

EFEITO TÓXICO DO ÍON AMÔNIO EM NINFAS DE *Callibaetis* sp. (BAETIDAE) *Caenis cuniana* (CAENIDAE) E *Miroculis* sp. (LEPTOPHLEBIIDAE) (EPHEMEROPTERA)

Josiele de Melo BRAGA¹; Maria José do Nascimento FERREIRA²; Maria do Socorro Rocha da SILVA³

¹Bolsista PIBIC/CNPq-INPA; ²Orientador C BIO/INPA; ³Co-Orientador CDAM/INPA

1. Introdução

As ninfas de Ephemeroptera vivem em ambientes lênticos e lóticos (Shimano *et al.* 2010) habitando ambientes de várzea, igarapés ou lagos artificiais. São encontradas entre a vegetação emergente associada ao substrato; podem viver em ambientes aquáticos com nível baixo de oxigênio, sendo bem tolerantes, tanto em ambientes de pH ácido como em alcalinos (Callisto *et al.* 2001).

O Igarapé do Quarenta, localizado na área urbana de Manaus, recebe resíduos provenientes de esgotos domésticos e efluentes industriais, apresentando altas concentrações do íon amônio (8,0 mg/L), sendo altamente tóxicos aos organismos vivos (Silva *et al.* 2009).

A Lei 9.433, de 08/01/1997, que instituiu a Política Nacional de Recursos Hídricos, Resolução 357/2005, art. 7º. CONAMA, órgão responsável pelo monitoramento dos recursos hídricos no Brasil, dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento e estabelece os seguintes valores individuais para cada substância, nas classes I, II, III. Nas classes I e II, o nitrogênio amoniacal não deve ultrapassar a 3,7 mg/L nas águas com o pH menor ou igual a 7,5 e na classe III, águas com o pH menor ou igual a 7,5 o valor recomendado é de no máximo 13,5 mg/L (Silva *et al.* 2008;).

As águas da Amazônia apresentam características físicas e químicas bastante diferenciadas, e nos rios de águas pretas o pH varia de 3,5 a 5,5, valores que não se enquadram na legislação em vigor no país.

Em função das distintas respostas apresentadas pelas espécies da ordem Ephemeroptera à degradação ambiental, e por ser um dos grupos mais utilizados em programas de biomonitoramento de qualidade de água (Calisto *et al.* 2005; Arimoro e Muller 2009), as ninfas de Ephemeroptera são utilizadas como bioindicadores de qualidade de água (Rosenberg e Resh 1993). Silva *et al.* (2008) e Silva *et al.* (2009) em experimentos com a fauna de Hydropsychidae (Trichoptera). De águas pretas da Amazônia, mostraram que concentrações do íon amônio acima de 3,35 mg/L são críticos para a sobrevivência destes insetos na Amazônia, fazendo-se necessário conhecer os limites dos outros grupos. Neste contexto, faz-se necessário estabelecer critérios regionais para o enquadramento das águas da região Amazônica. Assim, no presente estudo, teve-se como objetivo avaliar a toxicidade das águas dos igarapés da cidade de Manaus, utilizando ninfas de *Miroculis* sp. (Leptophlebiidae), *Callibaetis* sp. (Baetidae) e *Caenis cuniana* (Caenidae), como indicadores biológicos, buscando assim verificar a tolerância e o nível de toxicidade do íon amônio nesta fauna, fornecendo subsídios para futuro enquadramento dos corpos de água da região.

2. Material e Métodos

As ninfas de *Callibaetis* sp. (Baetidae) e *Caenis cuniana* (Caenidae) foram coletadas no Lago Amazônico situado no Bosque da Ciência, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) (3°5'50" S; 59°59'11" W), e ninfas de *Miroculis* sp (Leptophlebiidae), coletadas em um igarapé localizado no campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM). O Lago Amazônico recebe resíduos orgânicos provenientes dos criadouros dos peixes-boi e outros animais. Em outro ponto de coleta do campus da UFAM é considerado um ambiente natural, sem resíduos antrópicos.

As coletas no Lago Amazônico foram realizadas nos meses de Novembro e Dezembro 2012 e no Igarapé da UFAM, nos meses de Fevereiro e Março de 2013. As ninfas foram capturadas com o auxílio da rede entomológica aquática em "D", triadas manualmente e transferidas para pequenas caixas de isopor, contendo água do ambiente e transportada para o laboratório de invertebrados aquáticos, no CPEN onde eram mantidas vivas por um período de 24 horas para sua aclimação e antes de serem realizados os experimentos.

A água para os experimentos foram coletadas nos seguintes locais: Na Orla da cidade - água preta do Rio Negro; no bairro Nova República - água poluída (Igarapé do Quarenta); no Igarapé da UFAM - água natural. No laboratório de Química Ambiental, foi preparada uma solução (A) usando a água do Rio Negro e adicionada Hidróxido de Amônio e para manter pH <6,0 foi usado a solução de Ácido Clorídrico 1N e disponibilizando íon amônio (N-NH₄) na concentração desejada. Após vários experimentos de teste com a água do Rio Negro, foram determinados os meios com os seguintes teores de íon amônio: Solução (A) - água do rio Negro com 8,0 mg/L = 100%; Solução (B) - água do Rio Negro com 4,0 mg/L = 50% .

Todos os experimentos foram feitos com tréplica em frascos de 25 ml, e em cada frasco foram inseridas três ninfas de Ephemeroptera ficando assim distribuídos os experimentos do Lago Amazônico: Experimento 01 - água do Rio Negro Sem Tratamento (S/T); Experimento 02 - (A) - água do Rio Negro com 8,0 mg/L disponível de N-NH₄; Experimento 03 - (B) - água do Rio Negro com 4,0 mg/L disponível de N-NH₄; Experimento 04 - Experimento Controle, onde foi utilizado água do próprio lago onde foram coletados os insetos.

Distribuição dos experimentos do Igarapé da UFAM: Experimento 01 – água do Igarapé do Quarenta; Experimento 02 – Água do Rio Negro com 4,0 mg/L disponível de N-NH₄; Experimento 03 – Água do Rio Negro Sem Tratamento (Natural); Experimento 04 - Experimento Controle, com água do Igarapé da UFAM, A mortalidade das ninfas monitorada diariamente. As variáveis físico-químicas pH, condutividade elétrica e a concentração do íon amônio foram quantificadas no início do experimento.

3. Resultados e Discussão

Condições abióticas

O pH da água do Igarapé da UFAM foi de 4,5 e o pH da água do Lago variou de ácido a alcalino. No dia da coleta o pH da água do lago foi de 5,5 e no dia seguinte foi de 8,13, ou seja, diminuiu a acidez. A mudança desse pH, provavelmente está relacionada a alterações provocadas pela entrada no Lago de água do criadouro de peixe-boi que contem excrementos. Sioli (1985) classificou as águas da região Amazônica em três tipos diferentes: preta, branca e clara. As águas naturais do Igarapé de terra firme na sua maioria são claras, com pH menor que 5,5 e baixos teores do íon amônio (Sioli 1951; Silva 1996). As águas pretas tem pH abaixo de 6,0 e baixos teores do íon amônio (< 0,5). Os valores de condutividade elétrica foram menores no Igarapé da UFAM (6,6) e extremo no Igarapé do Quarenta (320,1). O pH e Condutividade Elétrica são variáveis físico-químicas da água importantes, sendo que o pH intervém na distribuição dos organismos, dependendo da espécie, esta pode ocorrer em locais com pH ligeiramente ácido ou ácido, ou então, básico ou ligeiramente básico ou até mesmo neutro. A condutividade fornece informações tanto do metabolismo do ecossistema aquático, como dos fenômenos que ocorrem no ecossistema, dando uma boa indicação da composição da água (Esteves 1988).

A fauna de *Callibaetis* sp. e de *Caenis* sp. apresenta características que lhes permite adaptar às mudanças bruscas de pH, juntamente com os outros fatores físicos e químicos no ecossistema do Lago. Desta forma, os insetos aquáticos presentes no Lago podem ser considerados muito resistentes à presença de sedimentos orgânicos e toxidade da água. Experimentos piloto mostraram que os Ephemeroptera que habitam no lago são resistentes aos níveis de toxidade elevados. Experimentos com insetos de ambiente natural (Igarapé da UFAM) mostraram que Leptophlebiidae são muitos sensíveis às alterações sendo ideais para experimentos.

Toxidade do íon amônio em ninfas de *Caenis cuniana*, *Callibaetis* sp. e *Miroculis* sp.

No primeiro experimento, com os insetos do Lago Amazônico, cerca de 70% dos indivíduos sobreviveram nas primeiras 72 horas do experimento. Após este período de 72 horas, cerca de 30% dos indivíduos morreram não havendo muita diferença se era em cultura com teor alto de amônio ou teor baixo. Os resultados obtidos por meio dos experimentos, os números de insetos iniciais, o índice de mortalidade e o de sobrevivência, em relação ao tempo de duração do experimento são mostrados na Figura 1.

Inicialmente, o Lago amazônico foi escolhido para os experimentos, por nele ter grande abundância de Ephemeroptera, no caso de *Callibaetis* sp. e *Caenis* sp., e por ser de fácil acesso. No entanto, a figura 03 acima ilustra o quanto os insetos do lago são resistentes aos vários tipos de teores de toxidade, não afetando muito seu ciclo de vida, alguns indivíduos até se tornaram adulto, assim, sendo descartado do experimento, escolhendo outro ambiente lótico que os insetos seriam mais sensíveis a alterações abióticas. Foi escolhido um novo local, o Igarapé da UFAM. Na primeira coleta, foram encontrados várias classes de insetos, mostrando que o Igarapé é um ambiente com muita diversidade e alguns indivíduos são bioindicadores, da classe EPT (Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera,) indicando, assim, que o Igarapé da UFAM é um ambiente natural, com água potável.

Os Ephemeroptera encontrados foram da família Leptophlebiidae, gênero *Miroculis* (Edmunds), que são muito sensíveis às alterações e por serem muitos sensíveis à troca do ambiente para a aclimatização, todos os indivíduos da primeira coleta morreram menos de 24h. Após disto, uma nova coleta foi realizada, e os mesmo padrões físico-químicos do ambiente natural foram obedecidos, com pH levemente ácido e temperatura de 24 °C.

No segundo experimento, dos indivíduos coletados no Igarapé da UFAM, em cerca de 80% e 100% houve perda de insetos nos meios do Igarapé do Quarenta e do Rio Negro com o teor de 4,0 ml do íon amônio dissolvido, à taxa de sobrevivência do Leptophlebiidae foi muito elevada nos meio de cultura onde não houve alteração química da água, comparada aos meios de cultura alterados quimicamente. Na taxa de sobrevivência, houve 50% de indivíduos vivos nos meios sem alteração, e 16 % nos de ambientes quimicamente alterados, e alguns dos indivíduos que sobreviveram seguiram o seu ciclo de vida normalmente, se tornando subimago, Figura 2.

No terceiro experimento (Figura 3), os resultados não diferiram do segundo experimento (Figura 2), sendo alta a taxa de mortalidade dos Ephemeroptera nos ambientes alterados. Observou-se nos ensaios com água do Igarapé do Quarenta impactada e Rio Negro com alto teor do íon amônio que a água são altamente tóxicas, já que todos os indivíduos morreram. Nos meios do experimento controle e no rio Negro sem o íon amônio houve sobrevivência de cerca 50% e os indivíduos seguiram seu ciclo de vida, normalmente chegando até a fase alada.

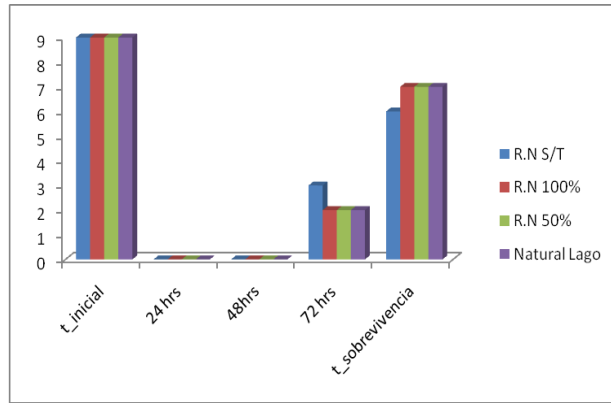


Figura 1. Experimento feito com as especies de Baetidae e Caenidae. Números de insetos iniciais, índice de mortalidade e de sobrevivência, de acordo com o tempo de duração do experimento, nas primeiras horas não morreu nenhum inseto, só depois de passada 72 horas de experimento. (R.N S/T = Rio Negro Sem Tratamento; R.N 100% = Rio Negro com concentração de amônio 100%; R.N 50% = Rio Negro com concentração de amônio em 50%; Natural Lago = Experimento controle sem alteração química | t_inicial = Número de insetos iniciais; t_sobrevivência = Taxa de sobrevivências dos insetos; 24hrs, 48 h, 72 h = Horas passadas do experimento).

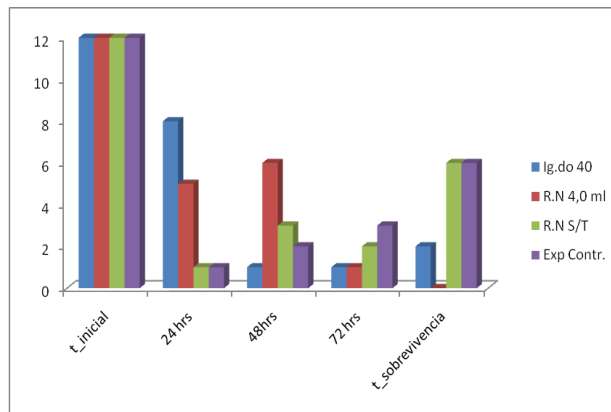


Figura 02. Sensibilidade dos Leptophlebiidae, nos meios quimicamente alterados, feito com insetos da Família Leptophlebiidae,. (Ig. do Quarenta = Igarapé do Quarenta; R.N 4,0 ml= Rio Negro com 4,0 ml de amônio dissolvido ou 50% de concentração do íon; R.N S/T = Rio Negro Sem Tratamento; Exp.Contr. = Experimento Controle com a água do igarapé da UFAM | t_inicial = Numero de insetos iniciais; t_sobrevivência = Taxa de sobrevivências dos insetos; 24hrs, 48 h, 72 h = Horas passadas do experimento).

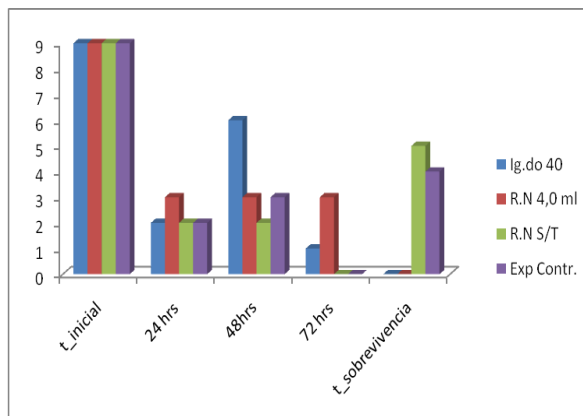


Figura 3. Taxa de sobrevivência de *Miroculis* sp. Nos ambientes sem alteração. (Ig. do Quarenta= Igarapé do Quarenta; R.N 4,0 ml= Rio Negro com 4,0 ml de amônio dissolvido ou 50% de concentração do íon; R.N S/T = Rio Negro Sem Tratamento; Exp.Contr. = Experimento Controle com a água do igarapé da UFAM | t_inicial = Numero de insetos iniciais; t_sobrevivência = Taxa de sobrevivências dos insetos; 24hrs, 48 h, 72 h = Horas passadas do experimento).

4. Conclusão

O estudo evidenciou que a fauna de Baetidae e Caenidae (aqui representadas por *Callibaetis* sp. e *Caenis cuniana*, respectivamente) são organismos resistentes a impacto antrópico e que Leptophlebiidae (representada por *Miroculis* sp.) são organismos sensíveis.

Os Leptophlebiidae se enquadram nas Classes I ou II da Lei 9.433, de 08/01/1997, em sua Resolução 357/2005, art. 7°. CONAMA, e os Baetidae e Caenidae se enquadram na Classe III da referida Lei. No entanto é necessária a realização de mais estudos para estabelecer os limites do íon amônio para os Baetidae e Caenidae.

5. Referências Bibliográficas

- Arimoro F.O.; Muller W.J. 2009. Mayfly (Insecta: Ephemeroptera) community structure as an indicator of the ecological status of a stream in the Niger Delta area of Nigeria. *Environmental monitoring and Assessment* DOI 10.1007/s10661-009-1025-3.
- Callisto, M.; Moreti, M.; Goulart, M. 2001. Macroinvertebrados bentônicos como ferramenta para avaliar a saúde de riachos. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, 6(1): 71-82.
- Callisto, M.; Gonçalves Júnior, J.F. 2005. Bioindicadores Bentônicos. In: Roland, F.; Cesar, D.; Marinho, M. (Eds). *Lições de Limnologia*, São Carlos, Ed. Rima, pp. 371-379.
- Callisto, M.; Gonçalves, J.F. ; Moreno, P. 2005. Invertebrados Aquáticos como Bioindicadores. In: Goulart, E.M.A. (Eds). *Navegando o Rio das Velhas das Minas aos Gerais*, 555-567.
- Da-Silva, E.R.; Salles, F.F. 2012. Ephemeroptera Hyatt & Arms, 1891, p. 232-243. In: Rafael, J.A.; Melo, G.A.R.; Carvalho, C.J.B.; Casari, S.A.; Constantino, R. (Eds.). *Insetos do Brasil. Diversidade e Taxonomia*. Holos, Editora Ltda-ME, Ribeirão Preto, São Paulo.
- Esteves, F.A. *Fundamentos de limnologia*. Rio de Janeiro: Interciência/FINEP, 1988. 575p.
- Rosenberg, D.M.; Resh, V.H. 1993. *Introduction to freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. In: *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. Rosenberg, D.M.; Resh, V.H. (eds.) Chapman and Hall. New York, pp. 1-9.
- Shimano, Y.; Cabette, H.S.R.; Salles, F.F.; Juen, L. 2010. Composição e distribuição da fauna de Ephemeroptera (Insecta) em área de transição Cerrado – Amazônia, Brasil. *Ilheringia, Sér. Zoologia*, 100(4): 301-308.
- Sioli, H. 1951. *Valores de pH de águas Amazônicas*. *Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi*, 1: 1-18.
- Sioli, H. 1984. *Hydrochemistry and geology in the Brazilian Amazon region*. *Amazoniana*, 1(7): 4-83.
- Sioli, H. 1985. *Amazônia: fundamentos da ecologia da maior região de florestas tropicais*. Petrópolis. Editora Vozes.
- Silva, M.S.R. 1996. *Metais pesados em sedimentos de fundo de igarapés (Manaus, AM)*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará. Belém, Pará. 110pp.
- Silva, D.L.; Silva, M.S.R.; Lopes, M.J.N. 2008. *Efeito Tóxico do Íon Amônio sobre a Fauna Hydropsichidae (Trichoptera)*. *Anais da XVII Jornada de Iniciação Científica. PIBIC/CNPq/FAPEAM/INPA*. p. 357-358
- Silva, C.F.P.; Silva, M.S.R.; Lopes, M.J.N. 2009. *Efeito Tóxico do Íon Amônio sobre as larvas de Hydropsichidae (Insecta: Trichoptera)*. *Anais da XVIII Jornada de Iniciação Científica, PIBIC/CNPq/FAPEAM/INPA*. p. 571-573.