



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE
AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS

Projeto de dissertação:

CARACTERÍSTICAS FUNCIONAIS E RELAÇÕES ENERGÉTICAS:
EFEITOS NA DISTRIBUIÇÃO DE ANUROS ARBORÍCOLAS DE
MATA ATLÂNTICA

Discente: Amanda Lipinski Fernandes Maciel

Orientadora: Dra. Evanilde Benedito

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	3
HIPÓTESES E PREDIÇÕES.....	6
Hipótese 1.....	6
Predição 1.....	6
Hipótese 2.....	6
Predição 2.....	6
Hipótese 3.....	6
Predição 3.....	6
OBJETIVOS.....	7
Objetivo Geral.....	7
Objetivos Específicos.....	7
MATERIAL E MÉTODOS.....	8
Área de estudo.....	8
Amostragem.....	8
Características funcionais.....	9
Análises de laboratório.....	9
Análises de dados.....	9
Autorização para coleta de animais silvestres.....	10
ORÇAMENTO.....	11
CRONOGRAMA.....	12
JUSTIFICATIVAS.....	13
REFERÊNCIAS.....	14

INTRODUÇÃO

A Floresta Atlântica, que originalmente, se encontrava do Rio Grande do Sul ao Rio Grande do Norte (SAZIMA; ETEROVIC; MARQUES, 2001), hoje apresenta, apenas 16% dos atuais remanescentes florestais (RIBEIRO *et al.*, 2009). Este bioma ainda tem sido fortemente devastado, e muitas espécies correm risco de extinção (RIBEIRO *et al.*, 2009). Contudo, ele é considerado um dos cinco principais *hotspots* mundiais devido a sua alta diversidade, incluindo espécies endêmicas (MYERS *et al.*, 2000), ainda não descritas e, portanto, cuja bio-ecologia são desconhecidas. O Brasil é detentor da maior diversidade de espécies de anuros do mundo e cerca de 60% das espécies descritas ocorrem na Floresta Atlântica (HADDAD *et al.*, 2013).

Em consequência da alta degradação deste bioma, as populações de anfíbios vêm declinando consideravelmente (ALFORD & RICHARDS, 1999; BECKER *et al.*, 2007; HAYES *et al.*, 2010). Devido a seus complexos ciclos de vida, com fases aquáticas e terrestres, os anfíbios são sensíveis à qualidade e mudança do ambiente em que estão inseridos (BĂNCILĂ *et al.*, 2010). Estes animais sofrem principalmente com os efeitos de borda de floresta, fragmentação e perda de habitat, que facilitam o aumento no risco de dessecação, predação, endogamia e extinção por declínio da população (BECKER *et al.*, 2007; FERREIRA; BEARD; CRUMP, 2016). Outros fatores, porém, também atuam no declínio das populações de anfíbios, tais como: mudanças climáticas (POUNDS *et al.*, 2006), radiação ultravioleta (BLAUSTEIN & JOHNSON, 2003), introdução de espécies exóticas (KATS & FERRER, 2003) e doenças causadas por patógenos, principalmente fungos (LIPS & DONNELLY, 2005).

Dentro de um ecossistema a energia é transportada de um sítio a outro e entre indivíduos por meio das relações tróficas (LINDEMAN, 1942). Em anuros, a energia é armazenada na forma de lipídeos, carboidratos e proteínas, porém, a principal forma de estoque energético, é realizada a partir dos lipídeos, dentro do fígado, da gordura corporal e dos tecidos somáticos e reprodutivos, como ovários e ovos (FITZPATRICK, 1976). Assim como todos os organismos, os anuros também enfrentam a difícil tarefa de particionar a energia adquirida em proporções adequadas para seu crescimento, manutenção, reprodução (GRAFE; SCHMUCK; LINSENMAIR, 1991) e sobrevivência durante períodos

de hibernação em regiões temperadas (READING & CLARKE, 1995; CHEN; ZHANG; LU, 2011). Durante a hibernação e a reprodução, as reservas energéticas vão sendo consumidas, e, em seguida, são renovadas no período mais ativo dos anuros, que ocorre durante as estações climáticas mais quentes e úmidas (READING & CLARKE, 1995; BĂNCILĂ *et al.*, 2010). CHEN *et al.* (2011) mostram que devido à hibernação, *Rana chensinensis* apresenta alta energia para sobrevivência durante esse período e após ele, durante a reprodução, o que possibilita à espécie ampla distribuição no Norte da China (SERGIUS *et al.*, 2004). E de acordo com o trabalho de DOLMEN & SELAND (2016) *Rana temporaria* apresenta um grande tamanho corporal, indicando que a espécie também pode possuir um alto conteúdo energético, possibilitando a mesma ter ampla distribuição na Europa (KUZMIN *et al.*, 2009).

Diversos estudos têm demonstrado a influência de características funcionais na distribuição e permanência das espécies em um determinado ambiente, tal como o tamanho do corpo, onde espécies grandes e médias possuem maior distribuição que espécies pequenas em muitos grupos de vertebrados (GASTON, 1990). Além disso, espécies de anfíbios de áreas abertas têm aumentado a sua distribuição devido às alterações ambientais, e espécies que apresentam uma maior diversidade de mecanismos antipredação se distribuem mais que àquelas com uma menor diversidade (LOURENÇO-DE-MORAES, 2016). O tamanho do corpo, assim como as dispersões para os sítios de reprodução e vocalização, e a busca por alimento e abrigo, são os fatores que mais influenciam a dispersão das espécies de anfíbios (DUELLMAN & TRUEB, 1986). Neste contexto, características funcionais, tais como: tamanho do corpo (pequeno, médio e grande Comprimento Rostro Cloacal - CRC; e pequeno, médio e grande peso), habitat (área aberta e área florestada) e mecanismos antipredação (aposematismo, abrir a boca, camuflagem, contrair, descarga cloacal, elevar o corpo, escapar, esticar as pernas, inflar o corpo, imobilidade, lutar contra o predador, produzir secreções e vocalizações ofensivas) são úteis na elaboração futura de modelos com o objetivo de prever a ocorrência das espécies de anfíbios em determinados locais, em resposta às mudanças nas condições ambientais.

Apesar dos diversos estudos envolvendo gastos energéticos de anuros, principalmente durante a reprodução e a hibernação (READING & CLARKE,

1995; BĂNCILĂ *et al.*, 2010), estudos envolvendo e testando a influência energética na distribuição das espécies são inexistentes. Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo, identificar o conteúdo energético das espécies arborícolas de anuros de Floresta Atlântica, e relacionar com suas características funcionais e distribuição.

HIPÓTESES E PREDIÇÕES

Hipótese 1

Espécies arborícolas de áreas abertas possuem mais energia (kcal/g de peso seco) que espécies arborícolas florestais.

Predição 1

Espécies arborícolas que ocupam áreas abertas se distribuem mais do que espécies arborícolas de áreas florestais, portanto, demandam e gastam mais energia durante esse processo.

Hipótese 2

Espécies arborícolas de médio ou grande porte possuem mais energia (kcal/g de peso seco) que espécies arborícolas de menor porte.

Predição 2

Espécies arborícolas que possuem um maior porte têm uma capacidade maior de distribuição, e sendo assim, demandam e gastam mais energia durante esse processo.

Hipótese 3

Espécies arborícolas com uma maior diversidade de mecanismos antipredação possuem mais energia (kcal/g de peso seco) que espécies arborícolas com uma menor diversidade.

Predição 3

Espécies arborícolas que possuem mais tipos de mecanismos antipredação se distribuem mais que espécies arborícolas que apresentam menos tipos de mecanismos antipredação, e, portanto, demandam e gastam mais energia durante esse processo.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Determinar o conteúdo energético das espécies de anuros arborícolas e relacionar com suas características funcionais e distribuição.

Objetivos Específicos

- Determinar as características funcionais de cada espécie coletada, sendo elas: tamanho, habitat e mecanismos antipredação;
- Determinar o conteúdo energético de cada indivíduo coletado por bomba calorimétrica, em todas as áreas investigadas;
- Correlacionar a energia de cada espécie com suas características funcionais;
- Traçar a área de distribuição de cada espécie amostrada.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

As amostragens serão realizadas nas seguintes áreas pré-selecionadas: i) Parque das Perobas (23°29'S, 51°59'O), no município de Maringá, Paraná; ii) Refúgio de Vida Silvestre de Jacarezinho (23°11'S, 49°58'O) no município de Jacarezinho, Paraná; iii) Parque Estadual de Campinhos (25°02'S, 49°05'O), no município de Cerro Azul, Paraná e iv) Parque Estadual Pico do Morumbi (25°27'S, 48°55'O), no município de Morretes, Paraná.

Amostragens

As amostragens serão realizadas durante cinco dias em cada área pré-selecionada, em fevereiro e março de 2017. Estes, são alguns dos meses que compreendem o período reprodutivo de grande parte das espécies de anuros tropicais, pois inclui o período com o clima mais adequado à reprodução (DUELLMAN & TRUEB, 1986). Serão coletadas, no mínimo, seis espécies arborícolas de áreas abertas (três pequenas e três médias ou grandes) e seis espécies arborícolas florestais (três pequenas e três médias ou grandes), categorizadas de acordo com HADDAD *et al.* (2013): pequeno (<3cm), médio (≥3 e <10cm) e grande (>10cm). Somente machos serão amostrados. Serão coletados, no máximo, até 10 indivíduos, de cada espécie. O método utilizado durante as amostragens será o de Busca Ativa (BA) (ZIMMERMAN, 1994). Durante a BA, os sítios reprodutivos e microhabitats utilizados pelos anuros durante os períodos: diurno, crepuscular e noturno, serão vistoriados.

Os anuros capturados serão transportados em sacos plásticos. Em campo, os espécimes coletados serão submetidos à eutanásia com hidrocloreto de benzocaína ≥ 250mg/L (ASH, 2004). Mapas serão construídos utilizando o programa ArcGis® (ESRI, 2011). Espécies ameaçadas de extinção que se encontrarem na lista vermelha nacional “Sociedade Brasileira de Herpetologia” (SBH) ou internacional “International Union for Conservation of Nature” (IUCN), não serão coletadas e nem incluídas nas análises.

Para determinar as distribuições de todas as espécies coletadas será elaborado um mapa através de dados obtidos pela IUCN. A avaliação da distribuição geográfica das espécies será realizada por um sistema de grades,

feito pelo software ArcGis® (ESRI, 2011). Para isso, serão construídas matrizes de presença e ausência dos dados de distribuição das espécies, por meio de uma sobreposição, com células de 0,1^o de latitude/longitude. Para a nomenclatura das espécies, será utilizado FROST (2016).

Características funcionais

As características funcionais das espécies coletadas serão determinadas de acordo com o trabalho de LOURENÇO-DE-MORAES (2016), sendo elas: tamanho (pequeno, médio e grande CRC; e pequeno, médio e grande peso), habitat (área aberta e área florestada) e mecanismos antipredação (aposematismo, abrir a boca, camuflagem, contrair, descarga cloacal, elevar o corpo, escapar, esticar as pernas, inflar o corpo, imobilidade, lutar contra o predador, produzir secreções e vocalizações ofensivas). Juntamente, serão avaliadas: as informações ecológicas com base nos dados obtidos pela IUCN, a descrição original das espécies com apoio da bibliografia especializada, além das observações de campo. Adicionalmente, dados como peso e comprimento do corpo, serão registrados durante as amostragens.

Análises de laboratório

Cada amostra (indivíduo coletado) será conservada em gelo e levada ao laboratório de Ecologia Energética do Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (NUPELIA), onde será processada. As amostras serão lavadas em água destilada e secas a 60°C num forno de ventilação até atingir peso constante, durante 72h. Logo após, os indivíduos secos serão moídos num macerador de esferas para se obter um pó fino. O conteúdo calórico de cada amostra (kcal/g de peso seco) será determinado em bomba calorimétrica (PARR 1261) (BENEDITO-CECILIO & MORIMOTO, 2002).

Análises de dados

Será determinada, por vez, qual a resposta das variáveis independentes (tamanho, habitat e mecanismos antipredação) em relação ao potencial calórico (variável dependente) das espécies amostradas, através de uma Análise de Variância (ANOVA), para verificar se realmente espécies com maior CRC, maior peso, de áreas abertas e/ou com uma maior diversidade de

mecanismos antipredação, possuem mais energia que espécies com menor CRC, menor peso, de áreas florestadas e/ou com uma menor diversidade de mecanismos antipredação. Os pressupostos serão avaliados utilizando o Teste de Levene, caso necessário, os dados serão logaritimizadas.

Se a ANOVA mostrar uma relação positiva da energia vs a distribuição das espécies em relação às suas características funcionais, será realizada uma PERMANOVA para ranquear em grau de importância qual das variáveis (tamanho, habitat e mecanismos antipredação) influencia mais a distribuição das espécies. Para essa análise, os dados serão transformados em uma matriz Euclidiana (OKSANEN *et al.*, 2013). Todas as análises serão realizadas na plataforma R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2014).

Autorização para coleta de animais silvestres

O presente Projeto de Pesquisa está sendo cadastrado junto ao IBAMA (56395) para fins de Licença Ambiental. O protocolo de experimentação animal também está sendo submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (MDO4).

ORÇAMENTO

Material	Quant.	Valor Unit. R\$	Valor total R\$
Coleta			
Combustível	388,93 L	R\$ 4,00 por L	R\$ 1.555,52
Pedágios	45	--	R\$ 364,00
Diárias	23 com pernoite e 2 sem pernoite	R\$ 180,00 com pernoite R\$ 60,00 sem pernoite	R\$ 4.260,00
Alimentação	56	R\$ 20,00	R\$ 1.120,00
Sacos plásticos (pequenos)	3	R\$ 2,50	R\$ 7,50
Sacos plásticos (grandes)	3	R\$ 7,00	R\$ 21,00
Caixa térmica de isopor (8L)	2	R\$ 17,00	R\$ 34,00
Nitrogênio líquido	7kg	R\$ 5,00 o kg	R\$ 35,00
Lanterna de cabeça	1	R\$ 745,00	R\$ 745,00
Subtotal	--	--	R\$ 8.142,02
Laboratório			
Etiqueta	4 rolos	R\$ 3,50	R\$ 14,00
Caneta permanente	3	R\$ 5,00	R\$ 15,00
Papel alumínio	3	R\$ 2,50	R\$ 7,50
Fuso para queima (rolo com 1,27m)	1	R\$ 170,00	R\$ 170,00
Fio e algodão (rolo)	1	R\$ 25,00	R\$ 25,00
Subtotal	--	--	R\$ 231,50
Total	--	--	R\$ 8.373,52

JUSTIFICATIVAS

As correções e sugestões do projeto da dissertação indicadas pelos membros da banca examinadora foram acatadas e realizadas, excetuando-se: 1. Alterações nas análises estatísticas; 2. Descrição das áreas pré-selecionadas. No que se refere às análises estatísticas, julgamos não ser possível, uma vez que no momento não dispomos de resultados preliminares que permitam determinar com segurança se novas análises serão necessárias além das propostas. Em relação a descrição das áreas de amostragens, consideramos que as hipóteses a serem investigadas não estão correlacionadas com os pontos de amostragem, mas sim, com as características funcionais, detalhadas no presente projeto.

Maringá, 16 de novembro de 2016.

Evanilde Benedito

Amanda Lipinski Fernandes Maciel

REFERÊNCIAS

ALFORD, R. A. & RICHARDS, S. J. Global amphibian declines: a problem in applied ecology. **Annual review of Ecology and Systematics**. p. 133-165, 1999.

ASH - American Society of Ichthyologist and Herpetologist. Guidelines for Use of Live Amphibians and Reptiles in Field and Laboratory Research. pp 43, 2004.

BĂNCILĂ, R. I.; HARTEL, T.; PLĂIAȘU, R.; SMETS, J. & COGĂLNICEANU, D. Comparing three body condition indices in amphibians: a case study of yellow-bellied toad *Bombina variegata*. **Amphibia-Reptilia**. v. 31, n. 4, p. 558-562, 2010.

BECKER, C. G.; FONSECA, C. R.; HADDAD, C. F. B.; BATISTA, R. F. & PRADO, P. I. Habitat split and the global decline of amphibians. **Science**. v. 318, n. 5857, p. 1775-1777, 2007.

BENEDITO-CECILIO, E. & MORIMOTO, M. Effect of preservatives on caloric density in the muscles of *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) (Osteichthyes, Erythrinidae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**. v. 24, n. 2, p. 489-492, 2002.

BLAUSTEIN, A. R. & JOHNSON, P. T. J. The complexity of deformed amphibians. **Frontiers in Ecology and the Environment**. v.1, n. 2, p. 87-94, 2003.

CHEN, W.; ZHANG, LI-XIA & LU, X. Higher pre-hibernation energy storage in anurans from cold environments: A case study on a temperate frog *Rana chensinensis* along a broad latitudinal and altitudinal gradients. In: *Annales Zoologici Fennici*. **Finnish Zoological and Botanical Publishing**. v. 48, n. 4, p. 214-220, 2011.

DOLMEN, D. & SELAND, J. How fast do amphibians disperse? Introductions, distribution and dispersal of the common frog (*Rana temporaria*) and the common toad (*Bufo bufo*) on a coastal island in Central Norway. **Fauna Norvegica**. v.36, p.33-46, 2016.

DUELLMAN, W. E. & TRUEB, L. **Biology of Amphibians**. New York: McGraw-Hill Publishing Company. p. 30, 1986.

ENVIRONMENTAL SYSTEMS RESEARCH INSTITUTE (ESRI). **ArcGIS Desktop**: release 10. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute, 2011.

FERREIRA, R. B.; BEARD, K. H. & CRUMP, M. L. Breeding Guild Determines Frog Distributions in Response to Edge Effects and Habitat Conversion in the Brazil's Atlantic Forest. **PloS One**. v. 11, n. 6, e0156781, 2016.

FITZPATRICK, L. C. Life history patterns of storage and utilization of lipids for energy in amphibians. **American Zoologist**. v. 16, n. 4, p. 725-732, 1976.

FROST, D. R. **Amphibian Species of the World: an Online Reference**. Version 6.0. American Museum of Natural History, New York, USA, 2015.

GASTON, K. J. Patterns in the geographical ranges of species. **Biological Reviews**. v. 65, n. 2, p. 105-129, 1990.

GRAFE, T. U.; SCHMUCK, R. & LINSENMAIR, K. E. Reproductive energetics of the African reed frogs, *Hyperolius viridiflavus* and *Hyperolius marmoratus*. **Physiological Zoology**. p. 153-171, 1992.

HADDAD, C. F. B.; TOLEDO, L. F.; PRADO C. P. A.; LOEBMANN D.; GASPARINI, J. L. & SAZIMA, I. **Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica: diversidade e biologia**. São Paulo: Anolis Books, 2013.

HAYES, T. B.; FALSO, P.; GALLIPEAU, S. & STICE, M. The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's Perspective. **Journal of Experimental Biology**. v. 213, n. 6, p. 921-933, 2010.

KATS, L. B. & FERRER, R. P. Alien predators and amphibian declines: review of two decades of science and transition to conservation. **Diversity and Distributions**. v. 9, n. 2, p. 99-110, 2003.

KUZMIN, S.; ISHCHENKO, V.; TUNIYEV, B.; BEEBEE, T.; ANDREONE, F.; NYSTRÖM, P.; ANTHONY, B. P.; SCHMIDT, B.; OGRODOWCZYK, A.; OGIELSKA, M.; BOSCH, J.; MIAUD, C.; LOMAN, J.; COGALNICEANU, D.; KOVÁCS, T. & KISS, I. *Rana temporaria*. (errata version published in 2016) The IUCN Red List of Threatened Species 2009: e.T58734A86470817, 2009.

LINDEMAN, R. L. The trophic-dynamic aspect of ecology. **Ecology**. v. 23, n. 4, p. 399-417, 1942.

LIPS, K. R. & DONNELLY, M. A. What the tropics can tell us about declining amphibian populations: current patterns and future prospects. **North American Amphibians: Status and Conservation**. Chicago: University of Chicago Press. p. 388-406, 2005.

LOURENÇO-DE-MORAES, R. **Efeitos da altitude, longitude e latitude na composição histórica e ecológica dos Anfíbios da Floresta Atlântica Brasileira**. 2016. 275f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais) – Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2016.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B. & KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**. n. 403, p. 853-858, 2000.

OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; KINDT, M. F. R.; LEGENDRE, P.; MCGLINN, D.; MINCHIN, P. R.; O'HARA, R. B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; STEVENS, M. H. H.; SZOECS, E. & WAGNER, H. *Vegan: Community Ecology Package*. R Development Core Team, 2013. Disponível em: <http://cran.r-project.org/package=vegan>.

POUNDS, J. A.; BUSTAMANTE, M. R.; COLOMA, L. A.; CONSUEGRA, J. A.; FOGDEN, M. P. L.; FOSTER, P. N.; LAMARCA, E. MASTERS, K. L.; MERINO-VITERI, A. PUSCHENDORF, R.; RON, S. R.; SÁNCHEZ-AZOFEIFA, G. A.; STILL, C. J. & YOUNG, B. E. Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. **Nature**. v. 439, n. 7073, p. 161-167, 2006.

R CORE TEAM. *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2014.

READING, C. J. & CLARKE, R. T. The effects of density, rainfall and environmental temperature on body condition and fecundity in the common toad, *Bufo bufo*. **Oecologia**. v. 102, n. 4, p. 453-459, 1995.

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J. & HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for Conservation. **Biological Conservation**. v. 142, n. 6, p. 1141-1153, 2009.

SAZIMA, I.; ETEROVIC, A. & MARQUES, O. A. A. **Serpentes da Mata Atlântica: guia ilustrado para a Serra do Mar**. Ribeirão Preto: Holos, 2001.

SERGIUS, K.; MASAFUMI, M.; ZHAO, W.; VLADIMIR, I.; NATALIA, A. & NIKOLAI, O. ***Rana chensinensis***. The IUCN Red List of Threatened Species 2004: e.T58572A11805122, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2004.RLTS.T58572A11805122.en>.

ZIMMERMAN, B. Audio strip transects. In: HEYER, W.; DONNELLY, M. A.; MCDIARMID, R. W.; HAYEK, L. A. C. & FOSTER M. **Measuring and Monitoring Biological Diversity Standard Methods for Amphibians.** Washington: Smithsonian Institution Press, 1994.