

1 **PROJETO DE PESQUISA**

2 **A fauna parasitária de anfíbios responde a variações na integridade de ecossistemas**  
3 **ripários?**

4 Aline Aguiar (pós-doutoranda)

5 Célio Fernando B. Haddad (supervisor)

6 Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, UNESP,  
7 campus Rio Claro

8

9 **Resumo**

10 As florestas ripárias são extremamente importantes para a estrutura e para o funcionamento de  
11 riachos de primeira ordem, constituindo complexos que podem ser considerados um único  
12 ecossistema ripário. Estudos anteriores constataram que florestas ripárias com faixas mais  
13 largas e com vegetação mais íntegra indicam melhor qualidade da água e riachos com maior  
14 integridade. A presente proposta tem o objetivo de estudar a diversidade de parasitas  
15 associados a anfíbios que circulam em seis ecossistemas ripários (fragmentos de floresta  
16 ripária com riachos de primeira ordem) com diferentes níveis de integridade, no norte do  
17 Paraná. Avaliaremos se a fauna parasitária reflete a integridade desses ecossistemas, testando  
18 a hipótese de que ambientes íntegros apresentam alta diversidade, baixa abundância e maior  
19 proporção de espécie de parasitas com ciclo de vida complexo. Esses parâmetros podem  
20 fornecer dados sobre a integridade do habitat antes mesmo que algum prejuízo seja detectado  
21 nas populações de anfíbios, além de potencialmente qualificar a fauna parasitária de anfíbios  
22 como um indicador de integridade para o ecossistema como um todo. Assim, o ineditismo  
23 desta proposta consiste em verificar se a variação de características bem estabelecidas de  
24 ecossistemas ripários, como quantidade (largura) e qualidade (integridade) da vegetação  
25 ripária influenciam a fauna parasitária de anfíbios, bem como em propor o uso integrado  
26 dessas informações em medidas de conservação.

27

28

29

30

31

32

33

34

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

**Does parasite fauna from amphibians respond to variations on integrity of riparian ecosystems?**

Aline Aguiar (candidate to postdoctoral fellowship)

Célio Fernando B. Haddad (advisor)

Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, UNESP, campus Rio Claro

**Abstract**

The riparian forests are very important for structure and performance of head streams, acting as a complex environment which can be considered a singular riparian ecosystem. Previous studies verified that riparian forests characterized by wide strip and conserved vegetation can indicate a stream with high level of integrity and better quality of water. The aim of this proposal is to study the diversity of parasites associated with amphibians that transit through six riparian ecosystems (fragments of riparian forests with head streams) which present different levels of integrity from North of Paraná State. We will evaluate if parasite fauna reflects the integrity of these ecosystems, testing the following hypothesis: integrated environments present high diversity, low abundance and a great proportion of parasite species with complex life cycle. These parameters can provide data on habitat integrity even before that some damage be detected in amphibians' populations, as well as qualify the potential of parasite fauna of amphibians as an indicator of integrity for the whole ecosystem. In this way, the novelty of this proposal is verify if variations of riparian vegetation features, as width and integrity of forest, influence the parasite fauna of amphibians, as well as to suggest the combined use of these knowledges on conservation initiatives.

1

## 2 **1) Introdução**

3 As florestas ripárias são um tipo de vegetação associada a cursos de água e estão  
4 inseridas em uma zona que abrange porções terrestre e aquática do ecossistema, sendo  
5 fundamentais para a regulação desses ambientes (Naiman & Décamps, 1997). Estas florestas  
6 atuam como filtros de matéria e energia advindas da vizinhança (Naiman et al., 1988), de  
7 modo que características como a qualidade da vegetação e tamanho da faixa de floresta  
8 podem influenciar ou determinar a qualidade dos ambientes aquáticos associados e sua  
9 diversidade biológica. A qualidade da água em nascentes, que posteriormente chega ao  
10 consumo humano através de rios e ribeirões, está intimamente relacionada com a integridade  
11 da vegetação ripária, onde a largura da faixa de vegetação e a qualidade da mesma regulam o  
12 escoamento de resíduos do entorno (Cavalheiro, 2018).

13 No norte do estado do Paraná a cobertura florestal original, inclusive as florestas ripárias,  
14 está restrita, em sua maioria, a pequenos fragmentos inseridos na matriz agrícola. Essas  
15 características do entorno (intensa movimentação do solo, uso de fertilizantes solúveis e  
16 pesticidas) podem afetar a diversidade e o funcionamento da zona ripária de maneira  
17 significativa, e em especial no caso de animais que circulam entre os ambientes terrestre e  
18 aquático.

19 Nesse contexto, os anfíbios vêm sendo estudados sob vários aspectos, principalmente  
20 devido ao rápido declínio observado em algumas populações (Mckenzie, 2007; Pounds et al.,  
21 2006). Sua sensibilidade a poluentes e ao desequilíbrio ambiental é uma das explicações para  
22 essa ameaça (Stuart et al., 2004). Além da dependência da água, muitas espécies apresentam  
23 modos reprodutivos restritos a determinados micro-habitats (Haddad & Prado, 2005). Alguns  
24 estudos apontam que prejuízos nas populações de anfíbios podem ser causados por parasitas  
25 que, sob algum distúrbio ambiental, aumentaram sua abundância e patogenicidade  
26 (Marcogliese & Pietrock, 2011; Daszak et al., 2003). Outros estudos sugerem que a  
27 comunidade parasitária pode servir como indicador da integridade do habitat do hospedeiro,  
28 pois parasitas, assim como predadores de topo de cadeia, são os primeiros a demonstrarem  
29 alterações em suas populações (Marcogliese & Cone, 1997; Laurence et al., 2002). Mesmo  
30 muitas vezes negligenciados, parasitas de animais silvestres fazem parte da diversidade  
31 biológica de um ecossistema, constituindo uma diversidade oculta (Poulin & Morand, 2004).  
32 Assim, em um ambiente íntegro, com alta diversidade biológica, é esperado uma alta  
33 diversidade de parasitas com baixos valores de intensidade de infecção (abundância de  
34 parasitas) (Marcogliese & Cone, 1997).

1 A diversidade biológica característica de habitats íntegros também contribui para o  
2 sucesso de parasitas com ciclo de vida complexo (Gibb & Hochuli, 2002; Poulin & Cribb,  
3 2002). Para completarem seu ciclo biológico, esses parasitas necessitam encontrar dois ou  
4 mais hospedeiros específicos, os quais muitas vezes não são encontrados em ambientes  
5 perturbados (Gibb & Hochuli, 2002; Aguiar et al., 2015).

6 Aumentar o conhecimento sobre a diversidade biológica é de extrema importância sendo  
7 um dos primeiros passos em estudos biológicos. Campião et al. (2014) registraram 278  
8 espécies de helmintos parasitas em 185 espécies de anfíbios da América do Sul, o que  
9 significa que apenas 7% da diversidade de anfíbios do continente têm sua helmintofauna  
10 estudada. A alta diversidade de anfíbios no Brasil (1080 espécies - cerca de 15% da  
11 diversidade global) (Frost, 2016; Segalla et al., 2016) somada ao modo de vida desses  
12 animais, que circulam pelo ambiente aquático e terrestre, incentivam estudos sobre a ecologia  
13 do parasitismo e o uso dos parasitas como bioindicadores.

14 Recentemente, Santos-Pereira et al. (2018) reportaram 137 espécies de anfíbios para o  
15 estado do Paraná, das quais 19 são endêmicas, muitas delas apresentam dados biológicos  
16 insuficientes e para outras foi detectado algum nível de ameaça. A região norte do estado  
17 apresenta apenas cinco estudos (Santos-Pereira et al., 2018). Excetuando-se o Parque Estadual  
18 Mata dos Godoy, no qual há um inventário de 24 espécies (Bernardes & Anjos, 1999), todas  
19 as outras localidades a serem amostradas na presente proposta nunca tiveram estudos com  
20 anfíbios, apresentando então grande potencial de estudos.

21 É importante conhecer a composição de espécies de parasitas de anfíbios, visto que esses  
22 organismos podem interferir na saúde dessas populações hospedeiras, que nos últimos anos  
23 vêm sendo reportadas em declínio. Além disso, parâmetros parasitológicos podem fornecer  
24 dados sobre a integridade do habitat antes mesmo que algum prejuízo irreversível seja  
25 detectado nas populações de anfíbios. Assim, o ineditismo desta proposta consiste em  
26 verificar se a variação de características bem estabelecidas de ecossistemas ripários, como  
27 quantidade e qualidade da floresta, influenciam a fauna parasitária de anfíbios, bem como em  
28 propor o uso integrado dessas informações em medidas de conservação.

29

## 30 **2) Objetivos e hipóteses**

31 Avaliar se a fauna parasitária de anfíbios reflete a integridade de ecossistemas ripários no  
32 norte do estado do Paraná, testando as hipóteses de que áreas com maior integridade de  
33 habitat, estabelecidas a partir de dados sobre a qualidade da água e da vegetação, apresentam  
34 maior diversidade e maior proporção de espécies de parasitas com ciclo de vida complexo.

1 Além disso, os seguintes objetivos específicos visam: i) inventariar as espécies de anfíbios  
2 pertencentes aos fragmentos de floresta ripária do norte do Paraná; ii) descrever a fauna de  
3 parasitas associada a anfíbios de seis localidades com mata ripária caracterizada com  
4 diferentes níveis de integridade; iii) avaliar a composição de espécies de parasitas quanto à  
5 diversidade e complexidade do ciclo de vida com a hipótese de que habitats íntegros  
6 contribuem para o sucesso de parasitas com ciclo de vida complexo; iv) Investigar quais  
7 fatores do ecossistema ripário estão relacionados com a riqueza e a composição de espécies de  
8 parasitas de anfíbios.

9

### 10 **3) Material e métodos**

#### 11 *Área de estudo, caracterização dos ecossistemas ripários e coleta dos anfíbios*

12 No norte do estado do Paraná a cobertura florestal original era exclusivamente  
13 constituída por Floresta Estacional Semidecidual, um dos ecossistemas associados com a  
14 Mata Atlântica (Torezan, 2002), atualmente é restrita a fragmentos pequenos e dispersos em  
15 meio a campos agrícolas com produção intensiva de soja, trigo e milho (IPARDES, 2018). As  
16 seis localidades onde os anfíbios serão coletados compreendem trechos de vegetação ripária  
17 com riachos de primeira ordem apresentando entorno agrícola ou florestal e diferentes níveis  
18 de integridade de habitat, na região de Londrina, Paraná (Tabela 1; Figura 1). Esses riachos de  
19 primeira ordem pertencem a Bacia do Rio Tibagi, que desagua no Rio Paranapanema  
20 (Mendonça & Danni-Oliveira, 2002), e compreendem alguns dos fragmentos de floresta  
21 ripária estudados e caracterizados previamente quanto aos níveis de integridade por  
22 Cavalheiro (2018).

23 Nessa caracterização, Cavalheiro (2018), avaliou a qualidade da água, o leito do rio e a  
24 vegetação ripária. A qualidade da água dos riachos foi medida pelas suas características  
25 físico-químicas (pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, temperatura, e  
26 concentrações de Nitrogênio e Fósforo dissolvidos na água), bem como dados sobre a largura  
27 e profundidade do leito do rio, velocidade da água e tipo de substrato do leito.

28 Como forma de caracterização da porção terrestre do ecossistema ripário, Cavalheiro  
29 (2018) mediu a área da bacia de contribuição, a largura da faixa de floresta ripária e a  
30 composição de espécies vegetais. A área da bacia de contribuição foi estimada considerando  
31 os primeiros 150 metros a partir da nascente através de pontos georreferenciados *in loco* e  
32 analisados em sistema de imagens disponíveis no Google Earth Pro (Figura 1; Tabela 1). A  
33 largura da faixa com floresta foi medida *in loco* a partir de transectos com até 100m  
34 originando-se perpendicularmente às duas margens do riacho e em direção à borda da floresta,

1 configurando quatro transectos para cada lado do riacho e paralelamente separados entre si  
2 por 50m. (Figura 2A). Um último transecto foi considerado à cabeceira, totalizando então  
3 nove transectos para cada fragmento ripário (Figura 2A). Para larguras de floresta maiores do  
4 que 100m a medida foi estimada por imagens de satélite. Cavalheiro (2018) avaliou também a  
5 composição de espécies vegetais para determinar a qualidade das florestas através do método  
6 AER (Avaliação Ecológica Rápida) adaptado de Medeiros & Torezan (2013). Esse método  
7 consiste em avaliar 11 variáveis ecológicas com base na comunidade de plantas de uma área,  
8 atribuindo pontuação em uma escala de 0 a 4 (Quadro I). Dessa forma, o menor valor de  
9 integridade corresponde a pontuação 0 e o maior valor a 44 (dado pela máxima pontuação nas  
10 11 variáveis). A AER foi aplicada percorrendo cada um dos nove transectos utilizados para as  
11 medidas de largura da floresta (Figura 2A). O primeiro ponto de aplicação da AER em um  
12 transecto foi imediatamente próximo ao leito e os outros quatro distanciaram-se em intervalos  
13 de 25m (Figura 2B). As pontuações obtidas pela AER em cada um dos seis fragmentos são  
14 apresentadas na Tabela 1.

15 A partir dessa criteriosa caracterização prévia dos ecossistemas ripários realizada por  
16 Cavalheiro (2018) foi possível definirmos diferentes níveis de integridade e elencarmos seis  
17 fragmentos de floresta ripária (Tabela 1) onde os anfíbios serão coletados para estudos de seus  
18 parasitas, relacionando-os com essas características ambientais.

19 Os anfíbios serão coletados por busca ativa noturna durante o período chuvoso,  
20 percorrendo os mesmos nove transectos utilizados na caracterização da vegetação em cada  
21 uma das seis localidades (Figura 2A). A nomenclatura dos anuros será realizada a partir da  
22 classificação adotada por Frost (2018) e pela Sociedade Brasileira de Herpetologia (Segalla et  
23 al., 2016). Após a necropsia em busca de helmintos, os anfíbios serão fixados em solução de  
24 formol 10% e preservados em álcool 70%, de acordo com a licença de  
25 captura/coleta/transporte expedida pelo Ministério do Meio Ambiente – MMA, Instituto  
26 Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, Sistema de Autorização e  
27 Informação em Biodiversidade – SISBIO. Os exemplares de anfíbios serão incorporados na  
28 coleção de anfíbios CFBH, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, campus  
29 Rio Claro.

30

### 31 ***Coleta, fixação e identificação dos helmintos parasitas***

32 Os helmintos parasitas serão coletados através da necropsia dos anfíbios, onde esses  
33 serão submetidos a superdosagem de anestésico tiopental sódico ou lidocaína. Durante a  
34 necropsia, os órgãos internos serão separados em placas de petri (conteúdo água ou soro

1 fisiológico) em busca de helmintos endoparasitas sob estereomicroscópio. Os parasitas  
2 encontrados serão fixados seguindo protocolos como Amato et al. (1991) e Rey (2001), de  
3 acordo com a estrutura morfológica dos principais helmintos: a) a fixação dos nematóides  
4 será à quente com álcool 70% para evitar contração do corpo; b) os platelmintos, como  
5 cestóides, monogenéticos e digenéticos, serão submetidos a leve compressão entre lâmina e  
6 lamínula utilizando solução AFA (álcool, formol e ácido acético) ou álcool 80% como  
7 fixadores; c) acantocéfalos, primeiramente, serão levados a refrigeração em solução  
8 fisiológica para que exponham a probólide e em seguida fixados com álcool 70%. Todos os  
9 helmintos serão mantidos em frasco contendo álcool 70%, rotulados com informações do  
10 hospedeiro e órgão parasitado.

11 Para a visualização de estruturas internas e posterior identificação, os helmintos devem  
12 ser preparados com corantes e/ou reagentes diafanizadores como carmim clorídrico, eugenol e  
13 ácido láctico (Amato et al., 1991; Rey, 2001). Em seguida, serão montados em lâminas  
14 temporárias que devem ser observadas em microscópio acoplado a sistema de análise de  
15 imagem para fotodocumentação e realização de medidas de caráter taxonômico. A  
16 identificação será baseada nos trabalhos de Vicente et al. (1991), Travassos et al. (1969),  
17 Smales (2007), entre outros.

18 Os helmintos serão tombados em coleções helmintológicas como Coleção  
19 Helmintológica do Instituto de Biociências, UNESP campus Botucatu, e Coleção  
20 Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

21

### 22 *Análise de dados*

23 Será descrita a helmintofauna associada ao nível populacional e de comunidades de  
24 anfíbios das seis localidades. Para isso, serão empregados descritores ecológicos do  
25 parasitismo como prevalência (%), abundância média e intensidade média, seguidas pelo erro  
26 padrão, de acordo com Bush (1997). Esses dois últimos poderão ser comparados através de  
27 testes estatísticos como ANOVA ou Kruskal-Wallis para verificar se há diferença estatística  
28 entre a helmintofauna das diferentes localidades.

29 A riqueza será descrita pelo número absoluto de espécies e pela riqueza rarefeita (para  
30 um nível de abundância a ser determinado após concluídas as amostragens), e a diversidade  
31 será estimada pelo índice de Brillouin (Magurran, 2004). A composição de espécies de  
32 parasitas nas localidades será comparada pelo compartilhamento de espécies e sintetizada por  
33 meio de um escalonamento não-métrico (non metric multidimensional scaling – NMDS). Os  
34 eixos da NMDS serão utilizados para correlacionar a composição de parasitos com os dados

1 do ambiente (quantidade e qualidade da floresta e variáveis contínuas da água e do leito do  
2 rio). A presença, abundância e proporção da riqueza total representados por helmintos de ciclo  
3 de vida complexo (aqueles com dois ou mais hospedeiros intermediários) serão também  
4 correlacionados aos dados do ambiente (ecossistema ripário).

5 Para analisar qual das características do ambiente (largura da faixa de floresta,  
6 integridade da vegetação - AER, características físico-químicas da água e do leito do rio) são  
7 melhores preditoras para riqueza, diversidade e composição de espécies de parasitas serão  
8 empregadas análises multivariadas como PERMANOVA (Permutational Multivariate  
9 Analysis of Variance) (Anderson, 2001; Anderson & Walsh, 2013). Para isso, será utilizada a  
10 função “adonis” do pacote vegan no software R (Oksanen et al., 2013; R Development Core  
11 Team, 2013).

12

#### 13 **4) Resultados esperados**

14 Além da proposta de estudar parasitas como indicadores do ambiente e da biologia de  
15 seus hospedeiros, os resultados deste trabalho contribuirão para desvendar parte da  
16 biodiversidade críptica de fragmentos ripários do norte do Paraná. Esses resultados também  
17 poderão nos fornecer um melhor entendimento da interação parasito-hospedeiro e da história  
18 de vida e ecologia dos anfíbios da região estudada, o que futuramente poderá subsidiar planos  
19 de manejo e conservação das espécies. Estudar a fauna parasitária, bem como sua relação com  
20 a ecologia e história natural dos anuros, é de extrema importância para a ciência básica e  
21 contribuirá para o conhecimento científico nas áreas de parasitologia, zoologia e ecologia da  
22 conservação.

23 Dessa forma, são esperados resultados científicos (artigos publicados e trabalhos de  
24 conclusão de curso), técnicos (resumos executivos para gestores ambientais) e formação de  
25 recursos humanos (graduação e pós-graduação), bem como uma integração institucional entre  
26 UNESP e UEL. Os resultados científicos serão submetidos a revistas da área de âmbito  
27 nacional (visando gestores de órgãos ambientais e formuladores de políticas públicas) e  
28 internacional (visando a comunidade científica).

29 - Todas as informações obtidas serão inéditas, visto que nenhum estudo sobre parasitas de  
30 anfíbios encontra-se publicado em periódicos científicos para as áreas que serão amostradas.  
31 Com isso, espera-se: a) uma lista de espécies de anfíbios anuros provenientes de fragmentos  
32 de mata ripária no norte do Paraná; b) uma lista de espécies de helmintos parasitas de anfíbios  
33 provenientes de fragmentos de mata ripária; c) descrição de novas espécies de helmintos  
34 parasitas associadas a anfíbios da região.



1 - O conhecimento da diversidade de anfíbios e seus parasitas aliados às características das  
2 florestas ripárias serão necessários para se definir estratégias de conservação de populações  
3 naturais, pois as informações aqui obtidas podem agregar novos parâmetros para definição do  
4 status de conservação das áreas amostradas.

5 - Formação de recursos humanos: serão possibilitadas orientações de iniciação científica  
6 e de dissertações de mestrado com parte dos dados coletados.

7

## 8 **5) Justificativa**

9 O conhecimento da diversidade de helmintos parasitas é importante sob vários aspectos,  
10 gerando dados que podem servir de base para diversas linhas de pesquisa, como ecologia,  
11 evolução, comportamento, conservação e parasitologia. Os helmintos muitas vezes são  
12 negligenciados em inventários faunísticos, sobretudo no contexto da conservação ambiental,  
13 onde podem ser utilizados como bioindicadores do ambiente e das populações hospedeiras  
14 (Marcogliese & Cone; Poulin & Cribb, 2002). Poucos estudos fazem essa relação da  
15 comunidade parasitária com características descritivas do ambiente florestal, sobretudo em  
16 ecossistemas ripários que são extremamente importantes na dinâmica entre sistemas aquático  
17 e terrestre e que garantem a qualidade de nossa água. A região do norte do Paraná, sob  
18 domínio do bioma Mata Atlântica, é caracterizada por intensa fragmentação por matriz  
19 agrícola que influencia os fragmentos florestais, originando diferentes níveis de integridade.  
20 Por isso, tornam-se extremamente válidos estudos sobre biodiversidade e conservação nesses  
21 remanescentes, uma vez que esse bioma é considerado um dos 34 hotspots mundiais com alta  
22 riqueza e endemismos, abrigando diversas nascentes de água das quais muitos organismos são  
23 dependentes (Myers et al., 2000; Mittermeier et al., 2005). Sobre a anurofauna, apenas cinco  
24 estudos são conhecidos para a região norte do estado do Paraná (Santos-Pereira et al., 2018) e,  
25 com exceção do Parque Estadual Mata dos Godoy, o qual há um inventário de 24 espécies  
26 (Bernardes & Anjos, 1999), todas as outras localidades amostradas nessa proposta nunca  
27 tiveram estudos com anfíbios, apresentando então grande potencial para novidades em termos  
28 de inventários faunísticos.

29 Assim, além das potenciais contribuições mencionadas por essa proposta e pela  
30 fragilidade da área a qual se inseri, esse estudo tem como justificativa a integração de  
31 conhecimentos como herpetologia, parasitologia e conservação florestal, com o propósito de  
32 uma caracterização complementar da biodiversidade e status de conservação em florestas  
33 ripárias.

34

1           **6) Cronograma de atividades**

2           O projeto será desenvolvido no período de 24 meses, de acordo com o quadro do  
3 cronograma abaixo.

Atividades	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
	<b>2019</b>											
Pesquisa bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Coleta de anfíbios	X	X										
Coleta e triagem de helmintos parasitas	X	X	X									
Identificação de parasitas			X	X	X	X	X					
Resultados preliminares							X	X	X			
Participação em eventos científicos										X	X	X
<b>2020</b>												
Pesquisa bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Coleta de anfíbios	X	X										
Coleta e triagem de helmintos parasitas	X	X	X									
Identificação de parasitas			X	X	X	X	X					
Análises ecológicas						X	X	X	X			
Resultados preliminares							X	X	X	X		
Participação em eventos científicos									X	X		
Redação de artigos científicos					X	X	X	X	X	X	X	X
Elaboração de relatório final										X	X	X

4

5           **7) Disseminação e avaliação**

6           Os resultados obtidos por esse estudo serão divulgados em congressos e reuniões  
7 científicas no decorrer do período do trabalho. Além disso, trabalhos de conclusão de curso  
8 serão encorajados com parte dos dados obtidos como forma de disseminação do  
9 conhecimento e formação de recursos humanos. Artigos científicos serão escritos e  
10 submetidos a revistas indexadas de âmbito internacional, como forma de avaliação e  
11 divulgação para comunidade científica.

12

13           **8) Outros apoios**

14           Esse projeto tem relação com um projeto proposto para o Programa Petrobras  
15 Socioambiental que se encontra em fase de análise. Além disso, o presente projeto  
16 contemplará algumas das áreas abrangidas pelo PELD (Programa de Estudos de Longa  
17 Duração, processo Cnpq 441540/2016-3) sob coordenação do Prof. José Marcelo D. Torezan  
18 da Universidade Estadual de Londrina. A parceria entre o Laboratório de Herpetologia da  
19 Unesp de Rio Claro, sob coordenação do Prof. Célio Haddad, e do Laboratório de  
20 Biodiversidade e Restauração de Ecossistemas, sob coordenação do Prof. José Marcelo  
21 Torezan, permitirá a integração e o intercâmbio de conhecimento entre os estudantes e  
22 pesquisadores envolvidos.

## 9) Bibliografia

- 1           **9) Bibliografia**
- 2    Aguiar, A.; Toledo, G.M.; Anjos, L.A.; & Silva, R.J. 2015. Helminth parasite communities of  
3           two *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826 (Anura: Leiuperidae) populations under different  
4           conditions of habitat integrity in the Atlantic Rain Forest of Brazil. *Braz. J. Biol.* 75(4):  
5           963-968
- 6    Amato, J.F.R.; Boeger, W.; & Amato, S.B. 1991. Protocolos para laboratório: coleta e  
7           processamento de parasitos de pescado, Seropédica, UFRRJ.
- 8    Anderson, M.J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance.  
9           *Austral Ecol* 26:32–46
- 10   Anderson, M.J. & Walsh, D.C.I. 2013. PERMANOVA, ANOSIM, and the Mantel test in the  
11          face of heterogeneous dispersions: What null hypothesis are you testing? *Ecol Monogr*  
12          83(4):557–574
- 13   Bernarde, P.S. & Anjos, L. 1999. Distribuição especial e temporal da anurofauna no Parque  
14          Estadual Mata dos Godoy, Londrina, Paraná, Brasil (Amphibia: Anura). *Comunicações do*  
15          Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS. *Série Zoologia* 12: 111-140.
- 16   Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., & Shostak, A.W. 1997. Parasitology meets ecology on  
17          its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*, 83(4): 575-583.
- 18   Campião, K.M., Morais, D.H., Dias, O.T., Aguiar, A., Toledo, G.M., Tavares, L.E.R. & Silva,  
19          R.J. 2014. Checklist of helminth parasites of amphibians from South America. *Zootaxa*  
20          3843(1):1–93.
- 21   Cavalheiro, A.L. 2018. Florestas ripárias na paisagem agrícola do norte do Paraná, Brasil:  
22          relação com a qualidade da água em nascentes. Tese de doutorado, Universidade Estadual  
23          de Londrina
- 24   Daszak, P., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D. 2003. Infectious disease and amphibian  
25          population declines. *Divers. Distrib.* 9, 141–150.
- 26   Frost, D.R. 2018. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0  
27          (accessed in September, 2018). Electronic Database accessible at  
28          <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural  
29          History, New York, USA.
- 30   Gibb, H. & Hochuli, D.F. 2002. Habitat fragmentation in an urban environment: large and  
31          small fragments support different arthropod assemblages. *Biological Conservation* 106 (1):  
32          91-100.
- 33   Haddad, C.F.B. & Prado, C.P.A. 2005. Reproductive modes in frogs and their unexpected  
34          diversity in the Atlantic Forest of Brazil. *Bioscience*, 55(3): 207-217.



- 1 Oksanen J., Blanchet F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin P.R., O'Hara, R.B., Simpson,  
2 G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Wagner, H. 2013. Vegan: community ecology  
3 package. R package version 2.0-6. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>. Accessed  
4 20 November 2015
- 5 Poulin, R. & Cribb, T.H. 2002. Trematode life cycles: short is sweet? *Trends Parasitol.* 18:  
6 176–183
- 7 Poulin, R. & Morand, S. 2004. *Parasite biodiversity*. Smithsonian Institution Books,  
8 Washington, D. C., 216pp.
- 9 Pounds, J.A., Bustamante, M.R., Coloma, L.A., Consuegra, J.A., Fogden, M.P.L., Foster,  
10 P.N., La Marca, E., Masters, K.L., Merino-Viteri, A., Puschendorf, R., Ron, S.R., Sanchez-  
11 Azofeifa, G.A., Still, C.J., Young, B.E. 2006. Widespread amphibian extinctions from  
12 epidemic disease driven by global warming. *Nature*, 439: 161–167.
- 13 R Development Core team. 2013. *R: A language and environment for statistical computing*. R  
14 Foundation for Statistical Computing
- 15 Rey, L. 2001. *Parasitologia*. Guanabara Koogan. 3ed. 856p.
- 16 Santos-Pereira, M., Pombal, J.P., Rocha, C.F.D. 2018. Anuran amphibians in state of Paraná,  
17 Southern Brazil. *Biota Neotropica* 18(3): 1-19
- 18 Segalla, M.V., Caramaschi, U., Cruz, C.A.G., Grant, T., Haddad, C.F.B., Garcia, P.C.A.,  
19 Berneck, B.V.M., & Langone, J.A. 2016. Brazilian amphibians – List of species.  
20 Accessible at <http://www.sbherpetologia.org.br/index.php/anfibios> - Sociedade Brasileira  
21 de Herpetologia, in 07 July 2016.
- 22 Smales, L.R. 2007. Acanthocephala in amphibians (Anura) and reptiles (Squamata) from  
23 Brazil and Paraguay with description of a new species. *Journal of Parasitology*, 93: 392–  
24 398.
- 25 Stuart, S.N., Chanson, J.S., Cox, N.A., Young, B.E., Rodrigues, A.S.L., Fischman, D.L.,  
26 Waller, R.W., 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide.  
27 *Science* 306: 1783–1786.
- 28 Torezan, J.M.D. 2002. Nota sobre a vegetação a bacia do rio Tibagi, in: Medri, M.E.,  
29 Bianchini, E., Shibatta, O.A., Pimenta, J.A. (Eds.), *A bacia do rio Tibagi*. M.E. Medri,  
30 Londrina, pp. 103-107.
- 31 Travassos, L.; Freitas, J.F.T. & Kohn, A. 1969. Trematódeos do Brasil. *Memórias do*  
32 *Instituto Oswaldo Cruz* 67: 1–886.
- 33 Vicente, J.J., Rodrigues, H.O., Gomes, D.C., & Pinto, R.M. 1991. Nematóides do Brasil 2a  
34 parte: nematóides de Anfíbios. *Revista Brasileira de Zoologia* 7: 549–626.

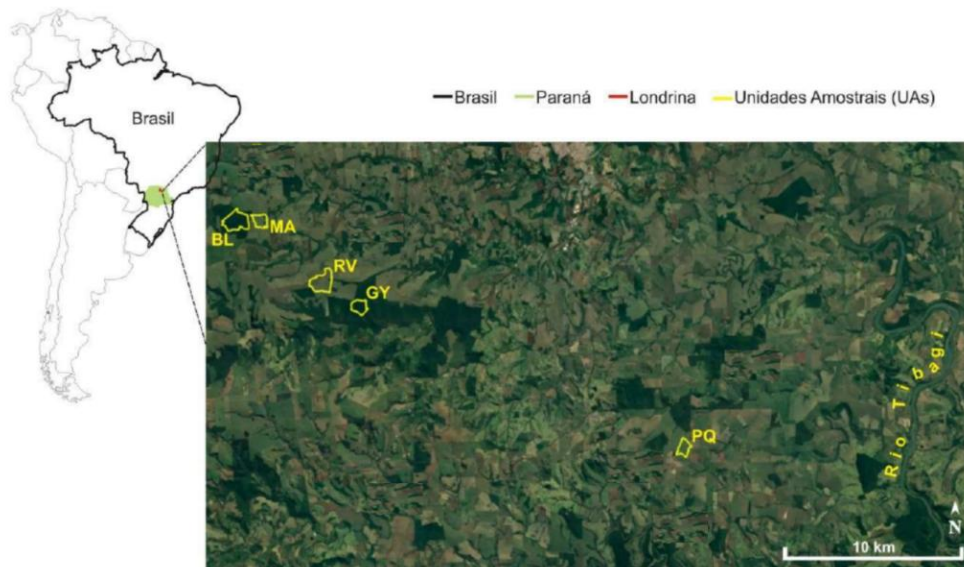
1 **Tabela 1** – Características dos seis fragmentos de floresta ripária na região do município de  
 2 Londrina, Paraná, de acordo com Cavalheiro (2018). Área (da bacia de contribuição, em  
 3 hectares); Largura (média da faixa de mata, em metros); qualidade da floresta através da  
 4 pontuação da Avaliação Ecológica Rápida (AER). \*PQ1 e PQ2 – fragmentos florestais de  
 5 uma fazenda do Distrito de Paiquerê; MA, RV, BL – fragmentos inseridos em fazendas  
 6 particulares na zona rural de Londrina; GY – Parque Estadual Mata dos Godoy.

Localidades*	Coordenadas	Entorno	Área (ha)	Largura (m)	AER
PQ1	23°30'59,07"S; 51° 4'58,60"O	agrícola	81	0	0
PQ2	23°31'4,28"S; 51° 4'29,56"O	agrícola	47	1	1,0
MA	23°24'11,00"S; 51°18'31,47"O	agrícola	51	31	17
RV	23°26'6,21"S; 51°16'21,87"O	agrícola	111	32	16
BL	23°24'6,84"S; 51°19'29,91"O	florestal	119	647	25
GY	23°27'5,13"S; 51°15'17,81"O	florestal	56	1284	35

7

8 **Quadro I** - Avaliação Ecológica Rápida (AER) utilizada para caracterizar a integridade das  
 9 localidades de acordo com a pontuação obtida através da análise de 11 variáveis, adaptado de  
 10 Medeiros e Torezan (2013). \*CH = cobertura de herbáceas

Variáveis	Pontuação				
	0	1	2	3	4
<b>1. Cobertura de serrapilheira</b>	>80% solo nu	50% a 70% do solo nu e até 2cm	Até 5cm com presença de trama de raízes pouco desenvolvida	Até 10cm com presença de trama de raízes desenvolvida	>10cm, presença de folhas, ramos, galhos, troncos e trama de raízes bem desenvolvida
<b>2. Árvores mortas em pé</b>	Acima de 4	Até 4	3	2	Até 1
<b>3. Gramíneas exóticas</b>	>70% de CH*	Entre 50% a 70% de CH*	Entre 20% a 50% de CH*	Entre 5% a 20% de CH*	Ausente
<b>4. Outras exóticas</b>	Acima de 6	Até 6	Até 3	Até 2	Até 1
<b>5. Emaranhado de cipó</b>	Acima de 4	Até 4	Até 3	Até 2	Até 1
<b>6. Eco-unidades</b>	Clareira com muito cipó	Clareira com pouco cipó	Dossel baixo (aproximadamente 10m)	Dossel aberto (até 60% de luminosidade)	Dossel fechado (até 10% de luminosidade)
<b>7. Epífitas vasculares exceto Orchidaceae</b>	Apenas vasculares	Até 1	Até 2	Até 3	Acima de 3
<b>8. Orchidaceae</b>	Ausente	1	2	3	Acima de 3
<b>9. Figueiras</b>	Só em regeneração	Até 1	Até 2	Até 3	Acima de 3
<b>10. Palmeiteiro</b>	Ausente	Só em regeneração	Até 1	Até 2	Acima de 2
<b>11. Peroba-rosa</b>	Ausente	Só em regeneração	Até 1	Até 2	Acima de 2

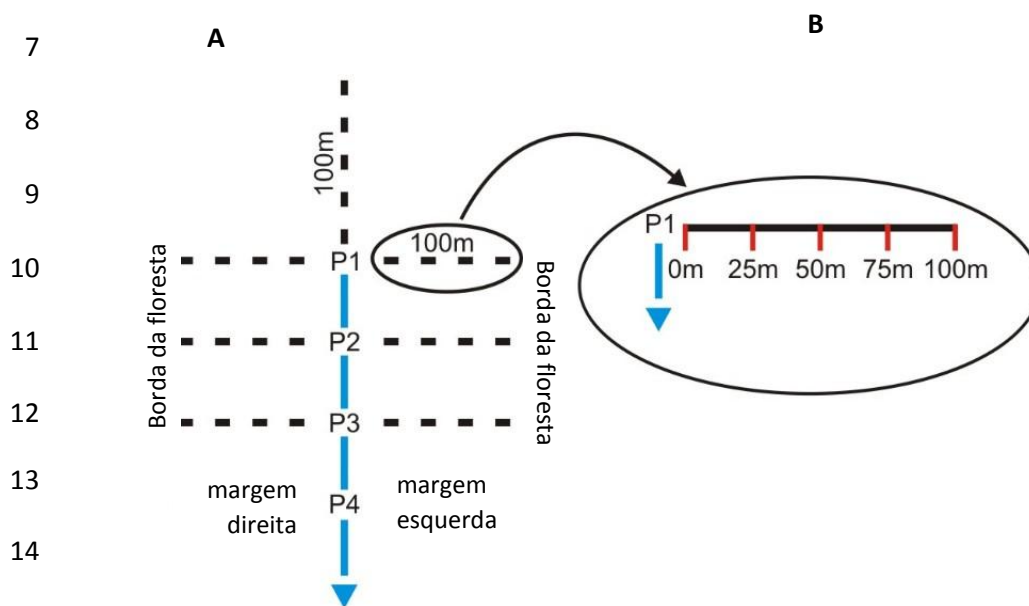


1

2 **Figura 1** - Área de estudo, localizada no norte do Paraná, Brasil. Os polígonos amarelos  
 3 indicam a porção inicial (150 m) da bacia de contribuição de seis riachos de primeira ordem:  
 4 PQ (PQ1, PQ2), MA, RV, BL e GY. Todos esses riachos drenam para o rio Tibagi, na sua  
 5 margem esquerda (adaptado de Cavalheiro, 2018).

6

7



15

16 **Figura 2-** A) Esquema dos nove transectos (linhas tracejadas) para cada localidade para  
 17 caracterização da vegetação e coleta dos anfíbios. O riacho está representado em azul com os  
 18 pontos (P1 = nascente, P2, P3 e P4), 50 m distantes entre si, de onde iniciam os nove  
 19 transectos até 100 m em direção a borda da floresta. B) Detalhe de um dos transectos  
 20 utilizados na caracterização da vegetação, com os pontos (a cada 25m) de aplicação do  
 21 método de Avaliação Ecológica Rápida (adaptado de Cavalheiro, 2018).