Erika Marques de Santana

Efeitos da poluição industrial sobre anuros
(Amphibia) da Mata Atlântica

Effects of industrial pollution on anurans
(Amphibia) of the Atlantic Forest

São Paulo

2013

Erika Marques de Santana

Efeitos da poluição industrial sobre anuros
(Amphibia) da Mata Atlântica

Effects of industrial pollution on anurans
(Amphibia) of the Atlantic Forest

VERSÃO CORRIGIDA

Versão original disponível na Biblioteca do Instituto de Biociências

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Mestre em Ecologia, na Área de Ecossistemas Terrestres e Aquáticos.

Orientador: Marcio Roberto Costa Martins

São Paulo

2013

Ficha Catalográfica

Santana, Erika Marques

Efeitos da poluição industrial sobre
anuros (Amphibia) da Mata Atlântica
49 páginas

Dissertação (Mestrado) - Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo.
Departamento de Ecologia.

1. Cubatão 2. Anura 3. Poluição 4.
Cycloramphus dubius 5. *Rhinella ornata* I.
Universidade de São Paulo. Instituto de
Biociências. Departamento de Ecologia.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Vanessa Kruth Verdade

Prof. Dr. José Eduardo de Carvalho

Prof. Dr. Marcio Roberto Costa Martins
Orientador

Dedicatória

Dedico este trabalho primeiramente aos meus pais,
que sempre me apoiaram de todas as formas; e
ao Paulo, cuja ajuda em diversas etapas da
minha pós possibilitou que eu chegasse até aqui.

Agradecimentos

Agradeço ao Prof. Dr. Marcio R. C. Martins por ter aceitado me orientar, permitindo assim que eu ingressasse no mestrado, e por ter acreditado na minha capacidade.

Agradeço ao Prof. Dr. Luis Schiesari e ao Prof. Dr. Fernando R. Gomes por terem aceitado fazer parte do meu Comitê de Acompanhamento e terem sido de fato co-orientadores desse trabalho.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida e ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) pela concessão da autorização para a coleta de fauna.

Agradeço à Comissão Técnico-Científica do Instituto Florestal do Estado de São Paulo (COTEC) e à Companhia Docas do Estado de São Paulo (CODESP) que permitiram que eu acessasse as áreas de preservação que administram.

Agradeço ao Prof. Dr. Ronaldo Francini por ter aceitado tirar minhas dúvidas a respeito do conteúdo necessário para passar na prova de ingresso, mesmo não sendo mais meu professor. Agradeço também por ter me ensinado o trajeto ao Vale do Quilombo, pelas dicas e pela inspiração.

Agradeço a Profa. Dra. Vanessa Verdade, por ter me recebido no seu laboratório na UFABC e ter me ensinado a identificar a espécie *Cycloramphus dubius*.

Agradeço a todos do Núcleo Itutinga-Pilões do Parque Estadual da Serra do Mar, em especial aos guias Nilton e Gilberto (“Pitbul”), que aceitaram me acompanhar e encararam as trilhas comigo durante noite, até debaixo de chuva, após terem trabalhado o dia inteiro. Agradeço também por terem me ajudado a coletar as amostras e realizar o trabalho no campo, mesmo não tendo essa obrigação.

Agradeço ao Sr. Roberto, sua esposa D. Neusa e seu filho Carlos, por terem permitido que eu estacionasse o carro e coletasse dentro de sua propriedade no Vale do Quilombo, além do apoio dado ao trabalho e da ajuda dada quando ocorridos imprevistos.

Agradeço a Eliana Vergara pela receptividade e confiança ao disponibilizar sua casa como base durante as minhas coletas na Vila de Itatinga.

Agradeço à Lucia da Harpyia Serviços Ambientais Ltda., à equipe da Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP) e à equipe do Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química da USP-Campus São Carlos pela simpatia e ótimos serviços prestados.

Agradeço à Marília, à Laura, à Hamanda e ao Bruno pela ajuda na realização do projeto, como a todos do Labvert por todo apoio.

Agradeço ao Eduardo, à Carla, à Stefanny, à Adriana e à Vânia, que tiveram paciência ao me ensinar algumas metodologias e a todos alunos do Prof. Dr. Fernando Gomes que sempre me receberam bem no laboratório.

Agradeço ao Eduardo, técnico de laboratório do Departamento de Fisiologia, e ao Maurício, técnico de laboratório do Departamento de Ecologia, por terem me ajudado com alguns procedimentos necessários para o meu trabalho.

Agradeço à Laura, à Renata, à Joice, ao Gabriel, à Melina, à Hamanda, ao Danilo e ao Prof. Dr. Paulo Inácio pela ajuda com as análises dos dados.

Agradeço à Renata, à Thais, à Sheina, à Joice, ao Gabriel e a todos os amigos e colegas com os quais pude conviver, aprender e porque não me divertir muito nesse período.

Agradeço aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ecologia por todo o aprendizado adquirido nesses dois anos e meio.

Agradeço especialmente ao Paulo M. Pierry que além de me ajudar nas coletas e nas revisões, se manteve ao meu lado me incentivando todo o tempo, o que foi indispensável.

Por fim, agradeço principalmente aos meus pais, por toda paciência, dedicação e sacrifícios, pois graças a tudo isso foi possível que eu concluísse mais esta etapa da minha vida.

Índice

<i>Abstract</i>	7
Resumo.....	7
Introdução.....	8
Material e Métodos.....	12
1. <i>Local de estudo</i>	12
2. <i>Modelos de estudo</i>	13
3. <i>Coleta de dados</i>	14
4. <i>Análise de dados</i>	16
Resultados	18
1. <i>Variáveis morfofisiológicas</i>	19
2. <i>Parasitas</i>	23
3. <i>Análises químicas</i>	27
Discussão.....	30
Conclusões	35
Referências Bibliográficas	36
Apêndice I	45
Apêndice II.....	46

Abstract

The contamination generated by industries in the municipality of Cubatão, in the coast of São Paulo state, has been causing damages to the structure of the surrounding Atlantic forest along the last decades. The Atlantic forest houses a high amphibian diversity and these animals may be good environmental indicators. The aim of this study was to detect possible effects of this contamination in frogs. Our hypothesis is that there is a gradient of contamination as the distance of the populations studied varied in relation to the source of pollution. Populations of *Cycloramphus dubius* (habitat specialist) and *Rhinella ornata* (habitat generalist) were sampled, in the regions, Mogi, Quilombo, and Itatinga, located at increasing distances from Cubatão. Each individual captured was submitted to measurements such as body mass and length, further used to calculate the body index (estimate of specimen body condition), besides measurements of the relative mass of organs and parasite load in lungs and intestine. These variables were compared among populations from different sampled areas. Specimen tissues and soil samples were tested for contaminant presence. At Mogi, the closest location from Cubatão, individuals of *C. dubius* and *R. ornata* presented larger liver and fat body mass for the same body index. In *C. dubius*, the Quilombo population, the intermediate location for pollution, presented smaller liver and fat body mass and larger loads of lung parasites. For *R. ornata*, the Mogi population presented larger liver, kidney and fat body mass, as well as larger spleen mass for the same parasite load. The locality where tissue and soil contamination was greater changed with contaminant type. This work presented conflicting results so that the hypothesized relationship between putative effects of contamination and distance from industries was not clear. Perhaps the constant water flow in the habitat of *C. dubius* does not allow pollutants to accumulate, and the differences found at Quilombo could be related to others factors of the species ecology. For *R. ornata*, perhaps differences found at Mogi reflect contamination from local sources. Finally, perhaps the contaminant analyses performed were not sufficient to demonstrate contamination differences among localities. Differently from expected, the generalist species seems to be more affected by contamination, showing the importance of considering species ecology in this kind of study.

Resumo

A contaminação gerada pelas indústrias da cidade de Cubatão, no litoral do Estado de São Paulo, vem causando danos à estrutura da Mata Atlântica circundante ao longo das últimas décadas. A Mata Atlântica abriga uma alta diversidade de anfíbios e estes podem ser bons indicadores ambientais. O objetivo deste estudo foi detectar possíveis efeitos desta contaminação em anfíbios anuros. A nossa hipótese é que existe um gradiente de contaminação à medida que aumenta a distância entre as populações de anfíbios estudadas e a fonte de poluição. Populações de *Cycloramphus dubius* (especialista em habitat) e *Rhinella ornata* (generalista de habitat) foram amostradas nas localidades aqui chamadas de Mogi, Quilombo e Itatinga, localizadas em distâncias cada vez maiores de Cubatão. Cada indivíduo capturado foi submetido a medições de massa corporal e comprimento, utilizados para calcular o índice corporal (estimativa da condição corporal do indivíduo), além de medições da massa relativa de órgãos e de carga de parasitas no pulmão e no intestino. Essas variáveis foram comparadas entre populações das diferentes áreas amostradas. Amostras de tecido dos indivíduos e amostras de solo foram testados para a presença de contaminantes. No Mogi, o local mais próximo de Cubatão, os indivíduos de *C. dubius* e *R. ornata* apresentaram maior massa de fígado e corpos gordurosos para um mesmo índice corpóreo. Em *C. dubius*, a população do Quilombo, o local intermediário em relação à distância da fonte de contaminantes, apresentaram menores massas de fígado e de corpos gordurosos e cargas maiores de parasitas pulmonares. Em *R. ornata*, a população do Mogi apresentou maior massa do fígado, do rim e de corpos gordurosos, bem como a maior massa do baço, para a mesma carga de parasita. A localidade onde a contaminação dos tecidos e do solo foi maior variou com o tipo de contaminante. Este trabalho apresentou resultados conflitantes com relação à hipótese de relação entre os efeitos de contaminação e a distância das fontes de contaminantes. Talvez o fluxo constante de água no habitat de *C. dubius* não permita que poluentes se acumulem, e as diferenças encontradas no Quilombo pode estar relacionadas a outros aspectos da ecologia da espécie. Para *R. ornata*, talvez diferenças encontradas no Mogi reflitam contaminação por fontes locais. Finalmente, talvez as análises de contaminantes realizados não tenham sido suficientes para demonstrar as diferenças de contaminação das populações entre as localidades. Diferentemente do esperado, a espécie generalista parece ser mais afetada pela contaminação, mostrando a importância de considerar a ecologia das espécies nesse tipo de estudo.

Introdução

A partir da segunda metade do século XIX, a quantidade de poluentes liberados no ambiente vem crescendo drasticamente em todo o planeta em decorrência da Revolução Industrial (Newman 1979; Karl & Trenberth 2003). No Brasil, o expressivo desenvolvimento industrial ocorrido na década de 1960 elevou o país à categoria de potência econômica, mas gerou diversos problemas ambientais causados pela emissão de poluentes (Gutberlet 1996). Nesta época também teve início um crescimento da consciência ambiental global e, com ela, um aumento no número de relatos de danos causados à vida selvagem pela poluição gerada por indústrias (Newman 1979). Como exemplos podem ser citados extinções e declínios de populações de animais (Newman 1979; Carey & Bryant 1995), desestruturação de comunidades ecológicas (Letnic & Fox 1997; Mayer et al. 2000b; Yule et al. 2010), alterações na estrutura vegetal (Szabo et al. 2003) e contaminação das águas e do solo (Mayer et al. 2000b; Mirlean et al. 2002; Hsu et al. 2006).

Um importante exemplo dos impactos causados pelo desenvolvimento industrial é o município de Cubatão, localizado no litoral sul do Estado de São Paulo. O Polo Industrial instalado em Cubatão na década de 1950 contém atualmente mais de 20 indústrias, entre elas siderúrgicas, químicas e petroquímicas, fábricas de fertilizantes, de cimento e de celulose (Alonso & Godinho 1992; Gutberlet 1996; Verdade et al., no prelo). Diversos estudos vem, ao longo dos anos, avaliando os contaminantes que compõe a poluição emitida pelo Polo Industrial de Cubatão (*e.g.* Alonso & Godinho 1992; Leitão Filho et al. 1993; Mazzoni-Viveiros & Trufem 2004). Entre os diversos compostos já registrados, pode-se listar: ferro (Fe), alumínio (Al), flúor (F), zinco (Zn), manganês (Mn), sódio (Na), magnésio (Mg), silício (Si), fósforo (P), enxofre (S), potássio (K), cálcio (Ca), titânio (Ti), vanádio (V), cromo (Cr), níquel (Ni), cobre (Cu), estrôncio (Sr), zircônio (Zr), hidrocarbonetos, fluoretos, fosfatos, aldeídos, SO_x^4 , NO_x^4 , amônia (NH_3), NH_4 , CO, CO_2 , cloro (Cl), bário (Ba), cádmio (Cd), chumbo (Pb), ozônio, gases e vapores ácidos. Nas águas dos rios que circundam Cubatão, já foram registrados fenóis, nitrogênio amoniacal, coliformes, nitratos, resíduos sedimentáveis e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e pH relativamente baixos em alguns meses.

Ao longo dos anos, a poluição atmosférica proveniente do Polo Industrial de Cubatão vem causando danos à saúde humana e impactos ambientais, tais como contaminação do ar, da água e do solo, além de deslizamentos nas encostas, resultantes da morte da vegetação (Alonso & Godinho 1992; Gutberlet 1996; Ferreira 2007). Em 1983, a Companhia de Tecnologia de

Saneamento Ambiental (CETESB), órgão do governo do Estado de São Paulo, implementou o Programa de Controle da Poluição Ambiental (PCPA), com o objetivo monitorar os níveis de poluição contidos principalmente no ar e na água de Cubatão (Ferreira 2007). Após a aplicação do PCPA, houve grande redução na poluição da região (Ferreira 2007). Porém, o critério para a avaliação da quantidade de poluição foi determinado de acordo com o risco para a saúde humana, não tendo sido levados em consideração outros grupos de organismos (Ferreira 2007).

A dimensão do impacto causado pela poluição atmosférica gerada pelo Polo Industrial de Cubatão se deve em parte ao relevo da região em meio à qual a cidade se encontra. Cubatão localiza-se ao longo de uma estreita planície aluvial, entre o paredão da Serra do Mar ao norte, nordeste e oeste, e o litoral ao sul e sudeste (Ferreira 2007). A Serra do Mar é constituída por um conjunto de escarpas festonadas, com cerca de 1.000 km de extensão e cumes que podem chegar a 1.200 m de altitude (Almeida & Carneiro 1998). A localização de Cubatão e a topografia da Serra do Mar, que se comporta como uma barreira natural aos ventos das direções sul, sudeste e sul-sudoeste, dificulta a dispersão das emissões industriais e mantém altos níveis de poluição no local (Alonso & Godinho 1992; Gutberlet 1996; Szabo et al. 2003; Tagawa et al. 2009). Assim, os poluentes presentes no ar de Cubatão ainda podem causar danos à saúde humana (Ferreira 2007), à vegetação da Serra do Mar e seus processos florestais (*e. g.* Leitão Filho et al. 1993; Furlan et al. 1999; Domingos et al. 2000; Mazzoni-Viveiros & Trufem 2004).

A Serra do Mar de São Paulo possui a maior área de proteção integral de toda a Mata Atlântica, o Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), com 315 mil hectares de área, abrangendo 23 municípios do litoral de São Paulo (SMA 2006). A Mata Atlântica, ou Floresta Atlântica, é o terceiro maior bioma brasileiro e é considerado um dos mais importantes e degradados *hotspots* do mundo (Myers et al. 2000). Além disso, o bioma está entre os cinco *hotspots* com maior taxa de endemismo e é reconhecido por sua excepcional riqueza de espécies (Myers et al. 2000; Paglia et al. 2004; Haddad & Prado 2005; Haddad et al. 2008). Entre as mais de 2.000 espécies de vertebrados encontradas na Mata Atlântica, 40% são endêmicas ao bioma (Haddad et al. 2008).

Em se tratando de anfíbios anuros, a Mata Atlântica é o bioma que possui a maior diversidade de espécies do planeta (Paglia et al. 2004). São encontradas na Mata Atlântica mais 400 espécies de anuros, o que corresponde a pouco menos da metade das espécies do Brasil e 8% das espécies encontradas no mundo (Haddad & Prado 2005). Um dos principais fatores responsáveis pela enorme riqueza e diversidade de anuros encontrada na Mata Atlântica é a grande variedade e abundância de microambientes adequados a esses animais, tais como serrapilheira, bromélias, ocos de árvores, poças temporárias, rios e riachos (Haddad et al. 2008).

Além disso, o relevo no qual se encontra a Mata Atlântica é caracterizado por terrenos montanhosos. Tais montanhas provavelmente funcionaram como barreiras ao fluxo gênico que podem ter favorecido o processo de especiação, elevando o número de espécies e a taxa de endemismo (Haddad et al. 2008).

Nas últimas décadas têm sido observados declínios e extinções de espécies de anuros em todo o mundo (Blaustein & Wake 1995; Pimenta et al. 2005), incluindo áreas de Mata Atlântica, tanto alteradas quanto preservadas (Heyer et al., 1988; Verdade et al., 2009; Dixo & Metzger, 2010; Verdade et al., 2012, Verdade et al., no prelo). As alterações ambientais locais e globais causadas por ação antrópica têm sido apontadas como as principais responsáveis por declínios populacionais de anuros (Blaustein & Wake 1995; Carey & Bryant 1995; Pimenta et al. 2005). Perda de habitats, variações na concentração de compostos químicos, alterações nos níveis de pH e de radiação solar do meio são alguns exemplos de alterações ambientais para as quais os anuros podem ser especialmente vulneráveis (Carey & Bryant 1995; Bancroft et al. 2008; Hayes et al. 2010; Kerby et al. 2010).

O estresse gerado pela presença de compostos químicos tóxicos no ambiente pode causar diversos efeitos negativos nos anuros. No nível individual, o contato com contaminantes pode levar a uma redução na imunocompetência e consequente aumento de infecção por parasitas (Carey et al. 1999; Linzey et al. 2003; Rohr et al. 2008; Rollins-Smith et al. 2011). Uma redução na taxa de ingestão de alimentos também foi observada em indivíduos expostos a contaminantes (Brodeur et al. 2012), o que pode prejudicar o estado fisiológico e nutricional do indivíduo, reduzindo sua condição física (Jakob et al. 1996). A presença de contaminantes pode também levar a um retardo no crescimento e na metamorfose dos girinos, incapacitando-os de sair do ambiente aquático no tempo adequado (Carey & Bryant 1995; Horne & Dunson 1995). Além disso, a exposição a contaminantes pode gerar alterações na massa de órgãos internos, como fígado e rins (Arrieta et al. 2004). Contaminantes podem também gerar alterações no desenvolvimento e no metabolismo, malformações e problemas de respiração e locomoção, com consequente redução na capacidade de evitar predadores, disputar recursos e se reproduzir (Carey & Bryant 1995; Rowe et al. 1998; Selvi et al. 2003; Forson & Storfer 2006; Söderman et al. 2007; Hayes et al. 2010).

Dessa forma, a presença de contaminantes pode causar aumento direto e indireto da mortalidade e redução do recrutamento nas populações de anuros (Carey & Bryant 1995; Hecnar 1995; Rowe et al. 1998, 2001; Relyea & Diecks 2008). Como consequência, os impactos dos poluentes nos anuros podem afetar não somente as populações destes, mas as comunidades ecológicas como um todo (Horne & Dunson 1995; Relyea 2005; Rohr et al. 2006).

Apesar do grande número de estudos que demonstram efeitos prejudiciais do estresse químico em anuros, há variação entre as espécies de anuros quanto à vulnerabilidade dos anuros a alterações no ambiente (Kerby et al. 2010). Algumas espécies tendem a tolerar uma vasta gama de condições ambientais (Rubbo & Kiesecker 2005), enquanto espécies restritas a um ambiente ou conjunto de condições específicas tendem a ter mais dificuldade em manter populações viáveis em áreas alteradas por ação antrópica (Lips et al. 2003). Sendo assim, estudos que abordem o impacto da degradação em ambientes naturais sobre os anfíbios anuros devem atentar para as particularidades das espécies estudadas. Além disso, existem vieses geográficos e taxonômicos evidentes nos estudos sobre o efeito da poluição sobre os anfíbios anuros, com grande concentração de estudos no hemisfério norte e em apenas algumas espécies de ampla distribuição (Schiesari et al. 2007).

Dados os efeitos que os poluentes podem causar em algumas espécies de anuros e tendo em vista que não existem estudos que abordem o impacto da poluição de Cubatão sobre os grupos de animais, o objetivo do presente estudo foi verificar se a poluição emitida pelo Polo Industrial de Cubatão afeta populações de anuros da Mata Atlântica. Para tanto, testou-se a hipótese de que há um gradiente no efeito da poluição, no qual há uma relação positiva entre a proximidade geográfica ao Polo Industrial e os efeitos causados pela contaminação nos anfíbios e a quantidade de poluentes no meio. Dessa forma, as previsões do estudo são: 1) localidades mais próximas ao Polo Industrial possuem maiores concentrações de poluentes nos ambientes de ocorrência dos anuros; 2) Indivíduos encontrados nas localidades mais próximas ao Polo Industrial apresentam a) redução na condição corporal, evidenciadas por menores índices corpóreos (Jakob et al. 1996; Schulte-Hostedde et al. 2005; Băncilă et al. 2010), b) fígados e rins maiores em resposta ao aumento metabólico gerado pelo trabalho de detoxificação (Williams & Iatropoulos 2002; Arrieta et al. 2004), c) gônadas menores como evidência de redução na capacidade reprodutiva (Rie et al. 2005), d) corpos gordurosos menores devido a alterações na fisiologia e no metabolismo do indivíduo, levando a possível redução no investimento em reprodução (Dundappa & Saidapur 1992; Langerveld et al. 2009), e) redução na imunocompetência e consequente maior quantidade de parasitas (Carey et al. 1999; Linzey et al. 2003; Rohr et al. 2008; Rollins-Smith et al. 2011), f) baços menores devido à redução na proliferação de células nesse órgão causada pela contaminação, evidenciando redução na imunocompetência (Christin et al. 2003; Linzey et al. 2003), e g) maior quantidade de contaminantes nos tecidos.

Material e Métodos

1. Local de estudo

As amostragens foram realizadas na região de Cubatão em áreas de Mata Atlântica localizadas entre 0 e 100 m de altitude, nos limites do PESM, no sopé da Serra do Mar. A formação vegetal predominante é de Floresta Ombrófila Densa, caracterizada como Floresta Pluvial Tropical Atlântica de encosta (Leitão Filho et al. 1993; Steinberger & Rodrigues 2010). O relevo é formado por escarpas festonadas e morros paralelos. O clima é classificado como Tropical Úmido, com precipitação anual variando de 1.500 a 4.000 mm e temperaturas médias variando entre 20°C e 24°C (SMA 2006).

Foram amostradas populações de anuros encontradas no Vale do Rio Mogi, no Vale do Rio Quilombo e nas proximidades da Vila de Itatinga. Com base na posição geográfica, presume-se que as localidades estejam expostas a diferentes graus de contaminação industrial, sendo o Vale do Rio Mogi a localidade mais próxima ao Polo Industrial de Cubatão e a região da Vila de Itatinga a localidade mais distante, considerada área de referência.

O Vale do Rio Mogi (Mogi; 23°48'S, 46°21'O) localiza-se em Cubatão e é conhecido como uma área severamente poluída, tendo sido alvo de diversos estudos sobre efeito da poluição (*e. g.* Klumpp et al. 1996, 1998, 2000, 2002; Furlan et al. 1999; Gonçalves et al. 2000; Mayer et al. 2000a, 2000b; Moraes et al. 2000, 2002; Szabo et al. 2003; Schoenlein-crusius et al. 2006). Localizado adjacente ao Polo Industrial, o Mogi recebe constantemente ventos carregados de contaminação aérea emitida pelas indústrias, que se precipita na floresta local por meio da chuva (Abbas et al. 1993; Mayer et al. 2000b).

O Vale do Rio Quilombo (Quilombo; 23°49'S, 46°18'O) localiza-se na área continental do município de Santos, paralelo ao Mogi. Os vales do Mogi e do Quilombo são separados pela Serra do Morrão, serra formada por escarpas com aproximadamente 800 m de altitude (Hasui & Sadowski 1976). Apesar de o Quilombo estar sujeito à poluição atmosférica, não foram encontrados impactos dessa poluição sobre as águas do Rio Quilombo (Danelon & Moreira-Nordemann 1991). Além disso, Quilombo está mais distante do Polo Industrial e, portanto, recebe uma menor quantidade de poluição atmosférica do que o Mogi.

A Vila de Itatinga (Itatinga; 23°46'36"S, 46°6'43"O) é um vilarejo histórico, construído no começo do século XX próximo ao Rio Itatinga, ao norte do município de Bertioga, a cerca de 25 km de distancia do Polo Industrial de Cubatão. Cercada por Mata Atlântica preservada, as trilhas localizadas próximas à vila e ao longo do Rio Itatinga são frequentemente utilizadas por

empresas de turismo ecológico. O único meio de chegar a Itatinga é por meio de um bonde, de forma que não há carros ou quaisquer outras fontes poluidoras no local. Sua distância do Polo Industrial e o estado de preservação do ambiente local tornam a região a área controle ideal.

2. Modelos de estudo

Para avaliar possíveis efeitos da poluição sobre os anuros, as espécies escolhidas foram *Rhinella ornata* Spix, 1824 (Anura: Bufonidae) e *Cycloramphus dubius* Bokermann, 1951 (Anura: Cycloramphidae). Essas espécies foram escolhidas por serem comumente encontradas nos locais amostrados e serem distintas quanto à sua ecologia e ao nicho que ocupam.

Rhinella ornata é uma espécie terrícola de ocorrência frequente, encontrada em áreas abertas ou florestadas (Baldissera Júnior et al. 2004; Haddad et al. 2008). É uma espécie generalista quanto ao uso de ambientes para reprodução e forrageio, além de tolerante a modificações no habitat, podendo ser encontrada em margens de rios permanentes, córregos e riachos, incluindo cachoeiras, lagos e charcos de água doce sazonais ou intermitentes (Baldissera Júnior et al. 2004; Haddad et al. 2008). Possui reprodução explosiva, sendo encontrada em atividade reprodutiva predominantemente entre os meses de agosto e novembro, nos quais é comum encontrar grande quantidade de machos vocalizando nos sítios de reprodução (Narvaes et al. 2009). No Mogi, os indivíduos de *R. ornata* foram coletados nas margens do Rio Mogi, principalmente em poças temporárias formadas nos bancos de areia e pedras nas margens. No Quilombo, os indivíduos dessa espécie foram coletados em poças temporárias ao longo e nas bordas da estrada de acesso ao Vale do Quilombo e em Itatinga, em um charco quase perene próximo a uma trilha na mata.

Cycloramphus dubius é uma espécie reofílica e pouco frequente, restrita a áreas florestadas (Haddad et al. 2008). Indivíduos de *C. dubius* são encontrados em pedras e margens de rios e riachos de corredeira, primários e secundários, de boa qualidade (Heyer & Verdade 2004). A espécie não possui picos evidentes de atividade reprodutiva e os machos podem ser encontrados vocalizando ao longo de todo o ano (Giaretta & Cardoso 1995). Dessa forma, os indivíduos não formam aglomerados de machos ativos, como acontece com as espécies que possuem reprodução explosiva. Segundo a literatura, espécies de anuros que habitam riachos possuem maior vulnerabilidade a declínios populacionais resultantes de alterações ambientais (Lips et al. 2003). No caso de *C. dubius*, as maiores ameaças para a espécie são a perturbação do habitat por atividades turísticas e a poluição do ar e da água (Heyer & Verdade 2004). No Mogi, os indivíduos de *C. dubius* foram coletados em um pequeno rio afluente do Rio Mogi, que forma

um vale menor de paredões rochosos e corredeira. No Quilombo e em Itatinga, os indivíduos de *C. dubius* foram coletados em riachos menores de corredeira, afluentes dos rios Quilombo e Itatinga.

3. Coleta de dados

As coletas de indivíduos das espécies de anuros foram realizadas durante a noite, das 18:00h às 01:00h, entre os meses de setembro e novembro de 2012. Os indivíduos foram encontrados através do método de busca ativa, tendo sido procurados na vegetação marginal, em fendas e rochas, sobre e sob pedras e troncos. O tamanho da transecção percorrida variou de acordo com a facilidade de encontro dos indivíduos.

Foram coletados todos os indivíduos encontrados da espécie *C. dubius*, independente de idade ou sexo. Da espécie *R. ornata* foram coletados somente indivíduos machos adultos. A diferença na forma de amostrar cada espécie se deu em consequência da dificuldade de encontrar grande número de indivíduos de *C. dubius* pertencentes a um mesmo sexo.

Os indivíduos coletados foram transportados com vida até o laboratório, onde foram mortos com o uso do anestésico Benzotop® (benzocaína 200 mg/g). Foram tomadas medidas de comprimento rosto-cloacal (CRC) e massa imediatamente após a morte. Os indivíduos foram então dissecados e as massas de fígado, baço, rins, pulmões, coração, gônadas e corpos gordurosos foram obtidas com o uso de balança analítica de quatro casas decimais.

Os intestinos e pulmões foram dissecados à procura de parasitas, sendo anotado o número de helmintos visíveis e contáveis em um microscópio estereoscópico. A presença (0) ou ausência (1) de ovos e larvas infectantes incontáveis nos intestinos foi registrada. Quando estavam presentes, a quantidade de ovos e larvas foi estimada na forma de classes, sendo 1 para presença de ovos/larvas em pequena quantidade, 2 para quantidade intermediária de ovos/larvas e 3 para grandes quantidades de ovos/larvas.

Os fígados e as carcaças foram armazenados em um congelador para posterior análise da concentração de metais e poluentes orgânicos, respectivamente. Foram sorteadas de uma a três carcaças de cada população, resultando em três amostras por espécie. As amostras de carcaças foram enviadas para o Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química da USP, campus de São Carlos, onde foram analisadas segundo as especificações de concentração de poluentes orgânicos determinadas na Resolução nº 357 do CONAMA, órgão do Ministério do Meio Ambiente.

Os fígados foram secados em centrífugas de tubos de 1,5 mL, a vácuo e a temperatura de 60°C (Concentrator Eppendorf, modelos Plus e 5301), sendo mantidos por tempo suficiente até completa desidratação. Os fígados secos dos indivíduos de cada população de cada espécie foram unidos na mesma amostra, macerados e enviados para análise na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, *campus* de São Paulo. Os materiais utilizados para macerar os fígados secos e armazenar as amostras foram previamente lavados com água e detergente neutro, mantidos no ácido nítrico a 10% por 24h e secados naturalmente por 24h. A higienização dos materiais teve como objetivo evitar contaminação por metais e seguiu o protocolo indicado na literatura (Nomura & Oliveira 2010; Naozuka et al. 2010). Na Central Analítica, as amostras foram analisadas quanto a presença e concentração de cádmio (Cd), chumbo (Pb), manganês (Mn), ferro (Fe) e alumínio (Al), pelo método de espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry - ICP-AES).

Para determinar a presença e comparar a intensidade de contaminação por compostos orgânicos acumulados no ambiente, foram coletados dois conjuntos de cinco alíquotas de solo, equidistantes em 3 metros, nos corpos d'água nos quais foram coletados os indivíduos de *C. dubius* e *R. ornata*. As amostras coletadas nos dois corpos d'água de cada localidade foram misturadas, armazenadas em sacos plásticos, mantidas em um isopor com gelo no campo e congeladas ao chegar ao laboratório. As amostras de solo foram então enviadas congeladas para o Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química da USP-São Carlos, onde foram analisadas segundo as especificações de concentração de poluentes orgânicos determinadas pela Resolução n° 357, de 17 de Março de 2005, do Ministério do Meio Ambiente – CONAMA.

Para a análise da presença e quantidade de Cd, Pb, Mn, Fe e Al acumulada no ambiente, foram coletadas dez alíquotas de solo equidistantes em 3 metros nas margens dos corpos d'água onde os indivíduos de *R. ornata* e *C. dubius* foram coletados, em cada localidade. As seis amostras de solo foram mantidas em um isopor com gelo no campo e congeladas ao chegar ao laboratório. As amostras foram então descongeladas e secadas em estufa a 60°C por 56h, sendo posteriormente enviadas para análise na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, onde foram analisadas pelo método de ICP-AES. Os materiais utilizados na secagem e envio das amostras de solo foram previamente lavados com água e detergente neutro, mantidos no ácido nítrico a 10% por 24 h e secados naturalmente, como o objetivo de evitar contaminação por metais (Nomura & Oliveira 2010; Naozuka et al. 2010).

A escolha dos contaminantes analisados nos tecidos dos anuros e no solo das localidades foi feita com base na sua influência ecotoxicológica e fisiológica. A escolha também se baseou

em estudos anteriores, que encontraram esses poluentes em grandes quantidades nas áreas expostas à poluição do Polo Industrial de Cubatão (Leitão Filho et al. 1993; Furlan et al. 1999; Ferreira 2007).

4. Análise de dados

Os valores de comprimento rostro-cloacal (CRC) e massa dos indivíduos foram utilizados para o cálculo do índice corpóreo (IC), índice utilizado para avaliar a condição física desses animais (Jakob et al. 1996; Schulte-Hostedde et al. 2005). Para tanto, uma regressão linear foi feita com os valores de massa e CRC, tendo massa como variável dependente. Os resíduos resultantes das regressões foram então elevados ao quadrado e submetidos a uma Análise de Variância (ANOVA), de forma a comparar os resíduos quadrados, considerados aqui como os índices corpóreos dos indivíduos, entre as três populações de cada espécie. A análise dos índices corpóreos foi realizada conforme sugerido em estudos anteriores (Schulte-Hostedde et al. 2005; Băncilă et al. 2010).

Com os valores de massa dos órgãos e de massa total foram calculadas as massas relativas dos órgãos dos indivíduos. Para tanto, foi calculada a razão da massa do órgão pela massa total do indivíduo e multiplicada por 100, conforme recomendado na literatura (Stolyar et al. 2008). Foi feita então uma análise de componentes principais (ACP) com os valores das massas relativas encontradas para os órgãos, com o intuito reduzir a dimensionalidade dessas variáveis e averiguar qual delas explicava melhor a variação nos dados.

Os escores do componente principal 1 (CP1) foram utilizados como variável dependente e relacionados com localidade e IC, como variáveis independentes. Para tanto, foram elaborados cinco modelos possíveis para explicar a relação entre as variáveis para os dados:

CP1~1 (modelo nulo);

CP1~localidade;

CP1~IC;

CP1~IC+localidade;

CP1~IC+localidade+IC:localidade.

Foi feito um teste de comparação de modelos para escolher aquele que melhor explicasse a relação entre as variáveis. A escolha do modelo mais adequado foi feita com base no critério de informação de Akaike.

Foram feitas análises de variância (ANOVAS) entre os valores das massas relativas de fígado, rins, baço e corpos gordurosos das populações de cada espécie. O intuito desse teste foi

averiguar de que forma o tamanho de cada órgão varia entre as populações. Para as ANOVAs nas quais a diferença entre as populações foi significativa, foi realizado um teste de Tukey *a posteriori*, a fim de verificar as dissimilaridades entre as populações.

A quantidade de parasitas contáveis encontrada nos indivíduos foi comparada entre as populações utilizando os valores de prevalência média, intensidade média de infecção e abundância média, critérios modificados de Bush et al. (1997). Como prevalência média (P) considerou-se a porcentagem de animais infectados coletados por população. Como intensidade média de infecção (IM), considerou-se o número de parasitas contados, utilizando apenas os indivíduos parasitados. Por fim, como abundância média (AM), considerou-se o número de parasitas contados, utilizando todos os indivíduos amostrados. Foram comparados tanto os valores de parasitas totais por indivíduo (Pt, IMt e AMt) quanto os valores contabilizados nos pulmões (Pp, IMp e AMp) e no intestino (Pi, IMi e AMi).

Para intensidades e abundâncias médias, foram utilizados modelos lineares generalizados (MLG) com o intuito de avaliar se o efeito de localidade sobre os valores de parasitas era significativo. Quando o efeito de localidade era significativo, para visualizar as diferenças entre as populações foram feitos gráficos com os valores de média e intervalo de confiança previstos pelo ajuste do MLG.

Para testar se as diferenças entre as populações eram significativas, foi utilizado um teste de proporção (Teste Z) para as prevalências médias. A frequência de ocorrência (presença/ausência) de ovos e larvas infectantes no intestino nas populações amostradas foi comparada por Teste de Qui-quadrado. A frequência em que cada classe de quantidade ocorria nas populações foi ilustrada por meio de um gráfico de distribuição de frequências.

As massas relativas de baço (B) foram utilizadas como variável dependente e relacionadas com localidade e valores totais de parasitas por indivíduo (PI), como variáveis independentes. Para tanto, foram elaborados cinco modelos possíveis para explicar a relação entre as variáveis:

B~1 (modelo nulo);

B~localidade;

B~PI;

B~PI+localidade;

B~PI+localidade+PI:localidade.

Os modelos foram comparados com base no critério de informação de Akaike. Dessa forma, foi possível apontar o modelo mais adequado para explicar a relação entre os dados encontrada.

Resultados

1. Variáveis morfosiológicas

Da espécie *C. dubius*, foram coletados 12 indivíduos no Mogi, 13 indivíduos no Quilombo e 16 indivíduos em Itatinga. No caso de *R. ornata*, foram coletados 18 indivíduos no Mogi, 14 indivíduos no Quilombo e 11 indivíduos em Itatinga. Estes valores amostrais foram utilizados em todas as análises realizadas.

Os índices corpóreos calculados para os indivíduos variaram entre as populações das espécies (Tabela 1), mas a ANOVA não encontrou diferenças significativas entre as três localidades. Este resultado foi encontrado tanto para *C. dubius* ($F = 1.97$; $p = 0.153$) quanto para *R. ornata* ($F = 2.39$; $p = 0.104$).

Tabela 1: Valores de média, mediana e desvio padrão encontrados para os valores de índice corpóreo (resíduos quadrados da regressão entre CRC e massa) dos indivíduos de *Cycloramphus dubius* e *Rhinella ornata* encontrados nas populações do Mogi, Quilombo e Itatinga.

	<i>Cycloramphus dubius</i>			<i>Rhinella ornata</i>		
	Média	Mediana	Desvio Padrão	Média	Mediana	Desvio Padrão
Mogi	0.636	0.500	± 1.115	0.752	0.165	± 1.873
Quilombo	0.574	0.221	± 0.463	0.390	0.232	± 0.589
Itatinga	0.447	2.468	± 0.758	1.376	1.186	± 0.712

A ACP feita com as massas relativas dos órgãos dos indivíduos gerou, no caso de *R. ornata*, um CP1 que explicou 83,2% da variação nos órgãos, seguido por 7,7% explicado pelo CP2. Para *C. dubius*, CP1 e CP2 explicaram 84,6% e 10,5% da variação nos dados, respectivamente. Para ambas as espécies, a maioria das cargas do CP1 foi positiva e os valores de fígado, seguido pelos valores de corpos gordurosos, foram as cargas com maior magnitude (Tabela 2).

Tabela 2: Cargas das massas relativas dos órgãos nos dois primeiros componentes principais gerados pela ACP feita com os dados das três populações de *Cycloramphus dubius* e *Rhinella ornata*. Destaque em negrito para os dois órgãos com maior carga.

Órgãos	<i>Cycloramphus dubius</i>		<i>Rhinella ornata</i>	
	CP1	CP2	CP1	CP2
Fígado	0,7603	-0,6136	0,9827	0,0197
Baço	0,0142	0,0141	0,0164	-0,0111
Rins	0,0281	-0,0438	0,0686	-0,0283
Pulmão	-0,0176	0,0035	0,0597	0,9695
Coração	0,0032	0,0064	-0,0051	-0,0622
Gônadas	0,0712	0,3958	0,0821	-0,1599
Corpos gordurosos	0,6446	0,6817	0,1375	-0,1712

Para ambas as espécies, o modelo que melhor se ajustou aos dados foi aquele no qual há um efeito aditivo de IC e localidade sobre CP1 (Tabela 3). Segundo o critério de informação de Akaike, os dois primeiros modelos da Tabela 3 foram igualmente plausíveis para explicar a interação entre as variáveis. Porém, o primeiro modelo da lista possui um peso de evidência maior, sendo considerado o modelo de melhor ajuste.

Tabela 3: Tabela de seleção dos modelos elaborados para avaliar o efeito do índice corpóreo (IC) e localidade sobre os escores do componente principal 1 (CP1) gerados na análise dos componentes principais (ACP) feita com as massas relativas dos órgãos dos indivíduos de *Cycloramphus dubius* e *Rhinella ornata*. São apresentados os valores do critério de informação de Akaike (AIC), os delta-AIC (dAIC), os graus de liberdade (gl) e o peso de evidência (peso) dos modelos propostos. Os modelos estão ordenados do melhor para o pior ajuste.

Modelos	<i>Cycloramphus dubius</i>				<i>Rhinella ornata</i>			
	AIC	gl	dAIC	Peso	AIC	Gl	dAIC	Peso
CP1~IC+localidade	88,1	5	0,0	0,561	39,3	5	0,0	0,578
CP1~IC+localidade+IC:localidade	88,8	7	0,7	0,392	40,1	7	0,9	0,374
CP1~localidade	93,2	4	5,0	0,045	44,3	4	5,0	0,047
CP1~IC	99,0	3	10,8	0,002	51,6	3	12,4	0,001
CP1~1	105,1	2	17,0	<0,001	57,4	2	18,1	<0,001

Foram gerados gráficos de regressão para os valores de IC e CP1 de *C. dubius* e *R. ornata* (Figura 1). Foram utilizados os coeficientes gerados pelo melhor modelo para inserir as retas de tendência nos gráficos (Figura 1).

Figura 1: Efeito do índice corpóreo (IC) sobre os escores do CP1 nas populações *Cycloramphus dubius* e *Rhinella ornata* das três localidades amostradas. As linhas contínuas e círculos preenchidos correspondem às populações do Mogi; as linhas tracejadas e círculos cruzados correspondem às populações do Quilombo; as linhas pontilhadas e os círculos vazios correspondem às populações de Itatinga. As retas para as populações de cada espécie foram geradas utilizando os coeficientes extraídos do modelo de melhor ajuste. As inclinações das retas não diferem estatisticamente tanto para *Cycloramphus dubius* ($F = 1.46$; $p = 0.247$; $G11 = 2$; $G12 = 35$) quanto para *Rhinella ornata* ($F = 1.07$; $p = 0.354$; $G11 = 2$; $G12 = 37$).

Para ambas as espécies, as populações do Rio Mogi sempre apresentaram valores de CP1 proporcionalmente maiores do que as demais localidades (Figura 1). Para *C. dubius*, foi possível observar também que indivíduos com o mesmo IC possuem órgãos maiores (principalmente fígado e corpos gordurosos) no Mogi e em Itatinga, e menores no Quilombo. No caso de *R. ornata*, indivíduos com o mesmo IC possuem órgãos maiores (principalmente fígado e corpos gordurosos) no Mogi, seguidos por Quilombo e Itatinga.

As ANOVAs feitas com as massas relativas dos órgãos de *C. dubius* mostraram que os indivíduos das três populações diferiram quanto às massas relativas de fígado (Figura 2) e corpos gordurosos (Figura 3), mas não diferiram quanto às massas relativas de baço (Figura 4) e rins (Figura 5). Os indivíduos de *C. dubius* coletados no Quilombo apresentaram menores massas de fígado e corpos gordurosos que os indivíduos coletados no Mogi e em Itatinga, que não diferiram entre si. Devido à heterogeneidade da amostra de *C. dubius*, que continha fêmeas, machos e jovens, não foi feita a ANOVA entre as massas das gônadas das populações dessa espécie.

Para *R. ornata*, as ANOVAs feitas com as massas relativas dos órgãos mostraram que indivíduos coletados no Mogi apresentaram maiores massas de fígado (Figura 2), corpos gordurosos (Figura 3), baço (Figura 4) e rins (Figura 5) que os indivíduos coletados no Quilombo e em Itatinga. Os indivíduos de *R. ornata* coletados nas três localidades não apresentaram diferenças quanto às massas relativas das gônadas (Figura 6).

Figura 2: Box-plots mostrando os dados utilizados nas ANOVAS para as massas relativas dos fígados das populações de *Cycloramphus dubius* ($F = 8.56$; $p < 0.001$) e *Rhinella ornata* ($F = 9.37$; $p < 0.001$). Os testes *a posteriori* indicaram que, para *Cycloramphus dubius*, a população do Quilombo diferiu da população do Mogi ($p = 0.002$) e de Itatinga ($p = 0.003$); Mogi e Itatinga não diferiram entre si ($p = 0.944$). Para *Rhinella ornata*, a população do Mogi diferiu da população do Quilombo ($p = 0.010$) e de Itatinga ($p < 0.001$); Quilombo e Itatinga não diferiram entre si ($p = 0.519$). As caixas indicam o intervalo interquartil, as linhas centrais indicam a mediana e as barras verticais indicam as amplitudes da distribuição dos dados (excluindo *outliers*).

Figura 3: Box-plots mostrando os dados utilizados nas ANOVAS para as massas relativas dos corpos gordurosos das populações de *Cycloramphus dubius* ($F = 6.79$; $p = 0.003$) e *Rhinella ornata* ($F = 4.67$; $p = 0.015$). Os testes *a posteriori* indicaram que para *Cycloramphus dubius*, a população do Quilombo diferiu da população do Mogi ($p = 0.004$) e de Itatinga ($p = 0.021$); Mogi e Itatinga não diferiram entre si ($p = 0.643$). Para *Rhinella ornata*, a população do Mogi diferiu da população do Quilombo ($p = 0.030$) e de Itatinga ($p = 0.046$); Quilombo e Itatinga não diferiram entre si ($p = 0.999$). As caixas indicam o intervalo interquartil, as linhas centrais indicam a mediana e as barras verticais indicam as amplitudes da distribuição dos dados (excluindo *outliers*).

Figura 4: Box-plots mostrando os dados utilizados nas ANOVAs para as massas relativas dos baços das populações de *Cycloramphus dubius* ($F = 0.47$; $p = 0.631$) e *Rhinella ornata* ($F = 3.65$; $p = 0.035$). Os testes *a posteriori* indicaram que não houve diferenças significativas entre as populações de *Cycloramphus dubius*. Para *Rhinella ornata*, os tamanhos relativos de baço dos indivíduos encontrados no Mogi e em Itatinga diferiram ($p = 0.046$); não foram encontradas diferenças significativas entre Mogi e Quilombo ($p = 0.126$) e Quilombo e Itatinga ($p = 0.829$). As caixas indicam o intervalo interquartil, as linhas centrais indicam a mediana e as barras verticais indicam as amplitudes da distribuição dos dados (excluindo *outliers*).

Figura 5: Box-plots mostrando os dados utilizados nas ANOVAs para as massas relativas dos rins das populações de *Cycloramphus dubius* ($F = 0.28$; $p = 0.759$) e *Rhinella ornata* ($F = 10.35$; $p < 0.001$). Os testes *a posteriori* indicaram que não houve diferenças significativas entre as populações de *Cycloramphus dubius*. Para *Rhinella ornata*, a população do Mogi diferiu da população do Quilombo ($p = 0.005$) e de Itatinga ($p < 0.001$); Quilombo e Itatinga não diferiram entre si ($p = 0.588$). As caixas indicam o intervalo interquartil, as linhas centrais, a mediana, e as barras verticais, as amplitudes da distribuição dos dados (excluindo *outliers*).

Figura 6: Box-plots mostrando os dados utilizados nas ANOVAs para as massas relativas das gônadas das populações *Rhinella ornata* ($F = 0.60$; $p = 0.565$). Não houve diferenças significativas entre as populações de *Rhinella ornata*. As caixas indicam o intervalo interquartil, as linhas centrais indicam a mediana e as barras verticais indicam as amplitudes da distribuição dos dados (excluindo *outliers*).

2. Parasitas

Não houve efeito de localidade sobre as quantidades de parasitas para AMi ($p = 0.528$), AMt ($p = 0.072$), IMi ($p = 0.782$) e IMt ($p = 0.192$) de *C. dubius*. O efeito de localidade foi significativo para AMP ($p < 0.001$), já que nenhum indivíduo coletado no Mogi apresentou parasitas no pulmão. Para visualizar possíveis diferenças entre as populações do Quilombo e Itatinga, foi feito um gráfico com os valores de média e intervalo de confiança previstos com base no ajuste do modelo aos dados de parasitas para AMP (Figura 7). A população do Quilombo apresentou maiores abundâncias médias de parasitas, porém o intervalo de confiança dessa população se sobrepõe ao da população de Itatinga. A população do Mogi não foi incluída no gráfico porque o valor da contagem de parasitas no pulmão em todos os indivíduos dessa população foi zero. Por não possuir indivíduos com parasitas no pulmão, não foi possível incluir a população do Mogi no cálculo do IMP. Para IMP, as populações do Quilombo e de Itatinga não diferiram ($p = 0.9611$).

Figura 7: Média e intervalo de confiança previstos pelo ajuste do MLG para abundância ou intensidade média de parasitas para as populações do Quilombo e de Itatinga de *Cycloramphus dubius*.

Para *R. ornata*, com relação ao IMp ($p = 0.679$) não houve efeito significativo de localidade sobre a quantidade de parasitas encontrada nos indivíduos. O cálculo de AMi e AMt para essa espécie foram idênticos, respectivamente, aos cálculos de IMi e IMt porque, como todos os indivíduos de *R. ornata* da amostra possuíam parasitas no intestino, os mesmos dados foram utilizados para as duas análises. Dessa forma, foi encontrado efeito de localidade sobre as contagens de parasita para AMi/ IMi ($p < 0.001$), AMp ($p = 0.004$) e AMt/ IMt ($p < 0.001$) de *R. ornata*. Nos gráficos feitos com os valores de média e intervalo de confiança previstos com base no ajuste do modelo aos dados foi possível visualizar que a população de *R. ornata* do Mogi apresentou maior abundância média de parasitas no pulmão (Figura 8). A população de *R. ornata* do Quilombo, por sua vez, apresentou maiores abundância e intensidade médias de parasitas para as quantidades encontradas no intestino e quantidades totais encontradas no pulmão e intestino.

Figura 7: Médias e intervalos de confiança previstos pelo ajuste do MLG para abundâncias e intensidades médias de parasitas no pulmão, intestino e totais para as três populações de *Rhinella ornata* amostradas.

No que diz respeito às prevalências médias de parasitas, na população de *C. dubius* do Mogi foi encontrado 0% de indivíduos com parasitas no pulmão e 92,3% de indivíduos com parasitas no intestino. No Quilombo, 60,0% dos indivíduos continham parasitas no pulmão e 100% continham parasitas no intestino. Em Itatinga, 43,7% dos indivíduos continham parasitas no pulmão e 100% tinham parasitas no intestino. Quando comparadas as proporções entre as três populações de *C. dubius*, houve diferença proporcional entre elas para Pp ($p = 0.003$), porém não houve diferença proporcional para Pi e Pt ($p = 0.3$).

Em *R. ornata*, na população do Mogi foram encontrados 72,2% de indivíduos com parasitas no pulmão e 100% de indivíduos com parasitas no intestino. No Quilombo, 42,8% dos indivíduos continham parasitas no pulmão e 100% continham parasitas no intestino. Em Itatinga, 54,5% dos indivíduos continham parasitas no pulmão e 100,0% tinham parasitas no intestino. Quando comparadas segundo as proporções entre as três populações de *R. ornata*, não houve diferença proporcional entre elas para Pp ($p = 0.238$), Pi e Pt.

Não houve diferença entre a frequência de ocorrência de ovos ($p = 0.682$) e de larvas ($p = 0.089$) no intestino entre as populações de *C. dubius* coletadas nas três localidades. Também não foi encontrada diferença entre a frequência de ocorrência de ovos ($p = 0.449$) e de larvas ($p = 0.392$) no intestino entre as populações de *R. ornata*. O gráfico ilustrativo de distribuição de frequências das classes de quantidade de ovos e larvas encontrados nas populações das duas espécies encontra-se no Apêndice 1, Figura A.

Na comparação entre os modelos de relação entre massa relativa do baço (B), quantidade de parasitas em cada indivíduo (PI) e localidade para as populações de *C. dubius* (Tabela 4), o modelo que melhor se ajustou aos dados foi o modelo nulo, seguido pelo modelo no qual há um efeito do número de parasitas sobre o tamanho do baço. Segundo o critério de informação de Akaike, ambos os modelos são igualmente plausíveis para explicar a variação nos dados, porém o peso de evidência do primeiro modelo é maior que o peso de evidência do segundo modelo. Sendo assim, conclui-se que não há efeito de parasitas ou localidade sobre a massa relativa do baço de *C. dubius*.

Tabela 4: Tabela de seleção dos modelos elaborados para avaliar o efeito da quantidade de parasitas por indivíduo (PI) e localidade sobre a massa relativa do baço (B) dos indivíduos de *Cycloramphus dubius*. São apresentados os valores do critério de informação de Akaike (AIC), o delta-AIC (dAIC), os graus de liberdade (gl) e o peso de evidência (peso) dos modelos propostos. Os modelos estão ordenados do melhor para o pior ajuste.

Modelos	<i>Cycloramphus dubius</i>			
	AIC	gl	dAIC	Peso
B~1	-180,5	2	0,0	0,5007
B~PI	-179,3	3	1,2	0,2730
B~localidade	-177,5	4	3,0	0,1114
B~PI+localidade	-177,1	5	3,4	0,0936
B~PI+localidade+PI:localidade	-174,2	7	6,3	0,0213

Para *R. ornata*, o modelo que melhor se ajustou aos dados foi o modelo no qual há um efeito aditivo de localidade e quantidade de parasitas sobre a massa relativa do baço (Tabela 5). Segundo o critério de informação de Akaike, o modelo nulo é igualmente plausível ao modelo anterior para explicar a relação entre as variáveis. Porém, o primeiro modelo listado na Tabela 5 foi considerado como o modelo de melhor ajuste, pois possui maior peso de evidência do que o modelo nulo. Com isso, os coeficientes gerados por esse modelo foram usados para plotar as retas de regressão dos dados para cada população (Figura 8). A inclinação das retas geradas não diferiu significativamente entre as populações de *R. ornata* amostradas. Indivíduos com a mesma quantidade de parasitas possuem baços maiores se encontrados na população do Mogi.

Tabela 5: Tabela de seleção dos modelos elaborados para avaliar o efeito da quantidade de parasitas por indivíduo (PI) e localidade sobre a massa relativa do baço (B) dos indivíduos de *Rhinella ornata*. Contém os valores do critério de informação de Akaike (AIC), o delta-AIC (dAIC), os graus de liberdade (gl) e o peso de evidência (peso) dos modelos propostos. Os modelos estão ordenados do melhor para o pior ajuste.

Modelos	<i>Rhinella ornata</i>			
	AIC	gl	dAIC	Peso
B~PI+localidade	-156,1	5	0,0	0,5121
B~1	-154,3	2	1,8	0,2126
B~PI+localidade+PI:localidade	-152,8	7	3,3	0,1001
B~PI	-152,6	3	3,5	0,0876
B~localidade	-152,6	3	3,5	0,0876

Figura 8: Efeito do número de parasitas sobre a massa relativa do baço nas populações de *Rhinella ornata*. A linha contínua e círculos preenchidos correspondem a população do Mogi; a linha tracejada e círculos cruzados correspondem a população do Quilombo; a linha pontilhada e os círculos vazios correspondem as população de Itatinga. As retas para cada população foram geradas utilizando os coeficientes extraídos do modelo de melhor ajuste. As inclinações das retas não diferem estatisticamente ($F = 2.571$; $p = 0.07$; $GI1 = 3$; $GI2 = 39$).

3. Análises químicas

Os resultados das análises do tecido do fígado mostraram que os indivíduos de *C. dubius* do Quilombo possuíam as maiores quantidades de Fe (ppm), cerca do triplo encontrado nas demais localidades (Tabela 6). Porém, somente nos indivíduos do Mogi foi encontrado Al nos fígados. As quantidades de Cd, Mn e Pb nos fígados de *C. dubius* das três populações estavam abaixo dos limites de detecção.

Para *R. ornata*, os resultados das análises do tecido do fígado mostraram que os indivíduos de Itatinga possuíam as maiores quantidades de Fe e Al (Tabela 6). As quantidades de Cd, Mn e Pb nos fígados de *R. ornata* das três populações estavam abaixo dos limites de detecção.

Tabela 6: Valores de metais (ppm) encontrados nos fígados dos indivíduos coletados em cada população de *Cycloramphus dubius* e *Rhinella ornata*. Maiores valores encontrados nas populações em negrito.

Metais	Quantidade no tecido do fígado (ppm)					
	<i>Cycloramphus dubius</i>			<i>Rhinella ornata</i>		
	Mogi	Quilombo	Itatinga	Mogi	Quilombo	Itatinga
Al	14,66	<0,01	<0,01	<0,01	6,27	21,94
Cd	< 0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005
Fe	144,77	406,99	130,36	703,65	642,22	2250,36
Mn	< 0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Totais	159,43	406,99	130,36	703,65	648,22	2272,3

Quando comparados os solos dos ambientes de ocorrência das três populações de *C. dubius*, o Mogi foi a localidade que apresentou maiores quantidades de metais, seguida pelo Quilombo e por Itatinga (Tabela 7), como esperado. Quanto aos solos dos ambientes de ocorrência de *R. ornata*, Mogi foi a localidade que apresentou maiores quantidades metais, como era esperado. Porém, a localidade com quantidades intermediárias de metais no solo foi Itatinga, não o Quilombo como era esperado, enquanto o Quilombo apresentou as menores quantidades de metais (Tabela 7).

Das amostras de carcaça de *C. dubius* e *R. ornata* enviadas para análise de concentração de compostos orgânicos, todas apresentaram valores de concentração abaixo do limite de detecção para todos os contaminantes mensurados (Apêndice 2, Tabela A). O mesmo resultado foi encontrado para quantidade de contaminantes orgânicos nos solos das localidades enviados para análise (Apêndice 2, Tabela B). De acordo com os laudos enviados, solos e carcaças estavam em conformidade com as especificações de quantidades limites de contaminantes presentes na Resolução nº 357 do CONAMA.

Tabela 7: Valores de metais (ppm) encontrados nos solos dos ambientes de ocorrência *Cycloramphus dubius* e *Rhinella ornata* das três localidades amostradas. Maiores valores encontrados nas populações em negrito.

Metais	Quantidade no solo dos ambientes de ocorrência (ppm)					
	<i>Cycloramphus dubius</i>			<i>Rhinella ornata</i>		
	Mogi	Quilombo	Itatinga	Mogi	Quilombo	Itatinga
Al	4,23	5,04	3,79	4,64	5,04	5,15
Cd	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003
Fe	3,54	2,26	2,97	2,38	3,74	1,55
Mn	411,64	397,48	257,77	350,12	0,40	225,53
Pb	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004
Totais	419,41	404,78	264,53	357,14	9,18	232,23

Discussão

A previsão de que indivíduos de localidades mais próximas ao Polo industrial teriam piores índices corpóreos foi refutada, pois as populações de *C. dubius* e *R. ornata* encontradas nas três localidades amostradas não diferiram entre si quanto ao índice corpóreo. Porém, quando relacionado com os escores da CP1, o índice corpóreo apresentou uma relação positiva com essa variável para ambas as espécies, mantendo o mesmo efeito sobre os órgãos independentemente da localidade. O índice corpóreo é uma medida de condição do indivíduo, usada na literatura como indicativo da qualidade do habitat, de forma que indivíduos encontrados em habitats de pior qualidade tendem a possuir índices corpóreos mais baixos (Reading & Clarke 1995; Sztatecsny & Schabetsberger 2005). No presente estudo, o valor do índice corpóreo sozinho não foi suficiente para diagnosticar diferenças entre a qualidade do habitat. Porém, o efeito do índice corpóreo somado a diferenças entre as localidades sobre os escores da CP1 foi suficiente para demonstrar diferenças entre as três populações nas duas espécies estudadas.

Para as massas relativas dos órgãos de *C. dubius*, a hipótese da existência de um gradiente no efeito da contaminação sobre os órgãos foi refutada. A população de *C. dubius* que divergiu das demais foi aquela encontrada no Quilombo, localidade intermediária no gradiente hipotético. Nessa população, os indivíduos de *C. dubius* apresentaram menores massas de fígado e corpos gordurosos, mas não diferiram quanto às demais massas de órgãos.

As menores massas de fígado e corpos gordurosos encontradas na população *C. dubius* do Quilombo podem ter relação com maiores gastos energéticos realizados pelos indivíduos dessa população. Diversos estudos anteriores demonstraram que o fígado e os corpos gordurosos funcionam como reservatórios energéticos, utilizados por muitas espécies no investimento reprodutivo (Jenssen 1972; Milone et al. 1983; Long 1987; Das 1996; Girish & Saidapur 2000). Maiores densidades de indivíduos nos locais de reprodução podem gerar aumento na competição por recursos e, conseqüentemente, maiores gastos de reservas energéticas dos organismos (Reading & Clarke 1995). Durante as coletas realizadas para o presente estudo, a facilidade de encontro e quantidade de vocalizações de machos pareceu maior na população do Quilombo do que nas demais, porém essa variável não foi medida no presente estudo. Sendo assim, pode ser que as diferenças encontradas na população de *C. dubius* presente no Quilombo sejam conseqüência de uma possível maior densidade de indivíduos nessa população.

No que diz respeito à infecção por parasitas, as três populações de *C. dubius* estudadas não divergiram para a maioria das análises realizadas, refutando a hipótese de gradiente de efeito da contaminação também para essa variável. A abundância média de parasitas no pulmão foi maior na população do Quilombo, seguida pela população de Itatinga, e inexistente na população do Mogi. Visto que a variação encontrada entre as populações de *C. dubius* não teve relação com a poluição, pode ser que a maior abundância média de parasitas nos pulmões dos indivíduos do Quilombo tenha relação com maiores taxas de transmissão de parasitas nessa localidade (Poulin & Morand 2000).

A população de *C. dubius* do Quilombo apresentou maior quantidade de Fe nos fígados em comparação com as demais. É possível que os fígados desses indivíduos possuísem menores quantidades de gordura e maior quantidade de fluxo sanguíneo, relacionadas à possível maior atividade reprodutiva nos indivíduos dessa população (Milone et al. 1983), levando a maiores quantidades de Fe por massa. As maiores quantidades de Al nos fígados e de Fe e Mn nos locais de ocorrência de *C. dubius* no Mogi provavelmente se devem à proximidade dessa localidade com o Polo Industrial.

De acordo com os resultados apresentados por Lips et al. (2003), alterações no ambiente tendem a ser mais críticas para espécies de riacho quando comparadas a espécies terrestres. Os resultados encontrados no presente estudo para *C. dubius* não confirmam essa tendência. Pode ser que a correnteza presente nos locais de ocorrência de *C. dubius* faça com que, caso haja aportes de poluentes no local, estes não fiquem disponíveis por tempo suficiente para a absorção por anfíbios ou outros organismos da biota dos quais eles se alimentam, reduzindo o impacto da contaminação sobre essa espécie.

Os resultados encontrados em *R. ornata* para fígado e rins corroboram a hipótese da existência de um gradiente geográfico no efeito da contaminação, no qual o Mogi seria a localidade mais impactada pela poluição. Como previsto, indivíduos de *R. ornata* da população do Mogi apresentaram maiores massas relativas de fígado, seguidos pelos indivíduos do Quilombo e de Itatinga.

A massa do fígado foi a variável que teve maior peso ao explicar a variação encontrada pela ACP para as massas dos órgãos. Além disso, a relação dos escores do CP1 com o índice corpóreo mostrou que indivíduos com o mesmo índice corpóreo tendem a ter fígados maiores se pertencentes à população do Mogi. A presença de fígados com massas maiores em indivíduos expostos a contaminação já foi encontrada em estudos realizados com mamíferos (e. g. Murphy et al. 1964; Sánchez-Chardi et al. 2007), aves (e. g. Henshel & Sparks 2006), peixes (Slooff et al. 1983; Sánchez-Chardi et al. 2007; Barse et al. 2010) e outros anfíbios (e. g. Arrieta et al. 2004;

Stolyar et al. 2008). Em anfíbios, como nos demais vertebrados, o fígado tem como principal função a detoxificação do organismo, sendo um dos órgãos mais afetados pela presença de compostos químicos no ambiente (Vogiatzis & Loumbourdis 2001; Williams & Iatropoulos 2002). O fígado de um indivíduo exposto à contaminação sofre excesso de trabalho de detoxificação e pode apresentar aumento no número ou tamanho das células, alterações no metabolismo celular, acúmulo de poluentes, desenvolvimento de fibroses e granulomas (Williams & Iatropoulos 2002; Linzey et al. 2003; Boncompagni et al. 2004; Păunescu et al. 2010). Tais alterações no tecido hepático podem levar a alterações morfológicas, podendo, em última instância, causar alterações na massa do fígado. Sendo assim, é possível que as maiores massas relativas dos fígados dos indivíduos de *R. ornata* coletados no Mogi estejam relacionadas à maior exposição à contaminação, já que o Mogi é a localidade mais próxima ao Polo Industrial.

As maiores massas de rins encontradas em indivíduos de *R. ornata* também podem estar relacionadas à maior exposição dos anuros aos contaminantes presentes no Mogi. Os rins dos anfíbios participam da eliminação de produtos do metabolismo do sangue e são uma das principais rotas para a excreção de alguns xenobióticos (Schmitt & Dethloff 2000). Vogiatzis e Loumbourdis (1997) encontraram relação positiva entre a concentração de Cd nos fígados e nos rins de *Rana ridibunda*, e em ambos os órgãos a concentração foi elevada durante a fase de detoxificação desses compostos. Já Arrieta et al. (2004) encontraram relação positiva entre o tamanho e a concentração de contaminantes nos rins de *Bufo arenarum*. Dessa forma, da mesma maneira que acontece com o fígado, a exposição a contaminantes pode intensificar o trabalho e gerar acúmulo de compostos nos rins (Vogiatzis & Loumbourdis 1998), podendo alterar o metabolismo e tamanho desses órgãos.

Os resultados encontrados para corpos gordurosos e gônadas de *R. ornata* refutaram as previsões de que esses órgãos seriam relativamente menores nas populações mais próximas ao Polo Industrial. Foi um resultado inesperado, visto que estudos anteriores mostraram redução nos corpos gordurosos, com consequentes prejuízos à reprodução, devido à ação direta ou indireta da contaminação (Dundappa & Saidapur 1992; Langerveld et al. 2009). Porém, a desregulação endócrina causada por exposição a compostos químicos pode levar a um aumento na quantidade de células que acumulam gordura (adipócitos) nos corpos gordurosos próximos às gônadas em anuros (Grün et al. 2006), o que pode explicar os resultados encontrados no presente estudo.

O resultado encontrado para os parasitas nas populações de *R. ornata* refutam a hipótese de que os indivíduos do Mogi estariam mais infectados, já que somente a abundância média no pulmão foi maior no Mogi, enquanto abundância e intensidade médias de parasitas totais foram maiores no Quilombo. Por outro lado, indivíduos do Mogi com a mesma quantidade de parasitas

que os indivíduos das demais populações apresentaram baços maiores. O baço é o principal órgão responsável pela produção de células envolvidas na resposta imune dos vertebrados (John 1994). Um aumento na massa do baço pode estar relacionado a uma resposta imunológica intensificada, uma infecção em curso, ou uma combinação de ambos, tendendo o baço a apresentar tamanhos maiores quando mais ativos (John 1994; Forbes et al. 2006). Não foram avaliadas presença e quantidade de parasitas em outros órgãos ou no sangue, de forma que maiores baços encontrados nos indivíduos de *R. ornata* do Mogi podem ter relação com uma maior infecção de parasitas no corpo como um todo. A maior massa dos baços dos indivíduos de *R. ornata* do Mogi também pode estar relacionada à exposição à contaminação, visto que já foi registrado aumento no número de macrófagos nos baços de peixes encontrados em localidades contaminadas por efluentes industriais (Thilakaratne et al. 2007).

Apesar da população de *R. ornata* encontrada no Mogi diferir das demais em relação à maior parte das variáveis medidas, não foi essa a localidade na qual os indivíduos apresentaram maiores concentrações de metais no fígado. Além disso, as concentrações de metais encontradas nos fígados dos indivíduos de *R. ornata* foram diferentes daquelas encontradas no solo, resultado também encontrado para *C. dubius*. Um resultado semelhante foi encontrado em estudo feito com *Rana ridibunda* (Anura: Amphibia) (Stolyar et al. 2008), no qual as flutuações na concentração de metais no fígado da espécie estudada não refletiram as flutuações encontradas no ambiente para alguns metais. Sendo assim, dada a enorme diversidade de contaminantes liberados pelo Polo Industrial de Cubatão, é possível que os anuros encontrados no Mogi, especialmente *R. ornata*, estejam absorvendo contaminantes não avaliados nas análises realizadas no presente estudo. Essa consideração é importante pois diferentes compostos podem gerar efeitos opostos nos indivíduos afetados. Em estudo realizado com o efeito da exposição a bifenilas policloradas (PCB) sobre cinco espécies de aves, por exemplo, Henshel e Sparks (2006) concluíram que o órgão afetado e o efeito sobre ele (aumento ou redução da massa) varia de acordo com a espécie. Em outro exemplo, Lee e Stuebing (1990) encontraram uma relação negativa entre quantidade de Pb no tecido hepático e massa do fígado em indivíduos de *Bufo juxtasper* (Anura: Amphibia), mas uma relação positiva entre concentração de Zn e o tamanho de fígado desses organismos.

No presente estudo, *C. dubius* e *R. ornata* com o mesmo índice corpóreo tendem a possuir fígados e corpos gordurosos maiores nas populações do Mogi. Foi somente nesse quesito que as espécies se assemelharam. No mais, foram encontrados diferentes resultados para as espécies e a ideia de que *C. dubius*, espécie especialista de habitat, seria mais afetada não foi

corroborada. Já *R. ornata*, espécie considerada generalista e resistente a alterações ambientais, apresentou diferenças entre as populações que seguiram o gradiente hipotético de contaminação.

Por fim, a hipótese de um gradiente no efeito da contaminação industrial de Cubatão sobre os anuros da Serra do Mar não pode ser corroborada, mas não pode ser totalmente refutada. Os resultados encontrados para *R. ornata* sugerem que esse gradiente existe, mas mais estudos são necessários para que o impacto da poluição de Cubatão sobre os anfíbios seja confirmado. Futuros estudos deveriam avaliar os efeitos da contaminação ao nível celular nos tecidos dos anuros da Serra do Mar. Deveriam também ampliar as análises da concentração de contaminantes, utilizando diferentes tecidos dos indivíduos e englobando outros contaminantes.

Conclusões

A hipótese central do trabalho, de que há um gradiente geográfico no efeito da contaminação industrial sobre os anfíbios anuros da Serra do Mar, não foi corroborada, mas também não foi refutada. Os resultados encontrados para *Cycloramphus dubius* não corroboram com essa hipótese. Supõe-se que as piores condições encontradas nos indivíduos pertencentes à população do Quilombo estejam relacionadas a fatores da ecologia dos indivíduos dessa localidade, como maiores gastos energéticos devido à densidade. Supõe-se também que o contínuo fluxo de água presente nos ambientes de ocorrência de *Cycloramphus dubius* não permita que a contaminação fique disponível para absorção dos indivíduos por tempo suficiente. Ambas as hipóteses *a posteriori* precisam ser testadas em estudos futuros.

Os resultados encontrados para *Rhinella ornata* corroboram a hipótese central do trabalho. Foram encontradas diferenças no estado fisiológico de *Rhinella ornata* entre as populações mais próximas e mais distantes do Polo Industrial. Supõe-se que as diferenças encontradas na população do Mogi em relação às demais tenham sido geradas pela exposição a maiores níveis de contaminação nessa localidade. Supõe-se também que as análises feitas não tenham sido suficientes para demonstrar essa maior concentração de poluentes nos indivíduos, dada a vasta diversidade de compostos emitidos pelo Polo Industrial.

Como prevê a literatura, no presente estudo espécies que possuem diferentes histórias naturais respondem de forma diferente à poluição. Porém, diferente do que prevê a literatura, no presente estudo a espécie aparentemente mais afetada foi a espécie considerada generalista, que pareceu responder às diferenças na qualidade do ambiente entre as localidades. Fica evidenciada assim a importância de estudar o impacto real das alterações antrópicas em espécies que diferem na sua ecologia e nos ambientes em que ocorrem.

Referências Bibliográficas

- Abbas, M.Z.M., Bruns, R.E., Scarminio, I.S. & Ferreira, J.R. (1993). A multivariate statistical analysis of the composition of rainwater near Cubatão, SP, Brazil. *Environmental Pollution*, 79, 225–233.
- Almeida, F.F.M. de & Carneiro, C. dal R. (1998). Origem e evolução da Serra do Mar. *Revista Brasileira de Geociências*, 28, 135–150.
- Alonso, C.D. & Godinho, R. (1992). A evolução da qualidade do ar em Cubatão. *Química Nova*, 15.
- Arrieta, M.A., Bruzzone, L., Apartín, C., Rosenberg, C.E., Fink, N.E. & Salibián, A. (2004). Biosensors of inorganic lead exposure and effect in an adult amphibian. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46, 224–230.
- Baldissera Júnior, F.A., Caramaschi, U. & Haddad, C.F.B. (2004). Review of the Bufo crucifer species group, with descriptions of two new related species (Amphibia, Anura, Bufonidae). *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro*, 62, 255–282.
- Băncilă, R.I., Hartel, T., Plăiașu, R., Smets, J. & Cogălniceanu, D. (2010). Comparing three body condition indices in amphibians: a case study of yellow-bellied toad Bombina variegata. *Amphibia-Reptilia*, 31, 558–562.
- Bancroft, B.A., Baker, N.J. & Blaustein, A.R. (2008). A meta-analysis of the effects of ultraviolet B radiation and its synergistic interactions with pH, contaminants, and disease on amphibian survival. *Conservation Biology*, 22, 987–96.
- Barse, A.V., Chakrabarti, T., Ghosh, T.K., Pal, A.K., Kumar, N., Raman, R.P., et al. (2010). Vitellogenin induction and histo-metabolic changes following exposure of Cyprinus carpio to methyl paraben. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23, 1557 – 1565.
- Blaustein, A.R. & Wake, D.B. (1995). The puzzle of declining amphibian populations. *Scientific American*, 272, 1–7.
- Boncompagni, E., Fenoglio, C., Vaccarone, R., Chiari, P., Milanesi, G., Fasola, M., et al. (2004). Toxicity of chromium and heptachlor epoxide on liver of Rana kl . esculent : A morphological and histochemical study. *Italian Journal of Zoology*, 71, 163–167.
- Brodeur, J.C., Candiotti, J.V., Soloneski, S., Larramendy, M.L. & Ronco, A.E. (2012). Evidence of reduced feeding and oxidative stress in common tree frogs (Hypsiboas pulchellus) from an agroecosystem experiencing severe drought. *Journal of Herpetology*, 46, 72–78.
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M. & Shostak, A.W. (1997). Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited. *The Journal of Parasitology*, 83, 575–583.

- Carey, C. & Bryant, C.J. (1995). Possible interrelations among environmental toxicants, amphibian development, and decline of amphibian populations. *Environmental Health Perspectives*, 103, 13–17.
- Carey, C., Cohen, N. & Rollins-Smith, L. (1999). Amphibian declines: an immunological perspective. *Developmental and Comparative Immunology*, 23, 459–472.
- Christin, M.-S., Gendron, A.D., Brousseau, P., Ménard, L., Marcogliese, D.J., Cyr, D., et al. (2003). Effects of agricultural pesticides on the immune system of *Rana pipiens* and on its resistance to parasitic infection. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22, 1127–1133.
- Danelon, O.M. & Moreira-Nordemann, L.M. (1991). Ocorrência natural e antropogênica de Cl⁻, Na⁺, NO₃⁻, NH₄⁺ e SO₄²⁻ na Bacia do Rio Quilombo - (Cubatão - SP). *Revista Brasileira de Geociências*, 21, 96–101.
- Das, I. (1996). Reproductive strategy and lipid mobilization in *Rana hexadactyla* at a seasonal locality. *Ethology Ecology & Evolution*, 8, 125–133.
- Dixo, M. & Metzger, J.P. (2010). The matrix-tolerance hypothesis : an empirical test with frogs in the Atlantic Forest. *Biodiversity & Conservation*, 19, 3059–3071.
- Domingos, M., Lopes, M.I.M.S. & Vuono, Y.S. (2000). Nutrient cycling disturbance in Atlantic Forest sites affected by air pollution coming from the industrial complex of Cubatão , Southeast Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, 23, 77–85.
- Dundappa, R. & Saidapur, S.K. (1992). Effects of Exposure to Sublethal Mercuric Chloride on the Testis and Fat Body of the Frog *Rana cyanophlyctis*. *Journal of Herpetology*, 26, 499–501.
- Ferreira, L.G. (2007). *A gestão ambiental do polo industrial de Cubatão a partir do programa de controle da poluição iniciado em 1983 : atores , instrumentos e indicadores*.
- Forbes, M.R., McRuer, D.L. & Shutler, D. (2006). White blood cell profiles of breeding American toads (*Bufo americanus*) relative to sex and body size. *Comparative Clinical Pathology*, 15, 155–159.
- Forson, D.D. & Storfer, A. (2006). Atrazine increases ranavirus susceptibility in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Ecological Applications*, 16, 2325–32.
- Furlan, C.M., Salatino, A. & Domingos, M. (1999). Leaf contents of nitrogen and phenolic compounds and their bearing with the herbivore damage to *Tibouchina pulchra* Cogn . (Melastomataceae), under the influence of air pollutants from industries of Cubatão , São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica*, 22, 317–323.
- Giaretta, A.A. & Cardoso, A.J. (1995). Reproductive behavior of *Cycloramphus dubius* Miranda-Ribeiro (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 12.

- Girish, S. & Saidapur, S.K. (2000). Interrelationship between food availability, fat body, and ovarian cycles in the frog, *Rana tigrina*, with a discussion on the role of fat body in anuran reproduction. *The Journal of experimental zoology*, 286, 487–93.
- Gonçalves, F.L.T., Massambani, O., Beheng, K.D., Vautz, W., Schilling, M., Solci, M.C., et al. (2000). Modelling and measurements of below cloud scavenging processes in the highly industrialised region of Cubatão-Brasil. *Atmospheric Environment*, 34, 4113–4120.
- Grün, F., Watanabe, H., Zamanian, Z., Maeda, L., Arima, K., Cubacha, R., et al. (2006). Endocrine-disrupting organotin compounds are potent inducers of adipogenesis in vertebrates. *Molecular endocrinology*, 20, 2141–2155.
- Gutberlet, J. (1996). *CUBATÃO : Desenvolvimento, Exclusão Social e Degradação Ambiental* . 1st edn. EDUSP - Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Haddad, C.F.B. & Prado, C.P. a. (2005). Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *BioScience*, 55, 207.
- Haddad, C.F.B., Toledo, L.F. & Prado, C.P. de A. (2008). *Guia dos Anfíbios Anuros da Mata Atlântica*. Neotropica, São Paulo.
- Hasui, Y. & Sadowski, G.. (1976). Evolução geológica do Pré-Cambriano na região sudeste do Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Geociências*, 6, 182–200.
- Hayes, T.B., Falso, P., Gallipeau, S. & Stice, M. (2010). The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective. *The Journal of Experimental Biology*, 213, 921–933.
- Hecnar, S.J. (1995). Acute and chronic toxicity of ammonium nitrate fertilizer to amphibians from Southern Ontario. *Environmental toxicology and chemistry*, 14, 2131–2137.
- Henshel, D.S. & Sparks, D.W. (2006). Site specific PCB-correlated interspecies differences in organ somatic indices. *Ecotoxicology*, 15, 9–18.
- Heyer, R. & Verdade, V. (2004). *Cycloramphus dubius* [WWW Document]. *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2012.2. URL www.iucnredlist.org
- Heyer, W.R., Rand, A.S., Cruz, C.A.G. & Peixoto, O.L. (1988). Decimations, extinctions, and colonizations of frog populations in Southeast Brazil and their evolutionary implications. *Biotropica*, 20, 230–235.
- Horne, M.T. & Dunson, W. a. (1995). The interactive effects of low pH, toxic metals, and DOC on a simulated temporary pond community. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 89, 155–61.
- Hsu, M.J., Selvaraj, K. & Agoramoorthy, G. (2006). Taiwan's industrial heavy metal pollution threatens terrestrial biota. *Environmental Pollution*, 143, 327–334.

- Jakob, E.M., Marshall, S.D. & Uetz, G.W. (1996). Estimating fitness : A comparison of body condition indices. *Oikos*, 77, 61–67.
- Jenssen, T.A. (1972). Seasonal organ weights of the green frog, *Rana clamitans* (Anura: Ranidae) under natural conditions. *Transactions of the Illinois State Academy of Science*, 65, 15–24.
- John, J.L. (1994). The Avian Spleen: A Neglected Organ. *The Quarterly Review of Biology*, 69, 327–351.
- Karl, T.R. & Trenberth, K.E. (2003). Modern global climate change. *Science*, 302, 1719–23.
- Kerby, J.L., Richards-Hrdlicka, K.L., Storfer, A. & Skelly, D.K. (2010). An examination of amphibian sensitivity to environmental contaminants: are amphibians poor canaries? *Ecology letters*, 13, 60–67.
- Klumpp, A., Domingos, M. & Klumpp, G. (1996). Assessment of the vegetation risk by fluoride emissions from fertiliser industries at Cubatão , Brazil. *The Science of the Total Environment*, 219–228.
- Klumpp, A., Domingos, M. & Klumpp, G. (2002). Foliar nutrient contents in tree species of the Atlantic Rain Forest as influenced by air pollution from the industrial complex of Cubatão, SE-Brasil. *Water, Air, and Soil Pollution*, 133, 315–333.
- Klumpp, A., Domingos, M., Moraes, R.M. de & Klumpp, G. (1998). Effects of complex air pollution on tree species of the Atlantic Rain Forest near Cubatão, Brazil. *Chemosphere*, 36, 989–994.
- Klumpp, G., Furlan, C.M., Domingos, M. & Klumpp, A. (2000). Response of stress indicators and growth parameters of *Tibouchina pulchra* Cogn. exposed to air and soil pollution near the industrial complex of Cubatão, Brasil. *The Science of the Total Environment*, 246, 79–91.
- Langerveld, A.J., Celestine, R., Zaya, R., Mihalko, D. & Ide, C.F. (2009). Chronic exposure to high levels of atrazine alters expression of genes that regulate immune and growth-related functions in developing *Xenopus laevis* tadpoles. *Environmental research*, 109, 379–89.
- Lee, Y.H. & Stuebing, R.B. (1990). Heavy Metal Contamination in the River Toad, *Bufo juxtasper* (Inger), Near a Copper Mine in East Malaysia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 45, 272–279.
- Leitão Filho, H. de F., Pagano, S.N., Cesar, O., Timoni, J.L. & Rueda, J.J. (1993). *Ecologia da Mata Atlântica em Cubatão (SP)*. Editora da Universidade Estadual Paulista; Editora da Universidade de Campinas, São Paulo; Campinas.
- Letnic, M.I. & Fox, B.J. (1997). The impact of industrial fluoride fallout on faunal succession following sand mining of dry sclerophyll forest at Tomago, NSW. - I. Lizard recolonisation. *Biological Conservation*, 80, 63–81.

- Linzey, D., Burroughs, J., Hudson, L., Marini, M., Robertson, J., Bacon, J., et al. (2003). Role of environmental pollutants on immune functions, parasitic infections and limb malformations in marine toads and whistling frogs from Bermuda. *International Journal of Environmental Health Research*, 13, 125–148.
- Lips, K.R., Reeve, J.D. & Witters, L.R. (2003). Ecological traits predicting amphibian population declines in Central America. *Conservation Biology*, 17, 1078–1088.
- Long, D.R. (1987). A comparison of energy substrates and reproductive patterns of two anurans, *Acris crepitans* and *Bufo woodhousei*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 87A, 81–91.
- Mayer, R., Liess, S., Lopes, M.I.M.S. & Kreutzer, K. (2000a). Atmospheric pollution in a tropical rain forest: effects of deposition upon biosphere and hydrosphere II. Fluxes of chemicals and element budgets. *Water, Air, and Soil Pollution*, 121, 79–92.
- Mayer, R., Liess, S., Lopes, M.I.M.S. & Kreutzer, K. (2000b). Atmospheric pollution in a tropical rain forest: effects of deposition upon biosphere and hydrosphere I. Concentrations of chemicals. *Water, Air, and Soil Pollution*, 121, 59–78.
- Mazzoni-Viveiros, S.C. & Trufem, S.F.B. (2004). Efeitos da poluição aérea e edáfica no sistema radicular de *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae) em área de Mata Atlântica : associações micorrízicas e morfologia. *Revista Brasileira de Botânica*, 27, 337–348.
- Milone, M., Caliendo, M.F. & Rastogi, R.K. (1983). Seasonal lipid composition in the liver , fat body and gonads of *Rana esculenta*. *Bolletino di zoologia*, 50, 227–234.
- Mirlean, N., Casartelli, M.R. & Garcia, M.R.D. (2002). Propagação da poluição atmosférica por flúor nas águas subterrâneas e solos de regiões próximas às indústrias de fertilizantes (Rio Grande, RS). *Química Nova*, 25, 191–195.
- Moraes, R.M., Klumpp, A., Furlan, C.M., Klumpp, G., Domingos, M., Rinaldi, M.C.S., et al. (2002). Tropical fruit trees as bioindicators of industrial air pollution in southeast Brazil. *Environment International*, 28, 367 – 374.
- Moraes, R.M.D.E., Delitti, W.B.C. & Moraes, J.A.P.V. de. (2000). Respostas de indivíduos jovens de *Tibouchina pulchra* Cogn. à poluição aérea de Cubatão, SP: fotossíntese líquida, crescimento e química foliar. *Revista Brasileira de Botânica*, 23, 443–449.
- Murphy, S.D., Davis, H.V. & Zaratzian, V.L. (1964). Biochemical effects in rats from irritating air contaminants. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 6, 520–528.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B. & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853–858.
- Narvaes, P., Bertoluci, J. & Rodrigues, M.T. (2009). Composição, uso de hábitat e estações reprodutivas das espécies de anuros da floresta de restinga da Estação Ecológica Juréia-Itatins, sudeste do Brasil. *Biota Neotropica*, 9, 117–123.

- Newman, J.R. (1979). Effects of industrial air pollution on wildlife. *Biological Conservation*, 15, 181–190.
- Nomura, C.S. & Oliveira, P.V. (2010). Method for cadmium and lead longitudinal profiles determination in hair by solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Analytical Methods*, 2, 49–53.
- Paglia, A.P., Paese, A., Bedê, L.C., Pinto, L.P. & Machado, R.B. (2004). Lacunas de conservação e áreas insubstituíveis para vertebrados ameaçados da Mata Atlântica. In: *Anais do IV Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação. Volume II - Seminários*. Fundação o Boticário de Proteção à Natureza e Rede Nacional Pró Unidades de Conservação, Curitiba, PR, pp. 39–50.
- Păunescu, A., Ponopal, C.M., Drăghici, O. & Marinescu, A.G. (2010). Liver histopathological alterations in the frog *Rana* (*Pelophylax*) *ridibunda* induced by the action of reldan 40EC insecticide. *Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie*, TOM XVII, 166–169.
- Pimenta, B.V.S., Haddad, C.F.B., Nascimento, L.B., Cruz, C.A.G. & Pombal Jr., J.P. (2005). Comment on “Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide”. *Science*, 309, 1999b.
- Poulin, R. & Morand, S. (2000). The Diversity of Parasites. *The Quarterly review of biology*, 75, 277–293.
- Reading, C.J. & Clarke, R.T. (1995). The effects of density, rainfall and environmental temperature on body condition and fecundity in the common toad, *Bufo bufo*. *Oecologia*, 102, 453–459.
- Relyea, R. a & Diecks, N. (2008). An unforeseen chain of events: lethal effects of pesticides on frogs at sublethal concentrations. *Ecological applications*, 18, 1728–42.
- Relyea, R.A. (2005). The lethal impact of roundup on aquatic and terrestrial amphibians. *Ecological Applications*, 15, 1118–1124.
- Rie, M.T., Kitana, N., Lendas, K. a, Won, S.J. & Callard, I.P. (2005). Reproductive endocrine disruption in a sentinel species (*Chrysemys picta*) on Cape Cod, Massachusetts. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 48, 217–24.
- Rohr, J.R., Sager, T., Sesterhenn, T.M. & Palmer, B.D. (2006). Exposure, Postexposure, and Density-Mediated Effects of Atrazine on Amphibians: Breaking Down Net Effects into Their Parts. *Environmental Health Perspectives*, 114, 46–50.
- Rohr, J.R., Schotthoefer, A.M., Raffel, T.R., Carrick, H.J., Halstead, N., Hoverman, J.T., et al. (2008). Agrochemicals increase trematode infections in a declining amphibian species. *Nature*, 455, 1235–1239.

- Rollins-Smith, L.A., Ramsey, J.P., Pask, J.D., Reinert, L.K. & Woodhams, D.C. (2011). Amphibian immune defenses against chytridiomycosis: impacts of changing environments. *Integrative and Comparative Biology*, 51, 552–562.
- Rowe, C.L., Hopkins, W.A. & Coffman, V.R. (2001). Failed recruitment of southern toads (*Bufo terrestris*) in a trace element-contaminated breeding habitat: direct and indirect effects that may lead to a local population sink. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40, 399–405.
- Rowe, C.L., Kinney, O.M., Nagle, R.D. & Congdon, J.D. (1998). Elevated maintenance costs in an anuran (*Rana catesbeiana*) exposed to a mixture of trace elements during the embryonic and early larval periods. *Physiological Zoology*, 71, 27–35.
- Rubbo, M.J. & Kiesecker, J.M. (2005). Amphibian Breeding Distribution in an Urbanized Landscape. *Conservation Biology*, 19, 504–511.
- Sánchez-Chardi, A., Marques, C.C., Nadal, J. & Mathias, M. da L. (2007). Metal bioaccumulation in the greater white-toothed shrew, *Crocidura russula*, inhabiting an abandoned pyrite mine site. *Chemosphere*, 67, 121–30.
- Schmitt, C.J. & Dethloff, G.M. (2000). *Biomonitoring of Environmental Status and Trends (BEST) Program : selected methods for monitoring chemical contaminants and their effects in aquatic ecosystems*. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division, Columbia, (MO): Information and Technology Report.
- Schoenlein-crusius, I.H., Milanez, A.I., Trufem, S.F.B., Pires-zottarelli, C.L.A., Grandi, R.A.P., Santos, M.L., et al. (2006). MICROSCOPIC FUNGI IN THE ATLANTIC RAINFOREST IN CUBATÃO , SÃO PAULO , BRAZIL. *Brazilian Journal of Microbiology*, 267–275.
- Schulte-Hostedde, A.I., Zinner, B., Millar, J.S. & Hickling, G.J. (2005). Restitution of mass-size residuals: validating body condition indices. *Ecology*, 86, 155–163.
- Selvi, M., Gül, A. & Yilmaz, M. (2003). Investigation of acute toxicity of cadmium chloride ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) metal salt and behavioral changes it causes on water frog (*Rana ridibunda* Pallas, 1771). *Chemosphere*, 52, 259–63.
- Slooff, W., Van Kreijl, C.F. & Baars, A.J. (1983). Relative liver weights and xenobiotic-metabolizing enzymes of fish from polluted surface waters in the Netherlands. *Aquatic Toxicology*, 4, 1–14.
- SMA - Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. (2006). *Parque Estadual da Serra do Mar: Plano de Manejo*. São Paulo.
- Söderman, F., Van Dongen, S., Pakkasmaa, S. & Merilä, J. (2007). Environmental stress increases skeletal fluctuating asymmetry in the moor frog *Rana arvalis*. *Oecologia*, 151, 593–604.

- Steinberger, M. & Rodrigues, R.J. (2010). Conflitos na delimitação territorial do Bioma Mata Atlântica. *Geografias*, 06, 37–48.
- Stolyar, O.B., Loumbourdis, N.S., Falfushinska, H.I. & Romanchuk, L.D. (2008). Comparison of metal bioavailability in frogs from urban and rural sites of Western Ukraine. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 54, 107–113.
- Szabo, A. V., Domingos, M., Rinaldi, M.C.S. & Delitti, W.B.C. (2003). Acúmulo foliar de enxofre e suas relações com alterações no crescimento de plantas jovens de *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae) expostas nas proximidades do polo industrial de Cubatão, SP. *Revista Brasileira de Botânica*, 26, 379–390.
- Sztatecsny, M. & Schabetsberger, R. (2005). Into thin air: vertical migration, body condition, and quality of terrestrial habitats of alpine common toads, *Bufo bufo*. *Canadian Journal of Zoology*, 83, 788–796.
- Tagawa, P.T., Moruzzi, D.L. & Cury, J.A. (2009). Concentração de fluoreto na vegetação próxima do pólo de fertilizantes de Cubatão, São Paulo, Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, 14, 2205–2208.
- Thilakaratne, I.D.S.I.P., McLaughlin, J.D. & Marcogliese, D.J. (2007). Effects of pollution and parasites on biomarkers of fish health in spottail shiners *Notropis hudsonius* (Clinton). *Journal of Fish Biology*, 71, 519–538.
- Verdade, V.K., Carnaval, A.C., Rodrigues, M.T., Schiesari, L., Pavan, D. & Bertoluci, J. (n.d.). Decline of amphibians in Brazil. In: *Amphibian Conservation* (eds. Heatwole, H. & Wilkinson, J.W.). Surrey Beatty & Sons PTY Limited, Baulkham Hills, Australia.
- Verdade, V.K., Rodrigues, M.T. & Pavan, D. (2009). Anfíbios anuros da região da Estação Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba. In: *Patrimônio da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba: a antiga Estação Biológica do Alto da Serra*. São Paulo, pp. 579–604.
- Verdade, V.K., Valdujo, P.H., Carnaval, A.C., Schiesari, L., Toledo, L.F., Mott, T., et al. (2012). A leap further : the Brazilian Amphibian Conservation Action Plan. *Alytes*, 29, 27–42.
- Vogiatzis, A.K. & Loumbourdis, N.S. (1997). Uptake, tissue distribution, and depuration of cadmium (Cd) in the frog *Rana ridibunda*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 59, 770–776.
- Vogiatzis, A.K. & Loumbourdis, N.S. (1998). Cadmium accumulation in liver and kidneys and hepatic metallothionein and glutathione levels in *Rana ridibunda*, after exposure to CdCl₂. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34, 64–68.
- Vogiatzis, A.K. & Loumbourdis, N.S. (2001). Exposure of *Rana ridibunda* to Lead II. Impact of Lead on Various Parameters of Liver Metabolism of the Frog *Rana ridibunda*. *Journal of Applied Toxicology*, 21, 269–274.

- Williams, G.M. & Iatropoulos, M.J. (2002). Alteration of Liver Cell Function and Proliferation: Differentiation Between Adaptation and Toxicity. *Toxicologic Pathology*, 30, 41–53.
- Yule, C.M., Boyero, L. & Marchant, R. (2010). Effects of sediment pollution on food webs in a tropical river (Borneo, Indonesia). *Marine and Freshwater Research*, 61, 204–213.

Apêndice I

Figura A: Gráficos ilustrativos de distribuição de freqüências das classes de quantidade de ovos e larvas encontrados nas populações presentes nas três localidades para *Cycloramphus dubius* e *Rhinella ornata*.

Apêndice II

Tabela A: Valores de compostos orgânicos ($\mu\text{g L}^{-1}$) encontrados nas carcaças dos indivíduos coletados em cada população de *Cycloramphus dubius* e *Rhinella ornata*. Todos os valores estão abaixo do limite de detecção.

Composto	Quantidade nos tecidos das carcaças ($\mu\text{g L}^{-1}$)					
	<i>Cycloramphus dubius</i>			<i>Rhinella ornata</i>		
	Mogi	Quilombo	Itatinga	Mogi	Quilombo	Itatinga
Acrilamida	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005
Alacloro	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Aldrin + Dieldrin	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Atrazina	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005
Benzeno	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Benzidina	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Benzo(a)antraceno	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Benzo(a)pireno	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Benzo(b)fluoranteno	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Benzo(k)fluoranteno	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Carbaril	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Clordano (isômeros)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
2-Clorofenol	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Criseno	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
2,4 D	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Demeton	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Dibenzo(a,h)antraceno	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
1,2 Dicloroetano	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
1,1 Dicloroetano	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
2,4-Diclorofenol	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Diclorometano	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
DDT (isômeros)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Dodecacloro pentaciclododecano	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005	<0,0005
Endossulfan	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Endrin	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Tabela A: Continuação.

Estireno	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Etilbenzeno	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Glifosato	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Gutition	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Heptacloro epóxido +						
Heptacloro	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Fenóis	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Indeno(1,2,3-cd)pireno	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Lindano (-BHC)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Malation	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Metolacloro	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Metoxicloro	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Paration	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
PCBs – Bifenilas Policloradas	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005
Pentaclorofenol	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Simazina	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005
2,4,5-T	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Tetracloreto de carbono	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Tetracloroeteno	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Tolueno	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Toxafeno	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
2,4,5-TP	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Tributilestanho	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Triclorobenzeno	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Tricloroeteno	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
2,4,6 Triclorofenol	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Trifluralina	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002
Xilenos	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002	<0,002

Tabela B: Valores de compostos orgânicos (mg kg⁻¹) encontrados nos solos coletados em cada localidade amostrada. Todos os valores estão abaixo do limite de detecção.

Composto	Quantidade nos solos das localidades (mg kg ⁻¹)		
	Mogi	Quilombo	Itatinga
Benzeno	<0,02	<0,02	<0,02
Estireno	<0,01	<0,01	<0,01
Etilbenzeno	<0,02	<0,02	<0,02
Tolueno	<0,02	<0,02	<0,02
Xilenos	<0,02	<0,02	<0,02
Atraceno	<0,01	<0,01	<0,01
Benzo(a)antraceno	<0,01	<0,01	<0,01
Benzo(k)fluoranteno	<0,01	<0,01	<0,01
Benzo(g,h,i)perileno	<0,01	<0,01	<0,01
Benzo(a)pireno	<0,01	<0,01	<0,01
Criseno	<0,01	<0,01	<0,01
Dibenzo(a,h)antraceno	<0,01	<0,01	<0,01
Fenantreno	<0,01	<0,01	<0,01
Indeno(1,2,3-cd)pireno	<0,01	<0,01	<0,01
Naftaleno	<0,01	<0,01	<0,01
Monoclorobenzeno	<0,01	<0,01	<0,01
1,2 Diclorobenzeno	<0,01	<0,01	<0,01
1,3 Diclorobenzeno	<0,01	<0,01	<0,01
1,4 Diclorobenzeno	<0,01	<0,01	<0,01
1,2,3 Tricolobenzeno	<0,01	<0,01	<0,01
1,2,4 Tricolobenzeno	<0,01	<0,01	<0,01
1,3,5 Tricolobenzeno	<0,01	<0,01	<0,01
1,2,3,4 Tetraclorobenzeno	<0,01	<0,01	<0,01
1,2,3,5 Tetraclorobenzeno	<0,01	<0,01	<0,01
1,2,4,5 Tetraclorobenzeno	<0,01	<0,01	<0,01
Hexaclorobenzeno	<0,01	<0,01	<0,01
1,1 Dicloroetano	ND	ND	ND
1,2 Dicloroetano	<0,01	<0,01	<0,01
1,1,1 Tricloroetano	ND	ND	ND
Cloreto de Vinila	<0,001	<0,001	<0,001

Tabela B: Continuação.

1,1 Dicloroeteno	<0,001	<0,001	<0,001
1,2 Dicloroeteno (cis)	<0,05	<0,05	<0,05
1,2 Dicloroeteno (trans)	<0,05	<0,05	<0,05
Tricloroeteno	<0,02	<0,02	<0,02
Tetracloroeteno	<0,01	<0,01	<0,01
Diclorometano	<0,01	<0,01	<0,01
Clorofórmio	<0,01	<0,01	<0,01
Tetracloreto de carbono	<0,01	<0,01	<0,01
2 Clorofenol	<0,01	<0,01	<0,01
2,4 Diclorofenol	<0,01	<0,01	<0,01
3,4 Diclorofenol	<0,01	<0,01	<0,01
2,4,5 Triclorofenol	<0,01	<0,01	<0,01
2,4,6 Triclorofenol	<0,01	<0,01	<0,01
2,3,5,4 Tetraclorofenol	<0,01	<0,01	<0,01
2,3,4,6 Tetraclorofenol	<0,01	<0,01	<0,01
Pentaclorofenol	<0,01	<0,01	<0,01
Cresóis	<0,01	<0,01	<0,01
Fenóis totais	<0,1	<0,1	<0,1
Dietilexil ftalato	<0,01	<0,01	<0,01
Dimetil ftalato	<0,01	<0,01	<0,01
Di-n-butil fatalato	<0,01	<0,01	<0,01
Aldrin	<0,005	<0,005	<0,005
Dieldrin	<0,01	<0,01	<0,01
Endrin	<0,01	<0,01	<0,01
DDT (isômeros)	<0,01	<0,01	<0,01
DDD	<0,01	<0,01	<0,01
DDE	<0,01	<0,01	<0,01
HCH beta	<0,001	<0,001	<0,001
Lindano (γ -BHC)	<0,001	<0,001	<0,001
PCBs totais	<0,005	<0,005	<0,005