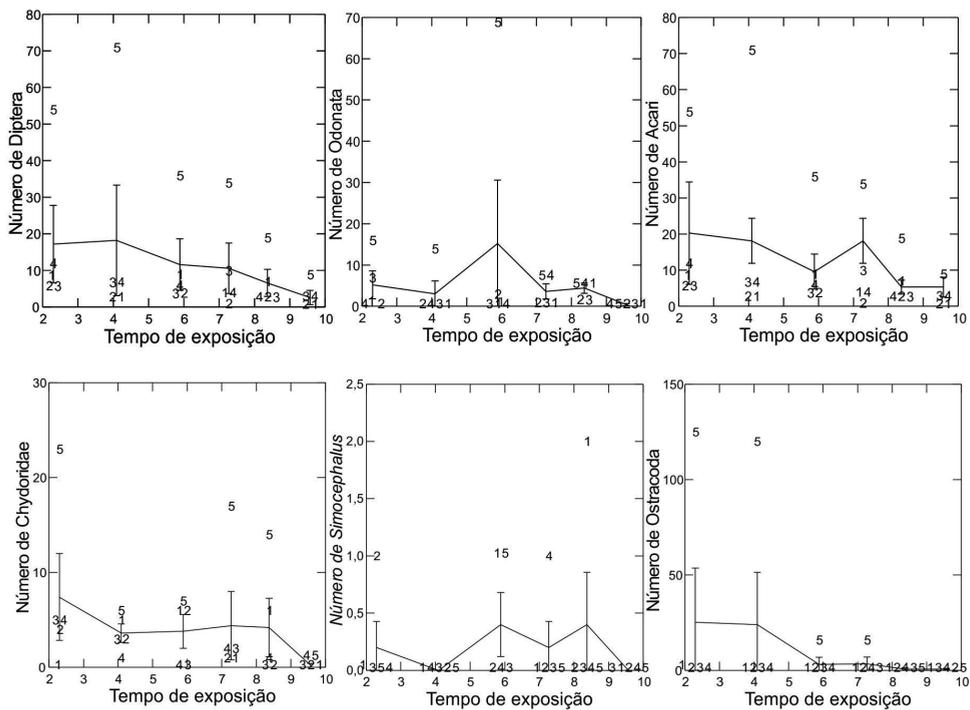


Figura 5

Varição da abundância de indivíduos por grupo taxonômico em função do tempo de exposição (em logaritmo de minutos) para a concentração 5,0 mL de petróleo. As barras indicam os erros padrões e os números indicam a que coleta pertence cada dado).

A abundância de todos os grupos selecionados variou significativamente entre as datas de coleta (Kruskal-Wallis para $P < 0,05$), sendo esta tendência mais pronunciada em Diptera, Trichoptera, Acari, Ostracoda, *Simocephalus* e Chydoridae (Figura 6). A riqueza de taxa também teve uma forte variação temporal (Kruskal-Wallis para $P < 0,001$). Em geral os maiores valores aconteceram na 4ª coleta (novembro), apenas os Acari foram mais abundantes na 3ª excursão (agosto).

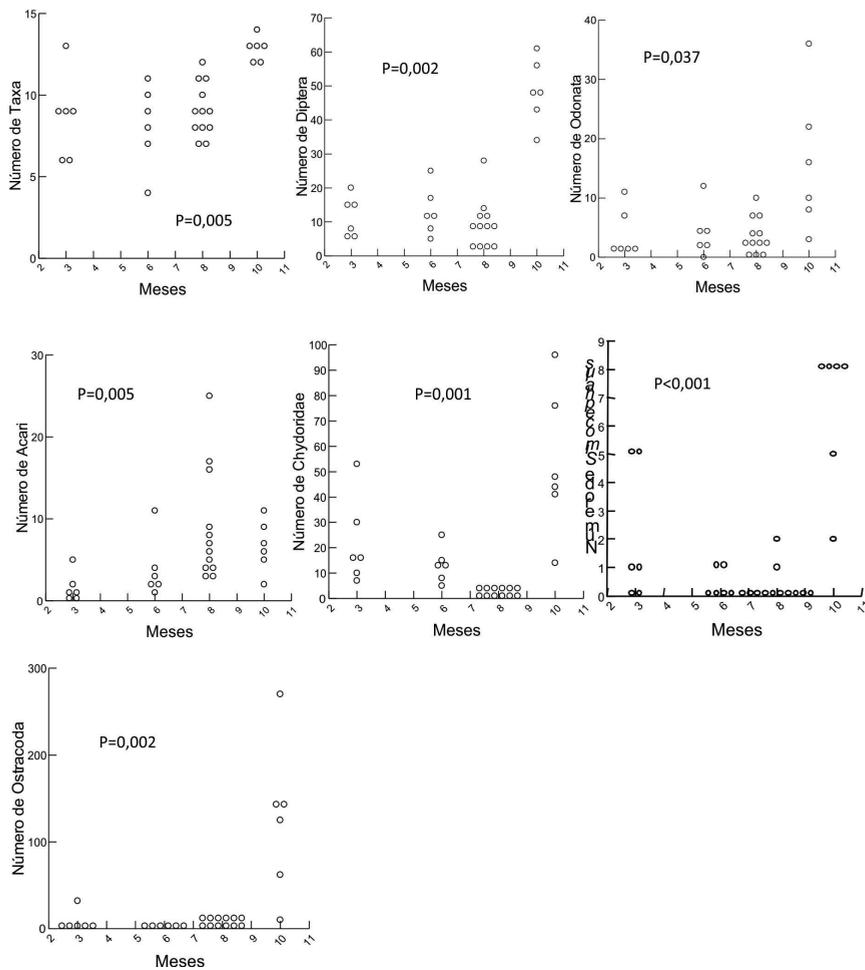


Figura 6

Varição temporal no número de taxa de invertebrados e na abundância dos grupos taxonômicos mais abundantes ao longo do ciclo hidrológico durante as coletas dos meses de março (3), junho (6), agosto (8) e novembro (10), no lago Xiborena, Iranduba, Amazonas. Os valores de P referem-se ao teste Kruskal-Wallis.

Tanto a fauna em geral, medida pela riqueza de taxa, quanto os grupos Diptera, Acari, Ostracoda e Cladocera do gênero *Simocephalus* e da família Chydoridae mostraram significativa sensibilidade ao petróleo quando expostos a altas concentrações (mesmo após conservadoras correções por testes múltiplos). A redução na riqueza de taxa de invertebrados aquáticos após a exposição ao petróleo foi verificada por vários autores (PONTASCH e BRUSVEN, 1988; LYTLE e PECKARSKY, 2001; ANSARI e INGOLE, 2002; YAMAMOTO et al., 2003), o que mostra a importância deste índice na avaliação de alterações ambientais.

Além dos taxa listados acima, outros taxa (Odonata, Ephemeroptera, Conchostraca, Coleoptera e Trichoptera) também podem ser considerados sensíveis considerando a tendência negativa para o conjunto de testes (MORAN, 2003). Entretanto, alguns taxa (Anelida, Cladocera e Cyclopoida) possivelmente sejam tolerantes ou relativamente tolerantes ao petróleo nas concentrações utilizadas. Chamou-nos a atenção que nenhum efeito significativo do petróleo foi detectado nos organismos da sub-ordem Cyclopoida, embora tenha sido o taxa mais abundante neste estudo e os organismos desta sub-ordem sejam bastante ativos, o que sugere que este grupo tenha maior resistência ao efeito do petróleo na água. A densidade populacional sofreu variações de acordo com o taxa considerado, provavelmente refletindo diferentes níveis de tolerância de cada grupo ao petróleo. Alguns dos taxa classificados como sensíveis nesse estudo também foram diagnosticados como sensíveis ao petróleo por Bhattacharyya, et al. (2003), Knie e Lopes (2004) e Zagatto e Bertolleti (2006), especialmente os microcrustáceos, corroborando a importância deste grupo como bioindicadores.

No presente estudo não foram observados efeitos significativos de redução na densidade dos organismos em baixas concentrações de petróleo. Isto não implica que o efeito não exista, pois houve uma alta variação natural nos números de indivíduos entre amostras de uma coleta e entre excursões de coleta. Nesta abordagem, priorizou-se avaliar o efeito do petróleo com o mínimo de interferência na comunidade. Para uma melhor caracterização do efeito do petróleo sobre a mortalidade destes grupos, será necessária uma abordagem complementar padronizando a composição da fauna, isto é, misturando as amostras antes dos testes, ainda que isso altere a composição natural e cause uma maior perturbação para a fauna. Outras formas de avaliação, como estudo de alterações na mobilidade, no desenvolvimento, crescimento, reprodução e comportamento (VANLEEUEWEN, 1988) também podem contribuir para se compreender melhor efeitos sutis do petróleo.

Não foi detectado um efeito imediato do petróleo sobre a mortalidade, isso pode ter ocorrido devido à exposição dos organismos a efeitos subletais deste poluente, o que pode não levar a morte em curto intervalo de tempo, mas pode causar distúrbios fisiológicos que possivelmente levariam o indivíduo à morte em longo prazo. Segundo vanLeeuwen (1988), estudos complementares de avaliação do efeito do petróleo em longo prazo, conhecidos como estudos de toxicidade crônica são necessários para que se compreenda também os efeitos deste poluente sobre o ciclo de vida e para analisar seu efeito sobre as atividades fisiológicas dos organismos.

Uma importante premissa para utilização de bioindicadores é a facilidade para obtenção de indivíduos em número suficiente para as análises (KNIE e LOPES, 2004; ZAGATTO e BERTOLLETI, 2006). Neste sentido, a amostragem de invertebrados aquáticos através da coleta de *Salvinia* mostrou-se uma forma promissora de amostragem para estudos de bioindicação de qualidade de água em lagos da Amazônia. O método de retirada da fauna das raízes com filtragem e pela atividade dos organismos vivos permitiu a obtenção de amostras limpas e reduziu muito o tempo de triagem. Desta forma, obteve-se ao mesmo tempo uma amostra limpa e com uma fauna diversa e abundante, especialmente de microcrustáceos.

O método apresentou limitações e vantagens em relação a abordagens mais padronizadas. O maior problema desta forma de amostragem foi a variação natural entre as amostras e entre as épocas de coleta. Provavelmente a análise de amostras de fauna de *Salvinia* diretamente da natureza necessita de futuros ajustes para que os efeitos das variações nas densidades populacionais dos organismos ao longo do ciclo hidrológico não influenciem no diagnóstico de qualidade ambiental. Entretanto, esta fauna tem excelente potencial para bioensaios de laboratório, especialmente devido ao método de filtragem e utilização da atividade dos organismos vivos e pela utilização de organismos autóctones. O uso de organismos autóctones para o estudo de qualidade de água é importante pelo fato de que organismos de locais diferentes possuem respostas diferentes à poluição, o que pode fornecer falsos resultados quando do uso de espécies exóticas para avaliações ambientais locais. Prósperi (1993) verificou que o microcrustáceo marinho nativo *Mysidopsis junie* foi o organismo mais sensível quando comparado aos organismos amplamente utilizados em testes de bioindicação (como *Artemia* sp. e *Vibrio fisheri*).

O efeito do petróleo sobre as comunidades aquáticas deve ser estabelecido com cautela, uma vez que estas estão sujeitas a fortes variações sazonais também encontradas por Saunders e Lewis (1988, 1989), Couceiro

et al. (2006) e muitos organismos mostrarem resistência ou resiliência (PINEL-ALLOUL et al., 1996; PESO-AGUIAR et al., 2000) a esta substância. Além disso, o efeito pode depender da quantidade e características físico-químicas do óleo derramado, do período do ciclo hidrológico e das condições da bacia que recebeu o poluente. Entretanto, estudos do efeito de uma substância potencialmente tóxica sobre a fauna em condições bem próximas ao natural, podem ser importantes antes de se iniciar uma abordagem mais precisa, mas menos semelhante com a natureza.

AGRADECIMENTOS

Eduardo Martins Venticinque e Maria Anete Leite Rubin ajudaram com importantes sugestões em diversas etapas do trabalho e da redação e Marcelo Menin ajudou a melhorar a uma versão mais recente do manuscrito. Erika Portela realizou uma revisão da formatação do manuscrito original. A Refinaria de Petróleo de Manaus REMAN/ PETROBRAS forneceu amostras de petróleo e realizou o tratamento dos resíduos oriundos dos experimentos. O Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) concederam bolsas de estudos ao primeiro autor em diferentes etapas do seu Mestrado. O Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas e o Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica da UFAM contribuíram com apoio material e logístico.

REFERÊNCIAS

- ANSARI, Z. A.; INGOLE, B. Effect of an oil spill from M V Sea Transporter on intertidal meiofauna at Goa, India. *Marine Pollution Bulletin*, v.44, p.396-402. 2002.
- BACA, B. J.; GETTER, C. D.; LINDSTEDT-SIVA, J. Freshwater oil spill considerations: protection and cleanup, p.385-390. In: LUDWIGSON J. O. (Ed.). *Proceedings 1985 Oil Spill Conference (Prevention, Behavior, Control, Cleanup), February 25–28, Los Angeles*. Washington: American Petroleum Institute, 1985.
- BHATTACHARYYA, S; KLERKS, P. L.; NYMAN, J. A. Toxicity to freshwater organisms from oils and oil spill chemical treatments in laboratory microcosms. *Environmental Pollution*, v.122, p.205-215. 2003.
- BRITO, J. G. *Estudo sazonal de variáveis limnológicas de um lago de várzea da Amazônia Central, lago Catalão*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, 2006. 106p. (Dissertação de Mestrado).

- COUCEIRO, S. R. M.; FORSBERG, B. R.; HAMADA, N.; FERREIRA, R. L. M. Effects of an oil spill and discharge of domestic sewage on the insect fauna of Cururu stream, Manaus, AM, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v.66, p.35-44. 2006.
- COUCEIRO, S. R. M.; HAMADA, N.; FERREIRA, R. L. M.; FORSBERG, B. R.; SILVA, J. O. Domestic Sewage and Oil Spills in Streams: Effects on Edaphic Invertebrates in Flooded Forest, Manaus, Amazonas, Brazil. *Water, Air & Soil Pollution*, v.180, p.249-259. 2007.
- COUCEIRO, S. R. M.; HAMADA, N.; FORSBERG, B. R.; PADOVESI-FONSECA, C. Effects of anthropogenic silt on aquatic macroinvertebrates and abiotic variables in streams in the Brazilian Amazon. *Journal of Soils Sediments*, v.10, p.89-103. 2010.
- ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; MÓDENES, A. N.; THOMÉ, L. P.; PALÁCIO, S. M.; TRIGUEROS, D. E. G.; OLIVEIRA, A. P.; SZYMANSKI, N. Study of the bioaccumulation kinetic of lead by living aquatic macrophyte *Salvinia auriculata*. *Chemical Engineering Journal*, v.150, p.316-322. 2009.
- FREITAS, C. E. C.; RIVAS, A. A. F. Data collection to risk assessment of the fluvial transportation of oil and natural gas in the Amazon Basin - Piatam project, p.271-278. In: BREBIA, C. A. (Org.). *River Basin Management. Water Resources*, 1. ed. Wessex: WIT, v.7, 2003.
- GREEN, J.; TRETT, M. W. *The fate and effects of oil in freshwater*. London: Elsevier Applied Science, 1989. 338p.
- GUINEY, P. D.; SYKORA, J. L.; KELETI, G. Environmental impact of an aviation kerosene spill on stream water quality in Cambria County, Pennsylvania. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.6, p.977-988. 1987.
- JUNK, W. J. Áreas inundáveis: um desafio para a limnologia. *Acta Amazonica*, v.10, p.775-795. 1980.
- KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. *Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações*. Florianópolis: FATMA/GTZ, 2004. 288p.
- LYTLE, D. A.; PECKARSKY, B. L. Spatial and temporal impacts of a diesel fuel spill on stream invertebrates. *Freshwater Biology*, v.46, p.693-704. 2001.
- MARANHÃO, P.; BENGALA, N.; PARDAL, M.; MARQUES, J. C. The influence of environmental factors on the population dynamics, reproductive biology and productivity of *Echinogammarus marinus* Leach (Amphipoda, Gammaridae) in the Mondego estuary (Portugal). *Acta Oecologica*, v.22, p.139-152. 2001.
- MASNIK, M. T.; STAUFFER, J. R.; HOCUTT, C. H.; WILSON, J. H. The effects of an oil spill on the macroinvertebrates and fish in a small southwestern Virginia creek. *Journal of Environmental Science and Health*, v.4-5, p.281-296. 1976.
- MERRITT, R.W.; CUMMINS, K.W. 1996. *An Introduction to the aquatic insects of North America*. 3 ed. Iowa: Kendall / Hunt Publishing Company, 1996. 862p.
- MEZQUITA, F.; GRIFFITHS, H. I.; DOMINGUEZ, M. I.; LOZANO-QUILIS, M. A. Ostracoda (Crustacea) as ecological indicators: a case study from Iberian Mediterranean brooks. *Archiv für Hydrobiologie*, v.150, p.545-560. 2001.

- MORAN, M. D. Arguments for rejecting the sequential Bonferroni in ecological studies. *Oikos*, v.100, p. 403-405. 2003.
- PERELO, L. W. Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments. *Journal of Hazardous Materials*, v.177, p.81-89. 2010.
- PESO-AGUIAR, M. C.; SMITH, D. H.; ASSIS, R. C. F.; SANTA-ISABEL, L. M.; PEIXINHO, S.; GOUVEIA, E. P.; ALMEIDA, T. C. A.; ANDRADE, W. S.; CARQUEIJA, C. R. G.; KELMO, F.; CARROZZO, G.; RODRIGUES, C. V.; CARVALHO, G. C.; JESUS, A. C. S. Effects of petroleum and its derivatives in benthic communities at Baía de Todos os Santos/Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, v.3, p.459-470. 2000.
- PETRUCCI, F.; CAIMI, S.; MURA, G.; CAROLI, S. *Artemia* as a bioindicator of environmental contamination by trace elements. *Microchemical Journal*, v.51, p.181-186. 1995.
- PINEL-ALLOUL, B.; METHOT, G.; LAPIERRE, L.; WILLISIE, A. Macroinvertebrate community as a biological indicator of ecological and toxicological factors in Lake Saint-François (Québec). *Environmental Pollution*, v.91, p.65-87. 1996.
- PONTASCH, K. W.; BRUSVEN, M. A. Macroinvertebrate response to a gasoline spill in Wolf Lodge Creek, Idaho, USA. *Archiv für Hydrobiologie*, v.113, p.41-60. 1988.
- POULTON, B. C.; CALLAHAN, E. V.; HURTUBISE, R. D.; MUELLER, B. G. Effects of an oil spill on leafpack-inhabiting macroinvertebrates in the Chariton River, Missouri. *Environmental Pollution*, v.99, p.115-122. 1998.
- PRÓSPERI, V. A. *Aplicação de testes de toxicidade com organismos marinhos para a análise de efluentes industriais lançados em áreas estuarinas*. São Carlos: Escola de Engenharia de São Carlos, 1993.120p. (Dissertação de Mestrado).
- RICE, W. R.. Analysing tables as statistical tests. *Evolution*, v.43, p.223-225. 1989.
- RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. *Zoologia dos Invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva*. 7. ed.. São Paulo: Editora Roca, 2005. 1143p.
- SANTOS, I. N.; HORBE, A. M. C.; SILVA, M. S. R.; MIRANDA, S. A. F. Influência de um aterro sanitário e de efluentes domésticos nas águas superficiais do Rio Tarumã e Afluentes – AM. *Acta Amazonica*, v.36, n.2, p.229-236. 2006.
- SAUNDERS, J. F.; LEWIS, W. M. Composition and seasonality of the community of Lake Valencia, Venezuela. *Journal of Plankton Research*, v.10, p.957-985. 1988.
- SAUNDERS, J. F.; LEWIS, W. M. Zooplankton abundance in the lower Orinoco River, Venezuela. *Limnology and Oceanography*, v.34, p.397-409. 1989.
- SCHULZ, R. Using a freshwater amphipod in situ bioassay as a sensitive tool to detect pesticide effects in the field. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.22, p.1172-1176. 2003.
- SOARES, D. C. F.; OLIVEIRA, E. F.; SILVA, G. D. F.; DUARTE, L. P.; POTT, V. J.; VIEIRA-FILHO, S. A. *Salvinia auriculata*: Aquatic bioindicator studied by instrumental neutron activation analysis (INAA), *Applied Radiation and Isotopes*, v.66, p.561-564. 2008.

VAN LEEUWEN, C. J. Long-term toxicity testing and GLP, p.113-118. In: KRUIJF, H. A. M.; ZWART, D.; VISWANATHAN, P. N.; RAY, P. K. (Ed.). *Manual on Aquatic Ecotoxicology*. New Delhi: Allied Publishers Private Ltd., 1988.

WANDERLEY-FILHO, J. R.; CARNEIRO, F. A. C. A. Muito chão para pesquisar: sob o tapete verde da floresta ainda pode haver grandes reservas de óleo e de gás, p.85-89. In: CAPOZZOLI, U. *Amazônia: tesouros*. São Paulo: Scientific American Brasil, Duetto Editorial, 2008.

WILKINSON, L. SYSTAT – The System for Statistics. Evanston, IL: SYSTAT, Inc. 1998.

YAMAMOTO, T.; NAKAOKA, M.; KOMATSU, T.; KAWAI, H. Impacts by heavy-oil spill from the Russian tanker Nakhodka on intertidal ecosystems: recovery of animal community. *Marine Pollution Bulletin*, v.47, p.91-98. 2003.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. *Ecotoxicologia aquática: Princípios e Aplicações*. São Carlos: RIMA, 2006. 478p.



CAPÍTULO 16

EFEITO DA POLUIÇÃO DO IGARAPÉ DO EDUCANDOS (MANAUS, AMAZONAS, BRASIL) SOBRE OVOS E GIRINOS DE *OSTEOCEPHALUS TAURINUS* (ANURA, HYLIDAE)

*Jorge Felipe Oliveira FRANCO-DE-SÁ; Claudia KELLER;
Genilson Pereira SANTANA; Marcelo MENIN*

Abstract

The effects of short and long-term contamination by effluent from an urban stream of Manaus (Amazonas, Brazil) on eggs and tadpoles of *Osteocephalus taurinus* (Anura, Hylidae) were analyzed. To evaluate the acute effects of contamination, the LC50_{96h} test was performed, which exposed eggs and tadpoles in Gosner stage 25 to a gradient of concentrations increasing in geometric progression over a period of 96 hours. Eggs were less resistant to contamination than tadpoles. The LC50_{96h} was 47.63 mL/L for tadpoles and 25.19 mL/L for eggs. Tadpoles from eggs exposed to lower concentrations had abdominal edema after 96h. Long term effects of the contamination were evaluated through chronic exposure to low concentrations (9, 18 and 36 mL/L) of urban sewage on tadpoles in Gosner stage 25 until they reached metamorphosis. The duration of the larval period and size of tadpoles at metamorphosis increased significantly for the highest concentration. Our results showed that tadpoles suffered acute intoxication that causes significant mortality at dilutions as low as 5% of the polluted water of the Educandos stream (less than a 3% dilution for newly hatched larvae). At sub-lethal dilutions, however, negative effects were limited and even a positive effect on tadpole size at metamorphosis was observed. The likely explanation is that the observed effects were caused by a substance (or combination of substances) that are very toxic at higher concentrations, but beneficial at lower ones, like nitrogen compounds, for example.

INTRODUÇÃO

Os anfíbios são especialmente vulneráveis à contaminação ambiental, pois a maioria das espécies depende tanto dos ambientes terrestres quanto aquáticos em diferentes fases da vida. Cerca de 70% das espécies de anfíbios possuem ciclo de vida com ovos e larvas aquáticas (SPARLING et al., 2000). Mais de 5.900 espécies de anuros são conhecidas hoje (FROST, 2011), das quais mais de um terço acredita-se estar ameaçada ou extinta (IUCN, 2012). Particularmente, desde a década de 1990 ocorreram muitos relatos de declínios de populações e extinções de muitas espécies de anfíbios, e isto está relacionado com o aumento da contaminação ambiental, alterações climáticas e doenças emergentes (BLAUSTEIN e WAKE, 1990; DASZAK et al., 1999; HOULAHAN et al., 2000). Além da mortalidade direta, os efeitos conhecidos de contaminantes aquáticos sobre ovos e larvas de anfíbios incluem diminuição da taxa de eclosão dos ovos (KARASOV et al., 2005), aumento da susceptibilidade à predação (BROOMHALL, 2002), infecções (JOHNSON et al., 2002), redução do desempenho natatório (BURKHART et al., 1998; HOPKINS et al., 2000), redução do tamanho na metamorfose (ANDRÉN et al., 1988; WARNER et al., 1991; KUTKA, 1994; MAHANEY, 1994), alteração de taxas metabólicas (ROWE et al., 1998), desregulação endócrina (HAYES et al., 2002; HAYES et al., 2006), danos às brânquias (MCGRATH e ALEXANDER, 1979), além de malformações (JOHNSON e CHASE, 2004).

Enquanto os efeitos de contaminantes em peixes amazônicos tem sido bem documentados (VAL e ALMEIDA-VAL, 1999; AFFONSO et al., 2004), informações sobre as respostas dos anfíbios amazônicos a contaminantes ambientais são praticamente inexistentes (NASCIMENTO et al., este volume). A expansão planejada de rodovias e construção de grandes empreendimentos hidrelétricos na região nas próximas décadas aumentará a expansão urbana e agrícola na Amazônia brasileira (LAURANCE et al., 2002), levando a um aumento da contaminação de rios e córregos. Os parâmetros hidrológicos das águas amazônicas são distintos dos de outras bacias hidrográficas no Brasil (SIOLI, 1990; GEOMANAUS, 2002), portanto, é provável que as faixas de tolerância fisiológica de ovos e larvas de anfíbios que habitam rios e lagos da Amazônia sejam diferentes das de anfíbios não amazônicos. Neste contexto, é relevante avaliar o efeito da contaminação da água sobre anfíbios amazônicos, para prever níveis de impacto sobre diferentes espécies, especialmente considerando possíveis efeitos de sinergia relacionados a mudanças climáticas (DAVIDSON et al., 2001; PAHKALA et al., 2002; ALFORD et al., 2007).

Manaus, capital do estado do Amazonas, Brasil, possui quase dois milhões de habitantes e um distrito industrial operante com 600 indústrias

(SUFRAMA, 2012). Tanto efluentes domésticos como industriais não são tratados, sendo descartados diretamente nos riachos (conhecidos na região como “igarapés”) que atravessam a cidade e que, por isso, estão fortemente poluídos. A contaminação leva, em geral, a um aumento no pH da água naturalmente ácida na região, eutrofização, aumento da concentração de metais de transição (SILVA et al., 1999; MELO et al., 2005; SANTANA e BARRONCAS, 2007), bem como da concentração de nitrogênio amoniacal (GEOMANAUS, 2002).

Os ambientes marginais de poças e baixios associados aos igarapés também são habitats importantes para desova e desenvolvimento de larvas de anfíbios. Eles são formados normalmente pelo transbordamento dos rios e igarapés na época de chuvas. Os contaminantes provenientes da água poluída do igarapé se acumulam nestes ambientes lênticos, potencializando os efeitos de algumas substâncias. Por exemplo, a matéria orgânica proveniente de efluentes domésticos que se acumula nas poças sofre ação de bactérias anaeróbicas, formando amônia, sulfetos, fosfatos e ácidos graxos como o ácido acético, propiônico e butírico que, dependendo de sua concentração, pode diminuir o pH da água (REIS e MENDONÇA, 2009; NAYONO, 2010). O presente estudo teve como objetivo analisar os efeitos agudos e crônicos da exposição à água poluída de um dos principais igarapés de Manaus (Igarapé do Educandos), após sofrer processos naturais de decomposição, sobre o desenvolvimento de ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus*, um hilídeo de ampla distribuição em floresta de terra firme na Amazônia Central. *Osteocephalus taurinus* deposita suas desovas em poças temporárias de margem de igarapés (HERO, 1990; LIMA et al., 2006). Sua ubiquidade e uso de poças marginais fazem com que esta espécie seja suscetível à contaminação por água poluída. O grande número de ovos de suas desovas (por volta de 2000, LIMA et al., 2006) a torna propícia para procedimentos experimentais com ovos e larvas (MONTEIRO, 2004). A avaliação foi realizada por meio de experimentos laboratoriais, a fim de controlar as variáveis ambientais.

MATERIAL E MÉTODOS

Origem e manutenção dos organismos testados

Oito desovas de *O. taurinus* no estágio de ovos foram coletadas na Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus, AM, Brasil (02°55'-03°01'S, 59°53'-59°59'W), em fevereiro de 2008, por remoção direta de poças temporárias. No laboratório as desovas foram mantidas de forma individualizada em

caixas plásticas de 65cm x 45cm x 20cm contendo água de poço, com aeração constante. A temperatura do laboratório foi mantida entre 23 e 26 °C e a umidade relativa do ar entre 45 e 90%. Os girinos foram alimentados à vontade com ração comercial para roedores (Pasto Verdi - Zootecna®) a cada dois dias. As condições de cultivo em laboratório das larvas desta espécie já haviam sido testadas e ajustadas em um trabalho anterior (MONTEIRO, 2004).

Origem e manutenção da água do Igarapé

Para atuar como contaminante, foi utilizada água coletada do Igarapé do Educandos (03°08'12,1"S, 60°00'34,4"W) em Manaus (Amazonas, Brasil), no dia 22/01/2008, uma área comprovadamente contaminada com efluentes domésticos e industriais (GEOMANAUS, 2002). A água foi levada para o local dos experimentos e mantida em descanso em tonéis de polietileno de 200 L com uma pequena abertura na superfície para a saída dos gases produzidos durante a decomposição. Os tonéis foram mantidos do lado de fora do prédio do laboratório até a estabilização do pH.

Durante a decomposição bioquímica da matéria orgânica presente no esgoto, uma grande variedade de bactérias saprófitas hidrolisam e convertem o material complexo em compostos de menor peso molecular. Entre esses compostos os principais são os ácidos graxos de cadeia curta, que fazem com que ocorra diminuição do pH. Valores de pH inferiores a 5,0 inibem a ação das bactérias saprófitas, interrompendo o processo de decomposição (REIS e MENDONÇA, 2009; NAYONO, 2010). Esse efeito foi observado na água do Igarapé do Educandos, cujo pH inicial foi de 6,5, passando a estabilizar-se em 4,5 após 20 dias. Com a estabilização do pH e consequente interrupção da decomposição, os componentes presentes na água também se estabilizaram e, desse modo, todos os experimentos puderam ser realizados com a água contendo níveis similares de compostos.

Desenho experimental

Para simular os efeitos de água contaminada em poças (ambiente lântico) sobre ovos e girinos de *O. taurinus*, três experimentos foram realizados. O primeiro experimento teve por objetivo estimar os efeitos agudos da água contaminada sobre a sobrevivência e o desenvolvimento de ovos e girinos. O segundo testou o efeito da hipóxia sobre a mortalidade dos

girinos e o terceiro experimento estimou os efeitos de longo prazo da água contaminada sobre o desenvolvimento dos girinos.

Efeitos agudos da água contaminada – teste de CL50

A CL50 é um teste padronizado que determina a concentração de uma substância ou combinação de substâncias que causa 50% de mortalidade de um grupo de organismos que, neste estudo, foram ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus*. O teste permitiu estabelecer a susceptibilidade desses dois estágios de desenvolvimento em uma série crescente de concentrações da água contaminada.

O intervalo entre as revisões e os níveis de concentração foram definidos de acordo com o protocolo de Sprague (1990) em sequência 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 contaminante foi de 96 horas.

As concentrações de água contaminada utilizadas foram 16, 20, 27, 36, 48, 60, 75, 90 e 117 mL/L. Foram utilizadas 3 réplicas para cada concentração. Uma réplica consistiu em um recipiente plástico de 2 L, com 1,5 L de água, contendo 15 ovos ou girinos. O mesmo número de réplicas com água sem contaminante foi utilizado como controle. Foram utilizadas no experimento três desovas, sendo que cada uma das três réplicas de cada concentração foi de uma desova diferente.

Em cada revisão (8, 13, 19, 28, 43, 64 e 96 horas após o início do experimento) foi registrado o número de girinos vivos e o estágio de desenvolvimento em que se encontravam. No experimento com girinos também foi registrada, em cada revisão, a concentração de nitrogênio amoniacal e pH. Os valores considerados foram as médias das três réplicas. O nitrogênio amoniacal na forma de amônia total foi medido usando kits de teste de amônia para aquários de água doce (Labcon Test da Alcon). Nesse kit utilizamos dois reagentes (Reagente 1 = Fenol, nitroprussiato de sódio, álcool isopropílico, água destilada; Reagente2 = Hidróxido de sódio, hipoclorito de sódio, água destilada) e, por meio de uma tabela de cores, obtivemos uma estimativa da concentração da amônia total em ppm e, utilizando uma segunda tabela, relacionamos o valor de amônia total com valores de pH e temperatura para obter o teor de amônia tóxica NH_3 . O pH foi medido usando um pHmetro portátil (YSI 63/ modelo 63-10 FT). O estágio de desenvolvimento dos indivíduos foi determinado de acordo com a tabela

de Gosner (1960), como: ovo, larva imóvel, larva com brânquias e girino livre natante. Os girinos imóveis e os ovos foram considerados mortos quando perderam a cor preta natural e ficaram acinzentados, confirmado pelo não desenvolvimento e início de decomposição em revisões posteriores. A CL50 foi calculada usando o programa LC50 (HAMILTON et al., 1978).

Efeitos agudos da concentração de oxigênio

Considerando que durante a decomposição da matéria orgânica pode ocorrer uma redução do oxigênio dissolvido, realizamos um experimento para verificar se a mortalidade no experimento de CL50 poderia ser devida ao efeito da hipóxia (redução da concentração de oxigênio na água), já que não utilizamos aeradores durante os testes de CL50. Usamos dois tratamentos: aeração, com dois níveis (com aerador e sem aerador), e concentração de água contaminada, com três níveis (36, 48, 60 mL/L) e um controle com água sem contaminante. Os níveis de concentração usados foram os mais baixos no teste de CL50 para ovos nos quais todos os girinos morreram.

Para cada combinação de tratamentos e níveis foram usadas três réplicas. Uma réplica consistiu em um recipiente plástico de 2 L com 1,5 L de água, contendo 15 ovos. Foram utilizadas no experimento três desovas, sendo que cada uma das três réplicas de cada concentração foi de uma desova diferente. O experimento foi iniciado com todos os indivíduos em forma de ovo de 1-2 dias de idade. As revisões foram feitas com a mesma frequência do teste de CL50 e, em cada revisão, foram registrados o número de girinos vivos e o estágio de desenvolvimento em que se encontravam, segundo Gosner (1960).

Efeitos crônicos do contaminante

Para a análise do efeito crônico da contaminação sobre o desenvolvimento dos girinos de *O. taurinus* até a metamorfose, 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. Para cada concentração foram utilizadas 50 réplicas, cada réplica com um indivíduo, mantido em recipiente plástico de 2 L, contendo 1,5 L de água de poço completada com a quantidade de água contaminada equivalente ao nível de concentração em questão. Também foram utilizadas 50 réplicas como controle em água sem contaminante. Foram utilizados

girinos de cinco desovas, sendo que cada 10 réplicas das 50 de cada nível de teste eram de uma desova diferente. Os girinos foram expostos ao tratamento a partir do 15º dia de vida, no estágio 25 de Gosner e foram monitorados até o estágio 42 de Gosner (metamorfose, correspondendo à data de extrusão de pelo menos um dos membros dianteiros).

Os girinos foram medidos no dia do início do experimento e no estágio 41 de Gosner, imediatamente anterior à metamorfose. O tamanho dos girinos não se altera entre os estágios 41 e 42, mas a cauda começa a ser absorvida logo após a metamorfose, o que poderia gerar subestimativas nas medidas de tamanho final. Os girinos foram alimentados a cada dois dias com ração para coelho e a água foi trocada semanalmente.

Metais de transição

A concentração dos metais pesados Co, Cu, Fe, Cr, Ni, Mn, Pb e Zn presentes na água coletada do Igarapé do Educandos foi determinada no Laboratório de Química Ambiental na Universidade Federal do Amazonas (UFAM), 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 por serem os mais encontrados em igarapés poluídos de Manaus (SANTANA e BARRONCAS, 2007).

Análise dos dados

As variáveis dependentes no experimento de efeitos crônicos foram: (a) sobrevivência (número de indivíduos que sobreviveram até a metamorfose em cada tratamento), (b) duração do período larvário (número de dias desde a data da desova até a data da metamorfose), (c) tamanho na metamorfose (comprimento total, do focinho até o final da cauda, medido em estágio 41 de Gosner), e (d) taxa de crescimento (diferença entre o comprimento inicial e o comprimento final, dividido pelo número de dias decorridos entre o início do experimento e a data de metamorfose). Os dados das variáveis dependentes foram comparados entre níveis de tratamento por meio de análise de variância (ANOVA), usando o tamanho inicial dos girinos como co-variável nos modelos. Cada variável também foi comparada entre desovas por meio de análise de variância (ANOVA). 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 pelo emprego do qui-quadrado (χ^2).

RESULTADOS

Efeitos agudos do contaminante – teste de CL50

Ovos e as respectivas larvas recém eclodidas de *O. taurinus* foram mais resistentes à água contaminada que os girinos que iniciaram o teste em estágio 25 de Gosner, resultando em valores mais elevados de CL50 para ovos que para girinos (Tabela 1). A CL50 96 h para o experimento com girinos foi de 47,63 mL/L, enquanto que para o experimento com ovos foi de 25,19 mL/L. Para os ovos se observou mortalidade em qualquer concentração apenas a partir das 13 horas de experimento (Figura 1), enquanto para os girinos houve mortalidade de até 100% após 8 horas de exposição (Figura 2). Por outro lado, houve 100% de sobrevivência de girinos após 96 horas até 36 mL/L, enquanto que ovos/larvas recém eclodidas tiveram sobrevivência 100% apenas na concentração mais baixa equivalente a 16 mL/L.

Tabela 1 - Valor de CL50 para 96 horas e limites do intervalo de confiança de 95% (entre parênteses) para cada intervalo de tempo de exposição de ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus* a diferentes concentrações de água contaminada do Igarapé do Educandos, na cidade de Manaus (Amazonas, Brasil).

Número de horas de exposição	CL50 _{96h} (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)

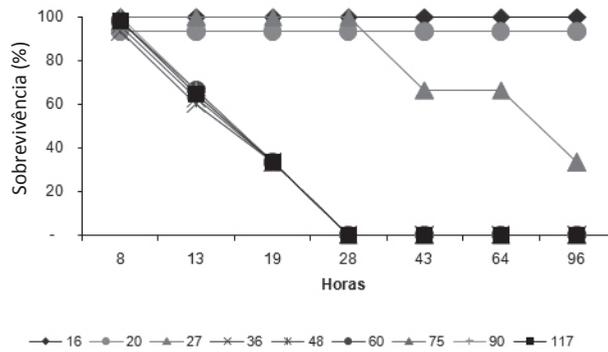


Figura 1

Proporção de ovos/larvas eclodidas sobreviventes de *Osteocephalus taurinus* para cada intervalo de tempo durante a exposição a concentrações crescentes de água contaminada do Igarapé do Educandos (Manaus, Brasil) no teste de CL50₉₆. Cada linha e símbolo representam uma concentração teste (mL/L) e cada ponto representa a média de três réplicas.

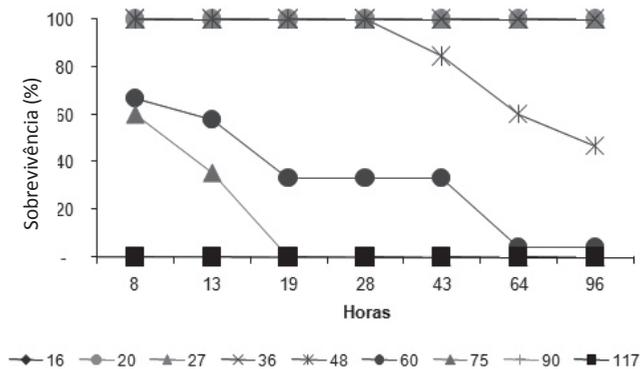


Figura 2

Proporção de girinos sobreviventes de *Osteocephalus taurinus* para cada intervalo de tempo durante a exposição à concentrações crescentes de água contaminada do Igarapé do Educandos (Manaus, Brasil) no teste de CL50₉₆. Cada linha e símbolo representam uma concentração teste (mL/L) e cada ponto representa a média de três réplicas.

A eclosão dos ovos ocorreu entre oito e 13 horas após o início do experimento. Até 19 horas as larvas permaneceram na fase imóvel e, após 28 horas, já apresentaram brânquias e movimentos natatórios. Após 96 horas de experimento foi observado um atraso no desenvolvimento larvário dos ovos expostos a concentração 27 mL/L. Com 96 horas de exposição as larvas do grupo controle se encontravam no estágio 25 de Gosner, enquanto que na concentração de 27 mL/L, a concentração mais alta com larvas sobreviventes neste experimento, as larvas estavam entre os estádios 23 e 24 de Gosner.

Alguns girinos resultantes da eclosão dos ovos no experimento com ovos apresentaram edemas na região abdominal (12,5 % dos girinos na concentração de 20 mL/L, 18,8% em 27 mL/L e 18,8% em 36 mL/L). Os edemas não foram observados no experimento com girinos.

Não foram observadas variações significativas no pH no decorrer do tempo do experimento dentro de cada concentração, porém, foi observada uma pequena diminuição do pH nas concentrações mais altas quando comparadas ao controle. O grupo controle apresentou o pH mais alto de 5,7 e a concentração mais elevada (117 mL/L) apresentou o pH mais baixo de 4,7. No início do experimento as concentrações de amônia não ionizada NH_3 estiveram em zero (níveis não detectáveis) em todos os tratamentos, entretanto, após 8 horas foi observado um aumento nos níveis de NH_3 nas concentrações mais altas, e após 19 horas todos os tratamentos apresentavam níveis mais elevados de amônia em relação ao início do experimento (Tabela 2).

Tabela 2 - Variação da concentração de amônia total ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) e de amônia não ionizada (NH_3) em cada nível de tratamento e no controle (0) no decorrer do tempo do experimento de CL50_{96} de larvas de *Osteocephalus taurinus*. Cada valor representa a média calculada das três réplicas. Fora dos parênteses estão os valores de $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ e dentro os valores de NH_3 em mg/L. Consideramos como zero os valores abaixo dos limites de detecção, <0,25 para ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) e <0,001 para (NH_3). No tempo zero todos os tratamentos estavam abaixo dos limites de detecção.

Tratamento (mL/L) / $\text{NH}_3 +$ NH_4^+ (NH_3)	Tempo em horas						
	8	13	19	28	43	64	96
0	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
16	0(0)	0(0)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,5(0,001)	1(0,002)
20	0(0)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,5(0,001)	1(0,002)
27	0(0)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,5(0,001)	1(0,002)
36	0(0)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,5(0,001)	1(0,002)
48	0(0)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,5(0,001)	1(0,002)
60	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,5(0,001)	0,5(0,001)	1(0,002)
75	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,5(0,001)	0,5(0,001)	0,5(0,001)	1(0,002)	2(0,005)
94	0,25(0,001)	0,25(0,001)	0,5(0,001)	0,5(0,001)	1(0,002)	1(0,002)	2(0,005)
117	0,25(0,001)	0,5(0,001)	0,5(0,001)	0,5(0,001)	1(0,002)	1(0,002)	2(0,005)

Efeitos da concentração de oxigênio na água

Nenhuma diferença foi observada entre os tratamentos, tanto em relação à sobrevivência, quanto ao desenvolvimento larvário. A mortalidade foi de 70% dos girinos nas três concentrações após 28 horas, e de 100% após 64 horas de exposição, independentemente do nível de aeração da água. Os girinos expostos à concentração de 36 mL/L morreram entre os estádios 18 e 19 de Gosner, já nas concentrações 48 mL/L e 60 mL/L a mortalidade ocorreu entre os estádios 17 e 19 de Gosner. As larvas do grupo controle alcançaram o estágio 25 de Gosner após 96 horas de experimento, independentemente do nível de aeração da água.

Efeitos crônicos do contaminante

Sobrevivência - Não houve diferença significativa na sobrevivência entre concentrações de água contaminada e o controle ($\chi^2 = 1,38$; $p = 0,712$). A porcentagem de sobreviventes variou entre 88% e 96%, incluindo o controle.

Duração do período larvário - Houve diferença significativa na duração do período larvário entre concentrações de água contaminada e o controle ($F_{(3,175)} = 3,035$; $p = 0,031$; Figura 3), o que se deveu à diferença significativa entre as concentrações de 18 mL/L e 36 mL/L. Não houve nenhuma outra diferença significativa entre níveis de tratamento e controle. O comprimento inicial dos girinos ($F_{(1,175)} = 0,478$; $p = 0,490$) e desova ($F_{(4,175)} = 1,617$; $p = 0,172$) não teve efeito significativo no modelo.

Tamanho na metamorfose - Houve diferença significativa do tamanho na metamorfose entre as concentrações de água contaminada e o controle ($F_{(3,180)} = 3,248$; $p = 0,023$; Figura 3), o que se deveu ao tamanho significativamente maior dos girinos na concentração de 36 mL/L em relação ao controle. Não houve diferença significativa entre o controle e as concentrações de 9 e 18 mL/L. O tamanho inicial dos girinos não teve efeito significativo no modelo ($F_{(1,180)} = 2,080$; $p = 0,151$), enquanto que a identidade da desova teve efeito significativo ($F_{(4,180)} = 17,166$; $p < 0,0001$).

Taxa de crescimento - Não houve diferença significativa nas taxas de crescimento entre as concentrações de água contaminada e o controle ($F_{(3,176)} = 2,140$; $p = 0,097$; Figura 3). A identidade da desova ($F_{(4,174)} = 27,858$; $p < 0,0001$) teve efeito significativo no modelo.

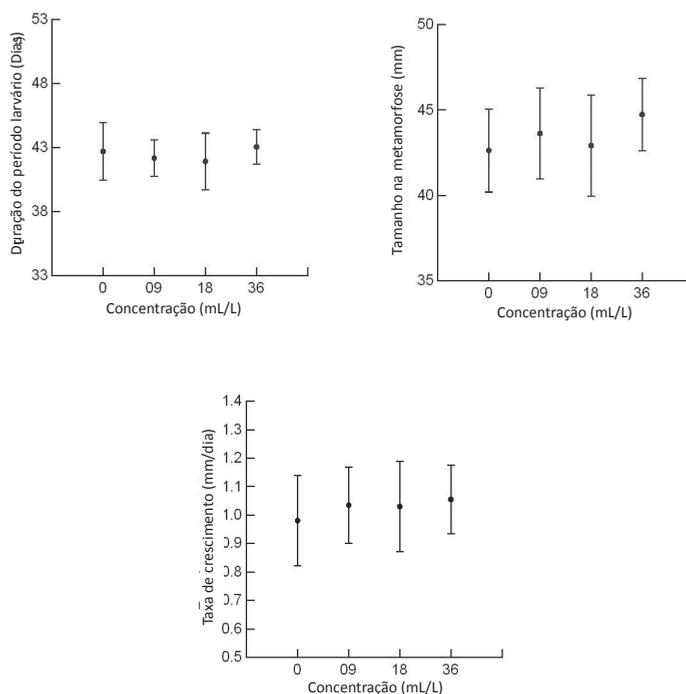


Figura 3

Duração do período larvário, tamanho na metamorfose e taxa de crescimento dos girinos de *Osteocephalus taurinus* submetidos a diferentes concentrações de água contaminada do Igarapé do Educandos (Manaus, Amazonas, Brasil) e do controle. Os pontos representam a média de 50 réplicas, enquanto as barras representam o desvio padrão.

Metais de transição

Os metais Fe, Ni, Mn, Cr e Pb apresentaram valores acima dos recomendados para águas brasileiras de classe 1 (águas que podem ser destinadas à proteção das comunidades aquáticas) (Tabela 3), segundo a Resolução n.º 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) no contaminante puro. Quando foram diluídos nas diferentes concentrações experimentais, o único metal que permaneceu acima dos valores recomendados foi o ferro (0,42 mg/L na concentração 117mL/L), um pouco acima dos 0,3 mg/L recomendados pelo CONAMA.

Tabela 3 - Concentração de metais pesados (média \pm SD) presentes na água do Igarapé do Educandos (Manaus, Amazonas, Brasil) em janeiro 2008 e valores máximos correspondentes recomendados pelo CONAMA. Os resultados correspondem à média de três repetições. O Cu e o Co ficaram abaixo do limite de detecção do método que é de 0,02 e 0,05 respectivamente.

Metais	Concentração (mg/L)	CONAMA (mg/L)
Fe	3,60 \pm 0,04	0,30
Zn	0,13 \pm 0,02	0,18
Ni	0,08 \pm 0,03	0,02
Mn	0,17 \pm 0,02	0,10
Cu	< 0,02	0,01
Cr	0,20 \pm 0,01	0,05
Pb	0,19 \pm 0,02	0,01
Co	< 0,05	0,05

DISCUSSÃO

Os corpos d'água são raramente contaminados por uma única substância e a combinação de agentes estressores em água poluída potencializa os efeitos negativos sobre as populações de anfíbios (BOONE et al., 2007). Apesar de não ter sido determinado o efeito específico de contaminantes individuais medidos na água do Igarapé do Educandos (alguns metais de transição e NH_3) ou de qualquer outro agente estressor dos que compõe o efluente que polui este igarapé, provavelmente o aumento da mortalidade e a alteração de parâmetros de desenvolvimento observados não foram provocados por uma substância isolada, mas pela interação de várias substâncias e de vários fatores ambientais. Por exemplo, a toxicidade da amônia não ionizada NH_3 tem uma relação direta com a variação do pH e da temperatura (REIS e MENDONÇA, 2009; NAYONO, 2010). A biodisponibilidade de metais de transição também depende de uma série de parâmetros químicos como pH, temperatura, alcalinidade, carbono orgânico dissolvido (COD), Ca, Mg, Na, K, SO_4 , Cl^- e S (DI TORO et al., 2001).

Nossos resultados descartam a hipótese de que o aumento da mortalidade de larvas de *Osteocephalus taurinus* tenha ocorrido em decorrência da hipóxia. Provavelmente, a água de poço utilizada para diluir a água contaminada possuía oxigênio dissolvido suficiente para manter os

girinos vivos, reforçando a conclusão de que os efeitos observados foram causados pelos contaminantes presentes na água do Igarapé do Educandos. A concentração de alguns metais de transição na água poluída coletada naquele igarapé foi mais elevada que a recomendada pela Resolução n.º 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) para águas de classe 1 (águas que podem ser destinadas à proteção das comunidades aquáticas). Muitos estudos já foram realizados sobre os efeitos de metais pesados presentes em corpos d'água em representantes da fauna aquática. Por exemplo, Rowe et al. (1998), observaram que girinos de *Lithobates catesbeianus* (Ranidae) expostos a áreas contaminadas com grande quantidade de metais (Al, As, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Se e Zn) apresentavam deformações na região oral e diminuição na sua taxa de sobrevivência. Girinos de *Pelophylax ridibundus*, expostos de forma crônica ao cádmium e ao cromo, apresentaram redução na sua taxa de sobrevivência e mudanças no formato dos eritrócitos em relação ao controle (STEPANYAN et al., 2011).

Efeitos agudos da água contaminada – teste de CL50

O aumento da concentração de NH_3 foi maior e mais acelerado nas concentrações teste mais altas, indicando uma relação entre a proporção de contaminantes na água e a produção de NH_3 . Isso provavelmente foi devido à presença de uma fauna microbiana no contaminante que, ao ser adicionado na água limpa com pH ligeiramente maior em relação aos 4,5 do contaminante puro, fez com que reiniciasse o processo de decomposição da matéria orgânica presente na água, produzindo mais amônia. A concentração mais elevada de NH_3 encontrada no experimento foi de 0,005 mg/L após 96 horas nas três concentrações teste mais altas, valor muito abaixo da concentração máxima recomendada pela Resolução n.º 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) para águas de classe 1, que é de 0,02 mg/L.

O nitrogênio inorgânico (NH_3 , NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-) pode interferir de forma negativa no crescimento, no ganho de peso e na sobrevivência de girinos (SCHUYTEMA e NEBEKER, 1999; ORTIZ-SANTALIESTRA et al., 2006; SHINN et al., 2008). As principais fontes de nitrogênio inorgânico no mundo são os fertilizantes. Porém, na região de Manaus a principal fonte desses poluentes são os esgotos domésticos ricos em matéria orgânica que, após se decompor, formam amônia, nitrito e nitrato (GEOMANAUS, 2002). Mesmo sendo muito instável em ambiente natural, a amônia pode provocar uma redução na sobrevivência de girinos de *Bufo bufo* (Bufonidae) e *Rana temporaria* (Ranidae) expostos ao nitrato de amônia (WIJER et al., 2003).

Nas concentrações 20, 27 e 36 mL/L alguns girinos apresentaram edemas abdominais. Uma série de fatores pode estimular a formação de edemas em anfíbios, como infecções por bactérias, vírus, intoxicação por pesticidas ou por fertilizantes (LANGAN, 2003; SAYIM e KAYA, 2006). Girinos de *Anaxyrus terrestris* (Bufonidae) expostos ao fertilizante nitrato de sódio apresentaram inchaços no corpo, o que sugere que o nitrato poderia estar interferindo nos mecanismos de osmorregulação desses animais (LANGAN, 2003). Krishnamurthy et al. (2006) também observaram inchaços no corpo de girinos de *Nyctibatrachus major* (Ranidae) expostos a diferentes concentrações de nitrato. Em igarapés contaminados o NH_3 pode ser convertido por bactérias nitrificantes em nitrato, portanto, o aumento de NH_3 medido nas réplicas do experimento com girinos de CL50 pode ter contribuído para o aumento dos níveis de nitrato. Assumindo que a produção de NH_3 foi semelhante nas réplicas do experimento com ovos, o nitrato produzido poderia ter causado os edemas. Alguns elementos como, por exemplo, alguns metais de transição podem inibir a ação da Na^+ , K^+ -ATPase, interferindo no sistema osmorregulatório com a consequente formação de um edema (AY et al., 1999).

No experimento com ovos, a mortalidade só iniciou após a eclosão das larvas, indicando que o invólucro gelatinoso dos ovos constitui-se em uma proteção efetiva contra o contaminante, mesmo nas concentrações mais altas da água testada do igarapé. A mortalidade chegou a 100% na fase em que as larvas adquiriram brânquias, provavelmente devido à maior permeabilidade das brânquias, facilitando a entrada de contaminantes no corpo do girino (ver Figura 1). No experimento com girinos, que iniciou no estágio 25 de Gosner, o desenvolvimento larvário já não passa por mudanças tão dramáticas como aquelas observadas após a eclosão. Se observou uma evolução da mortalidade diretamente ligada ao aumento da concentração de água contaminada (ver Figura 2). O fertilizante nitrato de amônio gerou efeitos diferenciais sobre diferentes estágios larvais de *Discoglossus galganoi* (Alytidae), *Pelobates cultripes* (Pelobatidae), *Epidalea calamita* (Bufonidae) e *Hyla meridionalis* (Hylidae) (ORTIZ-SANTALIESTRA et al., 2006). Os resultados combinados dos dois experimentos de CL50 indicaram que ovos e larvas de *Osteocephalus taurinus* sofrem mortalidade aguda massiva a partir de níveis muito baixos de contaminação de água por esgoto doméstico, equivalente aos 20 mL/L utilizados nos nossos testes.

Efeitos crônicos do contaminante

Os girinos submetidos a 36 mL/L, concentração sub-letal mais alta testada, tiveram um aumento modesto na duração do período larvário em relação à concentração menor, mas não em relação ao controle. Larvas de anfíbios apresentam grande plasticidade na duração do período larvário em resposta a estressores ambientais, de modo que, quando expostos a alguns contaminantes, a duração do período larvário pode ser igual, mais longa ou mais curta que a do controle (XU e OLDHAM, 1997; BRIDGES, 2000; GREULICH e PFLUGMACHER, 2003; MONTEIRO, 2004). Um aumento na duração do período larvário pode implicar em maior risco acumulado de morte por predação (OLIVEIRA, 1986), desde que a população de predadores não diminua em função da contaminação. Um aumento na duração do período larvário também aumenta o risco de morte por dessecação para as larvas de *O. taurinus*, que vivem em poças temporárias (DENVER, et al., 1998; MOREY, 1998).

Girinos de *Lithobates catesbeianus* expostos a ambientes poluídos tiveram menor tamanho corporal que os controles, provavelmente porque os girinos contaminados tiveram que desviar energia do crescimento para suprir os custos metabólicos da desintoxicação (ROWE et al., 1998). Por outro lado, girinos expostos a concentrações sub-letais de fertilizantes a base de nitrato tiveram um aumento na massa corporal em relação ao controle, sugerindo que pequenas concentrações de nitrato aumentaram a produção de fitoplâncton e, portanto, a disponibilidade de alimento para os girinos (BOONE et al., 2007; WIJER et al., 2003). Essa pode ser uma possível explicação para o aumento do tamanho corporal dos girinos expostos à água contaminada. Durante o experimento os girinos foram alimentados, mas um aumento na produção de fitoplâncton na água contaminada poderia servir como uma fonte a mais de nutrientes para os girinos.

O efeito mais forte que observamos no experimento de exposição crônica foi o da identidade das desovas, que responderam de modo significativamente diferente à exposição ao contaminante no tamanho da metamorfose e na taxa de crescimento. Efeitos genéticos parentais podem contribuir para a plasticidade diferencial na sobrevivência e crescimento entre os girinos de uma mesma população (WOODWARD e TRAVIS, 1991; GIRISH e SAIDAPUR, 1999; SAIDAPUR e GIRISH, 2001), indicando que o nível de susceptibilidade à contaminação variou entre as desovas.

Nesses experimentos tentou-se simular o que poderia ocorrer no ambiente natural quando poças utilizadas para desova por *O. taurinus* são

contaminadas pela água de um igarapé poluído na região de Manaus. Os resultados aqui apresentados indicam que os ovos e larvas da espécie são resistentes a concentrações muito baixas de contaminação. Mas, a partir de concentrações equivalentes aos 20-40 mL/L utilizadas neste estudo, o impacto sobre as larvas é significativo, tendo como resultado altas taxas de mortalidade. Em ambiente natural os efeitos poderão ser mais intensos que os observados, dependendo da concentração de água contaminada, do estágio de desenvolvimento em que o animal foi exposto, e do estágio de decomposição da matéria orgânica presente na poça.

É possível concluir que *O. taurinus* é uma espécie de alta sensibilidade à contaminação de seu habitat por efluente doméstico e industrial, sofrendo alta mortalidade em curto prazo a partir de 3-4% da concentração de poluição encontrada hoje em um dos principais igarapés da cidade de Manaus. Em concentrações abaixo deste nível as larvas da espécie parecem não sofrer efeitos significativos em seus parâmetros de desenvolvimento. Nosso estudo também sugere que o nível de susceptibilidade à contaminação pode variar significativamente entre desovas, o que pode ter implicações importantes na avaliação do impacto da contaminação dentro de e entre diferentes populações de uma mesma espécie de anfíbio. Testes ecotoxicológicos de larvas de *O. taurinus* realizados com água de outros igarapés de Manaus apresentaram resultados diferentes dos encontrados no presente estudo (NASCIMENTO et al., este volume).

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo apoio financeiro (processo #555268/2006-3) e bolsa de Produtividade em Pesquisa concedida para MM (processo #302516/2011-5); à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas pela bolsa de mestrado concedida a JFOFS; a Aída Repolho pelo auxílio nas atividades de campo e laboratório.

REFERÊNCIAS

AFFONSO, E. G.; POLEZ, V. L. P.; CORRÊA, C. F.; MAZON, A. F.; ARAÚJO, M. R. R.; MORAES, G.; RANTIN, F. T. Physiological responses to sulfide toxicity by the air-breathing catfish, *Hoplosternum littorale* (Siluriformes, Callichthyidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, v.139, p.251-257. 2004.

- ALFORD, R. A.; BRADFIELD, K. S.; RICHERDS, S. J. Global warming and amphibian losses. *Nature*, v.447, n.31, p.E3-E4. 2007.
- ANDRÉN, C.; HENRIKSON, L.; OLSSON, M.; NILSON, G. Effects of pH and aluminium on embryonic and early larval stages of Swedish brown frogs *Rana arvalis*, *R. temporaria* and *R. dalmatina*. *Holarctic Ecology*, v.11, p.127-135. 1988.
- AY, O.; KALAY, M.; TAMER, L.; CANLI, M. Copper and lead accumulation in tissues of freshwater fish *Tilapia zillii* and its effects on the branchial Na⁺/K⁺ - ATPase activity. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v.62, p.160-168. 1999
- BLAUSTEIN, A. R.; WAKE, D. B. Declining amphibian populations: a global phenomenon? *Trends in Ecology and Evolution*, v.5, p.203-204. 1990.
- BRIDGES, C. M. Long-term effects of pesticide exposure at various life stages of the southern leopard frog (*Rana sphenoccephala*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.39, p.91-96. 2000.
- BOONE, M. D.; SEMLITSCH, R. D.; LITTLE, E. E.; DOYLE, M. C. Multiple stressors in amphibian communities: effects of chemical contamination, bullfrogs, and fish. *Ecological Applications*, v.17, n.1, p.291-301. 2007.
- BROOMHALL, S. The effects of endosulfan and variable water temperature on survivorship and subsequent vulnerability to predation in *Litoria citropa* tadpoles. *Aquatic Toxicology*, v.61, p.243-250. 2002.
- 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. Induction of mortality and malformation in *Xenopus laevis* embryos by water sources associated with field frog deformities. *Environmental Health Perspectives*, v.106, n.12, p.841-847. 1998.
- DASZAK, P.; BERGER, L.; CUNNINGHAM, A. A.; HYATT, A. D.; GREEN, D. E.; SPEARE, R. Emerging infectious diseases and amphibian population declines. *Emerging Infectious Diseases*, v.5, n.6, p.735-748. 1999.
- DAVIDSON, C.; SHAFFER, H. B.; JENNINGS, M. R. Declines of the california red-legged frog: climate, UV-B, habitat, and pesticides hypotheses. *Ecological Applications*, v.11, n.2, p.464-479. 2001.
- DENVER, R.; MIRHADI, N.; PHILLIPS, M. Adaptive plasticity in amphibian metamorphosis: Responses of *Scaphiopus hammodii* tadpoles to habitat desiccation. *Ecology*, v.79, n.6, p.1859-1872. 1998.
- DI TORO, D. M.; ALLEN, H. E.; BERGMAN, H. L.; MEYER, J. S.; PAQUIN, P.; SANTORE, R. S. Biotic Ligand Model of the acute toxicity of metals. 1. Technical basis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.20, n.10, p.2383-2396. 2001.
- FROST, D. R. Amphibian species of the world: an online reference. American Museum of Natural History. Disponível em: <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>>. Acesso em: 11/07/2012.
- GIRISH, S.; SAIDAPUR, S. K. The effects of kinship and density on growth and metamorphosis of the bronze frog (*Rana temporalis*) tadpole. *Acta Ethologica*, v.2, p.61-66. 1999.

GOSNER, K. L. A. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, v.16, p.183-190. 1960.

GOSNER, K.L.A. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16: 183-190.

GREULICH, K.; PFLUGMACHER, S. Differences in susceptibility of various life stages of amphibians to pesticide exposure. *Aquatic Toxicology*, v.65, p.329-336. 2003.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science Technology*, v.11, p.714-719. 1978.

HAYES, T. B.; COLLINS, A.; LEE, M.; MENDOZA, M.; NORIEGA, N.; STUART, A. A.; VONK, A. Hermaphroditic demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *Proceedings of the National Academy of Science*, v.99, p.5476-5480. 2002.

HAYES, T. B.; CASE, P.; CHUI, S.; CHUNG, D.; HAEFFELE, C.; HASTON, K.; LEE, M.; MAI, V. P.; MARJUOA, Y.; PARKER, J.; TSUI, M. Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we underestimating the impact? *Environmental Health Perspectives*, v.114, n.1, p.40-50. 2006.

HERO, J. M. An illustrated key to tadpoles occurring in the Central Amazon rainforest, Manaus, Amazonas, Brazil. *Amazoniana*, v.11, n.2, p.201-262. 1990.

HOPKINS, W. A.; CONGDON, J.; RAY, J. K. Incidence and impact of axial malformations in larval bullfrogs (*Rana catesbeiana*) developing in sites polluted by a coal-burning power plant. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.19, p.862-868. 2000.

HOULAHAN, J. E.; FINDLAY, C. S.; SCHMIDT, B. R.; MEYER, A. H.; KUZMIN, S. L. Quantitative evidence for global amphibian population declines. *Nature*, v.404, p.752-758. 2000.

IUCN. Conservation International and Nature Serve. An Analysis of Amphibians on the IUCN Red List. Disponível em: <www.iucnredlist.org/amphibians>. Acesso em: 11/07/2012.

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. Parasite (*Ribeiroia ondatrae*) infection linked to amphibian malformations in the western United States. *Ecological Monographs*, v.72, n.2, p.151-168. 2002.

JOHNSON, P. T. J.; CHASE, J. M. Parasites in the food web: linking amphibian malformations and aquatic eutrophication. *Ecology Letters*, v.7, p.521-526. 2004.

KARASOV, W. H.; JUNG, R. E.; LANGENBERG, S. V.; BERGESON, T. L. E. 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*, v.24, n.4, p.942-953. 2005.

KRISHNAMURTHY, S. V.; MEENAKUMARI, D.; GURUSHANKARA, H. P.; GRIFFITHS,

- R. A. Effects of nitrate on feeding and resting of tadpoles of *Nyctibatrachus major* (Anura: Ranidae). *Australasian Journal of Ecotoxicology*, v.12, p.23-127. 2006.
- KUTKA, F. J. Low pH effects on swimming activity of *Ambystoma* salamander larvae. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.13, n.11, p.1821-1824. 1994.
- LANGAN, E. M. *Sublethal effects of sodium nitrate on developmental rate and body length in southern toad (Bufo terrestris) tadpoles*. Florida: University of Florida, 2003. 55p. (Dissertação de Mestrado).
- LAURANCE, W. F.; ALBERNAZ, A. K. M.; SCHROTH, G.; FEARNSIDE, P. M.; BERGEN, S.; VENTICINQUE, E. M.; DA COSTA, C. Predictors of deforestation in the Brazilian Amazon. *Journal of Biogeography*, v.29, p.737-748. 2002.
- LIMA, A. P.; MAGNUSSON, W. E.; MENIN, M.; ERDTMANN, L. K.; RODRIGUES, D. J.; KELLER, C.; HÖDL, W. *Guide to the frogs of Reserva Adolpho Ducke Central Amazonia*. Manaus: Áttema Design Editorial, 2006. 175p.
- MAHANEY, P. A. Effects of freshwater petroleum contamination on amphibian hatching and metamorphosis. *Environmental Toxicology*, v.13, p. 259-265. 1994.
- MCGRATH, E. A.; ALEXANDER, M. M. Observations on the exposure of larval bullfrogs to fuel oil. *Proceedings of the Northeast Fish and Wildlife Conference*, v.80, p.45-51. 1979.
- MELO, E. G. F.; SILVA, M. S. R.; MIRANDA, S. A. F. Influência antrópica sobre águas de igarapés na cidade de Manaus- Amazonas. *Caminhos de Geografia*, v.5, n.16, p.40-47. 2005.
- MONTEIRO, J. M. F. *Avaliação experimental do efeito da contaminação por óleo lubrificante sobre larvas de Osteocephalus taurinus (Amphibia, Hylidae)*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2004. 45 pp. (Dissertação de Mestrado).
- MOREY, S. R. Pool duration influences age and body mass metamorphosis in the western spadefoot toad: Implications for vernal pool conservation, p.86-91. In: WITHAM, C.W.; BAUDER, E. T.; BELK, D.; FERREN JR., W. R.; ORNDUFF, R. (Eds.). *Ecology, Conservation, and Management of vernal pool Ecosystems*. Sacramento: California Native Plant Society, 1998.
- NAYONO, S. E. *Anaerobic digestion of organic solid waste for energy production*. Karlsruhe: Universidade Fridericana Zu Karlsruhe, 2010. 131p. (Dissertação de Mestrado).
- OLIVEIRA, S. N. *Efeitos diretos e indiretos da predação sobre os girinos de três espécies de anuros (Amphibia) na Amazônia Central*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 1986. 68p. (Dissertação de Mestrado).
- ORTIZ-SANTALIESTRA, M. E.; MARCO, A.; FERNÁNDEZ, M. J.; LIZANA, M. Influence of developmental stage on sensitivity to ammonium nitrate of aquatic stages of amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.25, n.1, p.105-111. 2006.
- PAHKALA, M.; RÄSÄNEN, K.; LAURILA, A.; JOHANSON, U.; BJÖRN, L. O.; MERILÄ, J. Lethal and sublethal effects of UV-B/pH synergism on common frog embryos. *Conservation Biology*, v.16, n.4, 1063-1073. 2002.

- REIS, J. A. T.; MENDONÇA, A. S. F. Análise técnica dos novos padrões brasileiros para amônia em efluentes e corpos d'água. *Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental*, v.14, n.3, p.353-362. 2009.
- ROWE, C. L.; KINNEY, O. M.; NAGLE, R. D.; CONGDON, J. D. Elevated maintenance costs in an anuran (*Rana catesbeiana*) exposed to a mixture of trace elements during the embryonic and early larval periods. *Physiological Zoology*, v.7, n.1, p.27-35. 1998.
- SAIDAPUR, S. R.; GIRISH, S. Growth and metamorphosis of *Bufo melanostictus* tadpoles: Effects of kinship and density. *Journal of Herpetology*, v.35, p.249-254. 2001.
- SANTANA, G. P.; BARRONCAS, P. S. R. Estudo de metais pesados (Co, Cu, Fe, Cr, Ni, Mn, Pb e Zn) na Bacia do Tarumã-Açu Manaus – (AM). *Acta Amazonica*, v.37, n.1, 111-118. 2007.
- SAYIM, F.; KAYA, U. Effects of dimethotolol on three frog (*Hyla arborea*) larvae. *Turkish Journal of Zoology*, v.30, p.261-266. 2006.
- SCHUYTEMA, G. S.; NEBEKER, A. V. Comparative effects of ammonium and nitrate compounds on pacific treefrogs and african clawed frog embryos. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.36, p.200-206. 1999.
- SHINN, C.; MARCO, A.; SERRANO, L. 2008. Inter- and intra-specific variation on sensitivity of larval amphibians to nitrite. *Chemosphere*, v.71, p.507-514.
- SILVA, M. S. R.; RAMOS, J. F.; PINTO, A. G. N. Metais de transição nos sedimentos de Igarapé de Manaus-AM. *Acta Limnológica Brasiliensis*, v.11, n.2, p.89-100. 1999.
- SIOLI, H. *Amazônia: fundamentos da ecologia da maior região de floresta tropical*. Petrópolis: Vozes, 1990. 72p.
- SPARLING, D. W.; BISHOP, C. A.; LINDER, G. The current status of amphibian and reptile ecotoxicological research, p.1-13. In: SPARLING, D. W.; LINDER, G.; BISHOP, C. A. (Eds.). *Ecotoxicology of Amphibians and Reptiles*. Society of Environmental Toxicology (SETAC). Florida: Pensacola, 2000.
- SPRAGUE, J. B. Aquatic toxicology, p.491-528. In: SCHRECH, C. B.; MOYLE, P. B. (Eds.). *Methods of Fish Biology*. Maryland: American Fisheries Society Bethesda, 1990.
- STEPANYAN, I. E.; TSARUKYAN, A. S.; PETROV, Y. P. Effect of molybdenum, chrome and cadmium ions on metamorphosis and erythrocytes morphology of the marsh frog *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Anura). *Journal of Environmental Science and Technology*, v.4, n.2, p.172-181. 2011.
- SUFRAMA. 2012. Modelo Zona Franca. Disponível em: <http://www.suframa.gov.br/zfm_o_que_e_o_projeto_zfm.cfm>. Acesso em: 04/11/2012.
- VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. (Eds.) *Biology of Tropical Fishes*. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 1999. 460p.
- WARNER, S. C.; DUNSON, W. A.; TRAVIS, J. Interaction of pH, and priority effects on survivorship and growth of two species of hylid tadpoles. *Oecologia*, v.88, p.331-339. 1991.

WELZ, B. *Atomic absorption spectrometry*. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft mbH, 1985. 506p.

WIJER, P.; WATT, P. J.; OLDHAM, R. S. Amphibian decline and aquatic pollution: Effects of nitrogenous fertilizer on survival and development of larvae of the frog *Rana temporaria*. *Applied Herpetology*, v.1, p.3-12. 2003.

WOODWARD, B. D.; TRAVIS, J. Paternal effects on juvenile growth and survival in spring peepers (*Hyla crucifer*). *Evolution*, v.5, p.40-51. 1991.

XU, Q.; OLDHAM, R. S. Lethal and sublethal effects of nitrogen fertilizer ammonium nitrate on common toad (*Bufo bufo*) tadpoles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.32, p.298-303. 1997.





CAPÍTULO 17

TOXICIDADE CRÔNICA DA ÁGUA CONTAMINADA DOS IGARAPÉS MINDU E QUARENTA (MANAUS, AMAZONAS) SOBRE OVOS E GIRINOS DE *OSTEOCEPHALUS TAURINUS* (ANURA, HYLIDAE)

Jorge Harison Pereira do NASCIMENTO; Claudia KELLER; Maria do Socorro Rocha da SILVA; Marcelo MENIN

Abstract

We evaluated the effect of total effluent of two polluted urban streams, Igarapé do Quarenta and Igarapé do Mindu, in the city of Manaus (Amazonas, Brazil) on the development of tadpoles of *Osteocephalus taurinus*, a hylid frog commonly found in rainforests in the Central Amazon, which reproduces in streamside ponds. Tadpoles were exposed to the total effluent of each stream from Gosner stage 25 until metamorphosis in a laboratory experiment in order to keep other variables under control. Concentrations of total ammonia, nitrite and nitrate were monitored during the experiment and were always higher in the water from the Mindu stream. Dissolved oxygen levels were similar for waters of both streams throughout the experiment. Duration of the larval period was significantly shorter than the control for Mindu, and higher for Quarenta, while size at metamorphosis and growth rate were higher than the control for Mindu, and lower for Quarenta. Higher nitrate concentrations in Mindu water might have boosted larval development. The results show that sub-lethal effects on larval amphibians in contaminated urban effluents can be contrasting. Moreover, while in this study 100% of the effluent had only sub-lethal effects on tadpoles, in another similar study with water from a third polluted urban stream from Manaus (this volume), concentrations of the effluent higher than 5% had lethal effects on *Osteocephalus taurinus* tadpoles.

INTRODUÇÃO

A expansão urbana, associada a processos de desmatamento e às emissões de efluentes líquidos industriais e domiciliares, é um dos principais fatores responsáveis pela modificação das características originais dos igarapés (riachos de pequeno e médio porte) na Amazônia Central (SANTOS et al., 2006; SANTANA e BARRONCAS, 2007; RODRIGUES et al., 2009). A adição de efluente doméstico normalmente resulta na eutrofização dos corpos d'água, e consequente redução do teor de oxigênio dissolvido e aumento do pH da água (MELO et al., 2005; SANTOS et al., 2006; MENDONÇA e SANTANA, 2006; SANTANA e BARRONCAS, 2007), que são naturalmente ácidas na Amazônia (MENDONÇA et al., 2005). Coliformes fecais e totais estão presentes em quantidade acima das taxas permissíveis para recreação e consumo humano (MELO et al., 2005; SANTANA e BARRONCAS, 2007). Efluentes industriais também aumentam a carga de metais (SILVA, 1996; CLETO FILHO, 1998; MELO et al., 2005; SANTOS et al., 2006; SANTANA e BARRONCAS, 2007; PINTO et al., 2009; RODRIGUES et al., 2009) na água e sedimentos destes igarapés. Em Manaus, as microbacias dos igarapés do Educandos e São Raimundo tem como principais tributários os igarapés do Quarenta e Mindu, respectivamente, que drenam áreas densamente povoadas desde suas nascentes até a foz. Como resultado da ocupação residencial de suas margens e das atividades industriais em seu entorno, estes corpos d'água transformaram-se em receptores de resíduos domésticos e industriais não tratados (PINTO et al., 2009).

As atividades antrópicas aumentam consideravelmente a quantidade de nitrogênio reativo no ambiente, que é definido como **N** ligado ao carbono, oxigênio ou hidrogênio (WETZEL, 2001). Dessa forma se altera significativamente o ciclo biogeoquímico de um dos elementos mais importantes para o metabolismo dos ecossistemas (ESTEVES, 1998), afetando muitos grupos de organismos (CAMARGO e ALONSO, 2006). Em ecossistemas aquáticos o nitrogênio pode ocorrer sob diversas formas (SUIPAÚBA-TAVARES, 1998), embora as predominantes sejam o nitrogênio molecular (N_2), a amônia não-ionizada (NH_3) e o íon amônio (NH_4^+). Estas duas últimas formas juntas constituem a amônia total, ou nitrogênio amoniacal total (PEREIRA e MERCANTE, 2005). Em ambientes oxigenados eles se transformam em nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-), além de um grande número de compostos orgânicos dissolvidos e particulados (WETZEL, 2001). A forma predominante de nitrogênio em um ambiente depende de vários fatores, incluindo pH, temperatura e disponibilidade de oxigênio (ENVIRONMENT CANADA, 2003).

Diversos organismos que dependem de ambientes aquáticos em alguma fase de sua vida são diretamente afetados pela contaminação dos corpos d'água (MCCAULEY, 1966; HARREL, 1985; BLAUSTEIN E WAKE, 1990). Alguns estudos indicam que contaminantes químicos são responsáveis por declínios de populações de anfíbios (YOUNG et al., 2001; BLAUSTEIN et al., 2003; CAMARGO et al., 2005; SMITH et al., 2005). Estressores químicos, como pesticidas, metais, agentes acidificantes e fertilizantes, podem afetá-los direta ou indiretamente e, mesmo que não causem mortalidade em curto prazo, podem causar efeitos sub-letais (ROUSE et al., 1999; BOONE e BRIDGES, 2003; LA MARCA et al., 2005; AGOSTINI et al., 2010). Compostos nitrogenados afetam os anfíbios de diversas formas, causando, por exemplo, diminuição do tamanho corporal, aumento no tempo de desenvolvimento e na suscetibilidade a predadores (JOHANSSON et al., 2001; MARCO et al., 2001; BOONE e BRIDGES, 2003; DE OLIVEIRA, 2003; CAMARGO et al., 2005; KRISHNAMURTHY et al., 2006; AGOSTINI et al., 2010). A suscetibilidade de anfíbios a contaminantes depende do estágio em que eles se encontram, do tempo de exposição e da concentração do contaminante (HOWE et al., 1998; BOONE et al., 2001; FRANCO-DE-SÁ et al., este volume).

Nesse contexto, os anfíbios merecem atenção especial, pois são reconhecidos como excelentes bioindicadores de estresse ambiental (BLAUSTEIN e WAKE, 1995), e muitas espécies sofrem declínios e extinções populacionais registradas em todo o mundo (BLAUSTEIN e KIESECKER, 2002; BLAUSTEIN et al., 2003; LA MARCA et al., 2005). Além disso, os anfíbios possuem diversos atributos morfo-fisiológicos e de história de vida que os tornam particularmente vulneráveis a alterações ambientais. Girinos de anfíbios expostos a níveis sub-letais de poluentes podem apresentar malformações (BURKHART et al., 1998; MONTEIRO, 2004; AGOSTINI et al., 2010), menor tamanho corporal (MAHANEY, 1994; JOHANSSON, et al. 2001; MONTEIRO, 2004; AGOSTINI et al., 2010), maior tempo de desenvolvimento até a metamorfose (BRIDGES, 2000; JOHANSSON et al., 2001; PAHKALA et al., 2001; GREULICH e PFLUGMACHER, 2003; MONTEIRO, 2004; FRANCO-DE-SÁ et al., este volume), diminuição da performance natatória (BERRILL et al., 1994; HOPKINS et al., 2000) e maior susceptibilidade à predação (BROOMHALL, 2002; MONTEIRO, 2004), a infecções (LEFCORT et al., 1997; GEDRON et al., 2003) e à radiação UV (BLAUSTEIN et al., 2003).

Na Amazônia Central, diversas espécies de anuros se reproduzem em poças nas margens dos igarapés (LIMA et al., 2006), que são formadas pelo transbordamento dos igarapés durante as chuvas. Uma dessas espécies

é *Osteocephalus taurinus*, que possui ampla distribuição na Amazônia central e pico de reprodução no início da estação chuvosa (LIMA et al., 2006). As desovas dessa espécie possuem cerca de 2.500 ovos (GASCON, 1995; LIMA et al., 2006) e são depositadas em poças temporárias rasas nas margens de igarapés e poças isoladas no interior de floresta (HERO, 1990). Esta espécie foi utilizada em estudos anteriores com diferentes contaminantes (MONTEIRO, 2004; FRANCO-DE-SÁ et al., este volume) e seus ovos e larvas são facilmente mantidos em laboratório.

O presente estudo teve por objetivo avaliar, em condições experimentais, os efeitos crônicos da contaminação por efluentes urbanos das águas provenientes de dois igarapés da cidade de Manaus, Amazonas, sobre o desenvolvimento de ovos e larvas de *Osteocephalus taurinus*, com especial atenção à concentração de compostos nitrogenados.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e manutenção dos organismos e da água de teste

Cinco desovas em estágio de ovo ou larvas recém-eclodidas de *Osteocephalus taurinus* foram coletadas na primeira quinzena de abril 2010 na Reserva Florestal Adolpho Ducke – RFAD (02°55' e 03°01'S, 59°53' e 59°59'W), localizada ao norte da cidade de Manaus (Amazonas). As desovas foram depositadas em três de várias poças artificiais (caixas de polietileno de 65cm x 45cm x 20cm contendo água de igarapé) instaladas ao longo da margem de um igarapé no início da temporada reprodutiva de *O. taurinus*. No laboratório, as desovas foram mantidas em caixas de polietileno de 65 x 45 x 20 cm contendo água de poço artesiano local (APL) (denominadas daqui em diante de estoque) com sistema de aeração artificial, à temperatura ambiente de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas de claro/escuro. Os girinos foram alimentados, a partir do estágio 25 de Gosner (1960), com ração triturada para roedores (Pasto Verdi - Zootecna[®]) oferecida diariamente *ad libitum* aos animais, evitando-se o acúmulo no fundo. Para controle e análises de dados, as desovas foram identificadas como A, B, C, D e E.

Foram coletados 500 litros de água de superfície (a aproximadamente 15 cm de profundidade) no dia 01/04/2010 em pontos de máxima contaminação às margens do Igarapé do Mindu (03°09'S, 60°01'W) (IMI) e do Igarapé do Quarenta (03°12'S, 59°98'W) (IQU) (Figura 1). A água coletada foi armazenada em quatro tonéis de polietileno (dois para cada igarapé) com capacidade de 300 litros cada, previamente lavados e esterilizados, preenchidos com 250 litros e mantidos em repouso do lado de fora do prédio

do laboratório, parcialmente vedados, em temperatura ambiente e local sombreado, até a estabilização natural do pH (para detalhes do procedimento, ver FRANCO-DE-SÁ et al., este volume). Após a estabilização do pH, a água de cada igarapé foi passada a galões de 50 L dentro do laboratório, para que a temperatura da água de teste fosse a mesma da água de cultivo dos girinos. A água foi transferida dos tonéis externos de 300 L para os galões de 50 L pelo menos três dias antes de ser usada em algum experimento. A água de poço para os controles foi mantida em um reservatório de 500 L no interior do laboratório.

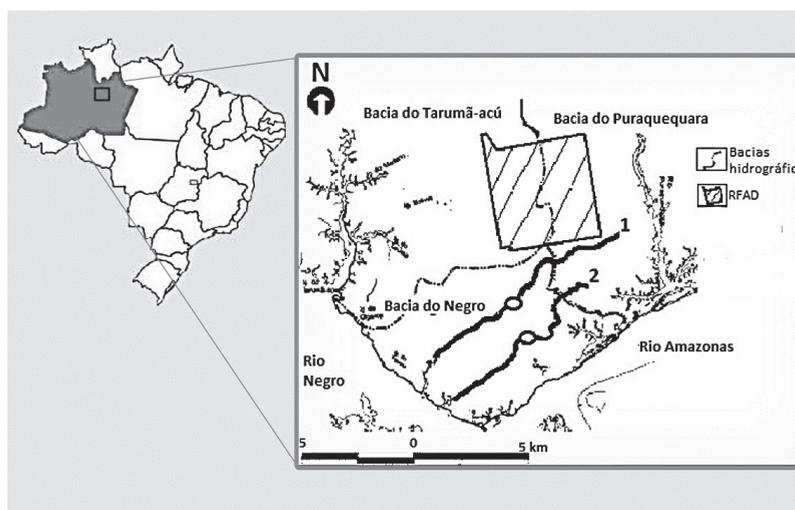


Figura 1

Esquema simplificado da hidrografia da cidade de Manaus indicando a localização da Reserva Florestal Adolpho Ducke (RFAD) (quadrado hachurado no limite NE da cidade) e dos dois igarapés onde foram coletadas as amostras de água contaminada: (1) Igarapé do Mindu (IMI) e (2) Igarapé do Quarenta (IQU). Os pontos de coleta estão indicados por círculos brancos sobre o curso dos igarapés.

Parâmetros físico-químicos da água

Foram medidos *in loco*, no momento da coleta das desovas e da água de teste, o pH e a temperatura da água, utilizando um pHmetro (YSI 63/ modelo 63-10 FT) e o oxigênio dissolvido (OD), utilizando um oxímetro (YSI 55/ modelo 55-25 FT). Também foram coletadas amostras de água para análise

de amônia total, nitrito e nitrato no ponto de coleta de água dos igarapés do Mindu e do Quarenta, nas três poças artificiais onde foram coletadas as desovas de *O. taurinus* na RFAD e da água de poço usada nos controles (APL).

Para acompanhar a evolução dos parâmetros físico-químicos ao longo do experimento de exposição crônica (ver abaixo), foram escolhidas diariamente duas réplicas diferentes de cada tratamento para aferir o pH, teor de oxigênio dissolvido e a temperatura. A cada sete dias foram coletadas amostras de água de teste dos galões-estoque (que se encontravam dentro do laboratório) de cada igarapé (IMI e IQU) e do reservatório de água controle (água de poço), para determinar a quantidade de amônia total, nitrito e nitrato. As medidas foram feitas por espectrofotometria adaptada de APHA (1985), Golterman et al. (1978) e Mackereth et al. (1978) para o sistema FIA (Análise por Injeção de Fluxo), no Laboratório Temático de Recursos Hídricos do INPA.

Experimento de exposição aguda à água contaminada

Este experimento teve por objetivo determinar a concentração letal média (CL50) para ovos e girinos de *O. taurinus* e estabelecer a susceptibilidade relativa destes dois estágios de desenvolvimento a concentrações crescentes da água contaminada dos dois igarapés. A CL50 é um parâmetro padrão em ecotoxicologia, que equivale à concentração de uma substância que causa 50% de mortalidade em um grupo de organismos sob condições específicas em um intervalo de tempo pré-determinado (LARINI, 1970). Neste caso foi utilizado o intervalo de 96 horas, correspondendo ao mesmo período utilizado em outros estudos com esta mesma espécie (MONTEIRO, 2004; FRANCO-DE-SÁ et al., este volume).

Os intervalos entre os níveis de concentração do contaminante e para as revisões foram definidos de acordo com o modelo de Sprague (1990), em sequência geométrica crescente. Foram usadas 10 concentrações da água contaminada de cada igarapé na razão de 1,71 [0, 14, 24, 41, 70, 119, 202, 344, 589 e 1000 mL/L] para cada fase de vida (ovo e larva). A concentração [0 mL/L] correspondeu ao controle de cada experimento. Para o controle e para as diluições da água contaminada de IMI e IQU foi utilizada água do poço artesiano local. Dois testes foram realizados: um com ovos de aproximadamente 8 horas de vida (estágio 3 de GOSNER, 1960) e outro com girinos em estágio 25 de Gosner. Para o controle e cada concentração teste,

foram estabelecidas cinco réplicas para o teste com girinos e três réplicas para o teste com ovos. Os indivíduos de cada réplica de uma mesma concentração foram de uma desova diferente, a fim de controlar o efeito parental sobre a variabilidade da resposta ao teste. Cada réplica consistiu em um pote de polietileno com capacidade de 1000 mL contendo 800 mL de solução-teste (concentrações de água contaminada) ou água pura de poço (controle) e 10 indivíduos, em sistema semi-estático (sem circulação de água e sem aeração). Ao todo, foram utilizados 300 ovos e 500 girinos em estágio 25 de Gosner. As revisões foram definidas na razão de 1,50, tanto para ovos quanto para larvas e foram realizadas às 4, 6, 9, 13, 19, 29, 43, 64 e 96 horas após o início do experimento.

Experimento de exposição crônica à água contaminada

O experimento consistiu na exposição de girinos de *O. taurinus* do estágio 25 de Gosner até a metamorfose a dois níveis de tratamento: água do Igarapé do Mindu (IMI) e água do Igarapé do Quarenta (IQU). Foi utilizada a concentração máxima [100%] da água de cada igarapé em teste (ver resultados do teste de CL50), além do controle consistindo de água pura de poço. Para cada nível foram utilizadas 50 réplicas (sendo 10 réplicas por desova, A, B, C, D e E, a fim de controlar o efeito parental sobre os parâmetros medidos). Cada réplica consistiu em um girino, mantido em recipiente de polietileno de 1000 mL, contendo 800 mL de água, em sistema semi-estático, sem circulação de água e sem aeração. O mesmo número de réplicas foi estabelecido para o controle de girinos mantidos em água de poço.

Todos os girinos se encontravam no estágio 25 de Gosner na data inicial do experimento. Os girinos de cada desova usados no experimento foram selecionados no sentido de evitar indivíduos fracos e/ou com aspecto doente e tiveram medidos o comprimento total (do rostro até o final da cauda) no dia de início do experimento (tamanho inicial). Os indivíduos foram medidos colocando-os em uma caixa de vidro de 10cm x 10cm x 3cm contendo água e papel milimetrado no fundo. Os girinos foram alimentados diariamente com ração triturada para roedores (*Pasto Verdi* - Zootecna®) *ad libitum*, procurando-se evitar o acúmulo de resíduos na unidade experimental. A água das unidades experimentais foi trocada a cada quatro dias.

Para avaliar a resposta dos girinos à contaminação foram determinados os seguintes parâmetros de desenvolvimento larvário:

(a) *Mortalidade*: número de indivíduos que morreram entre o início do experimento e a data da metamorfose (estágio 42 de Gosner; quando ocorre a extrusão do primeiro membro anterior);

(b) *Duração do período larvário (DPL)*: tempo decorrido (em dias) entre a data de desova e a data de metamorfose;

(c) *Tamanho na metamorfose (TM)*: comprimento do rostro até o final da cauda (em mm com precisão de 1 mm) dos indivíduos no final do estágio 41 de Gosner, quando atingem seu comprimento total máximo antes da metamorfose;

(d) *Taxa de crescimento (TC)*: razão entre a diferença nos tamanhos inicial e o tamanho final do girino e o tempo decorrido entre a data de início do experimento e a data de metamorfose x 100.

Análise dos dados

Após a verificação das premissas para testes paramétricos, os resultados dos experimentos crônicos para as larvas foram comparados por meio de análise de variância (ANOVA) bifatorial, utilizando como fatores TRATAMENTO (controle, IMI e IQU) e DESOVA (A, B, C, D e E). As análises foram realizadas utilizando programa MYSTAT® 12 Statistics - I.

RESULTADOS

Fatores químicos e físico-químicos da água

Medidas in loco (Tabela 1) – Nos pontos de coleta de água dos igarapés Mindu e Quarenta a temperatura foi mais alta e o oxigênio dissolvido foi mais baixo que nas poças de coleta de desovas na RFAD e na água de poço. O pH tendeu a ser apenas um pouco mais alto nos igarapés poluídos. A concentração de amônia total foi mais alta que aquela medida nos ambientes naturais apenas no IMI, enquanto que no IQU os níveis de nitrito foram mais elevados do que nos demais corpos d'água. Os valores mais elevados de nitrato foram encontrados em IQU e na água de poço.

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos obtidos *in loco* nos locais de coleta de água poluída (IMI= Igarapé do Mindu; IQU=Igarapé do Quarenta) e das desovas em três poças artificiais da Reserva Florestal Adolpho Ducke (RFAD1=poça 1; RFAD2=poça 2; RFAD3=poça3) e da água de poço (APL) utilizada como controle dos experimentos.

Locais	pH	OD (mg/L)	Temperatura (°C)	Amônia total (NH ₃) (mg/L N)	Nitrito (NO ₂) (mg/L N)	Nitrato (NO ₃) (mg/L N)
IMI	6,94	1,02	30,1	10,080	< 0,030	< 0,010
IQU	6,90	1,95	28,2	3,750	1,080	1,000
RFAD1	6,07	4,64	24,7	0,232	< 0,030	0,021
RFAD2	6,51	4,54	24,5	2,598	0,034	< 0,010
RFAD3	5,68	4,80	24,5	4,295	< 0,030	< 0,010
APL	7,36	5,12	23,8	< 0,100	< 0,030	1,600

Medidas em laboratório (Figura 2) – A temperatura da água durante os experimentos foi mantida entre 24-26 °C, semelhante à temperatura medida nas poças artificiais da RFAD. A água coletada no IMI e no IQU tardou 30 dias para estabilizar o pH. Os valores de oxigênio dissolvido nas réplicas do experimento de exposição crônica foram sempre mais baixos que os medidos nas poças de coleta de desovas e na água de poço, oscilando ao redor de 3 mg/L, incluídas as réplicas do controle. A variação nos níveis do oxigênio dissolvido foi geralmente homogênea entre os diferentes tratamentos e o controle. As leituras diárias de pH nas réplicas do experimento de exposição crônica tiveram que ser descartadas por problemas técnicos com o pHmetro. Algumas leituras do estoque de água de teste e controle no momento da coleta semanal de amostras para dosagem dos compostos nitrogenados variaram entre 6,7 e 7,6, com igual amplitude de variação nos três estoques. Como a água nas réplicas foi substituída a cada quatro dias, o pH ao qual os girinos estiveram expostos não variou muito além de 7,0 com uma possível tendência à alcalinização à medida em que dejetos dos girinos e restos de comida se acumularam no fundo dos potes durante o ciclo de quatro dias. O pH durante o experimento foi um pouco mais alto que o registrado *in loco* nos igarapés do Mindu e do Quarenta e nas poças de desova.

Os compostos nitrogenados se mantiveram em níveis baixos na água do IQU após a estabilização do pH; o valor mais alto para a amônia total foi de 0,19 mg/L, abaixo do que foi medido nas poças de coleta das desovas. Os

níveis de nitrito e nitrato se mantiveram abaixo de 0,1 mg/L, acima do nível medido nas poças de desova, onde os valores foram abaixo de 0,03 mg/L. Na água do IMI a elevada concentração de amônia total medida no momento de coleta da água (10,08 mg/L) se degradou durante o processo de estabilização do pH, permanecendo entre 0,1 e 0,4 mg/L durante o experimento de exposição crônica, geralmente abaixo do que foi medido nas poças de desova. Os níveis de nitrito aumentaram em relação à medida no dia da coleta (<0,03 mg/L), mantendo-se entre 0,1 e 0,4 mg/L durante o experimento. Já os níveis de nitrato sofreram um aumento marcante em relação à concentração no dia de coleta da água (<0,01 mg/L), decrescendo de 6 a 2 mg/L durante o experimento. A água de controle apresentou níveis abaixo de 0,1 mg/L para amônia total, nitrito e nitrato, exceto as medidas iniciais de nitrato, que variaram de 1,8 a 0,5 mg/L.

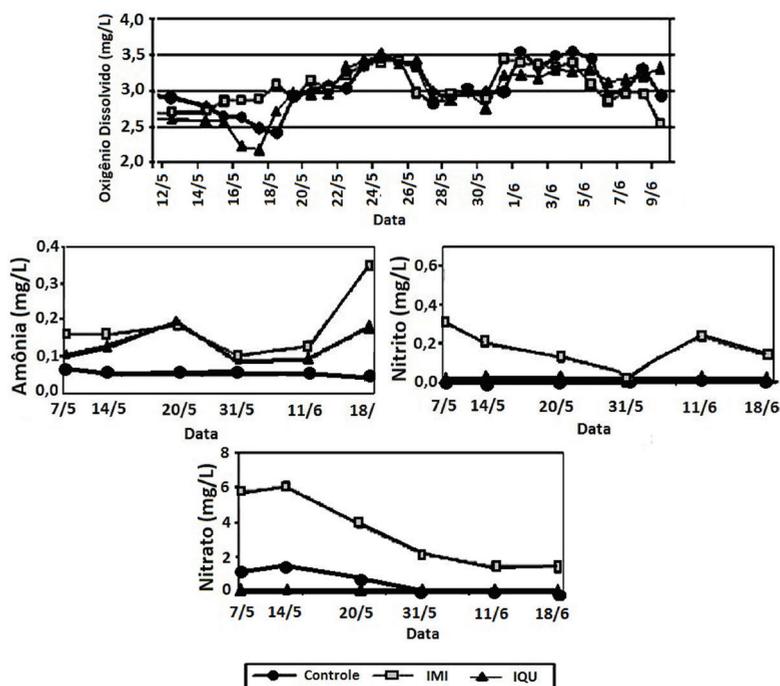


Figura 2

Varição do oxigênio dissolvido (OD), amônia, nitrito e nitrato na água de teste dos igarapés do Mindu (IMI) e Quarenta (IQU) e na água de poço do controle ao longo do experimento de exposição crônica de girinos de *Osteocephalus taurinus*. Cada ponto para OD é a média da medida em duas réplicas de cada nível de tratamento, determinadas aleatoriamente. Cada ponto para amônia, nitrito e nitrato corresponde a uma amostra retirada de estoques no laboratório.

Experimento de exposição aguda à água contaminada

Durante os experimentos de exposição aguda à água contaminada dos igarapés do Mindu (IMI) e Quarenta (IQU), não foi registrada mortalidade de ovos e larvas eclodidas, nem girinos em nenhuma das concentrações testadas. Consequentemente, não foi possível calcular a $CL50_{96}$. Também não foram observadas alterações físicas aparentes nos ovos e larvas eclodidas e todos os girinos ainda se encontravam no estágio 25 de Gosner ao final do experimento.

Experimento de exposição crônica à água contaminada

O experimento foi realizado em maio-junho 2010. A idade dos girinos no início do experimento foi de 45 (desova A), 38 (desova B), 39 (desova C), 44 (desova D) e 35 dias (desova E). O tamanho inicial dos girinos usados no experimento de exposição crônica variou significativamente entre desovas [$F(4, 146) = 54,02$; $p < 0, 0001$], mas não entre níveis de tratamento e controle [$F(2, 146) = 0,03$; $p = 0, 9666$] (Figura 3). Por este motivo, o tamanho inicial não foi utilizado como co-variável na análise dos parâmetros de desenvolvimento dos girinos.

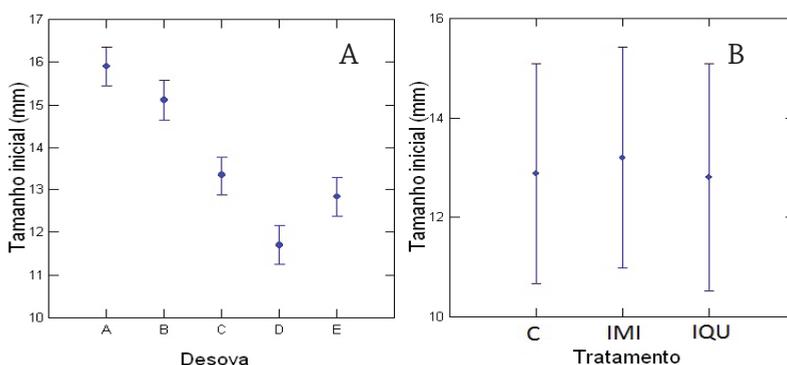


Figura 3

Média (círculos) e desvio padrão (barras verticais) do tamanho inicial dos girinos de *Osteocephalus taurinus* por desova (A) e por tratamento (B). C= controle; IMI= Igarapé do Mindu; IQU= Igarapé do Quarenta.

a) *Mortalidade*

Não houve mortalidade entre as larvas do controle e da água do IMI. Três larvas na água do IQU morreram durante o experimento, entretanto, não houve diferença significativa entre as taxas de mortalidade.

b) *Duração do período larvário*

Houve diferença significativa na DPL entre as desovas [$F_{(4, 146)} = 57,64$; $p < 0, 0001$] (Figura 4A) e entre os tratamentos [$F_{(2, 146)} = 74,47$; $p < 0, 0001$] (Figura 4B). A DPL variou entre todas as desovas, com uma amplitude total de 20 dias entre as desovas com período médio mais curto e mais longo. Este parâmetro foi significativamente mais elevado que o controle no IQU e mais baixa no IMI.

c) *Tamanho na metamorfose*

Houve diferença significativa no TM entre as desovas [$F_{(4, 146)} = 2,53$; $p = 0, 0430$] (Figura 4C) e entre os tratamentos [$F_{(2, 146)} = 9,55$; $p = 0,0001$] (Figura 4D). A amplitude de variação do TM foi menor entre as desovas que a DPL, sendo significativamente mais baixo apenas na desova B. O TM foi significativamente menor que o controle no IQU e maior que o controle no IMI.

d) *Taxa de crescimento*

Em consequência, principalmente, da grande variabilidade na DPL, houve diferença significativa na TC entre as desovas [$F_{(4, 146)} = 28,73$; $p < 0, 0001$] (Figura 4E). Também houve diferença significativa entre tratamentos [$F_{(2, 146)} = 62,98$; $p < 0, 0001$] (Figura 4F), sendo significativamente mais alta no IMI e mais baixa no IQU em relação ao controle.

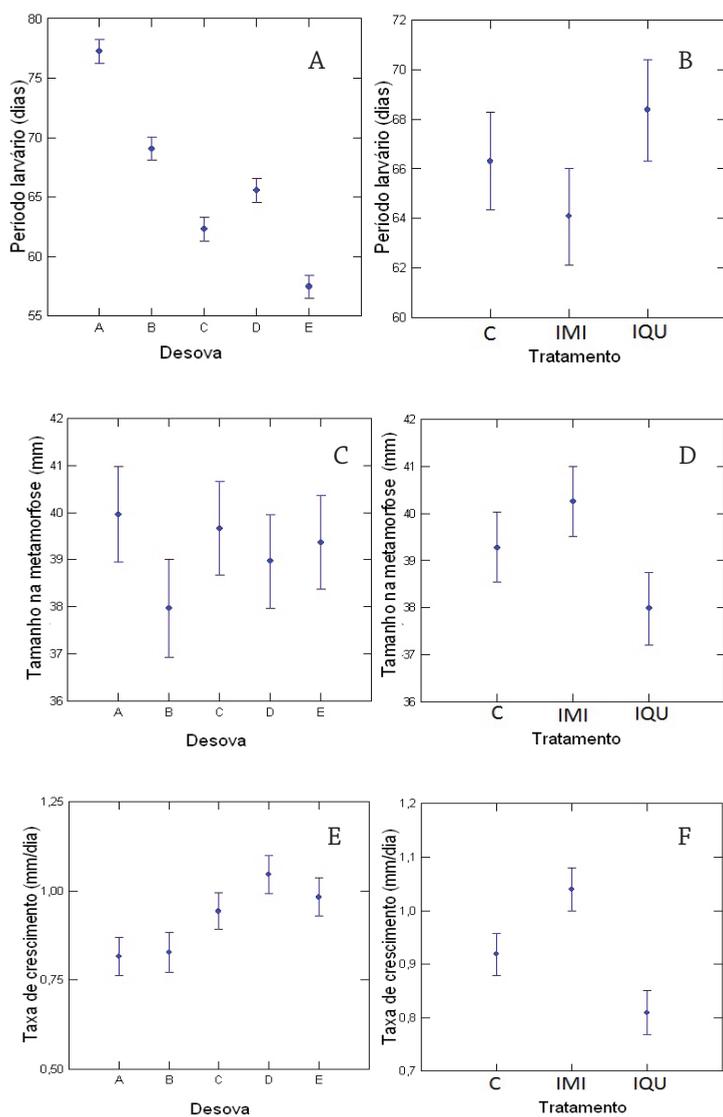


Figura 4

Média (círculos) e desvio padrão (barras verticais) da duração do período larvário (A, B), tamanho na metamorfose (C, D) e taxa de crescimento (E, F) dos girinos de *Osteocephalus taurinus* por desova e tratamento. C= controle; IMI= Igarapé do Mindu; IQU= Igarapé do Quarenta.

DISCUSSÃO

As concentrações medidas *in loco* de amônia total (NH_3) no Igarapé do Mindu e de nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-) no Igarapé do Quarenta são indicativas de água eutrofizada, característica de poluição por efluentes domésticos (ESTEVES, 1998). A concentração de amônia total no Mindu estava, também, acima dos limites estabelecidos pelo CONAMA para águas próprias para conservação de comunidades aquáticas (CONAMA, 2005). A diminuição da concentração de amônia total e aumento de nitrato na água do IMI durante a fase de estabilização do estoque indica que ocorreu nitrificação em ambiente aeróbico (RUSSO, 1985).

Entre os efeitos negativos mais comuns dos compostos nitrogenados sobre larvas de anfíbios estão o aumento significativo da mortalidade, aumento da duração do período larvário e diminuição do tamanho de metamorfose (p. ex. BAKER e WAIGHTS, 1993; SCHUYTEMA e NEBEKER, 1999; MARCO et al., 2001; JOHANSSON et al., 2001; CAMARGO, et al., 2005; KRISHNAMURTHY et al., 2006; ORTIZ-SANTALIESTRA et al., 2006; SHINN et al., 2008). No presente estudo, porém, não ocorreu mortalidade e se observou uma diminuição da duração do período larvário e aumento do tamanho de metamorfose dos girinos na água do Igarapé do Mindu, que apresentou os teores mais elevados de nitrato entre os locais testados. A amônia total e o nitrato atuam como micronutrientes na cadeia trófica e são importantes fontes de alimento para produtores primários (BRIGANTE e ESPÍNDOLA, 2009). A diminuição gradativa de nitrato na água do IMI ao longo do experimento indica que o composto provavelmente foi processado por microorganismos que, por sua vez, podem ter servido de fonte complementar de alimento aos girinos, possibilitando que atingissem a metamorfose em menos tempo com maior tamanho. Alternativamente, o teor mais elevado de nitrato na água de teste do IMI pode ter atuado diretamente sobre o metabolismo dos girinos, causando o aumento da taxa de crescimento. Maior tamanho de metamorfose também foi registrado para girinos de outras espécies expostos a concentrações sub-letais de fertilizantes a base de nitrato (WIJER et al., 2003; BOONE et al., 2007). Franco-de-Sá et al. (este volume) também registraram aumento no tamanho de metamorfose de girinos de *Osteocephalus taurinus* expostos a concentrações sub-letais de água de outro igarapé poluído de Manaus (Igarapé do Educandos), mas neste caso não foram monitorados os compostos nitrogenados. A diminuição do período larvário também pode ser uma resposta fisiológica dos girinos para

minimizar o contato com o ambiente contaminado (WILBUR e COLLINS, 1973; BARRETT et al., 2010).

Os efeitos esperados de contaminação (aumento da duração do período larvário e diminuição do tamanho de metamorfose em relação ao controle) foram registrados para os girinos expostos à água do Igarapé do Quarenta. No entanto, os níveis de amônia total, nitrito e nitrato na água do IQU estiveram sempre abaixo daqueles observados na água do IMI, para a qual se registraram efeitos positivos. O nível de oxigênio dissolvido e o pH também não variaram entre os níveis de tratamento e o controle. Portanto, os efeitos negativos sobre os parâmetros de desenvolvimento larvário registrados no IQU devem ter sido provocados por outro componente não medido do efluente presente no igarapé. O aumento na duração do período larvário pode aumentar o risco de morte por dessecação de girinos que ocupam habitats temporários (DENVER et al., 1998; MOREY, 1998) e o tamanho menor na metamorfose pode diminuir as chances de sobrevivência na fase terrestre (SMITH, 1987; HOWARD, 1988; SEMLITSCH et al., 1995).

O pH da água do igarapé em cujas margens foram instaladas as poças artificiais de coleta de desovas foi 3,3 (J.H.P. NASCIMENTO, dados não publicados). O pH de poças naturais na mesma área variou entre 3,0 e 5,0 (RODRIGUES, 2006). O pH acima de 6,0 nas poças artificiais (que já estavam instaladas há 30-60 dias), provavelmente foi influenciado pela ausência de substrato e folhoso, presente nas poças naturais. De modo geral, no entanto, não há evidências de que o pH superior ao do ambiente natural na água dos estoques de desova durante o experimento tenha influenciado negativamente o desenvolvimento dos girinos.

A duração do período larvário neste estudo (média de 66 dias para o controle) foi superior à registrada em dois outros estudos recentes de exposição a contaminantes com a mesma espécie (média de 42-46 dias para o controle) (MONTEIRO, 2004; FRANCO-DE-SÁ et al., este volume). Esse efeito não foi devido às condições experimentais, mas ao maior tempo de estabilização do pH da água de teste, que durou 20 dias no estudo de Franco-de-Sá et al. (este volume), e 30 dias no presente, levando a um maior tempo de estocagem pré-experimental das desovas.

Até o presente momento, todos os estudos toxicológicos realizados com larvas de *O. taurinus* registraram uma resposta diferencial consistente entre desovas à contaminação sub-letal por um derivado de petróleo (MONTEIRO, 2004) e por água de igarapés poluídos de Manaus (este estudo; FRANCO-DE-SÁ et al., este volume). Girinos contaminados desviam energia do crescimento e desenvolvimento para

suprir os custos metabólicos da desintoxicação, o que reflete na alteração dos parâmetros de desenvolvimento larvário (ROWE et al., 1998). Girinos apresentaram plasticidade diferencial na sobrevivência e desenvolvimento ligada ao parentesco em resposta a outros fatores ambientais (WOODWARD e TRAVIS, 1991; GIRISH e SAIDAPUR, 1999; SAIDAPUR e GIRISH, 2001). Assim, também a capacidade metabólica de resposta à intoxicação parece ter um componente hereditário e pode, inclusive, levar a efeitos diferenciais da contaminação entre populações da mesma espécie (JOHANSSON et al., 2001; BARRET et al., 2010).

Os resultados obtidos até o momento sobre o efeito da água de igarapés poluídos de Manaus sobre larvas de *O. taurinus* indicam alta variabilidade na carga de poluentes carregada pelos igarapés. Enquanto a totalidade dos girinos sobreviveu à exposição aguda de efluente total estabilizado dos igarapés do Mindu e do Quarenta (este estudo), elevada mortalidade (CL50) foi registrada em uma população de girinos expostos ao efluente estabilizado de um outro igarapé da cidade de Manaus (Igarapé do Educandos) diluído a 5% (FRANCO-DE-SÁ et al., este volume). Dados de testes toxicológicos são limitados para prever respostas em outros sistemas e de outras espécies (SCHIESARI et al., 2007). Os dados para *O. taurinus* mostram que a capacidade de extrapolação de resultados é limitada inclusive entre riachos muito próximos, supostamente com carga semelhante de poluentes urbanos.

A transição rápida entre concentrações que causam mortalidade aguda e concentrações sub-letais que podem causar efeitos positivos (este estudo; FRANCO-DE-SÁ et al., este volume) ou negativos (MONTEIRO, 2004) sobre parâmetros de desenvolvimento larvário, indica que *O. taurinus* pode ser uma bom modelo bioindicador de qualidade de água para conservação ambiental na Amazônia Central. Além disso, *O. taurinus* é uma espécie comum em ambientes de floresta, com grande tamanho de desova e girinos fáceis de cultivar em laboratório, o que facilita seu uso em protocolos experimentais. A suscetibilidade ao contaminante depende do estágio de desenvolvimento das larvas e do tempo de exposição (HOWE et al., 1998; BOONE et al., 2001; FRANCO-DE-SÁ et al., este volume), portanto, estes aspectos devem ser avaliados em estudos futuros sobre a ecotoxicologia da espécie.

Para aprofundar o conhecimento sobre o efeito de poluição aquática sobre larvas de *O. taurinus* também será necessário realizar experimentos que avaliem o efeito de efluentes não estabilizados, a variação temporal na carga tóxica do mesmo igarapé e de compostos isolados para estabelecer relações causais e protocolos de teste destinados a larvas de espécies de anfíbios amazônicos. Os efeitos da água contaminada do sistema aquático

da região de Manaus também devem ser testados sobre larvas de outras espécies de anfíbios, para estimar a magnitude dos efeitos da contaminação aquática sobre a comunidade de anfíbios da Amazônia Central.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro (processo 555268/2006-3) e bolsa de Produtividade em Pesquisa concedida a MM (processo # 302516/2011-5); a Genilson Santana, Andrea V. Waichman, Fabíola Valdez, Sérgio Rodrigues e Nívia Lopes, pelas críticas e sugestões ao projeto e dissertação; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Mestrado concedida a JHPN; ao Marcelo M. Lima pelo auxílio nas atividades de campo e laboratório; aos técnicos do Laboratório Temático de Recursos Hídricos do INPA pelas análises químicas de compostos de nitrogênio.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI, M. G.; NATALE, G. S.; RONCO, A. E. Lethal and sublethal effects of cypermethrin to *Hyposiboas pulchellus* tadpoles. *Ecotoxicology*, v.19, n.8, p.1545-1550. 2010.
- APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (Eds). *Standard Methods of the Experimentation of Water and Wasterwater*. New York, USA: American Water Work Association: Water Pollution Control Federation, 1985. 1268 p.
- BARRET, K.; GUYER, C.; WATSON, D. Water from urban streams slows growth and speeds metamorphosis in Fowler's Toad (*Bufo fowleri*) larvae. *Journal of Herpetology*, v.44, n.2, p.297-300. 2010.
- BAKER, J.; WAIGHTS, V. The effect of sodium nitrate on the growth and survival of toad tadpoles (*Bufo bufo*) in the laboratory. *Herpetological Journal*, v.3, p.147-148. 1993.
- BERRILL, M.; BERTRAM, S.; MCGILLIVRAY, L.; KOLOHON, M.; PAULI, B. Effects of low concentrations of forest-use pesticides on frog embryos and tadpoles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.13, p.657-664. 1994.
- BLAUSTEIN, R. B.; KIESECKER, J. M. Complexity in conservation: lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecology Letters*, v.5, p.597-608. 2002.
- BLAUSTEIN, A. R.; ROMANSIC, J. M.; KIESECKER, J. M.; HATCH, A. C. Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. *Diversity & Distributions*, v.9, p.123-140. 2003.

BLAUSTEIN, A. R.; WAKE, D. B. Declining amphibian populations: a global phenomenon? *Trends in Ecology and Evolution*, v.5, p.203-204. 1990.

BLAUSTEIN, A. R.; WAKE, D. B. The puzzle of declining amphibian populations. *Scientific American*, v.272, p. 52-57. 1995.

BOONE, M. D.; BRIDGES, C. M. Effects of pesticides on amphibian populations. In: SEMLITSCH, R. D. (Ed.). *Amphibian Conservation*. Washington: Smithsonian Institution, 2003. p.152-167.

BOONE, M. D.; BRIDGES, C. M.; ROTHERMEL, B. B. Growth and development of larval green frogs (*Rana clamitans*) exposed to multiple doses of an insecticide. *Oecologia*, v.129, p.518-524. 2001.

BOONE, M. D.; SEMLITSCH, R. D.; LITTLE, E. E.; DOYLE, M. C. Multiple stressors in amphibian communities: effects of chemical contamination, bullfrogs, and fish. *Ecological Applications*, v.17, n.1, p.291-301. 2007.

BRIDGES, C. M. Long-term effects of pesticide exposure at various life stages of the southern leopard frog (*Rana sphenoccephala*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.39, p.91-96. 2000.

BRIGANTE, J.; ESPÍNDOLA, E. *Limnologia Fluvial – Estudo no Rio Mogiguaçu*. 2.ed. São Carlos: Editora Rima, 2009. 278p.

Broomhall, S. The effects of endosulfan and variable water temperature on survivorship and subsequent vulnerability to predation in *Litoria citropa* tadpoles. *Aquatic Toxicology*, v.61, p.243-250. 2002.

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. Induction of mortality and malformation in *Xenopus laevis* embryos by water sources associated with field frog deformities. *Environmental Health Perspectives*, v.106, n.12, p.841-847. 1998.

CAMARGO, J. A.; ALONSO, A. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*, v.32, p.831-849. 2006.

CAMARGO, J. A.; ALONSO, A.; SALAMANCA, A. Nitrate toxicity to aquatic animals: A review with new data for freshwater invertebrates. *Chemosphere*, v.58, p.1255-1267. 2005.

CLETO FILHO, S.E.N. *Efeitos da ocupação urbana sobre a macrofauna de insetos aquáticos de um igarapé da cidade de Manaus/AM*. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônica/Universidade Federal do Amazonas, Manaus: INPA, 1998. 300p.

CONAMA. 2005. Resolução n° 357/2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 17/08/2012.

DENVER, R.; MIRHADI, N.; PHILLIPS, M. Adaptive plasticity in amphibian metamorphosis: Responses of *Scaphiopus hammondi* tadpoles to habitat desiccation. *Ecology*, v.79, n.6, p.1859-1872. 1998.

- DE OLIVEIRA, P. M. A. *Animais silvestres e exóticos na clínica particular*. São Paulo: Editora Roca, 2003. 375p.
- ESTEVES, F. A. *Fundamentos da limnologia*. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 602p.
- ENVIRONMENT CANADA. *Canadian Water Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life: Nitrate Ion*. Ottawa, Canada: Environment Canada, 2003. 41p.
- FRANCO-DE-SÁ, J. F. O.; KELLER, C.; SANTANA, G. P.; MENIN, M. Efeito da poluição do Igarapé do Educandos (Manaus, Amazonas, Brasil) sobre ovos e girinos de *Osteocephalus taurinus* (Anura, Hylidae). Este volume, 2012.
- GASCON, G. Tropical larval anuran fitness in the absence of direct effects of predation and competition. *Ecology*, v.76, p.2222-2229. 1995.
- GEDRON, A. D.; MARCOGLIESE, D. J.; BARBEAU, S.; CHRISTIN, M. S.; BROUSSEAU, P.; RUBY, S.; CYR, D.; FOURNIER, M. Exposure of Leopard frogs to a pesticide mixture affects life history characteristics of the lungworm *Rhabdias ranae*. *Oecologia*, v.135, n.3, p.469-476. 2003.
- GIRISH, S.; SAIDAPUR, S. K. The effects of kinship and density on growth and metamorphosis of the bronze frog (*Rana temporalis*) tadpoles. *Acta Ethologica*, v.2, p.61-66. 1999.
- GOLTERMAN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, M. A. M. *Methods for physical and chemical analysis of fresh water*. London: Blackwell Scientific Publications, 1978. 214p.
- GOSNER, K. L. A. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, v.16, p.183-190. 1960.
- GREULICH, K.; PFLUGMACHER, S. Differences in susceptibility of various life stages of amphibians to pesticide exposure. *Aquatic Toxicology*, v.65, p.329-336. 2003.
- HARREL, R. C. Effects of a crude oil spill on water quality and macrobenthos of a southeast Texas stream. *Hydrobiologia*, v.124, p.223-228. 1985.
- HERO, J.-M. An illustrated key to tadpoles occurring in the Central Amazon rainforest, Manaus, Amazonas, Brasil. *Amazoniana*, v.11, n.2, p.201-261. 1990.
- HOPKINS, W.A.; CONGDON, J.; RAY, J. K. Incidence and impact of axial malformations in larval bullfrogs (*Rana catesbeiana*) developing in sites polluted by a coal-burning power plant. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.19, p.862-868. 2000.
- HOWARD, R. D. Reproductive success in two species of anurans. In: CLUTTON-BROCK, T. H. (Ed.). *Reproductive success. Studies of individual variation in contrasting breeding systems*. Chicago: University of Chicago Press, 1988. p.99-113.
- HOWE, G. E.; GILLIS, R.; MOWBRAY, R. C. Effects of chemical synergy and larval stage on the toxicity of atrazine and alachlor to amphibian larvae. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.17, p.519-525. 1998.
- JOHANSSON, M.; RÄSÄNEN, K.; MERILÄ, J. Comparison of nitrate tolerance between different populations of the common frog, *Rana temporaria*. *Aquatic Toxicology*, v.54, p.1-14. 2001.

KRISHNAMURTHY, S. V.; MEENAKUMARI, D.; GURUSHANKARA, H. P.; GRIFFITHS, R. A. Effects of nitrate on feeding and resting of tadpoles of *Nyctibatrachus major* (Anura: Ranidae). *Australasian Journal of Ecotoxicology*, v.12, p.123-127. 2006.

LA MARCA, E.; LIPS, K. R.; LÖTTTERS, 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. Catastrophic population declines and extinctions in Neotropical harlequin frogs (Bufonidae: *Atelopus*). *Biotropica*, v.37, n.2, p.190-201. 2005.

LARINI, L. *Toxicologia*. São Paulo: Editora Manole Ltda, 1970. 281p.

LEFCORT, H.; HANCOCK, K. A.; MAUR, K. M.; ROSTAL, D. C. The effects of used motor oil, silt, and the water mold *Saprolegnia parasitica* on the growth and survival of mole salamanders (Genus *Ambystoma*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.32, p.383-388. 1997.

LIMA, A. P.; MAGNUSSON, W. E.; MENIN, M.; ERDTMANN, L. K.; RODRIGUES, D. J.; KELLER C.; HÖDL, W. *Guide to the frogs of Reserva Adolpho Ducke Central Amazonia*. Manaus: Áttema Design Editorial, 2006. 175p.

MACKERETH, F. J. H.; HERON, J.; TALLING, J. F. *Water analysis: some revised methods for limnologists*. Freshwater Biological Association, Scientific Publication n. 36, 1978. 121p.

MAHANEY, P. A. Effects of freshwater petroleum contamination on amphibian hatching and metamorphosis. *Environmental Toxicology*, v.13, p.259-265. 1994.

MARCO, A.; CASH, D.; BELDEN, L. K.; BLAUSTEIN, A. R. Sensitivity to urea fertilization in three amphibian species. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.240, p.406-409. 2001.

MCCAULEY, R. M. The biological effects of oil pollution in a river. *Limnology and Oceanography*, v.11, p. 475-486. 1966.

MELO, E. G. F.; SILVA, M. S. R.; MIRANDA, S. A. F. Influência antrópica sobre águas de igarapés na cidade de Manaus - Amazonas. *Caminhos de Geografia*, v.5, n.16, p.40-47. 2005.

MENDONÇA, F. P.; MAGNUSSON, W. E.; ZUANON, J. Relationships between habitat characteristics and fish assemblages in small streams of central Amazonia. *Copeia*, v.2005, n.4, p.750-768. 2005.

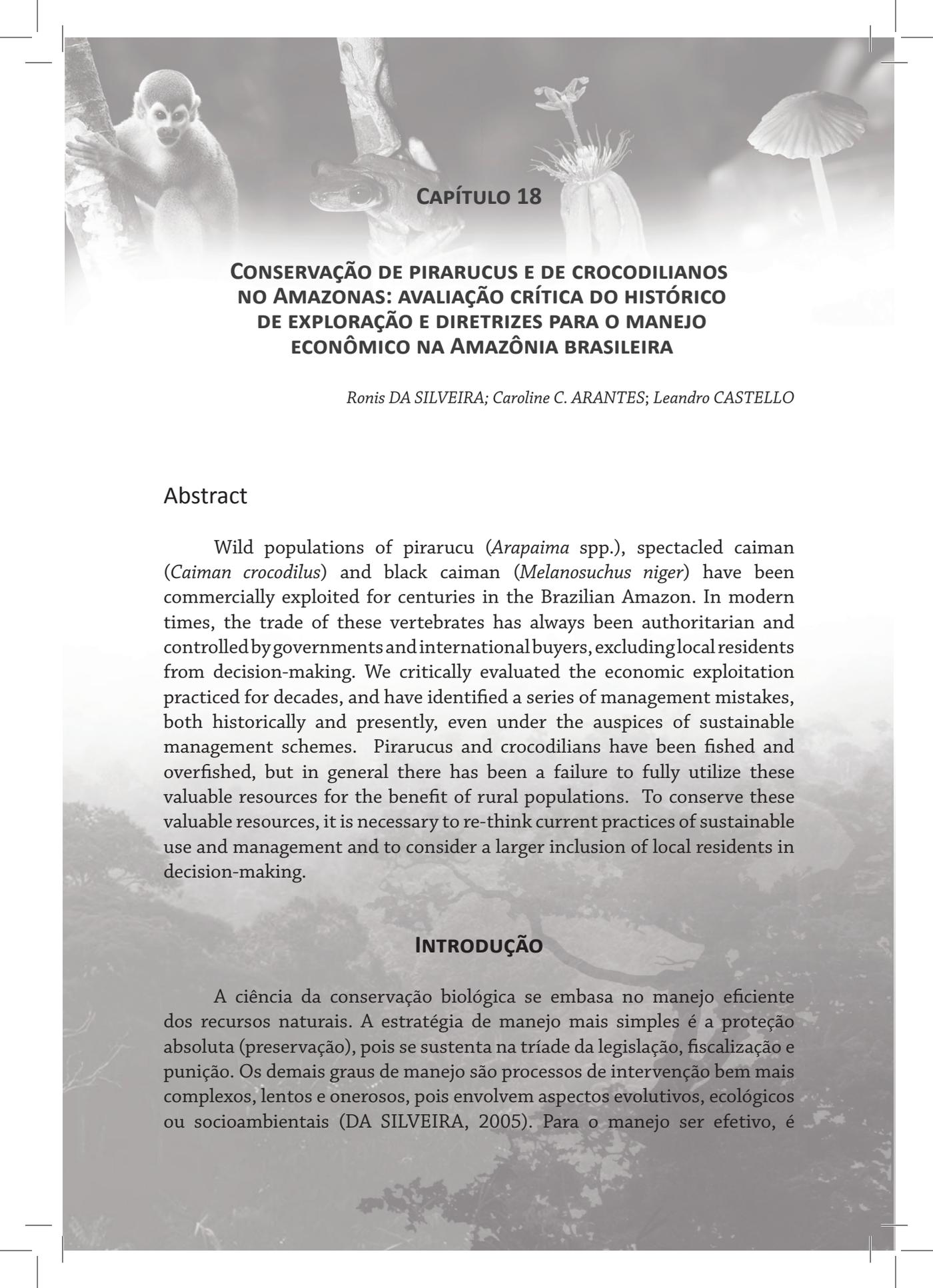
MENDONÇA, R. B. S.; SANTANA, G. P. Avaliação dos parâmetros físico-químicos das águas do Igarapé do Quarenta (Manaus-AM). *I Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica*, Natal, 2006. 7p.

MONTEIRO, J. M. F. *Avaliação experimental do efeito da contaminação por óleo lubrificante sobre larvas de Osteocephalus taurinus (Amphibia, Hylidae)*. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus: INPA, 2004. 45p.

MOREY, S. R. Pool duration influences age and body mass at metamorphosis in the western spadefoot toad: Implications for vernal pool conservation. In: WITHAM, C. W.;

- BAUDER, E. T.; BELK, D.; FERREN JR, W. R.; ORNDUFF, R. (Eds.). *Ecology, Conservation, and Management of Vernal Pool Ecosystems*. Proceedings from a 1996 Conference. California Native Plant Society, Sacramento, 1998. p.86-91.
- ORTIZ-SANTALIESTRA, M. E.; MARCO, A.; FERNÁNDEZ, M. J.; LIZANA, M. Influence of developmental stage on sensitivity to ammonium nitrate of aquatic stages of amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.25, n.1, p.105-11. 2006.
- PAHKALA, M.; LAURILA, A.; MERILÄ, J. Carry-over effects of ultraviolet-B radiation on larval fitness in *Rana temporaria*. *Proceedings of the Royal Society of London*, v.268, p. 1699-1706. 2001.
- PEREIRA, L. P. F.; MERCANTE, C. T. J. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água: uma revisão. *Boletim do Instituto de Pesca de São Paulo*, v.31, n.1, p.81-88. 2005.
- PINTO, A. G. N.; HORBE, A. M. C.; SILVA, M. S. R.; MIRANDA, S. A. F.; PASCOALOTO, D.; SANTOS, H. M. C. Efeitos da ação antrópica sobre a hidrogeoquímica do rio Negro na orla de Manaus/AM. *Acta Amazonica*, v.39, n.3, p.627-638. 2009.
- RODRIGUES, D. J. *Influência de fatores bióticos e abióticos na distribuição temporal e espacial de girinos de comunidades de poças temporárias em 64 km² de floresta de terra firme na Amazônia central*. Tese (Doutorado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus: INPA, 2006. 98p.
- RODRIGUES, D. O.; SILVA, S. L. R.; SILVA, M. S. R. Avaliação ecotoxicológica preliminar das águas das bacias hidrográficas dos rios Tarumã, São Raimundo e Educandos. *Acta Amazonica*, v.39, n.4, p.935-942. 2009.
- ROUSE, J. D.; BISHOP, C. A.; STRUGER, J. Nitrogen pollution: An assessment of its threat to amphibian survival. *Environmental Health Perspectives*, v.107, p.799-803. 1999.
- ROWE, C. L.; KINNEY, O. M.; NAGLE, R. D.; CONGDON, J. D. Elevated maintenance costs in an anuran (*Rana catesbeiana*) exposed to a mixture of trace elements during the embryonic and early larval periods. *Physiological Zoology*, v.7, n.1, p.27-35. 1998.
- RUSSO, R. C. Ammonia, nitrite and nitrate. In: RAND, M. G.; PETROCHELLI, S. R. (Eds.). *Fundamentals of aquatic toxicology*. Washington: Hemisphere Publishing Corporation, 1985. p.455-471.
- SAIDAPUR, S. K.; GIRISH, S. Growth and metamorphosis of *Bufo melanostictus* tadpoles; Effects of kinship and density. *Journal of Herpetology*, v.35, p.249-254. 2001.
- Santana, G. P.; Barroncas, P. S. R. Estudo de metais pesados (Co, Cu, Fe, Cr, Ni, Mn, Pb e Zn) na Bacia do Tarumã-Açu, Manaus – (AM). *Acta Amazonica*, v.37, n.1, p.111 -118. 2007.
- SANTOS, I. N.; HORBE, A. M. C.; SILVA, M. S. R.; MIRANDA, S. A. F. Influência de um aterro sanitário e de efluentes domésticos nas águas superficiais do Rio Tarumã e afluentes – AM. *Acta Amazonica*, v.36, n.2, p.229-236. 2006.
- SCHIESARI, L.; GRILLTSCH, B.; GRILLTSCH, H. Biogeographic biases in ecotoxicological research and their consequences for linking amphibian declines to pollution. *Conservation Biology*, v.21, n.2, p.465-471. 2007.

- SCHUYTEMA, G. S.; NEBEKER, A. V. Comparative effects of ammonium and nitrate compounds on pacific treefrogs and african clawed frog embryos. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.36, p.200-206. 1999.
- SEMLITSCH, R. D.; FOGLIA, M.; MUELLER, A.; STEINER, I.; FIORAMONTI, E.; FENT, K. Short-term exposure to triphenyltin affects the swimming and feeding behavior of tadpoles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.14, p.1419-1423. 1995.
- SHINN, C.; MARCO, A.; SERRANO, L. Inter- and intra-specific variation on sensitivity of larval amphibians to nitrite. *Chemosphere*, v.71, p.507-514. 2008.
- SILVA, M. S. R. *Metais pesados em sedimentos de fundo de igarapés (Manaus-AM)*. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Belém: UFPA, 1996. 109p.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H. *Limnologia dos sistemas de cultivo. Carcinicultura de água doce*. Jaboticabal: FUNEP, 1998. 70p.
- SMITH, D. C. Adult recruitment in chorus frogs: effects of size and date at metamorphosis. *Ecology*, v.68, p.344-350. 1987.
- SMITH, G. R.; TEMPLE, K. G.; VAALA, D. A.; DINGFELDER, H. A. Effects of nitrate on the tadpoles of two ranids (*Rana catesbeiana* and *R. clamitans*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.49, p.559-562. 2005.
- SPRAGUE, J. B. Aquatic toxicology. In: SCHRECH, C. B.; MOYLE, P. B. (Eds.). *Methods of Fish Biology*. Maryland: American Fisheries Society Bethesda, 1990. p.491-528.
- WETZEL, R. G. *Limnology: Lake and river ecosystems*. 3.ed. San Diego: Academic Press, 2001. 1006p.
- WIJER, P.; WATT, P. J.; OLDHAM, R. S. Amphibian decline and aquatic pollution: Effects of nitrogenous fertilizer on survival and development of larvae of the frog *Rana temporaria*. *Applied Herpetology*, v.1, p.3-12. 2003
- WILBUR, H. M.; COLLINS, J. P. Ecological aspects of amphibian metamorphosis. *Science*, v.182, p.1305-1314. 1973.
- WOODWARD, B. D.; TRAVIS, J. Paternal effects on juvenile growth and survival in spring peepers (*Hyla crucifer*). *Evolutionary Ecology*, v.5, p.40-51. 1991.
- YOUNG, B. E.; LIPS, K. R.; REASER, J. K.; IBANEZ R.; SALAS, A. W.; CEDENO, J. R.; COLOMA, L. A.; RON, S.; LA MARCA, E.; MEYER, J. R.; MUNOZ, A.; BOLANOS, F.; CHAVES, G.; ROMO, D. Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America. *Conservation Biology*, v.15, p.1213-1223. 2001.



CAPÍTULO 18

CONSERVAÇÃO DE PIRARUCUS E DE CROCODILIANOS NO AMAZONAS: AVALIAÇÃO CRÍTICA DO HISTÓRICO DE EXPLORAÇÃO E DIRETRIZES PARA O MANEJO ECONÔMICO NA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Ronis DA SILVEIRA; Caroline C. ARANTES; Leandro CASTELLO

Abstract

Wild populations of pirarucu (*Arapaima* spp.), spectacled caiman (*Caiman crocodilus*) and black caiman (*Melanosuchus niger*) have been commercially exploited for centuries in the Brazilian Amazon. In modern times, the trade of these vertebrates has always been authoritarian and controlled by governments and international buyers, excluding local residents from decision-making. We critically evaluated the economic exploitation practiced for decades, and have identified a series of management mistakes, both historically and presently, even under the auspices of sustainable management schemes. Pirarucus and crocodilians have been fished and overfished, but in general there has been a failure to fully utilize these valuable resources for the benefit of rural populations. To conserve these valuable resources, it is necessary to re-think current practices of sustainable use and management and to consider a larger inclusion of local residents in decision-making.

INTRODUÇÃO

A ciência da conservação biológica se embasa no manejo eficiente dos recursos naturais. A estratégia de manejo mais simples é a proteção absoluta (preservação), pois se sustenta na tríade da legislação, fiscalização e punição. Os demais graus de manejo são processos de intervenção bem mais complexos, lentos e onerosos, pois envolvem aspectos evolutivos, ecológicos ou socioambientais (DA SILVEIRA, 2005). Para o manejo ser efetivo, é

necessário que ele ocorra sem recorrer a estratégias autoritárias e absolutas, ou a pacotes metodológicos ou filosóficos demasiadamente exógenos à realidade regional.

Atualmente, a conservação e o manejo de fauna na Amazônia brasileira é um conjunto de desafios antigos e novos (DA SILVEIRA, 2006, 2011). Os pontos reincidentes referem-se a vícios do mau manejo dos últimos dois séculos. Os novos desafios são vários, incluindo o ritmo acelerado de criação de Unidades de Uso Sustentável na última década, e a rápida abertura ao manejo econômico direto na natureza, viabilizado por legislação também recente, na esfera estadual ou federal.

Há no mínimo duas décadas, muitos cientistas e governos estão muito preocupados com o futuro da diversidade biológica na Amazônia brasileira. No mesmo período, infelizmente, somente uma minoria desses agentes públicos envolveram seus orientados ou funcionários com a temática da conservação e do manejo de espécies de vertebrados com valor comercial. A maioria dos cientistas que atuaram nessa temática centrou seus esforços em poucas espécies de peixes com valor comercial (pescado). Entre os políticos, os poucos profissionais por eles indicados eram, no geral, detentores de parco conhecimento técnico-científico ou tinham percepção reduzida sobre o dia a dia no bioma Amazônia (DA SILVEIRA, 2011).

Excluindo-se o grupo dos pescados, a maioria dos vertebrados historicamente comercializados em nível industrial na Amazônia Legal eram espécies de mamíferos ou de répteis. No primeiro grupo sofreram pressão intensa aquelas espécies com pele e pelos sedosos (e. g. *Leopardus pardalis*, *Leopardus wiedii*, *Lontra longicaudis*, *Panthera onca*, *Pteronura brasiliensis*), com pele e pelos grossos (*Pecari tajacu*, *Tayassu tajacu*) ou com pele grossa e basicamente desprovida de pelos (*Trichechus inunguis*; SMITH, 1980). Entre os répteis, foram alvos do comércio espécies de pele espessa e com a superfície do corpo parcialmente (crocodilianos) ou quase totalmente (quelônios) ossificada (SMITH, 1980). Entre as dezenas de espécies de pescado historicamente exploradas na Amazônia, o manejo comercial do pirarucu (*Arapaima* spp.) é, há gerações, um dos mais relevantes. No entanto, o pirarucu é atualmente um dos maiores predadores aquáticos ameaçados de extinção biológica na Amazônia brasileira (WORLD CONSERVATION MONITORING CENTRE, 1996).

Dentre os vertebrados listados anteriormente, aqui abordaremos a complexa temática do pirarucu e dos crocodilianos, pois, segundo a legislação vigente, na atualidade e no futuro próximo somente populações em vida livre dessas espécies estarão sujeitas ao aproveitamento econômico extensivo (*harvesting*) em basicamente toda a Amazônia brasileira.

O nosso objetivo nesse Capítulo foi avaliar o comércio histórico de pirarucus e de crocodilianos na Amazônia brasileira, mediante uma análise crítica dos muitos fracassos e poucos sucessos alcançados. Nossa contribuição visa única e exclusivamente colaborar para que em médio à longo prazo tenhamos melhores práticas de manejo dessas espécies, as quais poderiam ser nominadas de espécie-recurso, as quais se caracterizariam por serem predadores aquáticos grandes, com adultos basicamente piscívoros, de comportamento complexo, com capacidade de deslocamento relativamente acentuada (CASTELLO, 2008; CASTELLO et al., 2011a; DA SILVEIRA et al., 2011), rendimento de carcaça elevado e pele de valor comercial. Além disso, na culinária tradicional ou extra-amazônica essas espécies são percebidas como iguaria ou produto exótico, sendo que iniciativas empresariais em sistema fechado (*farming*) ou recria (*ranching*) não atingiram os resultados propalados.

MATERIAL E MÉTODOS

As informações aqui apresentadas e discutidas dividem-se em dois grupos básicos. Um deles representa uma boa parte da melhor informação científica publicada, principalmente em língua inglesa, além da legislação nacional pertinente. De forma inédita para os autores, também foram incluídas informações consideradas fidedignas disponíveis na Internet, uma vez que existe consenso sobre a relevância dessa ferramenta virtual global como suporte para ações de conservação biológica.

O outro grupo refere-se à comunicação pessoal de outros autores ou demais profissionais, além de dados não publicados, informações anedóticas ou percepções pessoais dos autores colecionadas ao longo de quase duas décadas de pesquisa em populações naturais de pirarucus e de crocodilianos na Amazônia brasileira.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A falência e o bom modelo de manejo de pirarucu

Os primórdios da exploração comercial das espécies de pirarucu (*Arapaima* spp.) remontam ao século XVIII, com o apogeu no final do século seguinte, quando se tornou a atividade pesqueira mais relevante na Amazônia (VERÍSSIMO, 1895). O malefício deste manejo histórico foi que a taxa de

captura e o tamanho médio dos pirarucus declinaram paulatinamente, até que na década de 1950 ocorreu uma queda drástica na produção da carne salgada-seca do maior peixe de escama do bioma Amazônia. Tal gestão econômica fracassou devido a muitos fatores regionais ou exógenos à Amazônia, entre os quais se destacam a falta de pesquisa, legislação e fiscalização efetivas (ISAAC et al., 1993; CASTELLO et al., 2011b; QUEIROZ e SARDINHA, 1999).

Atualmente, o pirarucu consta na Lista Vermelha das Espécies Ameaçadas de Extinção Biológica (WORLD CONSERVATION MONITORING CENTRE, 1996), além de ser o único peixe sul-americano de água doce incluído na Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies da Fauna e Flora Selvagens em Perigo de Extinção - CITES (Apêndice II; www.cites.org).

Na atualidade, a carência de dados impede a avaliação criteriosa do real estado de conservação do pirarucu na maior parte da sua distribuição. No entanto, existe consenso técnico-científico sobre a tendência geral de declínio das populações (CASTELLO e STEWART, 2010).

Somente no final do século XX foram realizados os primeiros esforços adequados ao bom manejo do pirarucu. A partir de 1986 foi estabelecido o tamanho mínimo de captura de 1,5 m, e a partir de 1991 foi instituída a proibição da pesca (defeso) anual, entre dezembro e maio (Portaria n° 480/91). Infelizmente, mais uma vez, essas normas não foram devidamente fiscalizadas e a pesca do pirarucu continuou no limbo do contrabando.

Por fim, e somente há quatro anos do século XXI, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), em Manaus, proibiu entre junho e novembro a pesca do pirarucu (Portaria n° 8/96), resultando na proibição da pesca desta espécie ao longo de todo ano no estado do Amazonas. Diante dessa regulamentação plenamente restritiva, técnicos da pesca, pesquisadores e pescadores somaram esforços para elaborar e implementar, em 1999, o primeiro manejo experimental do pirarucu na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, nos arredores de Tefé/AM. Nesse novo cenário, os institutos do tamanho mínimo e do defeso foram ratificados, e os pescadores acordaram o rodízio de lagos e o estabelecimento da cota anual de pesca (VIANA et al., 2004).

Inicialmente, somente quatro comunidades pequenas se beneficiaram do projeto. No entanto, esse número reduzido de comunitários foi compensado por abarcar os pescadores mais especialistas ou experientes na região, além de objetivar cumprir uma das máximas da conservação, a qual apregoa que todo e qualquer manejo deve começar “pequeno”, e só expandir à medida que se adquire competências e se formam quadros; o que infelizmente não é a regra da agenda governamental. Após alguns anos, o rodízio de corpos hídricos (lagos), proposto inicialmente, se mostrou pouco

efetivo na conservação dos estoques, uma vez que curiosamente a maioria da população de pirarucus tende a habitar alguns poucos lagos em cada região (VIANA et al., 2007; ARANTES et al., 2011).

Após a fase inicial, pesquisas de campo lapidaram o modelo não só no aspecto técnico-científico, mas também no âmbito de filosofias e dogmas, ao resgatar, valorizar e parear o saber tradicional com o método científico. Essa inovação na percepção do manejo dos recursos naturais embasou-se na capacidade dos grupos de pescadores experientes de avaliar os estoques de pirarucu, contabilizando os indivíduos no momento da respiração aérea obrigatória na espécie. O apogeu da modelagem ocorreu quando os valores oriundos das contagens feitas pelos pescadores foram cientificamente validados, mediante estimativas de abundância provenientes de experimentos de marcação-recaptura e de captura da população total presentes nos corpos hídricos amostrados (CASTELLO, 2004; ARANTES et al., 2007). Vale ainda destaque que essa nova técnica desenvolvida, mesclando o saber empírico com o formal, permite estimar a abundância de pirarucus de forma 200 vezes mais rápida e menos dispendiosa do que experimentos padrão de marcação-recaptura (CASTELLO et al., 2009).

No geral, esse novo manejo orienta os pescadores a contarem anualmente o número de pirarucus e a usar essa informação para a associação dos pescadores solicitar a cota de pesca do ano seguinte ao IBAMA. Após mais de uma década desse manejo participativo de base científica, a abundância de pirarucus em vida livre, a taxa de captura, a tonelagem produzida e o tamanho médio dos pirarucus capturados aumentaram nas quatro comunidades-piloto. Além dessas, as populações de pirarucu manejadas em outras 13 comunidades na Reserva Mamirauá também aumentaram a uma taxa média de 25% ao ano (ARANTES et al., 2006).

Obviamente esse sistema exitoso de manejo disseminou rapidamente devido a sua acurácia com custo e esforço relativamente baixos, sendo que em 1996 esse foi incorporado na legislação amazonense (Portaria n.º 8/96). Hoje, nos estados do Amazonas e do Acre a pesca do pirarucu é legal apenas para pescadores que fazem contagens para o estabelecimento da cota, e a tendência é acontecer o mesmo em outros estados amazônicos, como no Pará.

Gargalos a serem transpostos

Atualmente mais de 100 comunidades manejam legalmente o pirarucu na Amazônia brasileira. Os problemas enfrentados são recorrentes ou

novos, nas diferentes fases da cadeia produtiva deste valioso pescado. A seguir, abordaremos alguns dos gargalos principais dessa nova realidade de aproveitamento econômico do pirarucu.

- O labor dos pescadores

Apesar da técnica de contagem estar sendo amplamente aplicada na Amazônia, praticamente não existe avaliação quanto à qualidade e a veracidade dos dados obtidos por vários grupos de manejadores de pirarucu (ARANTES et al., 2007; ARANTES et al., 2011; CASTELLO et al., 2011c;). O método de contagem (CASTELLO, 2004) também foi adaptado em algumas áreas de manejo, mas ainda sem a devida validação científica, uma das âncoras das boas práticas da conservação e do manejo.

- A cota de extração

Poucos tópicos da conservação mediante manejo econômico são mais relevantes do que o conceito de cota de extração, pois essa deveria funcionar como fonte de receita, mas sem ameaçar a população explorada. O que nesse texto estamos rotulando como cota é a rigor um índice de esforço, ou seja, um indicativo da porcentagem do número de pirarucus (ou crocodilianos) contabilizados e que poderiam ser aproveitados (MAGNUSSON e MOURÃO, 1997; CASTELLO et al., 2011a). No entanto, uma vez que pairam dúvidas sobre a veracidade de muitas contagens, também não à confiança sobre a realidade das cotas solicitadas, e isso é preocupante. Mesmo assim, a cota para 2012 no estado do Amazonas foi de 19.911 exemplares, totalizando algo de 996 toneladas de carne resfriada de pirarucu.

Nesse cenário, pesquisa recente sobre a dinâmica populacional do pirarucu indicou que a cota sustentável de pesca pode representar até 25% do número de indivíduos com mais > 1,5 m contabilizados no ano anterior na área de manejo (CASTELLO et al., 2011a). No entanto, na maioria dos locais de manejo, a cota tem sido determinada com base em contagem realizada em um único ano, não havendo nesses casos o monitoramento satisfatório da tendência populacional (CASTELLO et al., 2011c). Vale destaque ainda que não a consenso entre os atores envolvidos (governos, técnicos, cientistas e pescadores) sobre como devem ser incorporados fatores organizacionais e institucionais no estabelecimento de cotas de pesca.

- Gestão do manejo

Um dos gargalos principais no manejo do pirarucu tem sido a falta de governança por parte dos pescadores e das associações comunitárias, agravado pela carência de apoio e de extensão técnica para implementar e gerir o manejo. Dessa feita, o manejo do pirarucu deve ser desenvolvido

de forma colaborativa entre técnicos, pesquisadores, governo e comunidades. Nesse contexto, os técnicos e pesquisadores devem embasar cientificamente a solicitação de cotas de pesca, e ao governo cabe o papel principal de fiscalizar. No entanto, a extinção recente dos escritórios regionais do IBAMA no interior da Amazônia é preocupante e caminha para o lado oposto aqui proposto. Logo, ficam algumas questões básicas: O governo que fomenta e desenvolve terá a lisura necessária para também fiscalizar? Aqui cabe a cada um dos atores uma reflexão profunda sobre o tema, ou iremos mais uma vez incorrer no erro de séculos passados ao não monitorar a produção?

- Monitoramento e certificação

A contagem para solicitação de cota deve ser executada somente por pescadores experientes na arte da pesca do pirarucu, e que foram treinados na técnica que foi validada cientificamente (CASTELLO, 2004), até que surja outra mais adequada. A tendência do pescador em sub ou superestimar a quantidade de pirarucu pode ser detectada através da “certificação de contadores”, assegurando a qualidade da informação (ver ARANTES et al., 2007; CASTELLO et al., 2011c).

Além de avaliar as contagens feitas pelos pescadores, uma forma de minimizar os erros na contagem é realizá-la com grupos de pescadores e não individualmente (ARANTES et al., 2007). Nessa situação também será possível realizar uma “auditoria das contagens” para avaliar se a quantidade de pirarucus na área são valores reais ou forjados (ver detalhes em ANDRADE et al., 2011).

O modelo desenvolvido por técnicos, cientistas e comunitários na Reserva Mamirauá é a melhor ferramenta disponível para determinar cotas sustentáveis de pesca, e de forma complementar avaliar as tendências das populações de pirarucu. Considerando que a Amazônia não é homogênea, em cada região também será relevante avaliar minuciosamente as tendências históricas das populações manejadas, além de considerar outros fatores com influência potencial nos resultados das contagens, tais como a expansão da área contada, a pesca ilegal praticada por terceiros, entre outros aspectos técnicos e sociais.

O manejo de crocodilianos

O histórico brasileiro do manejo comercial de crocodilianos amazônicos, legal ou informal, caracterizou-se por ser autoritário e maléfico para as populações humanas ou de crocodilianos do bioma, respectivamente.

Atualmente, o risco latente é que possa se perpetuar nesse Novo Século o paradigma daquele comércio nefasto praticado no século passado, o qual não resultou em melhoria de renda, educação ou saúde aos caçadores – apesar do abate anual, durante décadas, de centenas de milhares de *Caiman crocodilus* (jacaré-tinga) e de *Melanosuchus niger* (jacaré-açu), as duas das quatro espécies de crocodilianos amazônicos com valor comercial, pois essas são de tamanho adequado à produção de carne e produzem pele menos ossificada (DA SILVEIRA, 2003a).

O aspecto principal nessa seção do documento será inquirir se iremos preservar no século XXI o *status quo* da falida experiência brasileira de manejo de crocodilianos na Amazônia, ou se faremos algo mais inteligente e com partilha equitativa dos dividendos, e não somente dos prejuízos.

Até a proibição nacional da caça comercial em 1967, o manejo por peles de crocodilianos amazônicos foi totalmente direcionado por compradores estrangeiros e pelos governos locais, sem que os caçadores tivessem gestão sobre o manejo. Desde o início (1930-40), os compradores decidiam a espécie, a quantidade e os tamanhos a serem abatidos. Naquela época, os amazônidas não tinham a capacidade organizacional necessária para tamanho empreendimento.

Caçadores daquela época nos informaram que chegaram ao limite de ter que emendar a pele de dois ou mais crocodilianos para tentar burlar o tamanho mínimo exigido pelos patrões, pois já eram raros indivíduos grandes em vida livre. A incapacidade, ou desinteresse, do mercado internacional em adequar o produto acabou por falir esse comércio (REBÊLO e MAGNUSSON, 1983; DA SILVEIRA, 2002). Até então, a carne resultante do manejo por pele não tinha valor de mercado, e era toda descartada.

O resultado final desse comércio milionário foi trágico para os ribeirinhos que viram sua fonte de renda minguar paulatinamente até atingir o ponto de extinção comercial, e posteriormente veio a ameaça de extinção biológica das populações naturais (REBÊLO e MAGNUSSON, 1983).

Pouco mais de uma década após o término do comércio legal de peles controlado por norte-americanos e europeus, já existia no médio rio Solimões, onde hoje é a famosa Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) Mamirauá, um comércio ilegal imenso de carne salgada-seca de crocodilianos (BEST, 1984). Em 1995, estimamos que a produção ilegal equivalia a 115 toneladas por ano, somente na RDS Mamirauá (DA SILVEIRA e THORBJARNARSON, 1999). Toda essa “matança” (como localmente chamado na ocasião) era controlada por colombianos, sendo a carne transportada como pescado, após ser desprovida de qualquer resquício de pele ou ossos.

Nessa nova realidade, a fiscalização brasileira foi totalmente ineficiente, e até onde sabemos nunca realizou apreensão significativa desse produto na sua Base Anzol em Tabatinga (desativada atualmente), na tríplice fronteira com Colômbia e Peru. Há relatos de que essa carne chegava a abastecer até as Forças Armadas Revolucionárias da Colômbia (FARC). Nesta nova fase da exploração dos crocodilianos, as até então valiosas peles eram descartadas e os ribeirinhos continuaram à mercê do comércio estrangeiro, dessa vez sul-americano.

Após a divulgação daquela situação caótica em nível internacional (e.g. DA SILVEIRA e THORBJARNARSON, 1999), o IBAMA agiu ostensivamente sobre os caçadores comunitários da RDS Mamirauá, mas não sobre os contrabandistas colombianos. Curiosamente, a caça minguou em poucos anos na região, mas na ocasião o eminente zoólogo J. M. Ayres nos advertiu que o tráfico ilegal de fauna é extremamente plástico, e que rapidamente surgiriam novidades na forma de exploração. E foi exatamente o que aconteceu!

Rapidamente o comércio de carne praticado no médio rio Solimões deslocou-se, ou foi intensificado, no baixo rio Purus, o qual ocorre até a atualidade onde agora é a RDS Piagaçu-Purus. Nesta região, o comércio da carne salgada-seca (com ossos) é há décadas controlado por contrabandistas paraenses (DA SILVEIRA, 2003a), e o produto destinado principalmente ao mercado de Abaetetuba, às margens do rio Amazonas, no estado do Pará (DA SILVEIRA, 2003b; BAIA JR., 2006).

Por ser uma Unidade de Conservação estadual, o Instituto de Proteção Ambiental do Estado do Amazonas (IPAAM) passou a combater fortemente este comércio de carne de jacarés, e mais uma vez o foco de fiscalização foi os ribeirinhos e comerciantes comunitários da RDS Piagaçu-Purus, e secundariamente os contrabandistas paraenses (<http://br.reuters.com/article/domesticNews/idBRN0129764920080401>).

Todo o comércio histórico descrito anteriormente tinha como base o aviamento, o que na Amazônia se resume no “... adiantamento de mercadorias a crédito”, a serem pagas com produtos naturais renováveis da floresta. Essa forma de comércio capitalista geralmente endivida o ribeirinho, e gerou pouca dignidade social na Amazônia (www.anpocs.org.br/portal/publicacoes/rbcs_00_25/rbcs25_09.htm; www.amazonlink.org/ACRE/amazonas/seringueiros/rubber.htm). Com o endividamento, aumenta a pressão sobre os recursos naturais para cobrir o rombo na economia doméstica do ribeirinho.

Paulatinamente à mudança do comércio de carne da RDS Mamirauá para a RDS Piagaçu-Purus, uma nova forma de exploração de crocodilianos,

potencialmente ainda mais maléfica, se estabeleceu no alto e no médio rio Solimões. Por volta de 1998 naquela região, a carne de crocodiliano passou a ser extensivamente utilizada como isca para a captura do peixe-liso (sem escama) conhecido como “mota, urubu d’água ou piracatinga” – *Calophysus macropterus*, Pimelodidade (DA SILVEIRA e VIANA, 2003). Inicialmente esta exploração foi capitaneada por comerciantes colombianos, mas em menos de uma década capilarizou para a indústria local.

Além do crime ambiental devido ao uso abusivo de espécies da fauna nativa (e. g. jacaré-açu) como isca para a captura desse pescado, até então sem valor comercial, a piracatinga apresentou o segundo maior nível de concentração de mercúrio – Hg (313 a 871 ng.g⁻¹, média = 527 ± 213) de 32 espécies avaliadas na região de Manacapuru/AM, e acima do recomendado (500 ng.g⁻¹) pela legislação nacional, sendo que valores acima de 300 ng.g⁻¹ também já são considerados tóxicos (BELTRAN-PEDREROS, 2012).

Destaca-se ainda que esse pescado, que biologicamente deve abranger umas três espécies distintas (JONAS OLIVEIRA, comunicação pessoal, 2012), atualmente adentra frigoríficos amazonenses com Serviço de Inspeção, sendo comercializada em forma de filé congelado com o nome de “douradinho” a R\$ 16/kg em pelo menos um grande supermercado em Manaus (JANSEN ZUANON, comunicação pessoal, 2012).

Nós e outros colegas (e. g. www.ampa.org.br) temos denunciado a prática de utilizar a carne de crocodilianos como isca desde o início deste século (DA SILVEIRA e VIANA, 2000), mas até onde sabemos o Poder Público nada fez efetivamente para combater essa produção perniciosa. Nessa realidade, talvez a única forma de coibir efetivamente esta atividade seja informar o consumidor a insalubridade desse produto devido ao Hg, e que esse pescado é capturado não somente com isca feita de carne de crocodilianos, mas também com carne de boto-vermelho (*Inia geoffrensis*), caçados especificamente para este fim (www.oeco.com.br/fauna-e-flora/26282-pesca-do-piracatinga-agrava-matanca-de-botos-cor-de-rosa).

- O atual manejo oficial

Em 2002, um de nós participou de um grupo de pessoas confinadas em um barco para elaborar o projeto intitulado Zona Franca Verde, o qual foi a plataforma de dois governos do estado do Amazonas, entre 2003 e a atualidade. Na ocasião, o potencial e as perspectivas de incentivo e fomento ao comércio de produtos regionais como abiu, cipó titica, cubiu, malva, piscicultura, entre outros, foram calorosamente apresentados, debatidos e defendidos durante dias. À questão dos crocodilianos foi oferecida a bagatela de cinco minutos de apresentação, mas somente três minutos foram suficientes para acender, mais uma vez, a busca pelo lucro alto e rápido, pois

atualmente no estado do Amazonas ocorre uma das maiores populações de crocodilianos do planeta, especialmente de jacaré-açu (DA SILVEIRA, 2002; DA SILVEIRA et al., 2008).

Os dez anos seguintes ratificaram o que foi proposto (mas não acatado) sobre crocodilianos naquela reunião de trabalho a bordo. O tempo confirmou que na Amazônia não basta apenas ter empolgação e matéria prima em abundância (pele e carne), é necessário um planejamento estratégico de gestão de médio-longo prazo, que culmine na formação de quadros e de competências; além de atenção especial às críticas e sugestões dos poucos especialistas nas espécies-alvo. Infelizmente, a lição de casa não foi bem feita pelos agentes públicos!

O mais penoso foi constatar que a autocracia mais uma vez foi mantida, onde a opinião de poucos triunfou sobre a vivência da maioria. Tudo foi feito em “toque de caixa”, e segundo agenda de governo e de alguns externos (DA SILVEIRA, 2011). Desde 2003, os equívocos foram muitos e as vitórias poucas. Na sequência, compartilhamos algumas das discrepâncias e desserviços cometidos, até então:

- Sonho antigo por pele nova

O Amazonas foi durante as décadas de 1930-70 o maior exportador de peles de crocodilianos da Amazônia. Em somente quinze anos (1950-65), esse estado exportou 7,5 milhões de peles de crocodilianas (SMITH, 1980; MEDEM, 1983). Hoje, o desejo de vários ribeirinhos, empresários, políticos e funcionários públicos é reviver o auge do comércio de peles experimentado por seus avós e pais. No entanto, desde então, o interesse do público mundial por “pele de bicho” reduziu radicalmente, ao ponto de um dos maiores especialistas em muitas espécies de crocodilianos ao redor do mundo ter concluído que o comércio de peles de crocodilianos está fadado à falência, em escala global (J. THORBJARNARSON, comunicação pessoal, 2000).

Os motivos desta descontinuidade são não somente comportamentais, mas também econômicos. Em décadas passadas, usar uma maleta ou um casaco de crocodiliano com origem legal era um sinal de riqueza, senão de luxúria (PETER BAYLISS, comunicação pessoal, 1991). Hoje, a percepção mudou e existe uma infinidade de outros produtos sintéticos de ótima qualidade disponíveis. Atualmente, caçar ou criar animais para a confecção de subprodutos como “troféu animal” é démodé e sujeito a ataques e retaliações da sociedade civil organizada. Além disso, o mundo globalizado ficou menos rico, e a maioria dos grandes comprados mundiais (Alemanha, Estados Unidos, Itália, Japão) de peles está à deriva na macroeconomia desde 2007. No entanto, se cada adulto chinês resolver adquirir um produto amazônico manejado, certamente, as populações silvestres de crocodilianos também sentirão o efeito desta populosa potência emergente.

No caso brasileiro, ainda se perdeu a tecnologia necessária para processar peles de animais silvestres. Logo, a menos que se faça a capacitação dessa cadeia produtiva, continuaremos a ser vendedores de matéria prima. E mais uma vez teremos que abater muitos animais para manter o lucro. Obviamente o manejo de peles de crocodilianos amazônicos produzirá alguma riqueza durante algumas décadas, como no passado. Mas o risco latente, ou falta de modernidade, é que ainda não existe arcabouço jurídico ou política pública para garantir que os povos tradicionais das Unidades de Conservação de Uso Sustentável onde ocorra manejo de crocodilianos estejam entre os maiores beneficiados economicamente, diferentemente do passado.

- *Pele versus carne*

Tradicionalmente nunca ocorreu na Amazônia brasileira a exploração simultânea, legal ou ilegal, de pele e de carne de crocodilianos (ver DA SILVEIRA et al., 1998 para uma exceção). No entanto, atualmente até o sistema produtivo rural na Amazônia está mesclado de percepções ecológicas, filosóficas e éticas gestadas na segunda metade do século XX. Nesse cenário, o manejo oficial ora proposto contempla a produção de pele e de carne, com igual excelência. Mas, curiosamente, alguns técnicos do governo (até no alto escalão) ainda não entenderam como a cadeia de produção de pele compete com a de carne, no caso dos crocodilianos.

Esse conflito ocorre devido à condição tetrápode e a abundância de osteoderme (osso imerso na pele) nos crocodilianos, redundando em esfolia cuidadosa e criteriosa da pele. Pois, nesse mercado, um único furo na pele a torna “de segunda categoria”, e mais outro a torna basicamente um refugo (ÁLVARO VELASCO, comunicação pessoal., 2000). Todo esse cuidado necessário atrasa o fluxo da carne e aumenta os custos com pessoal e refrigeração para que a qualidade da carne seja preservada, além do aumento do risco de contaminação da carne na manipulação pela pele. Para piorar, na esfolia é necessário deixar uma camada de tecido muscular de alguns milímetros grudada na pele para facilitar o curtimento (JORGE REBÊLO, comunicação pessoal, 2011). No entanto, essa prática prejudica a apresentação da carne e, portanto, o seu valor potencial de mercado (WALDÉCIO PITCH, comunicação pessoal, 2011).

Biologicamente também existe conflito entre a produção de pele e de carne, de acordo com a espécie manejada. Do jacaré-tinga, por exemplo, se obtêm uma melhor carne mais macia e de cor mais clara, provavelmente devido à menor quantidade de colágeno em sua composição. No entanto, a pele dessa espécie possui valor comercial baixo por ser muito ossificada, sendo aproveitados basicamente os “coletes” das laterais do corpo. Além

disso, existem dezenas de milhares de peles dessa espécie, ou de outras similares, “encalhadas” em outros países produtores da América do Sul (VELASCO, 2010).

O jacaré-açu, em contrapartida, possui pele considerada semiclássica, com menos osteoderma na região ventral, de forma que é possível produzir uma peça de pele bem maior, constituída do ventre e das laterais (*belly skin*). No entanto, a carne dessa espécie é de textura mais rígida e de cor arroxeada, provavelmente devido à quantidade maior de colágeno (AUGUSTO KLUCZKOVSKI JÚNIOR, comunicação pessoal, 2012).

A seguir, nos deteremos a avaliar duas situações emblemáticas de conservação e de manejo ocorridas em dois estados amazônicos:

- Mistura indevida de retaliação e comércio

Em 2000, na Reserva Extrativista do Lago Cuniã, em Rondônia, um jacaré-açu de uns 4 m abocanhou e matou uma criança ribeirinha de cinco anos de idade. Esse fato trágico virou uma das principais bandeiras dos moradores locais pela caça comercial para controle da população de crocodilianos em Cuniã. Esta manifestação popular foi perfeitamente autêntica, e até justificável, naquela sociedade.

A anomalia técnico-administrativa ocorreu quando técnicos do Poder Público começaram a propagar e a defender esse mesmo posicionamento. Ora, a situação é extremamente delicada, mas balizarmos iniciativas de manejo econômico da fauna em retaliação à morte na Amazônia implica que teríamos que manejar economicamente a onça-pintada (*Panthera onca*), as serpentes peçonhentas, e provavelmente algumas espécies de grandes bagres, entre muitas outras espécies de vertebrados e invertebrados. Ora, obviamente sentimos a perda humana para crocodilianos, mas as razões oficiais de manejo econômico devem referenciar-se no conhecimento biológico e ecológico que já possuímos, e nas nossas competências técnicas e científicas, sem extremismo.

O mais preocupante é que essa prática acaba de ser oficialmente instituída pela Instrução Normativa n.º 28/2012, que determina: “Os animais (ler crocodilianos)... que representem risco à integridade física dos beneficiários das Unidades de Conservação poderão ser abatidos e comercializados em qualquer época do ano, sendo estes considerados no quantitativo da cota de abate anual autorizada” (Art. 10^º § 10^º). Ora, as consequências dessa permissividade precisam ser mais profundamente avaliadas, considerando não somente os crocodilianos (e o fato ocorrido em Cuniã), mas toda a fauna nativa de predadores ou de organismos peçonhentos da nossa megadiversidade amazônica.

- Criação e fim do paraíso dos crocodilianos

A segunda avaliação de caso é o Lago Mamirauá, um ícone na história recente dos crocodilianos amazônicos. A caça por carne (e provavelmente, anteriormente, por peles) foi intensa na região de Tefé/AM (BEST, 1984), e no final da década de 1980 era raro ver um único crocodiliano ao longo dos 10 km do Lago Mamirauá (LUIS CLÁUDIO MARIGO, comunicação pessoal, 2012). Esta realidade começou a mudar a partir de 1990, quando na região foi criada uma Estação Ecológica, e que em 1996 foi transformada na primeira Reserva de Desenvolvimento Sustentável do país.

Nesta nova conjuntura ambiental, em 1996 o Lago Mamirauá foi incluído, mediante processo de decisão participativa, na área de preservação permanente da recém criada Unidade de Conservação estadual. Desde então, e por mais de uma década, o Lago Mamirauá foi efetivamente vigiado por ação regular de comunitários que atuavam como fiscal ambiental voluntário (função hoje extinta). O resultado desta proteção foi biologicamente espetacular, ao ponto de somente em uma hora de levantamento noturno ser possível contabilizar até 3800 crocodilianos no Lago Mamirauá, no período da seca, dos quais 81% era jacaré-açu. Algo, até então, inimaginável para qualquer região amazônica, pois na ocasião esta espécie ainda era erroneamente classificada como ameaçada de extinção biológica (DA SILVEIRA, 2002).

Devido ao tamanho esforço conjunto, o Lago Mamirauá se tornou um paraíso de crocodilianos, especialmente do jacaré-açu. Dado a relativa tranquilidade dessa espécie, quando em ambiente natural intacto e sem perseguição humana, esse lago tornou-se o local ideal para estudos pioneiros de comportamento (MARIONI et al., 2008), e de pesquisas ecológicas de longo prazo com crocodilianos amazônicos (DA SILVEIRA et al., 2008, 2010). Isso, além da experiência, também ímpar na Amazônia, do turismo ambiental de base comunitária, propiciando ao cliente desfrutar um entardecer na cabeceira do Mamirauá, envolto literalmente por centenas de crocodilianos nadando ao redor da embarcação.

As saudáveis populações de crocodilianos do Lago Mamirauá também possibilitaram muitas matérias de mídia e de documentários sobre vida selvagem, uma das estratégias básicas de programas de conservação bem sucedidos. Recentemente, as populações de crocodilianos do Lago Mamirauá também foram eternizadas na literatura infantil por um dos maiores escritores amazonenses, na obra “O Harem do Senhor Jacaré” (FARIAS, 2011). Mas, tudo começou um ano depois para os crocodilianos do Lago Mamirauá, conforme discorreremos, a seguir:

Em agosto de 2012, um de nós conduzia ao Lago Mamirauá um grupo de pós-graduandos no âmbito da disciplina intitulada Biologia da

Conservação, parceria entre o Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica da UFAM e o Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá (IDSM). Naquela ocasião, juntamente com o premiado especialista em crocodilianos Robinson Botero-Arias, tinha sido planejado várias atividades práticas no Lago Mamirauá. Mas, quando lá chegamos basicamente não havia crocodilianos visíveis, nem mesmo de longe. Para a nossa surpresa, estavam visíveis somente exemplares pequenos, os quais a rigor não estariam tão visíveis se os indivíduos maiores estivessem presentes, pois seriam canibalizados. Vale ainda destaque que mesmo os indivíduos pequenos não permitiam aproximação, sendo este um comportamento de fuga típico de regiões com caça (RON et al., 1998), ou outra pressão antrópica.

A explicação de mudança tão acentuada na quantidade, tamanhos e comportamento daqueles crocodilianos surgiu ao anoitecer, quando entre 40 e 65 pescadores com lanterna começaram a fazer o seu primeiro dia de “facho com batição”. Esta técnica de pesca dirige o cardume de peixes mediante luz e batidas na água até as redes malhadeiras armadas em posições estratégicas. Na realidade, eles lá estavam há alguns dias, preparando esta pescaria, e seguramente assustando os crocodilianos.

A cota de cinco toneladas de tambaqui (*Colossoma macropomum*) desta pescaria foi aprovada pelo Conselho Deliberativo da Reserva Mamirauá, com o aval dos órgãos governamentais, mas não do IDSM (MIRIAM MARMONTEL, comunicação pessoal, 2012). Após quatro dias foram pescados entre 21 e 28 toneladas de tambaquis, o que resultou em multa de R\$ 50.000,00, aplicada pelo IPAAM. Os crocodilianos grandes tornaram-se visíveis novamente na semana seguinte do término desta pescaria, mas passaram a evitar a aproximação, o que não ocorria há mais de uma década neste corpo hídrico.

Esse exemplo evidenciou fortemente como populações de crocodilianos reagem imediatamente à pressão indesejada, tornando-se gradativamente ariscas, encarecendo paulatinamente a logística da captura e todo o manejo comercial. Pior ainda, será se futuramente esses crocodilianos se refugiarem nas áreas de nidificação, localizadas em corpos hídricos mais internos, onde as fêmeas permanecem por toda a fase adulta. E se com o tempo a caça retornar a este habitat, estaremos trilhando, mais uma vez, o caminho da extinção comercial do jacaré-açu na Amazônia (DA SILVEIRA e THORBJARNARSON, 2012).

Os fatos ocorridos em Cuniã e em Mamirauá foram resultados de decisões deliberativas e de legislação. Ambos esses temas são críticos e atuais na Amazônia brasileira, mas por questão de estrutura de texto não serão aqui abordados.

POR FIM, desejamos que nossas críticas e sugestões sejam úteis para não cometermos os mesmos erros do manejo histórico, os que no geral ameaçou as populações de crocodilianos e não trouxe dignidade à grande maioria dos amazônidas. Como cientistas, uma das lições que aprendemos, mas que nos dificultaram de ensinar, é que as ações de conservação e de manejo implementadas com sucesso em outros países no passado não necessariamente se aplicam diretamente para a realidade amazônica.

Na qualidade de biólogos, objetivamos também a manutenção dos processos ecológicos e evolutivos das populações, seus habitats e ecossistemas. Como cientistas, esperamos que essa nova onda de exploração comercial dos crocodilianos amazônicos seja de base e lucro comunitário, uma vez que originalmente foi gestada em uma Unidade de Conservação de Desenvolvimento Sustentável.

A nossa meta maior neste documento não foi retaliar pessoas, grupos ou instituições, mas sim os processos adotados por estes. Como cidadãos, o que nos move é que com a promulgação da Constituição de 1988, a fauna brasileira deixou de ser *res nullis* (“coisa de ninguém”) para ser propriedade da União e, portanto, um bem comum de todo e qualquer brasileiro (SÔNIA WIEDDMAN, comunicação pessoal, 2000). Logo, o destino dos crocodilianos (e da fauna) não pode ser decidido por poucos com poder político ou mesmo notório saber, mas sim pela democracia do coletivo. Nessa linha conservacionista, lembramos a sábia diretriz de um rei-botânico: “na multidão de conselhos está a vitória” (SALOMÃO, PROVÉRBIOS 24: 6). Logo, recomendamos fortemente que continuemos a mesclar o saber tradicional e o técnico-científico para as boas práticas da conservação e do manejo de crocodilianos no bioma Amazônia, uma das regiões mais biodiversas na história evolutiva da Terra.

AGRADECIMENTOS

A filosofia conservacionista dos zoólogos José Márcio Ayres e John (Caiman) Thorbjarnarson (*in memoriam*) muito afetaram a linha mestra de raciocínio desse documento. Os ensinamentos e cuidados dos assistentes de pesquisa Edjalma Martins, Élson, João (urubu) da Silva Carvalho, Jorge Tapioca, Mestre Dalvininho, Raimundinho e Raimundo Cabecinha, moradores da RDS Mamirauá, foram de importância fundamental no aprimoramento da nossa proposta de conservação mediante manejo econômico. As experiências aqui apresentadas foram adquiridas durante

pesquisas científicas desenvolvidas com o apoio da Academia Brasileira de Ciências, CNPq, *First World Congress of Herpetology*, FUNAI-Oiapoque/AP, Fundação O Boticário de Proteção à Natureza, Fundação Vitória Amazônica, IBAMA/AM, ICMBio, IDSM-OS, INPA, IPAAM, IPI, ODA-DIFID, RAN, RENCTAS, SEAP-PR (hoje MPA), Sociedade Civil Mamirauá, *The Nature Conservancy - Brazil*, UFAM, União Européia e *Wildlife Conservation Society*. Aos Coordenadores (anteriores e atuais) do Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica – ICB/UFAM pela abertura para expormos nossas percepções em Língua Portuguesa.

REFERÊNCIAS

- ARANTES, C. C., GARCEZ, D. S., CASTELLO, L. Population densities of pirarucu (*Arapaima gigas*, Teleostei, Osteoglossidae) in lakes in the Sustainable Development Reserves of Mamirauá and Amanã, Amazonas, Brazil. *Uakari*, v.2, p.37-43. 2006.
- ARANTES, C. C., CASTELLO, L., GARCEZ, D. S. Variation among counts of *Arapaima gigas* (Schinz) (Osteoglossomorpha, Osteoglossidae) done by fishers individually in Mamirauá, Brazil. *Pan- American Journal of Aquatic Sciences*, v.2, n.3, p.263-269. 2007.
- ARANTES, C. C., CASTELLO, L., CETRA, M., SCHILLING, A. Environmental factors affecting the distribution of arapaima in floodplains of the Amazon. *Environmental Biology of Fishes*, DOI: 10.1007/s10641-011- 9917-9. 2011.
- BAÍA JÚNIOR, P. C., GUIMARÃES, D. A. A. Non-legalized commerce in game meat in the Brazilian Amazon: a case study. *Revista de Biologia Tropical*, v.58, p.1079-1088. 2010.
- BELTRAN-PEDREROS, S. *Merúrio em componentes bióticos e abióticos do Lago Grande de Manacapuru, Amazonas*. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Amazonas, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus: UFAM 2012. 98p.
- BEST, R. C. The aquatic mammals and reptiles of the Amazon. In: SIOLI, H. (Ed.). *The Amazon: Limnology and Landscape Ecology of a Mighty Tropical River and its Basin*. Netherlands: Dr. Junk Publishers, 1984. p. 371-412.
- CASTELLO, L. A method to count pirarucu *Arapaima gigas*: fishers, assessment, and management. *North American Journal of Fisheries Management*, v.24, p. 379-389. 2004.
- CASTELLO, L. Lateral migration of *Arapaima gigas* in floodplains of the Amazon. *Ecology of Freshwater Fish*, v.17, p.38-46. 2008.
- CASTELLO, L., VIANA, J. P., WATKINS, G., PINEDO-VASQUEZ, M., LUZADIS, V. A. Lessons from integrating fishers of arapaima in small-scale fisheries management at the Mamirauá Reserve, Amazon. *Environmental Management*, v.43, p.197-209. 2009.
- CASTELLO, L., STEWART, D. J. Assessing CITES non-detriment finding procedures for *Arapaima* in Brazil. *Journal of Applied Ichthyology*, v.26, n.1, p.49-56. 2010.

CASTELLO, L., STEWART, D. J., ARANTES, C. C. Modeling population dynamics and conservation of arapaima in the Amazon. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, v.21, n.3, p.623-640. 2011a.

CASTELLO, L., MCGRATH, D. G., BECK, P. Resource sustainability in small-scale fisheries in the Lower Amazon. *Fisheries Research*, v.110, p.35-365. 2011b.

CASTELLO, L., PINEDO-VASQUEZ, M., VIANA, J. P. Participatory conservation and local knowledge in the Amazon várzea: The pirarucu management scheme in Mamirauá. In: PINEDO-VASQUEZ, M.; RUFFINO, M.; PADOCH, C. J.; BRONDÍZIO, E. S. (Eds). *The Amazon varzea: The decade past and the decade ahead*. Springer-Verlag, 2011c. p.261-176.

DA SILVEIRA, R. Conservação e manejo do jacaré-açu (*Melanosuchus niger*) na Amazônia brasileira. In: VERDADE, L. M., LARRIERA, A. (Orgs.). *Conservação e Manejo de Jacarés e Crocodilos da América Latina - La Conservación y el Manejo de Caimanes y Cocodrilos de America Latina*. Vol. 2. Piracicaba: C. N. Editora, 2002. p.61-78.

DA SILVEIRA, R. Avaliação preliminar da distribuição, abundância e da caça de jacarés no baixo Rio Purus. In: DEUS, C. P, DA SILVEIRA, R., PY-DANIEL, L. H. R. (Eds.), *Piagaçu-Purus: bases científicas para a criação de uma reserva de desenvolvimento sustentável*. Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Manaus, 2003a. p.61-64.

DA SILVEIRA, R. Diagnóstico Preliminar do Comércio Ilegal de Carne de Animais Silvestres nas Feiras Livres do Estuário Amazônico, Estado do Pará. Relatório Técnico à Rede Nacional de Combate ao Tráfico de Animais Silvestres – RENCTAS. Belém-Brasília, 2003b.

DA SILVEIRA, R. As Sete Falácias da Fauna no Brasil. Rede Nacional de Combate ao Tráfico de Animais Silvestres – RENCTAS. Artigo do Mês, 2005.

DA SILVEIRA, R. Cenários da Fauna Amazônica Sustentável. In: CAVALCANTI, F. J. B., PAULA, A. C., VERCILLO, U. E., FISHER, W. A. (Orgs.). *Política de Fauna Silvestre na Amazônia*, 1.ed., Brasília: IBAMA-Centro Nacional de Informação, Tecnologias Ambientais e Editoração, 2006. p.37-40.

DA SILVEIRA, R. Management of Wildlife in the Floodplain: A Critical Look at Threats, Bottlenecks, and the Future in Amazonia. In: PINEDO-VASQUEZ, M. RUFFINO, M. L. PADOCH, C., BRONDÍZIO, E. S. (Orgs.). *The Amazon varzea: The decade past and the decade ahead*. Springer-Verlag, 2011. p.137-144.

DA SILVEIRA, R., THORBJARNARSON, J. Conservation implications of commercial hunting of black and spectacled caiman in the Mamirauá Sustainable Development Reserve, Brazil. *Biological Conservation*, v.88, p.103–109. 1999.

DA SILVEIRA, R., VIANA, J. P. Amazonian crocodilians: a keystone species for ecology and management or simply bait? *Crocodile Specialist Group Newsletter*, v.22, p.16–17. 2003.

DA SILVEIRA, R., GORDO, M., MARCON, J. L., SILVA, J. R. Skins from Wild Spectacled Caimans Confiscated in the Amazonia. *Newsletter Crocodile Specialist Group*, v.17, n.3, p.7-8. 1998.

- DA SILVEIRA, R., MAGNUSSON, W. E., THORBJARNARSON, J. B. Factors affecting the number of caimans seen during spotlight surveys in the Mamirauá Reserve, Brazilian Amazonia. *Copeia*, v.2008, p.425-430. 2008.
- DA SILVEIRA, R., RAMALHO, E. R., THORBJARNARSON, J., MAGNUSSON, W. E. Depredation by Jaguars on Caimans and Importance of Reptiles in the Diet of Jaguar. *Journal of Herpetology*, v.44, p.418-424. 2010.
- FARIAS, E. *O harém do senhor jacaré*. Manaus: Editora Valer, 2011. 32p.
- ISAAC V. J., ROCHA, V. L. C., MOTA, S. Considerações sobre a legislação da “piracema” e outras restrições da pesca da região do Médio Amazonas. In: FURTADO, L. G., LEITÃO, W., MELO, A. F. (Eds). *Povos das águas, realidade e perspectivas na Amazônia*. Belém: MCT/CNPq: MPEG, 1993. p.188-211.
- MARIONI, B. E., DA SILVEIRA, R., MAGNUSSON, W. E., THORBJARNARSON, J. Feeding Behavior of Two Sympatric Caiman Species, *Melanosuchus niger* and *Caiman crocodilus*, in the Brazilian Amazon. *Journal of Herpetology*, v.42, p.768-772. 2008.
- MEDEM, F. *Los Crocodylia de Sur America*. v. 2. Bogota: Ed. Carrera, 1983.
- QUEIROZ, H. L., SARDINHA, A. D. A preservação e o uso sustentado dos pirarucus (*Arapaima gigas*, Osteoglossidae) em Mamirauá. In: QUEIROZ, H. L., CRAMPTON, W. G. R. (Orgs.). *Estratégias para manejo dos recursos pesqueiros em Mamirauá*. Brasília: SCM: MCT/CNPq, 1999. p.108-141.
- REBÊLO, G. H., MAGNUSSON, W. E. An analysis of the effect of hunting on *Caiman crocodilus* and *Melanosuchus niger* base on the sizes of confiscated skins. *Biological Conservation*, v.26, p.95-104. 1983.
- RON, S. R., VALLEJO, A., ASANZA, E. Human influence on the wariness of *Melanosuchus niger* and *Caiman crocodilus* in Cuyabeno, Ecuador. *Journal of Herpetology*, v.32, n.3, p.320-324. 1998.
- SMITH, N.J.H. Caimans, capybaras, otters, manatees, and man in Amazônia. *Biological Conservation*, v.19, p.177-187. 1980.
- VELASCO, A., AYARZAGÜENA, J. Spectacled Caiman *Caiman crocodilus*. In: MANOLIS, S. C., STEVENSON, C. (Eds). *Crocodyles. Status Survey and Conservation Action Plan*. Crocodile Specialist Group: Darwin, 2010. p. 10-15.
- VERÍSSIMO J. *A Pesca na Amazônia*. Rio de Janeiro: Livraria Clássica Alves e Cia. Monographias Brasileiras III, 1895. p.206.
- VIANA, J. P., DAMASCENO, J. M. B., CASTELLO, L., CRAMPTON, W. G. R. Economic incentives for sustainable community management of fishery resources in the Mamiraua Sustainable Development Reserve, Amazonas, Brazil. In: SILVIUS, K., FRAGOSO, J., BODMER, R. (Eds). *People in Nature: Wildlife Conservation in South and Central America*. New York: Columbia University Press, 2004. p.139-154.
- VIANA, J. P., CASTELLO, L., DAMASCENO, J. M. B., AMARAL, E. S. R., ESTUPIÑÁN, G. M. B., ARANTES, C., BATISTA, G. S., GARCEZ, D. S., BARBOSA, S. Community-based management of pirarucu (*Arapaima gigas*) at the Mamirauá Sustainable Development

Reserve, Amazonas, Brazil. In: *Aquatic Protected Areas as a Fishery Management Tool. Série Áreas Protegidas do Brasil*, v.4, Brasília: MMA: IBAMA, 2007. p.239-261.

WORLD CONSERVATION MONITORING CENTRE, 1996. *Arapaima gigas*. In: IUCN 2008 - *Red List of Threatened Species*. Acessado em 13/03/2009.



LISTA DE AUTORES

ADRIANO TEIXEIRA DE OLIVEIRA

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

ANA LÚCIA FIGUEIREDO PORTO

LABTECBIO - Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Área de Fisiologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

ANA PAULA PORTO FERREIRA

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

ANDREA VIVIANA WAICHMAN

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

ANDRÉIA BARRONCAS DE OLIVEIRA

Laboratório de Botânica Agroflorestal, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

ANTONIO CARLOS WEBBER

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

BRUNO MARCHENA ROMÃO TARDIO

Ministério do Meio Ambiente, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio, Reserva Biológica de Una, BA e Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

CARLOS HENRIQUE SCHNEIDER

Programa de Pós-Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM.

CAROLINE C. ARANTES

Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia, Santarém, PA.

CLAUDIA KELLER

Coordenação de Pesquisas em Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM.

CRISTINA MARIA DE SOUZA-MOTTA

Coleção de Culturas de Fungos URM, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE.

EDUARDO MARTINS VENTICINQUE

Departamento de Biologia, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN.

ELIANA FELDBERG

Coordenação de Pesquisas em Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM.

GENILSON PEREIRA SANTANA

Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

GRACE DE LOURDES CARDOSO

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

HEDINALDO NARCISO LIMA

Departamento de Engenharia Agrícola e Solos, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

ILTON OLIVEIRA-SOARES

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

ÍTALO THIAGO SILVEIRA ROCHA MATOS

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

JADSON DIOGO PEREIRA BEZERRA

Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE.

JAYDIONE LUIZ MARCON

Departamento de Ciências Fisiológicas, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

JEAN P. BOUBLI

Coordenação de Pesquisas em Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM

JEFFERSON DA CRUZ

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

JÉSSICA FERREIRA BARRONCAS

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

JORGE FELIPE OLIVEIRA FRANCO-DE-SÁ

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

JORGE HARISON PEREIRA DO NASCIMENTO

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

LAÍS DIAS-PACHECO

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

LEANDRO CASTELLO

Woods Hole Research Center, Falmouth, Massachusetts, EUA.

LIVIA SILVA DOS SANTOS PERES

Bacharel em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

MARCELO GORDO

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

MARCELO MENIN

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

MARIA CLAUDIA GROSS

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

MARIA DO SOCORRO ROCHA DA SILVA

Coordenação de Pesquisas em Dinâmica Ambiental, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM.

MARIA FRANCISCA SIMAS TEIXEIRA

Coleção de Culturas DPUA - Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

MARIA GRACIMAR PACHECO DE ARAÚJO

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

MARIA IVONE LOPES DA SILVA

Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

MARIA JOSÉ DO NASCIMENTO FERREIRA

Coordenação de Pesquisas em Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM.

MARIA JOSÉ DOS SANTOS FERNANDES

Coleção de Culturas de Fungos URM, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE.

MARIA LEANDRA TERENCIO

Programa de Pós-Graduação em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva, Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM.

MARIA SÍLVIA DE MENDONÇA

Departamento de Ciências Florestais e Desenvolvimento Agrícola, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

MARISÂNGELA DOS ANJOS VIZCARRA

Curso de Graduação em Biologia, Universidade Nilton Lins, Manaus, AM.

MEIRE ROSSY OLIVEIRA DA CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

MIRCELA MARIALVA ALECRIM

Coleção de Culturas DPUA - Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

NAIR OTAVIANO AGUIAR

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

ORION TEIXEIRA CAROLINO

Divisão de Projetos e Fiscalização de Obras, Prefeitura do Campus, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

PEDRO AURÉLIO COSTA LIMA PEQUENO

Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Manaus, AM.

RONIS DA SILVEIRA

Laboratório de Zoologia – Aplicada à Conservação, Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

ROSANA ANTUNES PALHETA

Coleção de Culturas DPUA - Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

SERGIO LUIZ RODRIGUES DA SILVA

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

SPARTACO ASTOLFI FILHO

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

TACIANA DE AMORIM SILVA

Coleção de Culturas DPUA - Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

TAMIRIS RIO BRANCO DA FONSECA

Programa Multi-institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

THIEME MARQUES MARTINIANO

Escola da Fundação Bradesco, Manaus, AM.

THIERRY RAY GASNIER

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

TOMAS HRBEK

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

WELLINGTON LUCIANO DE SOUZA COSTA

Coordenação de Pesquisas em Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e Programa de Pós-Graduação em Diversidade Biológica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.



LISTA DE REVISORES

ANTONIO CARLOS WEBBER

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

JAYDIONE LUIZ MARCON

Departamento de Ciências Fisiológicas, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

JORGE IVAN REBELO PORTO

Coordenação de Pesquisas em Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM.

JOSÉ RENATO PEREIRA CAVALLAZZI

Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

MARCELO MENIN

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

MARIA GRACIMAR PACHECO DE ARAÚJO

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

VERIDIANA VIZONI SCUDELLER

Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

