



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

POLLYANA PATRICIO COSTA

Pré-projeto de dissertação de Mestrado
**“Ecologia Molecular de *Desmodus rotundus* (Chiroptera: Phyllostomidae) no
Parque Estadual de Campinhos, Paraná, Brasil.”**

orientador: Marcio Roberto Pie

CURITIBA

2009

INTRODUÇÃO

Durante muito tempo a maneira tradicional de observação da natureza esteve limitada a estudos comparativos da morfologia. Porém, com o advento de novas técnicas na Genética e na Biologia Molecular, uma nova e rica fonte de caracteres está sendo descoberta. O maior problema ainda é a escassez de dados genéticos e moleculares para a grande maioria dos táxons conhecidos (SUNNUCKS, 2000; GARRAFFONI & NEGRELLO-FILHO, 2006).

A Biologia da Conservação utiliza uma sistemática baseada em dados moleculares e a genética de populações para investigação científica aplicada, a Genética da Conservação. Esta se torna uma ferramenta importante na determinação de “o que”, “onde” e “como” conservar a maior diversidade genética nas populações com o objetivo de manter o potencial evolutivo de uma espécie ou população (PEREZ-SWEENEY *et al.*, 2004; FRANKHAM *et al.*, 2007). Além de estimar o impacto antropogênico nas populações naturais (SOLÉ-CAVA, 2004).

A variabilidade genética ou biodiversidade molecular é a manifestação de diferentes características, ou seja, é a diversidade de alelos e genótipos presentes em um grupo (população ou espécie) (FRANKHAM *et al.*, 2007). É uma importante ferramenta para: investigação da evolução; verificar as afinidades (relações filogenéticas), os limites entre as espécies (diferenciação taxonômica) e a filogeografia; detectar modos de reprodução, hibridização, estrutura familiar e paternidade; avaliar o tamanho da população e o endocruzamento; estimar o tamanho efetivo da população e os níveis de migração e de dispersão nas populações; detectar doenças e mutações deletérias; caracterizar a dieta; e até mesmo, ajudar na identificação de espécies através de materiais biológicos (como conteúdo estomacal, peles, pêlos, fezes) (KOCHER & WHITE, 1992; AVISE, 1994; KOHN & WAYNE, 1997; MILLS *et al.*, 2000; CONSTABLE *et al.*, 2001; MORIN *et al.*, 2001; FRANKHAM *et al.*, 2002, 2007; CREEL *et al.*, 2003; RIDDLE *et al.*, 2003; MCKELVEY & SCHWARTZ, 2004; MCKELVEY *et al.*, 2006; BROQUET *et al.*, 2007).

Para obtenção desses dados, são utilizados marcadores moleculares. Estes são fragmentos de DNA que permitem: a distinção de indivíduos, grupos de indivíduos e espécies geneticamente distintas, ou seja, comportam o acesso à diversidade molecular (AVISE, 1994; BORÉM & SANTOS, 2002; SOLÉ-CAVA, 2004). Dentre os marcadores moleculares mais utilizados estão: alozimas, PCR, RFLP, RAPD, microssatélites, minissatélites, seqüenciamento de DNA e SNP. A escolha daquele que será usado depende de uma série de fatores.

Atualmente, a Genética da Conservação está sendo amplamente aplicada em estudos de animais ameaçados de extinção, de difícil captura, de interesse econômico, de taxonomia complicada e outros (JANEČKA *et al.*, 2007). Contudo, comparando com outros grupos de vertebrados, a análise molecular a cerca dos morcegos ainda é bem escassa.

Os morcegos, pertencentes à Ordem Chiroptera, são os únicos mamíferos que apresentam estruturas especializadas que permitem um voo verdadeiro. Existem cerca de 1010 espécies de morcegos no mundo, sendo 145 no Brasil, podendo chegar a 168 espécies (MIRANDA *et al.*, 2006; TADDEI, 1996; REIS *et al.*, 2007). Na região Neotropical, as comunidades de morcegos são altamente estruturadas, sendo caracterizadas pela alta riqueza e abundância relativa das espécies (KALKO, 1998).

Os morcegos despertaram pouca atenção dos naturalistas do passado, sendo que apenas nas três últimas décadas registrou-se um desenvolvimento paulatino nos estudos biológicos, biogeográficos, taxonômicos e filogenéticos (NOWAK, 1991; KOOPMAN, 1988; SIMMONS, 1994; KUNZ & RACEY, 1999).

Há sobre os morcegos vários mitos e crenças, sendo comumente visto como um animal perigoso, transmissor de doenças e agressivo. Tal fato acarreta na dificuldade em conservá-los, já que a população humana, em geral, desconhece a importância desses animais, principalmente quanto à polinização, dispersão de sementes e controle de insetos. Isto porque apresentam

hábitos alimentares muito variados, como frugivoria, piscivoria, carnivoria, insetivoria, sanguivoria, nectarivoria e onivoria.

O vampiro-comum *Desmodus rotundus*, pertencente à subfamília Desmodontinae, é um dos filostomídeos mais abundantes e de ampla distribuição, ocorrendo do México ao Uruguai (GREENHALL *et al.*, 1983; BREDT *et al.*, 1999). É considerada uma espécie abundante (ARITA, 1993), sendo que, para Turner (1975), as populações de *D. rotundus* parecem aumentar quando há distúrbios de áreas.

Em virtude do hábito sanguívoro, *D. rotundus* tem sido alvo de autoridades científicas e governamentais, devido à suma importância para a agroeconomia e para a saúde pública (MITCHELL *et al.*, 1972), principalmente pela transmissão de doenças como a raiva. Isto porque as presas preferenciais dele incluem animais de criação, como equinos, caprinos, suínos e bovinos (GREENHALL *et al.*, 1983). Diversos estudos têm mostrado os prejuízos econômicos provocados pela atuação deste morcego como transmissor, para a pecuária da América Latina (ACHA & MÁLAGA-ALBA, 1988).

A organização social é do tipo hierarquia de dominância, com pequenos haréns onde um macho dominante se sobressai sobre um agrupamento de oito a doze fêmeas e seus filhotes (num total de até 50 indivíduos, geralmente). Os filhotes machos, à medida que se tornam adultos, são expulsos do grupo pelo macho dominante. Os machos solteiros formam pequenos agrupamentos que podem permanecer próximos do harém à espera de uma oportunidade de ocupar o posto de macho dominante. Podem, também, procurar outros locais para constituir seu próprio harém. (WILKINSON, 1990; BREDT, 1998)

JUSTIFICATIVA

Por se tratar de uma espécie territorialista cuja organização social se dá por haréns, poucos machos de *Desmodus rotundus* (morcego-vampiro-comum) devem contribuir para a diversidade genética na caverna Fadas, uma vez que apenas estes machos dominantes copulam com as fêmeas do harém. Isto porque os machos jovens são comumente expulsos da colônia caso estes não obedeçam à hierarquia imposta pelo macho dominante. Logo, apesar de haver uma grande população de *D. rotundus* na caverna Fadas, provavelmente há um baixo tamanho efetivo da população e, portanto, baixa variabilidade genética, que serão avaliados utilizando dados moleculares.

OBJETIVOS

Objetivo geral:

Investigar o grau e o padrão de variabilidade genética de indivíduos de uma população de *D. rotundus* para inferir parâmetros de biologia reprodutiva e demografia.

Objetivos específicos:

- 1) Avaliar a variabilidade genética de uma população local de *D. rotundus* utilizando marcadores moleculares de alta resolução (microsatélites);
- 2) Comparar a relação entre o tamanho de censo (N) e o tamanho efetivo populacional (N_e) com base em genética de populações;
- 3) Comparar a diversidade genética entre juvenis e adultos para inferir o grau de assimetria reprodutiva na população local.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

As coletas serão realizadas no Parque Estadual de Campinhos (PEC) (25°02' S e 49°05' W) localizado às margens da Estrada da Ribeira, entre os municípios de Tunas do Paraná e Cerro Azul, Paraná, Brasil. Possui área com cerca de 340 hectares e 890 metros de altitude e temperatura média anual entre 16°C e 18°C (PARANÁ, 2003). Este parque foi considerado Unidade de Conservação através do decreto estadual nº 31.013 de 20 de julho de 1960, a fim de proteger o complexo de grutas (Conjunto Fada/Jesuítas) de 1527 metros de desenvolvimento e o remanescente de Floresta com Araucária. No PEC, *D. rotundus* representou 64,8% (N = 274) do total das capturas em 2003-2004 (ARNONE & PASSOS, 2007), mostrando ser um importante abrigo para a espécie.

Metodologia

Laboratório de Dinâmica Evolutivo e Sistemas Complexos

Laboratório de Biodiversidade, Conservação e Ecologia de Animais Silvestres

Laboratório de Biologia Molecular Danúncia Urban

(Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná).

As coletas serão realizadas no Parque Estadual de Campinhos (PEC) (25°02' S e 49°05' W) localizado às margens da Estrada da Ribeira, entre os municípios de Tunas do Paraná e Cerro Azul, Paraná, Brasil. Possui área com cerca de 340 hectares e 890 metros de altitude e temperatura média anual entre 16°C e 18°C (PARANÁ, 2003). Este parque foi considerado Unidade de Conservação através do decreto estadual nº 31.013 de 20 de julho de 1960, a fim de proteger o complexo de grutas (Conjunto Fada/Jesuítas) de 1527 metros de desenvolvimento e o remanescente de Floresta com Araucária. No PEC, *D. rotundus* representou 64,8% (N = 274) do total das capturas em 2003-2004 (ARNONE & PASSOS, 2007), mostrando ser um importante abrigo para espécie.

Realizar-se-á doze fases de campo durante o período entre abril de 2009 e março de 2010, sendo uma noite por mês. As coletas serão restringidas a noites com baixa luminosidade (como as de lua nova ou minguante) para maximizar as capturas (ESBÉRARD, 2007; CRESPO *et al.*, 1972), sendo 12h/noite. Colocar-se-ão cinco redes de neblina (*mist-nets*) rentes ao solo e com 2 metros de altura e 7 metros de comprimento, na entrada da Gruta das Fadas do PEC e possíveis corredores de vôo dos morcegos, seguindo o método utilizado anteriormente por ARNONE & PASSOS (2007).

Coletar-se-ão amostras pouco invasivas (sangue e pequeno pedaço da pele da asa) e não-invasivas (pêlos), as quais serão conservadas em *buffer* DMSO e congeladas, respectivamente, para a obtenção dos dados. Não haverá necessidade de coletar espécimes para serem depositados como material-testemunho, uma vez que a mesma espécie do mesmo local já se encontra depositada na Coleção Científica de Mastozoologia do Departamento de Zoologia da UFPR – DZUP.

Para a obtenção dos dados moleculares, utilizar-se-á 12 *loci* polimórficos de microssatélites para *D. rotundus* desenvolvidos por PIAGGIO *et al.* (2008). As características apresentadas por estes locos permitem sua utilização em uma ampla variedade de estudos, como na identificação de indivíduos ou espécies (ERNEST *et al.*, 2000) no grau de estrutura das populações e migração (CIOFI & BRUFORD, 1999; WAITS *et al.*, 2000) e na determinação de parentesco e estruturas sociais (MORIN *et al.*, 1994) incluídos dentro das seqüências de DNA nuclear denominadas de SSRs (*Simple Sequence Repeats*) ou VNTRs (*Variable Number of Tandem Repeats*).

Devido à pequena quantidade de DNA que será extraída (kit EZ-DNA - BIOSYSTEMS) principalmente das amostras não-invasivas, amplificar-se-á o DNA nuclear através da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*). O resultado das amplificações será verificado por eletroforese em gel de poliacrilamida 1,5% com Tampão Tris-Borato-EDTA (TBE) 1X, corado com Brometo de Etídeo e visualizado em translumidor de luz ultra-violeta.

A diversidade genética encontrada nos *loci* analisados para *D. rotundus* será estimada pelo número de *loci* polimórficos, número de alelos por *locus*, heterozigiosidade observada (H_o) e heterozigiosidade esperada (H_e) a partir das freqüências alélicas supondo equilíbrio de Hardy-Weinberg para cada um dos *locus*.

A estimativa do tamanho da população será baseada nos métodos de marcação-recaptura de SCHUMACHER & ESCHMEYER (1943), JOLLY (1965) e FISHER-FORD (1947), sendo os dois primeiros desenvolvidos especificamente para *D. rotundus*. Já o tamanho efetivo da população será baseado nos métodos de CROW & KIMURA (1970) e LUIKART & CORNUET (1999).

CRONOGRAMA

ATIVIDADES	2009												2010											
	mar	abr	mai	jun	jul	ago	set	out	nov	dez	jan	fev	mar	abr	mai	jun	jul	ago	set	out	nov	dez		
Revisão Bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Fase de Campo	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X												
Obtenção dos dados laboratoriais								X	X				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Análise quantitativa dos resultados																X	X	X	X	X	X	X		
Redação do manuscrito														X	X	X	X	X	X	X	X	X		

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. N.; MALÁGA-ALBA, M. Economic losses due to *Desmodus rotundus*. In: **Natural history of vampire bats**. GREENHALL, A. M. & SCHIMDT, U. (Eds.). Florida: CRC Press, p. 207-214, 1988.

ARITA, H. Rarity in Neotropical bats: correlations with phylogeny, diet, and body mass. **Ecological Applications**. v.3, n.3, p. 506-517, 1993.

ARNONE, I. S.; PASSOS, F. C. Estrutura de comunidade da quiropterofauna (Mammalia, Chiroptera) do Parque Estadual de Campinhos, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira Zoologia**. Curitiba, v. 24, n. 3, p. 573-581, 2007.

AVISE, J. C. **Molecular Markers, Natural History, and Evolution**. New York: London, Chapman & Hall, 511 f., 1994.

BORÉM, A. ; SANTOS, F. R. **Biotecnologia Simplificada**. 1. ed. Editora Suprema, v. 1, 249 f., 2002.

BREDT, A.; UIEDA, W.; MAGALHÃES, E. Morcegos cavernícolas da região do Distrito Federal, centro-oeste do Brasil (Mammalia, Chiroptera). **Revista Brasileira Zoologia**. Curitiba, v. 16, n. 3, p. 731-770, 1999.

BROQUET, T.; MÉNARD, N.; PETIT, E. Noninvasive population genetics: a review of sample source, diet, fragment length and microsatellite motif effects on amplification success and genotyping error. **Conservation Genetics**. v. 8, p. 249–260, 2007.

CIOFI, C.; BRUFORD, M. W. Genetic structure and gene flow among Komodo dragon populations inferred by microsatellite loci analysis. **Molecular Ecology**. v. 8, p.S17-S30, 1999.

CONSTABLE, J. L.; ASHLEY, M. V.; GOODALL, J.; PUSEY, A. E. Noninvasive paternity assignment in Gombe chimpanzees. **Molecular Ecology**. v. 10, p. 1279-1300, 2001.

CREEL, S.; SPONG, G.; SANDS, J. L.; ROTELLA, J.; ZEIGLE, J.; JOE, L.; MURPHY, K. M.; SMITH, D. Population size estimation in Yellowstone wolves with error-prone noninvasive microsatellite genotypes. **Molecular Ecology**. v. 12, p. 2003-2009, 2003.

CRESPO, R. F.; LINHART, S. B.; BURNS, R. J. & MITCHELL. G. C. Foraging behavior of the common Vampire bat related to moonlight. **Journal of Mammalogy**. v. 53, n. 2, p. 366-368, 1972.

CROW, J. F.; KIMURA, M. Introduction to Population Genetics Theory. New York, Evanston e London, Harper & Row, 591 f., 1970.

ERNEST, H. B.; PENEDO, M. C. T.; MAY, B. P.; SYVANEN, M.; BOYCE, W. M. Molecular tracking of mountain lions in the Yosemite Valley region in California: genetic analysis using microsatellites and faecal DNA. **Molecular Ecology**. v. 9, p. 433-441, 2000.

ESBÉRARD, C. E. L. Influência do ciclo lunar na captura de morcegos Phyllostomidae. **Iheringia, Série Zoologia**. Porto Alegre, v. 97, n. 1, p. 81-85, mar. 2007.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Introduction of Genetics of Conservation**. Cambridge, Cambridge University Press, 644 f., 2002.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **A Primer of Conservation Genetics**. 3. ed. reimp. Cambridge: Cambridge University Press, 242 f., 2007.

FISHER, R. A.; FORD, E. B., The spread of a gene in natural conditions in a colony of the moth *Panaxia dominula* L. **Heredity**. v. 1, n. 2, p. 143-174, 1947.

GARRAFFONI, A. R. S.; NEGRELLO-FILHO, O. A. Novas fronteiras da Biologia Evolutiva: a era dos dados moleculares. In: **Revisões em Zoologia I**, MONTEIRO-FILHO, E. L. e ARANHA, J. M. R. (Orgs). Curitiba, SEMA/PR, p. 35-46, 2006.

GREENHALL, A. M.; JOERMANN, G.; SCHMIDT, U. *Desmodus rotundus*, Vampire Bat. **Mammalian Species**. n. 202, p. 1-6, 1983.

- JANEČKA, J. E.; GRASSMAN JR, L. I.; HONEYCUTT, R. L.; TEWES, M. E. Whole Genome Amplification for Sequencing and Applications in Conservation Genetics. **Journal of Wildlife Management**. v. 71, n. 4, p. 1357–1360, 2007.
- JOLLY, G. M. Explicit estimates from capture-recapture data with both death and immigration-stochastic model. **Biometrika**. v. 52, n. 1 e 2, p. 225-247, 1965.
- KALKO, I. Manejo de quirópteros em áreas urbanas. *In: Manual Técnico do Instituto Pasteur*. KALKO, I. *et al.* (Orgs.). São Paulo: Instituto Pasteur de São Paulo. n. 7, p. 1, 1998.
- KOCHER, T. D.; WHITE, T. J. Evolutionary Analysis via PCR. *In: PCR technology: principles and applications for DNA amplification*. ERLICH, H. A. (Ed.). Oxford, Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, p. 137-147, 1992.
- KOHN, M. H.; WAYNE, R. K. Facts from feces revisited. **Tree**. v. 12, n. 6, p. 223-227, jun 1997.
- KOOPMAN, K. F. Systematics and distribution. *In: Natural history of vampire bats*. GREENHALL, A. M. & SCHIMDT, U. (Eds.). Florida: CRC Press, p. 7-18, 1988.
- KUNZ, T. H. & RACEY, P. A. Bat Biology and Conservation. Washington D. C., Smithsonian Institution Press, **The Journal of Applied Ecology**. v. 37, n. 5, p. 894-894, 1999.
- LUIKART, G.; CORNUET, J-M. Estimating the Effective Number of Breeders From Heterozygote Excess in Progeny. **Genetics**. v. 151, p. 1211–1216, mar. 1999.
- MITCHELL, G. C.; CRESPO, R. F.; BURNS, R. J.; SAID, F. S. Vampire bats: rabies transmission and livestock production in Latin America. **Denver Wildlife Research Center**. Series of Annual Reports from 1969 through 1975, Denver: U. S. Bureau of Sport Fisheries and Wildlife, 30 f., 1972.
- MILLS, L. S.; PILGRIM, K. L.; SCHWARTZ, M. K.; MCKELVEY, K. Identifying lynx and other North American felids based on mtDNA analysis. **Conservation Genetics**. v. 1, p. 285–288, 2000.
- MORIN, P. A.; CHAMBERS, K. E.; BOESCH, C.; VIGILANT, L. Quantitative polymerase chain reaction analysis of DNA from noninvasive samples for accurate microsatellite genotyping of wild chimpanzees (*Pan troglodytes verus*). **Molecular Ecology**. v. 10, p. 1835-1844, 2001.
- MORIN, P. A.; MOORE, J. J.; CHAKRABORTY, R.; JIN, L.; GOODALL, J.; WOODRUFF, D.S. Kin selection, social structure, gene flow, and the evolution of chimpanzees. **Science**. v. 265, p. 1193-1201, 1994.
- MIRANDA, J. M. D.; BERNARDI, I. P.; PASSOS, F.C. A new species of *Eptesicus* (Mammalia: Chiroptera: Vespertilionidae) from the Atlantic Forest, Brazil. **Zootaxa**. v. 1383, p. 57-68, 2006.
- MCKELVEY, K. S.; SCHWARTZ, M. K. Genetic errors associated with population estimation using non-invasive molecular tagging: problems and new solutions. **Journal of Wildlife Management**. v. 68, n. 3, p. 439-448, 2004.
- MCKELVEY, K. S.; KIENAST, J. VON; AUBRY, K. B.; KOEHLER, G. M.; MALETZKE, B. T.; SQUIRES, J. R.; LINDQUIST, E. L.; LOCH, S.; SCHWARTZ, M. K. DNA Analysis of hair and scat collected along snow tracks to document the presence of Canada lynx. **Wildlife Society Bulletin**. v. 34, n. 2, p. 451-455, 2006.

NOWAK, R. M. **Walker's mammals of the world**. Baltimore and London: Johns Hopkins University Press, 5. ed., 1629 f., 1991.

PARANÁ. Instituto Ambiental do Paraná – IAP. **Plano de Manejo do Parque Estadual de Campinhos**. Curitiba: IAP, 2003.

PEREZ-SWEENEY, B. M.; RODRIGUES, F. P.; MELNICK, Don J. Metodologias moleculares utilizadas em Genética da Conservação. *In: Métodos de Estudos em Biologia da Conservação & Manejo da Vida Silvestre*. CULLEN, L.; RUDRAN, R. & VALADARES-PADUA, C. (Orgs). Curitiba, Editora UFPR, p. 343-382, 2004.

PIAGGIO, A. J.; JOHNSTON, J. J.; PERKINS, S. L. Development of polymorphic microsatellite loci for the common vampire bat, *Desmodus rotundus* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Molecular Ecology Resources**. v. 8, p. 440–442, 2008

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. *In: Morcegos do Brasil*. REIS, N. R. dos; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (Org.). Londrina: UEL/SEMA, p. 219-223, 2007.

RIDDLE, A. E.; PILGRIM, K. L.; MILLS, L. S.; MCKELVEY, K. S.; RUGGIERO, L. F. Identification of mustelids using mitochondrial DNA and non-invasive sampling. **Conservation Genetics**. v. 4, p. 241-243, 2003.

SCHUMACHER, F. X.; ESCHMEYER, R. W. The estimation of fish populations in lakes and ponds. **Journal of the Tennessee Academy of Science**. v. 18, p. 228-234, 1943.

SIMMONS, N. S. The Case for Chiropteran Morphology. **American Museum Novitates**. New York, The American Museum of Natural History Central, n. 3103, 1994.

SOLÉ-CAVA, A. M. Biodiversidade molecular e genética da conservação. *In: Biologia Molecular e Evolução*. MATIOLI, S. R. (Ed.). 2. ed. reimp., Ribeirão Preto: Editora Holos, p. 172-192, 2004.

SUNNUCKS, P. Efficient genetic markers for population biology. **TREE**. v. 15, n. 5, p. 199-203, mai 2000.

TADDEI, V. A. Sistemática de quirópteros. Sistemática de Quirópteros. **Boletim do Instituto Pasteur**. São Paulo, v. 1, n. 2, p. 3-15, 1996.

TURNER, D. C. **The Vampire Bat: a field study in behavior and ecology**. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 145 f., 1975.

WAITS, L. P.; TABERLET, P.; SWENSON, J.; SANDEGREN, A.; FRANZEN, R. Genetic diversity and gene flow in the Scandinavian brown bear. **Molecular Ecology**. v. 9, p. 421-431, 2000.

WILKINSON, G. S. Food sharing in vampire bats. **Scientific American**. v. 262, n. 2, p. 64-70, 1990.

Pollyana Patricio Costa

mestranda

Marcio Roberto Pie

orientador

Curitiba, 05 de março de 2009.