

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS FRANCISCO BELTRÃO

ANFÍBIOS AMEAÇADOS DA FLORESTA COM
ARAUCÁRIAS E ECOSSISTEMAS
ASSOCIADOS

Proposta de pesquisa submetida ao Instituto
Ambiental do Paraná, para efeito de licença de
coleta no Parque Estadual Pico do Marumbi.

Pesquisador responsável: Prof. Dr. Rodrigo
Lingnau

Francisco Beltrão – PR

2018

Título

Anfíbios Ameaçados da Floresta com Araucárias e Ecossistemas Associados

Introdução

Os anfíbios estão entre o grupo de vertebrados mais ameaçados no mundo (Silvano e Segalla, 2005; Carvalho et al., 2017). Desta forma, em um bioma altamente devastado como a Mata Atlântica, em especial na Floresta Ombrófila Mista, encontramos algumas espécies de anfíbios ameaçados. Esta proposta de projeto aborda sete espécies de anfíbios da Floresta Ombrófila Mista e ecossistemas associados, seis destas espécies já são oficialmente ameaçadas a nível nacional e/ou estadual, além de uma espécie recentemente descrita e possivelmente ameaçada. As espécies a serem analisadas são: *Ceratophrys aurita*, EN (em perigo) em Santa Catarina e DD (dados insuficientes) no Paraná; *Crossodactylus schmidtii*, NT (quase ameaçada) a nível nacional e CR (criticamente em perigo) em Santa Catarina; *Cycloramphus diringshofeni*, CR (criticamente em perigo) a nível nacional; *Boana curupi*, VU (vulnerável) a nível nacional e EN (em perigo) em Santa Catarina; *Boana semiguttata*, EN (em perigo) a nível nacional e em Santa Catarina; *Limnomedusa macroglossa*, CR (criticamente em perigo) no Paraná e EN (em perigo) em Santa Catarina; e por fim a *Pithecopus rusticus* que ainda não teve seu estado de conservação avaliado, mas devido à sua raridade já consta como espécie beneficiada no PAN Herpetofauna do Sul.

É importante destacar que a principal ameaça à conservação de anfíbios no Brasil, e no mundo, é a destruição de seus habitats, seja por desmatamento para atividades agropastoris ou expansão das áreas urbanas (Silvano e Segalla, 2005). Ao longo das cinco Oficinas de Avaliação do Estado de Conservação de Anfíbios Brasileiros, realizadas ao longo dos anos de 2011 até 2014, promovidas pelo ICMBIO, percebeu-se mais uma vez a carência de informações sobre as espécies, a caracterização de seus ambientes e as reais ameaças às quais estão submetidas. No caso de algumas espécies não há sequer uma informação confiável sobre sua real distribuição geográfica, o que evidencia a necessidade da execução de expedições de campo para localização de novas populações.

Com relação às ameaças sofridas pelos anfíbios, além da destruição de seus habitats, há outras ameaças ainda pouco compreendidas aqui no Brasil, como por exemplo a doença infecciosa emergente quitridiomicose. A quitridiomicose, doença causada pelo

fungo *Batrachochytrium dendrobatidis*, que ataca a pele dos anfíbios, tem sido associada a declínios e extinções destes animais em vários países. Entretanto aqui no Brasil os estudos de quitridiomicosose são ainda muito incipientes, com alguns casos de infestação conhecidos muito pontualmente (Kilpatrick et al., 2010).

Nesse contexto, o objetivo do presente projeto é contribuir substancialmente para a compreensão das pressões sobre anfíbios ameaçados da Floresta Ombrófila Mista e gerar informações que contribuam para avaliação do seu estado de conservação. Especificamente, objetiva-se: 1) executar ações com as sete espécies de anfíbios do PAN Herpetofauna do Sul, ocorrentes na Floresta Ombrófila Mista e ecossistemas associados; 2) desenvolver pesquisas sobre ocorrência, ecologia, biologia e taxonomia de *Crossodactylus schmidtii*, *Boana curupi*, e *Limnomedusa macroglossa* (ação 3.17 do PAN Herpetofauna do Sul); 3) buscar novas populações e novas áreas de ocorrência para as espécies *Cycloramphus diringshofeni* e *Boana semiguttata* nas regiões de ocorrência conhecidas dessas espécies (nordeste de SC e sudeste do PR) (ação 3.23 do PAN Herpetofauna do Sul); 4) contribuir para a constante re-avaliação do estado de conservação das espécies, e fazer a primeira avaliação do estado de conservação de *Pithecopus rusticus*; 5) realizar a detecção e quantificação do fungo quitrídeo *B. dendrobatidis* nas espécies alvo do projeto e 6) elaborar o Portal Interativo dos Anfíbios da Floresta com Araucárias.

Desta forma, portanto, serão feitas viagens de campo para encontro das espécies nas localidades onde já foram registradas historicamente em algum momento. Essas excursões terão duração de três a cinco dias consecutivos nas áreas de estudo. A avaliação de espécies ainda não avaliadas (*Pithecopus rusticus*), e re-avaliação do status de ameaça/conservação das demais espécies, será feita ao final do projeto, reunindo todas as novas informações obtidas nos três anos do projeto, coletando eventuais colaborações/dados de outros pesquisadores, e aplicando a metodologia da IUCN para avaliação de espécies ameaçadas. Todos os indivíduos coletados serão utilizados para coleta de material micótico, para verificar a incidência e prevalência do fungo *B. dendrobatidis*. Para coleta do material, será utilizado o método do *swabbing*. As amostras serão enviadas para a UNICAMP, onde será feita a extração, amplificação e análise molecular por PCR quantitativo em tempo real (qPCR). Além disso, ainda será montado um banco de dados de imagens e sons para alimentar um Portal Interativo dos Anfíbios da Floresta com Araucária, visando uma maior divulgação dos resultados do projeto.

Ao final do projeto esperamos obter, resumidamente, cinco resultados: encontrar novas populações e/ou trazer novas informações sobre ocorrência, biologia, taxonomia e ecologia de *Crossodactylus schmidtii*, *Boana curupi*, *Limnomedusa macroglossa*, *Cycloramphus diringshofeni* e *Boana semiguttata*, atendendo ações previstas no PAN Herpetofauna do Sul; contribuir com a formação de novos recursos humanos para a conservação de anfíbios, através da orientação de pesquisas de iniciação científica, e pós-graduação relacionadas a esta proposta; disponibilizar na internet o Portal Interativo de Anfíbios da Floresta com Araucárias – um portal com imagens em alta definição, vocalizações, informações sobre espécies ameaçadas, distribuição geográfica das espécies, jogos educativos sobre anfíbios, etc; fazer a avaliação ou re-avaliação do status de ameaça das sete espécies de anfíbios da proposta deste projeto; e trazer novas informações sobre a ação do fungo quitrídeo *B. dendrobatidis* em anfíbios na Floresta com Araucárias, contribuindo para elucidação do real impacto dessa ameaça no Brasil.

Justificativa

Os anfíbios estão entre o grupo de vertebrados mais ameaçados no mundo. Desta forma, em um bioma altamente devastado como a Mata Atlântica, em especial na Floresta Ombrófila Mista, encontramos algumas espécies de anfíbios ameaçados. É importante destacar que a principal ameaça à conservação de anfíbios no Brasil, e no mundo, é a destruição de seus habitats, seja por desmatamento para atividades agropastoris ou expansão das áreas urbanas. Ao longo das cinco Oficinas de Avaliação do Estado de Conservação de Anfíbios Brasileiros, realizadas ao longo dos anos de 2011 até 2014, promovidas pelo ICMBIO, percebeu-se mais uma vez a carência de informações sobre as espécies, a caracterização de seus ambientes e as reais ameaças às quais estão submetidas. No caso de algumas espécies não há sequer uma informação confiável sobre sua real distribuição geográfica, o que evidencia a necessidade da execução de expedições de campo para localização de novas populações.

Com relação às ameaças sofridas pelos anfíbios, além da destruição de seus habitats, há outras ameaças ainda pouco compreendidas aqui no Brasil, como por exemplo a doença infecciosa emergente quitridiomicose. A quitridiomicose, doença causada pelo fungo *Batrachochytrium dendrobatidis*, que ataca a pele dos anfíbios, tem sido associada a declínios e extinções destes animais em vários países. Entretanto aqui no Brasil os

estudos de quitridiomicrose são ainda muito incipientes, com alguns casos de infestação conhecidos muito pontualmente.

Objetivos

Objetivo Geral

Contribuir substancialmente para a compreensão das pressões sobre anfíbios ameaçados da Floresta Ombrófila Mista e gerar informações que contribuam para avaliação do seu estado de conservação.

Objetivos específicos

- 1) Executar ações com sete espécies de anfíbios do PAN Herpetofauna do Sul, ocorrentes na Floresta Ombrófila Mista e ecossistemas associados.
- 2) Desenvolver pesquisas sobre ocorrência, ecologia, biologia e taxonomia de *Crossodactylus schmidtii*, *Boana curupi*, e *Limnomedusa macroglossa* (ação 3.17 do PAN Herpetofauna do Sul).
- 3) Buscar novas populações e novas áreas de ocorrência para as espécies *Cycloramphus diringshofeni* e *Boana semiguttata* nas regiões de ocorrência conhecidas dessas espécies (nordeste de SC e sudeste do PR) (ação 3.23 do PAN Herpetofauna do Sul).
- 4) Contribuir para a constante re-avaliação do estado de conservação das espécies, e fazer a primeira avaliação do estado de conservação de *Pithecopus rusticus*.
- 5) Realizar a detecção e quantificação do fungo quitrídeo *B. dendrobatidis* nas espécies alvo do projeto.
- 6) Elaborar o Portal Interativo dos Anfíbios da Floresta com Araucárias.

Material e Métodos

Serão realizadas excursões com duração de três a cinco dias consecutivos nas áreas de estudo. O número exato de dias de amostragem em campo dependerá do tamanho e da diversidade de habitats da área amostrada, e da própria atividade das espécies a serem encontradas, a ser verificado no reconhecimento da área. As espécies serão registradas

por meio de busca visual e auditiva (Crump & Scott Jr., 1994; Zimmerman, 1994), especialmente no período noturno, mas também no período diurno. Os ambientes a serem amostrados são principalmente pequenos a médios riachos com corredeiras, lagos, lagos, brejo e açudes. Durante o dia a procura limita-se principalmente a girinos das espécies e encontros ocasionais de adultos, e à noite serão feitas procuras dos adultos localizando-os pelas suas vocalizações. Para confirmar a identificação taxonômica das espécies, suas vocalizações serão gravadas, com auxílio de gravador digital e microfone direcional. O uso destes equipamentos na coleta de dados é considerado indispensável, pois para muitas espécies, a análise das características das vocalizações, possível somente através da obtenção dos registros sonoros com equipamentos de boa qualidade, permite a correta e mais segura identificação taxonômica.

Sempre que necessário, exemplares-testemunho das espécies serão coletados com a devida anuência dos órgãos ambientais. A identificação das espécies será confirmada com auxílio de bibliografias especializadas e consulta a especialistas. Em campo, os exemplares coletados serão acondicionados em sacos plásticos umedecidos e transportados ao laboratório. No laboratório, serão preparados para estudos científicos, conforme técnica padrão (McDiarmid, 1994). Para a eutanásia será utilizado anestésico líquido (Xylocaina®). Após a finalização dos estudos, os espécimes coletados serão depositados na Coleção Científica de Anfíbios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, visando manter uma memória faunística regional.

Coletas a serem efetuadas no Parque Estadual Pico do Marumbi (*seção específica para projeto para o Instituto Ambiental do Paraná*)

Em cada expedição serão coletados um máximo de cinco indivíduos de *Boana semiguttata*, na localidade dos Mananciais da Serra, no Parque Estadual Pico do Marumbi. O número de exemplares a ser coletado consta conforme autorização na licença SISBIO 50807-1. Outros indivíduos serão analisados através da técnica de swabbing para amostragens do fungo quitrídio, e serão marcados com a técnica de microetiquetas alpha tag.

Avaliação do Estado de Conservação

Os pesquisadores envolvidos nesta proposta de projeto já tem experiência em avaliação do Estado de Conservação de anfíbios no Brasil, tendo participado das oficinas

de avaliação do estado de conservação dos anfíbios do Brasil, no período de 2011 a 2014, que culminou com a publicação da nova Lista de Espécies da Fauna Ameaçada em dezembro de 2014, pelo Ministério do Meio Ambiente.

A avaliação de espécies ainda não avaliadas (*Pithecopus rusticus*), e re-avaliação das demais espécies, será feita ao final do projeto, reunindo todas as novas informações obtidas nos três anos do projeto, coletando eventuais colaborações de outros pesquisadores, e aplicando a metodologia da IUCN para avaliação de espécies ameaçadas.

Deteção e quantificação do fungo quitrídio *B. dendrobatidis*

Todos os indivíduos coletados serão utilizados para coleta de material micótico, para verificar a incidência e prevalência do fungo *B. dendrobatidis*. Para coleta do material, será utilizado o método do *swabbing*, conforme Lambertini et al. (2013). Após a coleta do material para análise molecular com os *swabs*, estes serão acondicionados em criotubos sem álcool ou qualquer outro líquido, e armazenados em freezer a -20°C. Posteriormente as amostras serão enviadas para a UNICAMP, onde será feita a extração, amplificação e análise molecular por PCR quantitativo em tempo real (qPCR), conforme método de Lambertini et al. (2013).

Criação do Portal Interativo de Anfíbios da Floresta com Araucárias

Será montado um banco de dados de imagens e sons para alimentar esse portal. Para a confecção desse portal será contratada empresa especializada em marketing digital. O bolsista de apoio técnico terá grande participação na organização de todos os dados obtidos em campo, além de reunir todas as informações disponíveis na literatura especializada. O portal deverá apresentar uma lista de todas as espécies de anfíbios ocorrentes na Floresta com Araucárias e terá imagens em alta definição, vocalizações, informações sobre espécies ameaçadas, distribuição geográfica das espécies, e jogos educativos sobre anfíbios.

Custos do Projeto

Os custos estarão todos financiados com apoio deste projeto já aprovado pela Fundação Araucária, conforme Chamada Biodiversidade do Paraná 11/2016 Fundação Araucária & Fundação Grupo Boticário.

Cronograma de execução

Cronograma de visitação em Unidades de Conservação Estaduais		
Datas	Localidade	Unidade de Conservação
14 a 18/11/2018	Mananciais da Serra	Parque Estadual Pico do Marumbi
16 a 19/01/2019	Mananciais da Serra	Parque Estadual Pico do Marumbi
04 a 08/02/2019	Mananciais da Serra	Parque Estadual Pico do Marumbi

Referências bibliográficas

- CARVALHO, T.; BECKER, C. G.; TOLEDO, L. F. Historical amphibians declines and extinctions in Brazil linked to chytridiomycosis. The Royal Society. Proc Biol Sci. 2017 Feb 8;284(1848). pii: 20162254. doi: 10.1098/rspb.2016.2254
- CRUMP, M.L. & SCOTT Jr., N.J. 1994. Visual encounter surveys. In: W. R. Heyer, M. A. Donnelly, R. W. McDiarmid, L.A.C. Hayek & Foster, M.S. Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for amphibians. Smithsonian Institution Press., p. 84-92.
- LAMBERTINI, C.; RODRIGUEZ, D.; BRITO, F. B.; LEITE, D. S.; TOLEDO, L. F. Diagnóstico do fungo quitrídio: *Batrachochytrium dendrobatidis*. Métodos em Herpetologia. Herpetologia Brasileira, v. 2, n. 1, p. 12-17, 2013.
- McDIARMID, R.W. 1994. Data standards. Pp. 57-60, In: Heyer, W.R.; Donnelly, M.A.; McDiarmid, R.W.; Hayek, L.A.C. & Foster, M.S. (eds.). Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for Amphibians. Smithsonian Institution Press, Washington.
- SILVANO, D. L. & SEGALLA, M. V. 2005. Conservação de anfíbios no Brasil. Megadiversidade 1: 79-86.
- ZIMMERMAN, B. L. 1994. Audio strip transects. Pp. 92-97. In: Heyer, W.R.; Donnelly, M.A.; McDiarmid, R.W.; Hayek, L.A.C. & Foster, M. S. (Eds). Measuring and Monitoring Biological Diversity – Standard Methods for Amphibians. Smithsonian Institution Press. Washington, D. C., pp.57-60.