

LÍGIA AMOROSO GALBIATI

CONDIÇÃO CORPÓREA E HORMÔNIOS DE ESTRESSE COMO  
INDICADORES DO STATUS FISIOLÓGICO DE TRÊS ESPÉCIES DE  
MORCEGOS EM RESPOSTA À FRAGMENTAÇÃO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do  
Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista  
Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Mestre em Ciências  
Biológicas (Zoologia).

Orientador: Ariovaldo Pereira da Cruz Neto

Rio Claro

2013

LÍGIA AMOROSO GALBIATI

CONDIÇÃO CORPÓREA E HORMÔNIOS DE ESTRESSE COMO  
INDICADORES DO STATUS FISIOLÓGICO DE TRÊS ESPÉCIES DE  
MORCEGOS EM RESPOSTA À FRAGMENTAÇÃO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do  
Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista  
Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Mestre em Ciências  
Biológicas (Zoologia).

Comissão Examinadora

Ariovaldo Pereira da Cruz Neto

Gledson V. Bianconi

Fernando Ribeiro Gomes

Rio Claro, 12 de dezembro de 2013

Aos meus pais,  
que a cada tropeço durante esse trajeto  
estiveram ao meu lado pra impedir que eu caísse.

*“Não vou deixar me embrutecer,  
Eu acredito nos meus ideais.  
Podem até maltratar meu coração  
Que meu espírito ninguém vai conseguir quebrar”*

Renato Russo

# AGRADECIMENTOS

---

A todos que de alguma forma me ajudaram a seguir em frente e concluir esse trabalho.

Agradeço primeiramente aos meus pais e irmão, que estiveram do meu lado em todas as decisões que tomei durante esse longo processo, me aconselhando, me repreendendo, me incentivando, me ajudando nas mudanças. Sem a força dessa família tão especial que eu tenho, com certeza não conseguiria chegar até aqui.

Agradeço ao meu namorado, meu amor, com quem aprendi a ser mais forte, a dizer não, a me impor, com quem aprendi a amar, perdoar e a pedir perdão. Apesar das diferenças, apesar das dificuldades, seguimos juntos e cada vez mais fortes. Obrigada Matheus, por abrir mão de muita coisa para estar do meu lado!

Agradeço àqueles que me acolheram quando eu estava perdida, que me ajudaram a me reerguer, que foram meus companheiros de casa, de campo, de trabalho, de festas, meus conselheiros, meus hermanitos, em especial Caio (Xêra) e Manuel (Manu). Muito obrigada por dividirem a vida de vocês comigo.

Às meninas das siriemas (são tantas), que me acolheram todas as vezes que eu precisei, seja para morar por um tempo, para um almoço ou para um simples desabafo: Tibu, Larva, Cota, Mil, Psico, Filô, Sorvs.

Às Siriemas mais que especiais na minha vida, Jacque, Fiona, Curi e Farofinha, que me aguentaram em todos os surtos, e mais importante, sempre acreditaram na minha força e na minha capacidade pra completar mais esse ciclo.

Às companheiras de trabalho, de campo, de vida, com quem eu dividi tantas aflições, Carol e Lucía, sem vocês o que já foi difícil teria sido impossível. Muito obrigada por toda ajuda que vocês me ofereceram.

A amigos muito especiais, que me deram força diversas vezes nessa caminhada, com quem eu dividi medos, filosofias, ideais, e muito mais, Reto e Zito.

Ao meu amigo mais que especial, Tulio (Batata), que nunca me abandonou, desde sempre! Obrigada por todos os cafés, todos os conselhos, todos os chacoalhões, todo o incentivo. Tenho certeza que você vai estar sempre presente na minha vida.

A todos os/as rugbiers, RURCs e ORCs, Por todos os ensinamentos, jogos, 3º tempos, e tudo mais que só quem já jogou rugby é capaz de sentir.

Ao meu orientador, por ter me aceitado como aluna em um dos momentos mais difíceis que já vivi. Obrigada por ter me dado essa oportunidade de realizar esse projeto, pela orientação, pela atenção dispensada, pelas conversas, e principalmente pela paciência.

Ao professor Fernando Ribeiro, por permitir que as análises fossem realizadas em seu laboratório. À prof. Renata Guimarães, pela prontidão em tirar minhas dúvidas sempre que precisei. A todo o pessoal do Laboratório de Comportamento e Fisiologia Evolutiva, por sempre terem me acolhido muito bem. Em especial, agradeço à Mariana Góes, companheira de mestrado, por toda a ajuda, pela paciência, por me receber em sua casa, por todas as vezes que eu estava perdida, ter me dado uma luz, não teria sido possível fazer tudo isso se não fosse por você. Agradeço também ao técnico que me auxiliou nas análises laboratoriais, Eduardo Braga, com certeza, se não fosse sua disposição em ajudar, em me incentivar e, quando deu tudo errado, me fazer enxergar um lado positivo do erro.

E por fim, agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa, pela bolsa de mestrado (Projeto nº 2010/13014-1) e pelo apoio financeiro ao projeto temático “Effects of global climate change of the Brazilian fauna: a conservation physiology approach” – processo nº 2008/57687-0. Agradeço ao pessoal do Parque Nacional de Iguaçu, do Parque Vila Rica do Espírito Santo e da RPPN Fazenda Barbacena, que auxiliaram com recursos, logística, laboratórios. Muito obrigada por ajudar a fazer esse trabalho possível.

# RESUMO

---

A fragmentação e perda de hábitat levam à diminuição da quantidade ou variedade de alimentos e área de vida, deixando populações mais vulneráveis a efeitos ambientais. Chiroptera é uma das ordens de maior sucesso dentre os mamíferos e participa ativamente de processos ecológicos. Todavia podem responder de forma negativa à fragmentação, e este efeito pode variar interespecificamente. Assim, determinar a magnitude dos impactos da fragmentação nas populações de morcegos pode ser útil no sentido de detectar a sensibilidade de espécies a esse distúrbio, facilitando propostas de medidas preventivas e de manejo. Dentre as várias ferramentas que podem ser utilizadas para determinar os mecanismos subjacentes aos efeitos diferenciais de distúrbios antrópicos, aquelas que fazem uso de métodos e conceitos da Fisiologia são consideradas como altamente promissoras, sendo que qualquer parâmetro fisiológico que indexe o estado de saúde de um organismo e que possa ser medido em diversas condições tem o potencial de ser utilizado para determinar se o animal está experimentando uma situação de estresse. Um dos principais protocolos para determinar a resposta ao estresse em vertebrados é a comparação da concentração dos níveis de base de hormônios glucocorticóides e a resposta hormonal a um estímulo indutor de estresse. Complementarmente, a determinação de índices de condição corpórea pode auxiliar na detecção de efeitos de impactos ambientais por indicarem o status fisiológico dos indivíduos relacionado à nutrição, acúmulo de gordura, massa muscular e estrutura esquelética, além de estarem potencialmente relacionados com fitness evolutivo. O principal objetivo desta pesquisa foi analisar as respostas das espécies *Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata* e *Sturnira lillium* aos efeitos da fragmentação da Mata Atlântica através da quantificação e comparação do perfil de hormônios glucocorticóides e da condição corpórea. Além de diferenças no tamanho corpóreo, essas espécies apresentam diferenças no uso da paisagem, o que pode refletir numa sensibilidade diferencial aos efeitos da fragmentação. O estudo foi realizado em fragmentos florestais localizados nos municípios de Fênix e São Pedro do Ivaí, noroeste do estado do Paraná, sul do Brasil e numa área de mata contínua, controle do estudo por não sofrer os efeitos da fragmentação, localizada no Parque Nacional do Iguaçu, Foz Do Iguaçu, Paraná, durante as estações seca e chuvosa nos anos de 2011 a 2013. Verificou-se que existem diferenças na condição corpórea de indivíduos de *A. lituratus*, em relação ao tipo de hábitat e estação do ano, sendo que em ambiente fragmentado e durante a estação seca, animais dessa espécie apresentam melhor condição corpórea. Não foi possível determinar a condição corpórea das populações de *C. perspicillata* e para *S. lillium* não foram verificadas diferenças na condição corpórea entre os ambientes. A concentração de cortisol após estresse induzido foi determinada apenas para *A. lituratus* e não foi houve diferença entre os ambientes ou entre as estações. Esses resultados corroboram a hipótese de que a espécie *A. lituratus*, em situações menos favoráveis, é capaz de manter a condição corpórea. Esta capacidade confere uma vantagem adaptativa em situações aonde o ambiente é modificado de forma rápida e imprevisível e, portanto, constitui um atributo que permite a esta espécie tolerar os efeitos da fragmentação.

**Palavras-chave:** Estresse. Fragmentação. Cortisol. Condição corpórea. Chiroptera.

# ABSTRACT

---

The fragmentation and habitat loss led to a decrease in quantity or variety of food and living area, leaving populations more vulnerable to environmental effects. Chiroptera is one of the most successful order among mammals and actively participates in ecological processes. However may respond negatively to fragmentation, and this effect can vary interspecific. Thus, assess the magnitude of the impacts of fragmentation on bat populations can be useful in order to detect the sensitivity of species to this disorder, making proposals for preventive measures and management. Among the various tools that can be used to determine the mechanisms underlying the differential effects of human disturbance, those who make use of methods and concepts of physiology are considered as highly promising, and any physiological parameter that indexes the state of health of an organism and which can be measured under various conditions has the potential to be used to determine whether the animal is experiencing stress situation. One of the main protocols to determine the stress response in vertebrates is to compare the concentration of baseline levels of glucocorticoid hormones and hormonal response to a stimulus inducing stress. In addition, the determination of indexes of body condition can help detect effects of environmental impacts because they indicate the physiological status of individuals related to nutrition, fat accumulation, muscle and skeletal structure, and are potentially related to evolutionary fitness. The main objective of this project was to analyze the responses of species *Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata* and *Sturnira lillium* to the effects of fragmentation of the Mata Atlântica through the quantification and comparison of the profile of glucocorticoid hormones and body condition. Besides differences in body size, these species differ in the use of the landscape, which may reflect a differential sensitivity to the effects of fragmentation. The study was conducted in forest fragments located in the cities of Fênix and São Pedro do Ivaí , northwest of Parana State , southern Brazil, and in an area of continuous forest, the study control, since it does not suffer the effects of fragmentation, located in the Parque Nacional do Iguaçu, city of Foz Do Iguaçu, Parana State, during the dry and rainy seasons in the years 2011-2013 .It was found that there are differences in the body condition of individuals *A.lituratus* in relation to habitat type and season, with animals of this species having better body condition in fragmented environment and during the dry season. It was not possible to determine the body condition of the populations of *C.perspicillata* and no differences were observed in body condition between environments to *S.lillium*. The cortisol concentration after stress induced was determined only for *A. lituratus* and there was no difference between the environments or between seasons. These results corroborate the hypothesis that the species *A. lituratus* is able to maintain body condition in less favorable situations. This capability provides an adaptive advantage in situations where the environment changes rapidly and unpredictably, and thus it is an attribute that enables this kind to tolerate the effects of fragmentation .

**Key words:** Stress. Fragmentation. Cortisol. Body condition. Chiroptera.

# SUMÁRIO

---

|                                                                |           |
|----------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>                                      | <b>10</b> |
| <b>2. OBJETIVOS E HIPÓTESES.....</b>                           | <b>16</b> |
| <b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                              | <b>18</b> |
| 3.1. ÁREA DE ESTUDO .....                                      | 18        |
| 3.2. DESCRIÇÃO DO CLIMA.....                                   | 19        |
| 3.3. ESPÉCIES AVALIADAS .....                                  | 24        |
| 3.4. CAPTURA DOS ANIMAIS.....                                  | 25        |
| 3.5. CÁLCULO DOS ÍNDICES DE CONDIÇÃO CORPÓREA .....            | 26        |
| 3.5.1. “SCALE MASS INDEX (‘M <sup>AI</sup> ’)” .....           | 26        |
| 3.5.2. “ÍNDICE DE RESÍDUOS” .....                              | 27        |
| 3.5.3. “MASSA OBSERVADA/MASSA PREDITA” .....                   | 27        |
| 3.6. DOSAGEM DE CORTISOL PLASMÁTICO: PROCEDIMENTOS GERAIS..... | 28        |
| 3.7. MANUSEIO E ANÁLISE DOS DADOS .....                        | 30        |
| <b>4. RESULTADOS.....</b>                                      | <b>32</b> |
| 4.1. ÍNDICES DE CONDIÇÃO CORPÓREA .....                        | 32        |
| 4.1.1. ANÁLISES PRELIMINARES – “SCALE MASS INDEX” .....        | 32        |
| 4.2.2. ANÁLISES PRELIMINARES – ÍNDICE YOBS/YPRED.....          | 33        |
| 4.2.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS ÍNDICES .....                   | 33        |
| 4.3. DOSAGEM DE CORTISOL PLASMÁTICO .....                      | 39        |
| 4.3.1. CONCENTRAÇÃO DE CORTISOL E CONDIÇÃO CORPÓREA.....       | 43        |
| <b>5. DISCUSSÃO .....</b>                                      | <b>44</b> |
| 5.1. CONDIÇÃO CORPÓREA .....                                   | 44        |
| 5.2. DOSAGEM DE CORTISOL PLASMÁTICO .....                      | 45        |
| <b>6. CONCLUSÃO .....</b>                                      | <b>49</b> |
| <b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                     | <b>50</b> |

# 1. INTRODUÇÃO

---

No Brasil, a problemática da fragmentação como agente responsável pela redução da biodiversidade é amplamente reconhecida e discutida (TURNER, 1996; TABARELLI et al., 1999; PERES et al., 2010; PUTZ et al., 2011). Em particular, o bioma Mata Atlântica tem recebido especial interesse nesta discussão por ser um dos biomas cuja biodiversidade, considerada uma das maiores do mundo, está sofrendo altas taxas de impacto devido a este problema. (MYERS et al., 2000; TABARELLI et al., 2010).

A grande maioria dos estudos que procura determinar os efeitos da fragmentação faz uso de determinadas espécies, ou grupo de espécies, as quais possuem certos atributos que respondem diretamente à fragmentação. Morcegos (Ordem Chiroptera) são considerados excelentes bioindicadores para estudos de alteração de hábitat, uma vez que morcegos prestam uma ampla gama de serviços ao ecossistema e, portanto, refletem o estado das populações de plantas de que se alimentam e polinizam, bem como a produtividade das comunidades de insetos. Populações de morcegos são afetadas por uma ampla gama de fatores de estresse que também afetam muitas outras taxa. Em particular, alterações nos números ou na atividade de morcegos podem estar relacionadas a mudanças climáticas, à deterioração da qualidade da água, a intensificação da agricultura, a perda e a fragmentação de florestas, a doenças, ao uso de agrotóxicos e à caça excessiva (JONES et al., 2009).

Apesar de sua grande capacidade de deslocamento devido ao voo estão sujeitos aos efeitos negativos da fragmentação local e redução do hábitat (FENTON et al., 1992). Como por exemplo, estudos demonstraram que algumas espécies evitam forragear sobre áreas abertas, evidenciando uma relação direta entre a diminuição da cobertura florestal e a redução das populações locais de morcegos (RACEY; ENTWISTLE, 2003).

De forma geral, a distinção entre espécies sensíveis e tolerantes de morcegos se baseia quase que exclusivamente na comparação da abundância relativa entre áreas fragmentadas e não-fragmentadas (FENTON et al., 1992; SCHULZE et al., 2000; ESTRADA, 2002). Alguns trabalhos demonstram que as comunidades de morcegos tendem a ser menos diversas e dominadas por poucas espécies em áreas fragmentadas (BROSSET et al., 1996, COSSON et al., 1999; FENTON et al., 1992; REIS; MULLER, 1995), além de trabalhos documentarem um efeito positivo da fragmentação para algumas espécies (COSSON et al., 1999; SCHULZE

et al., 2000), sugerindo que, apesar de algumas espécies de morcegos serem negativamente afetadas por este distúrbio, outras espécies parecem ser tolerantes na medida que suas abundâncias se mantêm constantes ou mesmo aumentam em áreas fragmentadas. Esta abordagem assume que a fragmentação atua como filtro seletivo, sendo permeável a espécies tolerantes (CASTRO-ARELLANO et al., 2007; PRESLEY et al., 2008) e impedindo ou dificultando a manutenção de espécies sensíveis (FAHRIG; MERRIAM, 1994; ZUIDEMA et al., 1996; DRINNAN, 2005). Todavia, a simples comparação deste parâmetro somente aponta um padrão, mas não esclarece quais são as bases mecanicísticas subjacentes que podem responder por estas diferenças. Além do mais, conforme demonstrado por Henry e colaboradores (2007) em um estudo sobre os efeitos da fragmentação em duas espécies de morcegos do gênero *Artibeus*, apenas dados ecológicos podem não ser suficientes para determinar a tolerância de espécies de morcegos à fragmentação e, inclusive, podem levar a interpretações errôneas.

Dentre as várias ferramentas que podem ser utilizadas para determinar os mecanismos subjacentes aos efeitos diferenciais de distúrbios antrópicos, aquelas que fazem uso de métodos e conceitos da Fisiologia são consideradas como altamente promissoras. As bases teóricas para a utilização dos métodos e conceitos da fisiologia em estudos de cunho conservacionista estão embutidas em um novo campo de pesquisa, a Fisiologia da Conservação, a qual unifica, em um protocolo coeso, a Fisiologia e a Biologia da Conservação, e que pode ser definida como o estudo das respostas fisiológicas dos organismos às alterações antrópicas sobre o ambiente, as quais podem causar ou contribuir para o declínio das populações (CAREY, 2005; WIKELSKI; COOKE, 2006; COOKE; O'CONNOR, 2010). A abordagem proposta pela Fisiologia da Conservação vai além da descrição de padrões, incluindo também um detalhamento dos fatores mecanicísticos subjacentes aos problemas da conservação. Assim, os métodos e conceitos da Fisiologia podem ser particularmente úteis para mensurar os efeitos de distúrbios de origem antrópica e para auxiliar na compreensão dos mecanismos subjacentes aos efeitos diferenciais destes distúrbios. Este protocolo vem sendo largamente utilizado para quantificar e prever principalmente o impacto de mudanças climáticas em uma série de organismos (PÖRTNER; FARREL, 2008; SOMERO, 2010). Com relação a estudos sobre os impactos da fragmentação, sua aplicação é ainda incipiente, mas não menos promissora (JOHNSTONE et al., 2010; JANIN et al., 2011). Para morcegos, o único estudo que fez uso de informações fisiológicas para determinar o grau de impacto e a sensibilidade das espécies à fragmentação foi conduzido por Henry e colaboradores (2007).

A premissa básica da Fisiologia da Conservação é a de que somente as populações cujos indivíduos apresentam a capacidade de manter o equilíbrio interno (homeostase) em resposta a variações ambientais seriam aquelas capazes de manter populações viáveis após distúrbios de natureza antrópica (WIKELSKI; COOKE, 2006). Dentro do contexto acima, qualquer parâmetro fisiológico que indexe o estado de saúde de um organismo e que possa ser medido em diversas condições tem o potencial de ser utilizado para determinar a capacidade homeostática de um animal e determinar se o animal está experimentando uma situação de estresse.

A aplicabilidade desta premissa em questões conservacionistas está baseada em dois modelos conceituais (modelo da capacidade alostática – MCEWEN; WINGFIELD 2003; 2010; modelo do escopo reativo – ROMERO et al., 2009; ROMERO, 2012), os quais convergem em diversos aspectos relativos à interpretação da capacidade homeostática. Basicamente, estes modelos assumem que as espécies apresentam uma série de ajustes fisiológicos e comportamentais, cuja flexibilidade e magnitude são suficientemente adequadas para manter a homeostase em resposta às variações circadianas e sazonais que fazem parte do repertório normal de seus ciclos de vida. Assim, a amplitude destas respostas definem as limitações fisiológicas e comportamentais que podem ser utilizadas para manter a homeostase. As alterações ambientais que apresentam magnitudes maiores do que aquelas normalmente experimentadas (tais como aquelas potencialmente induzidas por alterações antrópicas) não podem ser minimizadas pelos mecanismos homeostáticos e acarretam em uma situação de estresse. Este ponto crítico de sobrecarga no sistema homeostático se traduz em um estado fisiológico caracterizado por alterações no estado de saúde do animal que, se persistente ao longo do tempo, levam a morte do indivíduo e, conseqüentemente, a extinção local da população. Portanto, dentro do contexto de espécie tolerante e sensível, as espécies mais tolerantes aos efeitos da fragmentação seriam aquelas que possuem mecanismos fisiológicos amplos o suficiente para evitar a sobrecarga no sistema homeostático.

Um dos principais protocolos para determinar a resposta ao estresse em vertebrados é a comparação da concentração dos níveis de base de hormônios glucocorticóides e a resposta hormonal a um estímulo indutor de estresse (GOYMANN et al., 2002; ROMERO, 2002; WINGFIELD; KITAYSKY, 2002; WALKER et al., 2005; REEDER; KRAMER, 2005; KLOSE et al., 2006). Os hormônios glucocorticóides, cortisol e corticoesterona, são os principais mediadores fisiológicos relacionados à resposta a um estímulo em vertebrados (WINGFIELD et al., 1997; SAPOLSKY et al., 2000; ROMERO, 2002). Os efeitos desses hormônios no organismo variam de acordo com sua concentração, sendo primordialmente

relacionada com a regulação energética, especificamente com a gliconeogênese, (WINGFIELD, 1994; WINGFIELD et al., 1997). Sua concentração pode variar dentro da faixa homeostática normal, em resposta às variações sazonais e diárias do ciclo de vida (BUSCH; HAYWARD, 2009; ROMERO et al., 2009). Contudo, em situações de aumento crônico da concentração, podem haver efeitos deletérios no organismo, pois pode haver inibição do sistema imune, depleção das reservas energéticas, inibição da reprodução e do crescimento, e queda geral no estado de saúde do animal (BUSCH; HAYWARD, 2009; CYR; ROMERO, 2009; ROMERO et al., 2009).

Alterações antrópicas são consideradas potencialmente estressoras a ponto de levarem a uma sobrecarga do sistema homeostático e, neste sentido, poderiam causar alterações no nível de base desses hormônios em animais silvestres, além de modificar o padrão de resposta hormonal a um estímulo estressor. De fato, diversos estudos têm utilizado análises do perfil dos hormônios glucocorticóides para determinar a magnitude das respostas homeostáticas de diversas espécies em respostas a alterações ambientais e, conseqüentemente, determinar a magnitude deste impacto (FOWLER, 1999; WIKELSKI et al., 2002; TURNER et al., 2003; ELLENBERG et al., 2007). Estudos que usaram estas análises para averiguar especificamente as respostas à fragmentação são recentes (SUORSA et al., 2003; MARTÍNEZ-MOTA et al., 2007; JANIN et al., 2011) e, apesar do seu comprovado potencial, ainda são incipientes no Brasil. Em morcegos, análises do perfil hormonal de cortisol e corticoesterona foram realizadas em poucas espécies (REEDER et al., 2004a; 2004b; KLOSE et al., 2006; LEWANSKI et al., 2012; NAVARRO-CASTILLA et al., 2013), e dentre estes, são ainda mais raros os que têm como objetivo principal analisar estas respostas em função da alteração ambiental induzida por ações antrópicas (NAVARRO-CASTILLA et al., 2013).

Uma questão importante a se levar em consideração quando se trabalha com hormônios glucocorticóides é a possível existência de uma variação sazonal nos níveis desses hormônios (ROMERO, 2002). De maneira geral, essa variação está relacionada com o período reprodutivo, no entanto não é possível estabelecer padrões ou prever quais espécies apresentam essa característica. Uma vez que os hormônios glucocorticóides apresentam um papel fundamental na mobilização de energia, isso implicaria em um aumento das concentrações em períodos do ano mais custosos energeticamente (ROMERO, 2002).

Outro parâmetro complementar que pode trazer respostas interessantes relacionadas às respostas fisiológicas aos efeitos da fragmentação é o índice de condição corpórea. A condição corpórea pode ser definida como o estado energético ou nutricional de um indivíduo, em especial, o tamanho relativo das reservas de energia, tais como gordura e

proteínas (KREBS; SINGLETON 1993; GOSLER, 1996, SCHULTE-HOSTEDDE et al. 2001). Um índice de condição corpórea é uma métrica morfológica, bioquímica ou fisiológica, que pode ser um indicativo do status fisiológico do animal (PEIG; GREEN, 2009). Este status fisiológico está potencialmente relacionado com a aptidão, pois pode ser um indicador do sucesso de forrageio, habilidade de confronto, e habilidade em lidar com pressões ambientais, os quais em última instância podem interferir no sucesso reprodutivo (DOBSON, 1992; PEIG; GREEN, 2009).

A aplicabilidade destes índices em estudos de conservação, assim como as diversas maneiras utilizadas para seu cálculo, forma extensivamente discutidas por Stevenson e Woods Jr., (2006). Basicamente, espera-se que as espécies que conseguem manter uma condição corpórea mais elevada, mesmo em condições de estresse potencial, seriam aqueles que possuem mecanismos fisiológicos e comportamentais mais ajustados para evitar sobrecarga no sistema homeostático. Por exemplo, no caso das medidas do perfil hormonal descritas acima, a comprovação de que as espécies estão realmente sofrendo estresse pode ser aferida quando há uma significativa e negativa correlação entre os níveis circulantes de hormônios e a condição corpórea (MILLER; BRADSHAW, 1979; BRADSHAW, 2007). Neste sentido, estes índices podem ser utilizados como medidas complementares à quantificação de outros componentes do sistema homeostático.

O método mais preciso para determinar este parâmetro é a estimativa da massa lipídica via análise química da carcaça (SPEAKMAN, 2001), o que nem sempre é possível, seja por motivos éticos ou impossibilidade de sacrifício de animais já vulneráveis, ou até mesmo ameaçados localmente. Desta maneira, medidas indiretas vêm sendo testadas no intuito de inferir o mais precisamente possível esses parâmetros, causando o menor distúrbio possível aos indivíduos considerados, como é o caso das análises de condutância corpórea ou de bioimpedância (SPEAKMAN, 2001). Considerando a tomada de dados em campo, o método indireto mais adequado para propósitos conservacionistas é aquele que deriva a condição corpórea a partir de medidas morfológicas, baseando-se numa relação entre a massa dos indivíduos e alguma medida linear de tamanho (STEVENSON; WOODS, 2006).

Apesar do índice de condição corpórea ser uma ferramenta potencialmente útil em estudos de conservação, os poucos estudos em morcegos que quantificaram a condição corpórea utilizaram este índice como ferramenta auxiliar para analisar os efeitos da infestação de parasitas sobre parâmetros hematológicos e imunológicos, ou para determinar a influência da condição corpórea no desenvolvimento sexual de uma espécie (SPEAKMAN; RACEY, 1986; CHRISTE et al., 2000; KANUCH et al., 2005).

Em síntese, a análise dos efeitos da fragmentação requer análises das respostas individuais a estes efeitos, e tal abordagem pode ser feita pela análise de parâmetros fisiológicos que indexam a capacidade homeostática. É sobre este prisma que o presente projeto está embasado: o uso das ferramentas e conceitos da fisiologia, em especial padrões hormonais e análise da condição corpórea, para tratar da temática dos efeitos diferenciados da fragmentação sobre espécies de morcegos da Mata Atlântica.

## 2. OBJETIVOS E HIPÓTESES

---

O principal objetivo deste trabalho foi analisar as respostas de diferentes espécies de morcegos aos efeitos da variação sazonal e da fragmentação da Mata Atlântica, através da quantificação e comparação do perfil de hormônios glucocorticóides e da condição corpórea. O estudo foi realizado em áreas fragmentadas de Mata Atlântica no noroeste do estado do Paraná e no Parque Nacional de Iguaçu, Foz do Iguaçu, também no Paraná (ver detalhes abaixo sobre a área de estudo) e concentrou-se em três espécies de morcegos frugívoros da Família Phyllostomidae, *Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata* e *Sturnira lilium*. Apesar de estas três espécies serem consideradas tolerantes à fragmentação (FENTON et al., 1992), existem diferenças associadas a história de vida destas espécies que permitem sugerir diversidade na forma como respondem a esse distúrbio. Por exemplo, um dos fatores que mais influenciam na capacidade de morcegos em tolerar os efeitos desse distúrbio está associado à capacidade de deslocamento na matriz. O deslocamento pela matriz pode estar relacionada com a ofertade recursos (GALINDO-GONZÁLEZ et al., 2000), como por exemplo, padrão de distribuição e frutificação das plantas frutíferas que servem de alimento para estes morcegos (GALINDO-GONZÁLEZ; SOSA, 2003; BIANCONI et al., 2006). Em uma das áreas de estudo, *A. lituratus* é a espécie mais abundante, e estudos de marcação e recaptura e evidenciaram diferenças no uso do ambiente fragmentado, com *A. lituratus* apresentando baixa fidelidade aos fragmentos e usando a paisagem fragmentada de forma conjunta o que sugere uma alta mobilidade e grande área de forrageio, provavelmente relacionada à exploração nabusca por recursos, em especial *Ficus* sp. (Moraceae), seu alimento preferencial (BIANCONI et al., 2006). Em contraste, segundo estes mesmos autores (BIANCONI et al., 2006), *Carollia perspicillata* apresentou uma área restrita de forrageio, determinada provavelmente pela abundância de *Piper* sp. (Piperaceae), planta reconhecida como seu alimento preferencial. Outros estudos sugerem o tipo de abrigo utilizado como fator limitante no uso de determinados habitats (HUMPHREY, 1975), sendo que a espécie *Sturnira lilium* pode ser considerada mais vulnerável à fragmentação e consequente empobrecimento do habitat, por preferir ocos de árvores com maior diâmetro, enquanto que *Artibeus intermedius* é relativamente mais resiliente (EVELYN; STILES, 2003).

Determinar a magnitude dos impactos da fragmentação nas populações de morcegos pode ser útil no sentido de detectar a sensibilidade de espécies a esse distúrbio, facilitando propostas de medidas preventivas e de manejo. Com base nessas informações, espera-se que:

- a) Haja respostas diferentes para as três espécies em relação aos parâmetros testados:
  - a. Indivíduos de *A. lituratus* não apresentem diferenças no perfil hormonal, enquanto que para as outras duas espécies, haja alterações nos níveis de base de glucocorticóides e na resposta ao estresse induzido para as populações da área fragmentada.
  - b. No caso da condição corpórea, espera-se que o índice esteja correlacionado com os níveis de pico de hormônios, assim, indivíduos da espécie *A. lituratus* não apresentariam diferenças na condição corpórea, enquanto que as outras espécies apresentariam maior condição corpórea na área contínua, refletindo os ajustes fisiológicos que possibilitam a permanência dessas espécies em um ambiente modificado.
- b) Variação sazonais nos níveis de hormônio cortisol e na condição corpórea:
  - a. Espera-se que as espécies apresentem menor concentração de hormônio cortisol e melhor condição corpórea na estação chuvosa, uma vez que o desafio climático é menor (menor amplitude térmica, maior pluviosidade – ver descrição do clima) e há uma maior produtividade primária líquida (ver descrição do clima – associada indiretamente à oferta de recursos), para as três espécies.

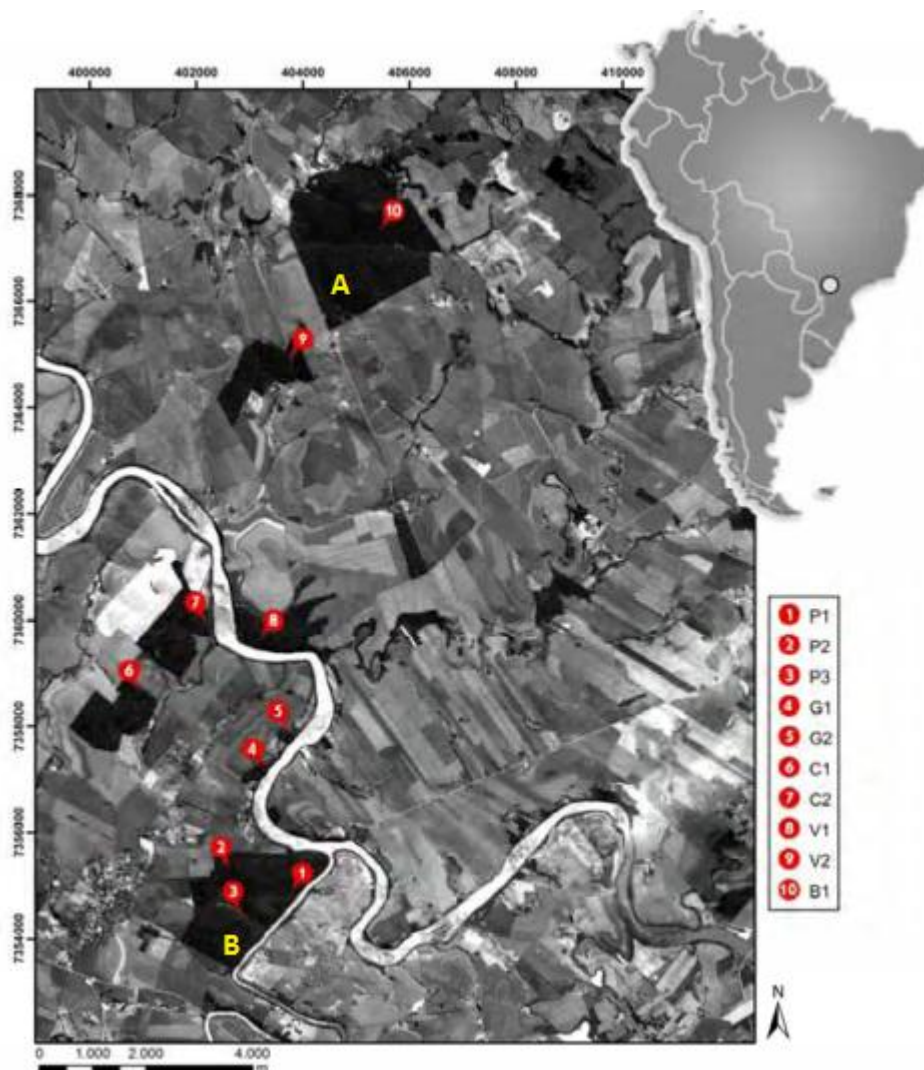
### 3. MATERIAL E MÉTODOS

---

#### 3.1. Área de Estudo

Parte do estudo foi conduzido em fragmentos florestais localizados nos municípios de Fênix (Parque Estadual Vila Rica do Espírito Santo) e São Pedro do Ivaí (Reserva Particular do Patrimônio Natural - Fazenda Barbacena), noroeste do estado do Paraná, sul do Brasil (Figura 1). A área está inserida nos domínios da Mata Atlântica *sensu lato*. O que resta da vegetação são fragmentos com diferentes tamanhos (menores que 600 ha), estruturas e históricos de exploração, isolados por extensas áreas agrícolas (milho, soja e cana-de-açúcar), algumas pastagens e matas ciliares degradadas. Foram registradas 14 espécies de duas famílias: Phyllostomidae e Vespertilionidae na área fragmentada (BIANCONI et al., 2004). As espécies com maior capturabilidade são *Artibeus lituratus* e *Carollia perspicillata*, seguidas por *A. fimbriatus* e *A. jamaicensis* (BIANCONI et al., 2006).

A área de mata contínua, controle do estudo por não sofrer os efeitos da fragmentação, está localizada no Parque Nacional do Iguaçu. Sua superfície total abrange uma área de 185.262,5 hectares. O Parque abriga a maior e mais importante área de floresta estacional semidecidual (floresta tropical subcaducifolia) do país. Em um levantamento da fauna de mamíferos voadores realizado no Parque por Sekiama e colaboradores (2001), foram registradas 26 espécies de morcegos distribuídas em quatro famílias, sendo a família Phyllostomidae a mais representativa, com *Artibeus lituratus* e *Sturnira lillium* como as espécies mais abundantes, seguidas por *A. fimbriatus*.



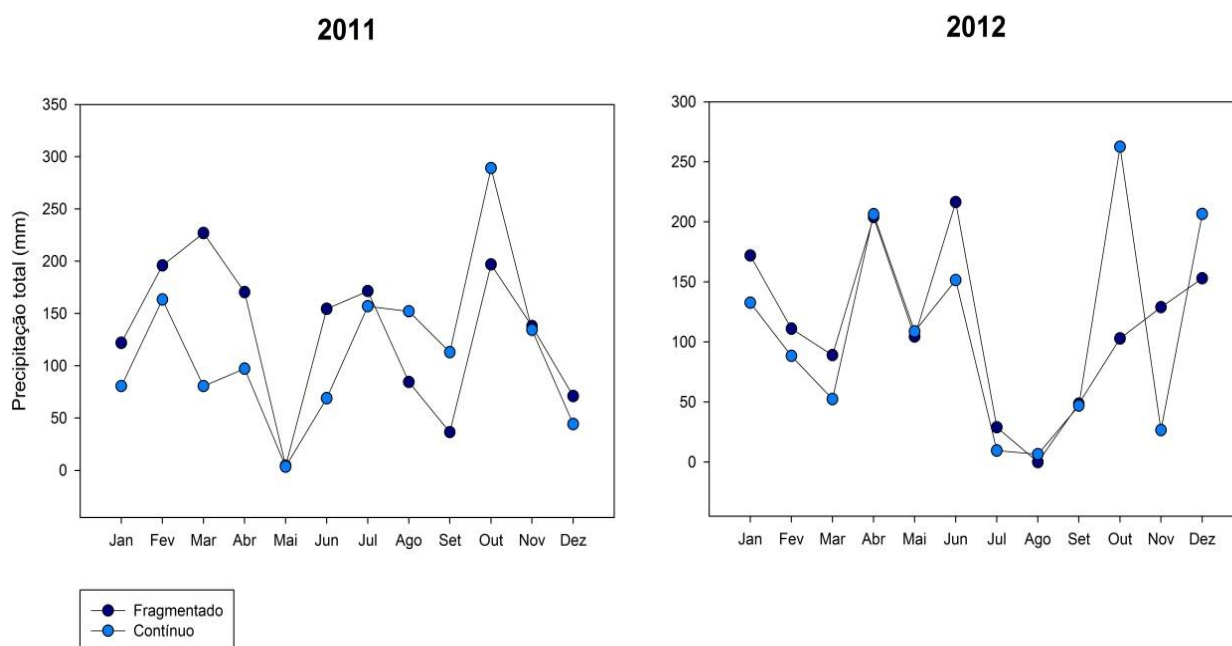
**Figura 1.** Área de estudo, inserida no domínio da Floresta Atlântica dos municípios de Fênix e São Pedro do Ivaí, estado do Paraná, sul do Brasil. A figura mostra (A) Barbacena (550 ha), limitado por plantios de cana-de-açúcar, por uma rodovia (PR-457) e pelo ribeirão Axel e (B) o Parque Vila Rica do Espírito Santo (354 ha), próximo à área urbana do município de Fênix e limitado por áreas de cultivo (milho ou soja) e pelos rios Ivaí e Corumbataí (modificado de BIANCONI, 2009).

### **3.2. Descrição do clima**

As coletas de dados de condição corpórea ocorreram durante estação seca (que daqui pra frente será considerada como ~~in~~verno”) e estação chuvosa (daqui pra frente considerada como ~~ver~~ão”) de 2011 e 2012, e as coletas de sangue para análises hormonais foram realizadas durante inverno de 2011, inverno e verão de 2012 e verão de 2013, sendo que os meses de coleta de inverno foram agosto e setembro e os meses de coleta de verão foram fevereiro e março. Esses meses foram escolhidos com base em análise preliminar de dados meteorológicos das áreas dos anos de 2000 a 2010. Consideraram-se então verão e inverno de 2011 e 2012 nas análises estatísticas das variáveis climáticas.

A descrição detalhada do clima para as áreas fragmentadas foi feita a partir de dados coletados pela estação meteorológica localizada na Usina Vale do Ivaí, em São Pedro do Ivaí, PR e para o ambiente contínuo pela estação climática do Sistema Meteorológico do Paraná – SIMEPAR de Foz do Iguaçu. A partir daí foi possível analisar as variações mensais nos anos de 2011 e 2012 de temperatura média, máxima e mínima, amplitude térmica (diferença entre temperaturas máxima e mínima diárias), bem como a precipitação total e média nos locais. Informações mais detalhadas acerca do clima, fisionomia e histórico de fragmentação, além de dados sobre a composição de espécies de morcegos da área podem ser encontradas em Bianconi e colaboradores (2004, 2006).

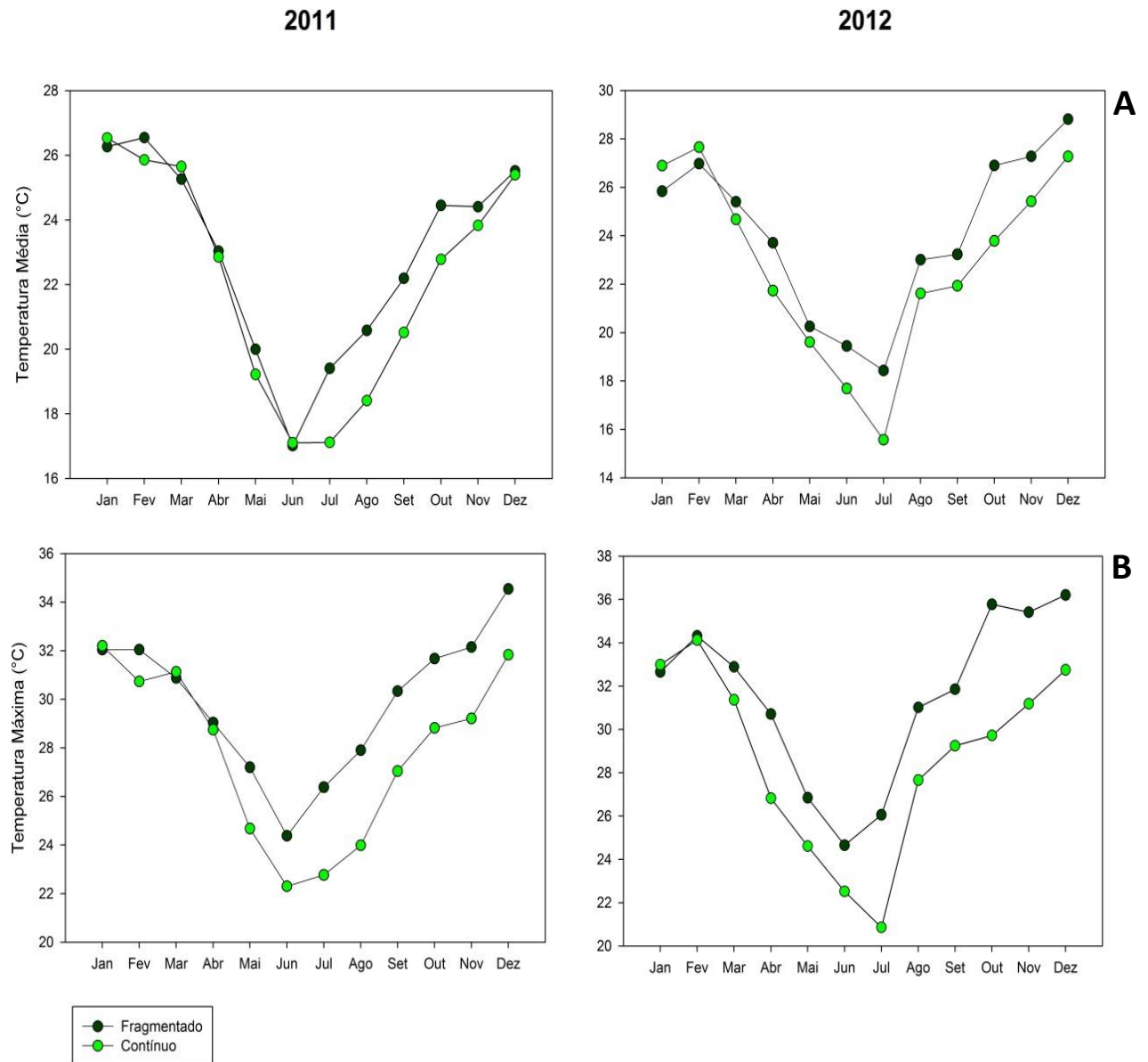
No ano de 2011, para a área contínua, a precipitação total variou entre 3 e 289 mm, nos meses de maio e outubro, respectivamente, entre 6 e 262 mm, nos meses de agosto e outubro do ano de 2012. Já para a área fragmentada, em 2011 a precipitação total variou entre 4 e 227 mm, nos meses de maio e março, e para o ano de 2012, variou entre 0 e 216 mm, nos meses de agosto e junho (Figura 2).



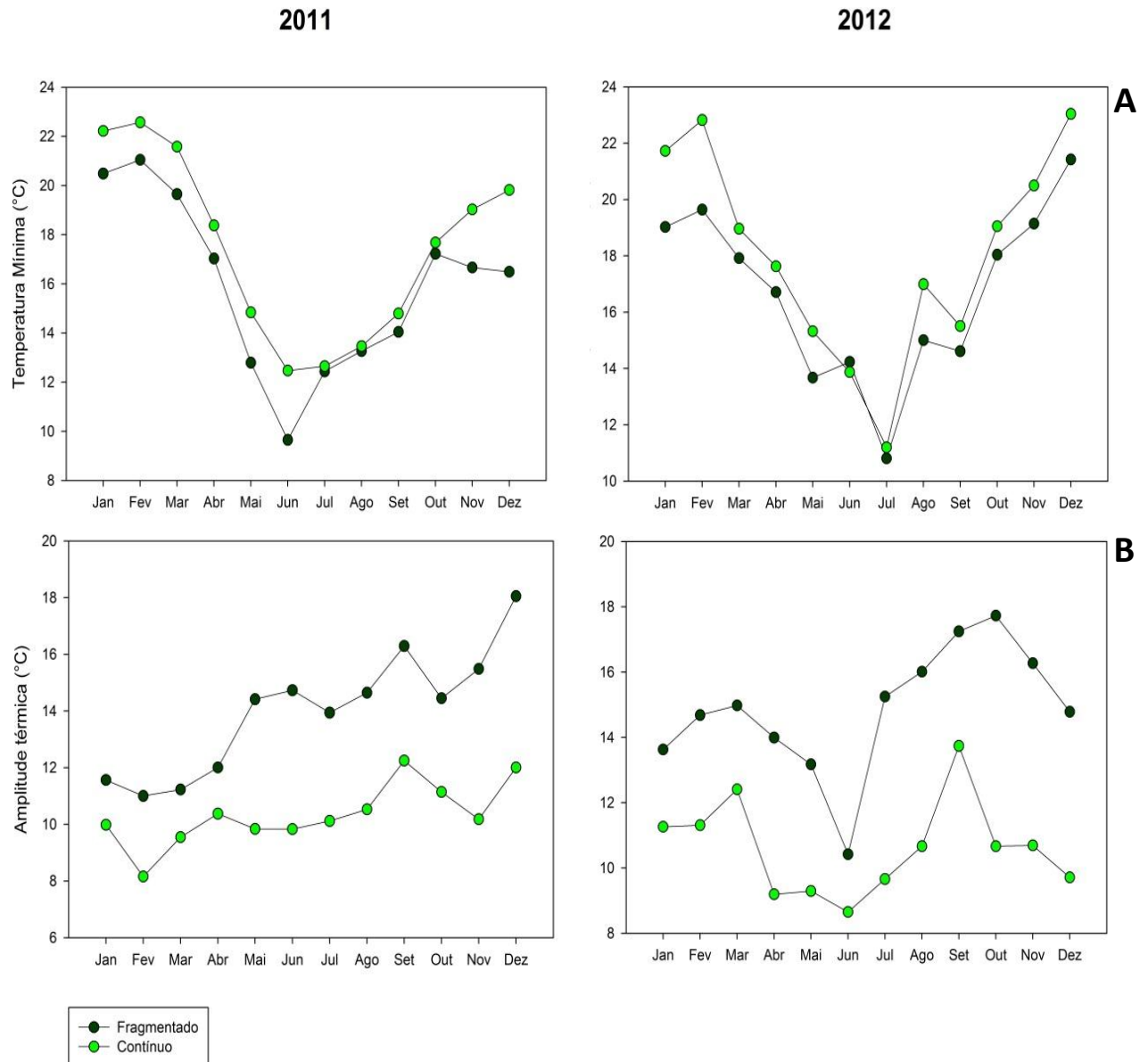
**Figura 2.** Variação mensal da precipitação total (mm) para as áreas fragmentada e contínua, nos anos de 2011 e 2012.

Para a área contínua no ano de 2011, as temperaturas médias mensais variaram entre 17 e 26 °C, as máximas variaram entre 23 e 32°C e as mínimas entre 12 e 22°C, com a maior amplitude térmica registrada no mês de setembro (12°C). No ano de 2012, as temperaturas médias variaram entre 15 e 27°C, as máximas entre 20 e 34°C e as mínimas entre 11 e 23°C,

sendo setembro novamente o mês de maior amplitude térmica ( $13^{\circ}\text{C}$ ). Já para o ano de 2011 na área fragmentada, as temperaturas médias mensais variaram entre  $17$  e  $26^{\circ}\text{C}$ , nos meses de junho e fevereiro, com as máximas variando entre  $24$  e  $32^{\circ}\text{C}$  e as mínimas entre  $9$  e  $21^{\circ}\text{C}$ , com dezembro apresentando maior amplitude térmica ( $18^{\circ}\text{C}$ ). No ano de 2012, as temperaturas médias mensais variaram entre  $18$  e  $28^{\circ}\text{C}$ , nos meses de julho e dezembro, as máximas entre  $24$  e  $36^{\circ}\text{C}$ , e as mínimas entre  $10$  e  $21^{\circ}\text{C}$ , com outubro registrando a maior amplitude térmica ( $17^{\circ}\text{C}$ ). Para o ano de 2013 foram obtidos dados climáticos apenas dos meses de janeiro, fevereiro e março. A precipitação total variou entre  $149$  e  $425$  mm para área contínua, nos meses de janeiro e fevereiro, e entre  $96$  e  $531$  mm para a área fragmentada, também em janeiro e fevereiro. As temperaturas médias variaram entre  $23$  e  $26^{\circ}\text{C}$ , e  $25$  e  $27^{\circ}\text{C}$ , máximas entre  $29$  e  $32$ , e  $31$  e  $35^{\circ}\text{C}$ , e mínimas entre  $19$  e  $21$ , e  $18$  e  $19^{\circ}\text{C}$ , áreas contínua e fragmentada, respectivamente (Figuras 3 e 4).



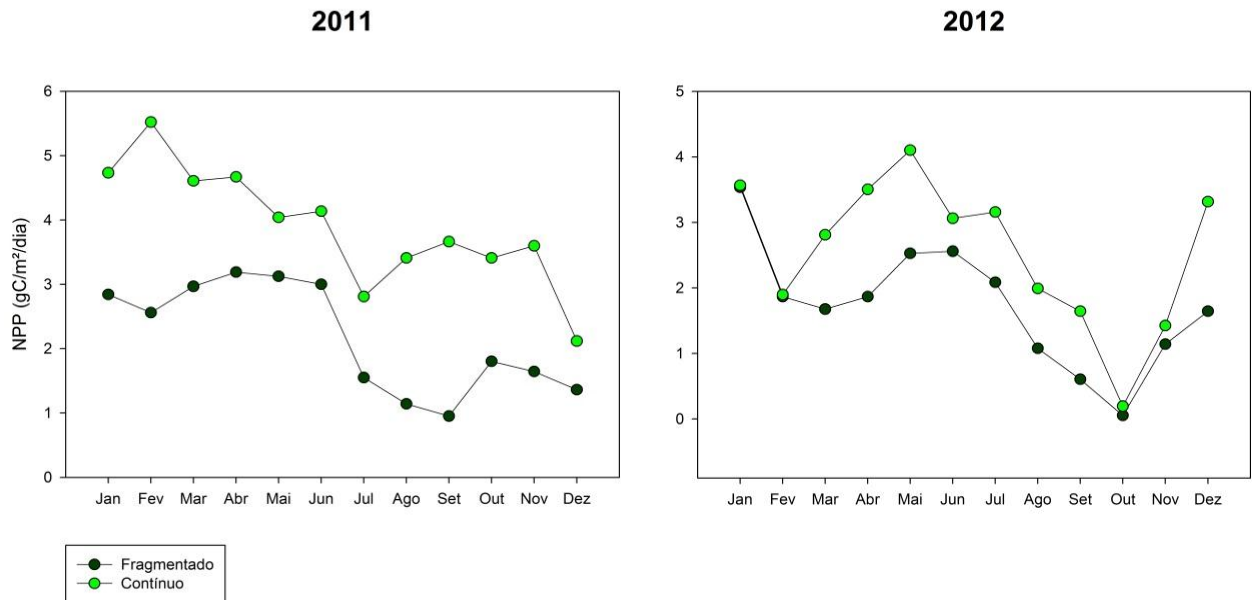
**Figura 3.** Variação mensal de parâmetros climáticos (°C) para as áreas fragmentada e contínua, nos anos de 2011 e 2012. **A:** temperatura média, **B:** temperatura máxima.



**Figura 4.** Variação mensal de parâmetros climáticos (°C) para as áreas fragmentada e contínua, nos anos de 2011 e 2012. **A:** temperatura mínima, **B:** amplitude térmica.

A produtividade primária líquida - PPL (→Net Primary Productivity”) é um dos processos ecológicos mais modelados, pois reflete tanto a produtividade da vegetação quanto o sequestro de carbono. Mudanças na PPL podem afetar a composição da atmosfera (PIMM; RAVEN, 2000), disponibilidade de água doce (SALA et al., 2000) e a biodiversidade (DEFRIES et al., 1999). Os dados para a área de estudo foram obtidos através do website da NASA (<http://neo.sci.gsfc.nasa.gov/>), e caracterizam a diferença entre a quantidade de dióxido de carbono absorvido pelas plantas em comparação com o quanto é emitido por elas. A área contínua apresenta produtividade primária líquida significativamente maior que a área fragmentada, tanto em 2011 quanto em 2012 ( $p < 0,001$ ). Para a área contínua o ano de 2011 foi em média mais produtivo que 2012, sendo fevereiro o mês de maior produtividade, e

dezembro, o menor, e em 2012, maio apresenta a maior produtividade e outubro a menor. No caso da área fragmentada não foi verificada diferença entre os anos ( $p=0,058$ ). Os meses de maior produtividade foram janeiro e abril e os meses de menor produtividade foram setembro e outubro, 2011 e 2012, respectivamente (Figura 5).

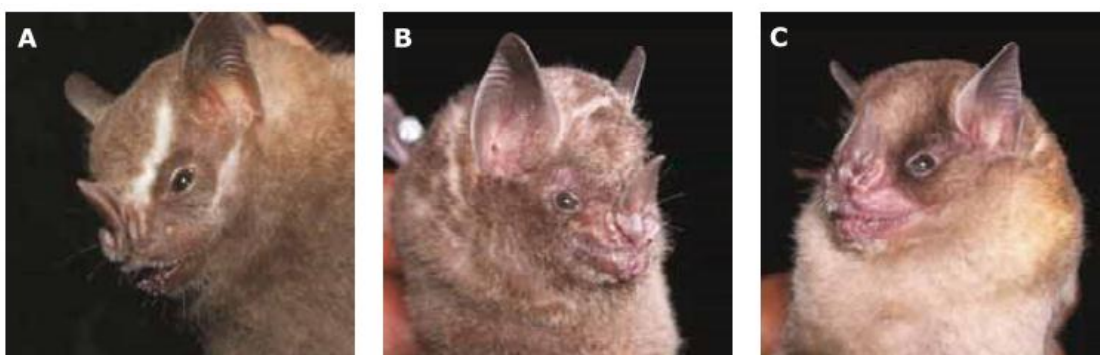


**Figura 5.** Variação mensal dos dados de PPL ( $\text{gC/m}^2/\text{dia}$ ) para as áreas fragmentada e contínua, nos anos de 2011 e 2012.

### 3.3. Espécies avaliadas

Foram consideradas três espécies, *Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata* e *Sturnira lilium* escolhidas devido a sua abundância no local de estudo, alta capturabilidade e diferentes históricos de vida (Figura 7). Estas espécies pertencem à família Phyllostomidae, de hábito predominantemente frugívoro, que se abrigam em ocos de árvores, sob folhagens, grutas e até edificações humanas. Variam de 18,5 g e 40 mm de antebraço (*Carollia perspicillata*) e 21 g e 42 mm de antebraço (*Sturnira lilium*) a 75 mm de antebraço, passando de 75 g (*Artibeus lituratus*). São espécies de ampla distribuição geográfica e encontradas em ambientes com forte influência antrópica, apresentando também diferenças quanto ao uso do ambiente (VIZOTTO; TADDEI, 1973; SIMMONS, 2005), com *A. lituratus* apresentando baixa fidelidade aos fragmentos e usando a paisagem fragmentada de forma conjunta o que sugere uma alta mobilidade e grande área de forrageio, provavelmente relacionada à exploração na busca por recursos, em especial *Ficus* sp. (Moraceae), seu alimento preferencial (BIANCONI et al., 2006). Em contraste,

segundo estes mesmos autores (BIANCONI et al., 2006), *Carollia perspicillata* apresentou uma área restrita de forrageio, determinada provavelmente pela abundância de *Piper* sp. (Piperaceae), planta reconhecida como seu alimento preferencial. Ainda que essas espécies em geral possuam alta capturabilidade nas áreas de estudo, ocorre um padrão diversificado de abundância entre as áreas. *A. lituratus* é numericamente dominante, tanto na área contínua como nos fragmentos. Já *C. perspicillata* é mais abundante nos fragmentos enquanto *S. lilium* possui maior expressividade numérica no ambiente contínuo (BIANCONI, 2004; SEKIAMA, 2001).



**Figura 7.** Espécies de filostomídeos selecionadas como modelo para o estudo, sendo (A) *Artibeus lituratus* (Foto: Bianconi, G.V.), (B) *Carollia perspicillata* (Foto: M.A.Mello) e (C) *Sturnira lilium* (Foto: M.A.Mello). Fonte: BIANCONI, 2009.

### 3.4. Captura dos animais

Os animais foram coletados por meio de redes de neblina nos dois fragmentos maiores (Parque Estadual Vila Rica do Espírito Santo, município de Fênix e RPPN Fazenda Barbacena, município de São Pedro do Ivaí), distantes 12 quilômetros entre si separados por matriz com predomínio de monocultura de cana-de-açúcar. Na área contínua controle, como forma de padronizar o desenho experimental, as coletas também foram feitas em duas áreas distantes 12 quilômetros entre si.

As coletas foram realizadas por aproximadamente 20 dias a cada 5 meses, durante os meses de fevereiro e março de 2011 e 2012 (verão), agosto e setembro de 2012 (inverno) e março de 2013 (verão). Os indivíduos capturados foram marcados com anéis metálicos numerados para identificação individual, e as seguintes características de cada animal foram registradas: espécie, sexo, condição reprodutiva, massa corpórea e tamanho do antebraço. As medidas de tamanho do antebraço, utilizadas como indicador de tamanho corpóreo, foram mensuradas com paquímetro de 0,1mm de precisão. As medidas de massa corpórea (peso)

foram obtidas com uma balança portátil com 0,01g de precisão (Ohaus Scouttm Electronic Balance), assim que o animal era capturado. O período de captura se estendia do anoitecer até o amanhecer. Foram considerados apenas indivíduos adultos, sendo fêmeas lactantes ou prenhes excluídas da análise, assim como recapturas ocorridas na mesma campanha.

### 3.5. Cálculo dos índices de condição corpórea

Não existe consenso sobre qual método para determinação do índice de condição corpórea seja mais adequado, e a escolha do índice geralmente se baseia na tradição dentro de cada disciplina. No entanto, os resultados podem mudar radicalmente de acordo com o método escolhido (PEIG; GREEN, 2010). Sendo assim, mais de um método foi utilizado para determinar a condição corpórea dos indivíduos amostrados.

#### 3.5.1. “Scale Mass Index ( $\hat{M}_i$ )”

Para avaliar a condição corpórea foi utilizado o “Scaled Mass Index ( $\hat{M}_i$ )”, proposto por Peig e Green (2009):

$$\hat{M}_i = M_i \left[ \frac{L_0}{L_i} \right]^{b_{SMA}}$$

, onde  $M_i$  e  $L_i$  são, respectivamente, as medidas de massa e de tamanho linear do indivíduo  $i$ ;  $b_{SMA}$  é o expoente escalonado, estimado através da regressão do tipo SMA (Standardized Major Axis regression) entre  $\ln M$  e  $\ln L$ ;  $L_0$  é um valor arbitrário de  $L$ , no presente caso utilizou-se a média aritmética de todos os indivíduos amostrados; e  $\hat{M}_i$  é a massa corpórea predita para o indivíduo  $i$  quando a medida de tamanho linear é padronizada para  $L_0$ .

Para possibilitar a comparação entre indivíduos com diferentes tamanhos de corpo, deve-se levar em consideração o processo de crescimento, já que é esperada uma mudança nos valores absolutos e proporcionais de reserva energética, devido ao processo normal de crescimento. Assim, uma vez que  $M$  e  $L$  fazem parte do mesmo processo de crescimento, ambos são indicadores de tamanho per se, torna-se necessário uma padronização mútua (PEIG; GREEN, 2009). Esse método foi escolhido para o presente estudo por levar em conta a variação ontogenética e dimorfismo sexual no tamanho do corpo, enquanto que os outros

métodos falharam na tentativa de estandardizar esses parâmetros. Peig e Green (2009) sugeriram a utilidade deste método para uma variedade de estudos em ecologia, biologia da conservação e manejo da fauna.

### **3.5.2. “Índice de Resíduos”**

Outro método utilizado foi o do resíduo da regressão linear entre a massa e uma medida corpórea linear (Ordinary least squares – OLS), no nosso caso o tamanho do antebraço, sendo o logaritmo da massa corpórea a variável dependente e o logaritmo do tamanho do antebraço a variável independente. Quando o valor de resíduo é positivo podemos afirmar que aquele indivíduo possui uma melhor condição corpórea comparada com um indivíduo com resíduo de menor valor ou valor negativo (JAKOB et al., 1996, SCHULTE-HOSTEDDE et al., 2001). Considerando os conceitos básicos dos índices de condição corpórea poderíamos assumir que um indivíduo que possui um peso maior ao predito pelo tamanho de uma característica corpórea teria mais tecido metabolizável do que indivíduos com peso abaixo do esperado (DOBSON, 1992), porém não é possível determinar se esta massa extra é unicamente gordura, a menos que o acúmulo de reserva seja específico para migração ou hibernação por exemplo. Caso contrário, essa massa extra pode ser decorrente do acúmulo de água, massa magra, proteína ou mesmo tecido esquelético. Assim, ao menos para pequenos mamíferos, estes índices refletem todas estas variações (SCHULTE-HOSTEDDE et al., 2001).

### **3.5.3. “Massa observada/massa predita”**

Neste caso, assumimos que a relação entre massa e tamanho do antebraço de indivíduos da área contínua reflete uma condição ideal. Assim, foi realizada uma regressão linear entre logaritmo da massa (variável dependente) e logaritmo do antebraço (variável independente) apenas com animais deste ambiente. Posteriormente, a massa esperada dos animais de ambientes fragmentados foi estimada, com base nestas regressões (KREBS; SINGLETON, 1993). A partir daí, o índice foi calculado através da razão entre massa observada e massa esperada (ou predita): se o valor de condição corpórea dos indivíduos de uma determinada população for igual ao valor esperado, que se considera o “ideal”, a razão

será igual a 1, caso os animais do ambiente fragmentado estejam com pior condição corpórea em relação à área contínua controle, a razão será menor que 1.

### **3.6. Dosagem de cortisol plasmático: Procedimentos Gerais**

O aumento da concentração dos hormônios glucocorticóides em mamíferos, após a indução de um agente estressor, leva geralmente entre 3 a 5 minutos para começar a ser detectável no sangue (WINGFIELD; ROMERO, 2001). Portanto, para se determinar os valores de base destes hormônios, é fundamental que a primeira coleta de sangue seja feita em tempo inferior a 3 minutos após a captura inicial do animal. Posteriormente a esta primeira coleta, o animal foi mantido em sacos de algodão (o que mimetiza um estresse-induzido – ROMERO; REED, 2004), e o sangue foi novamente coletado em intervalos regulares ao longo da noite. A frequência de coleta obedeceu ao critério de evitar extração de um volume de sangue que excedesse 1% da massa corpórea do indivíduo e, ao mesmo tempo, obter uma variação temporal que permitisse analisar a dinâmica de variação na concentração do hormônio. Assim, sempre que possível, foram realizadas quatro punções: a inicial e após 30, 60, e 180 minutos após a captura. O horário de captura se restringiu entre a faixa das 21h e 00h, uma vez que o estado nutricional dos animais pode alterar os níveis de hormônio cortisol.

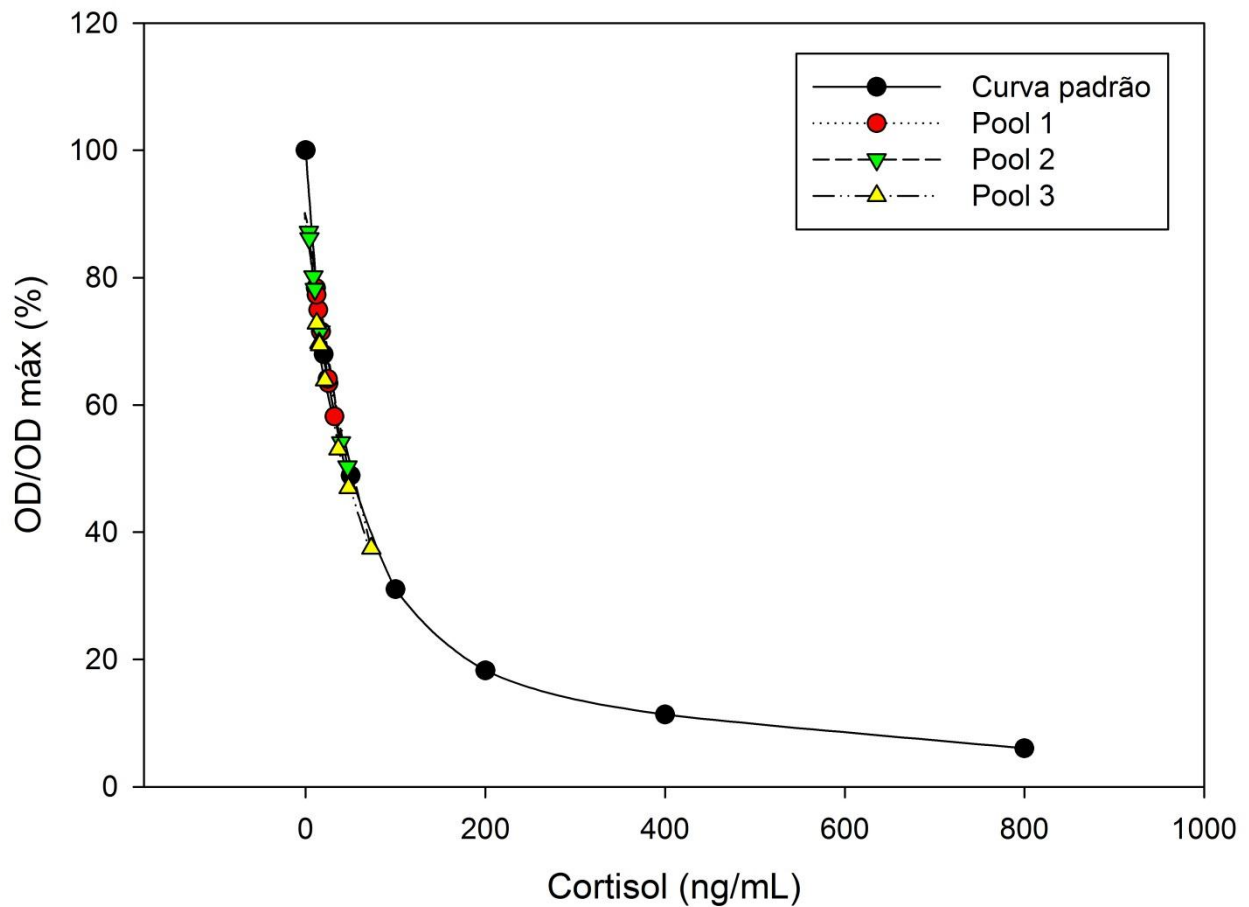
A coleta de sangue para as análises de hormônios foi feita através da punção da veia superior do propatágio ou do uropatágio com uma agulha de 0,3 mm de calibre. Após a punção o sangue foi colocado em capilares heparinizados, os quais foram selados temporariamente (Critoseal) e mantidos em isopor térmico. Ao final de cada noite de coleta as amostras de sangue foram levadas ao laboratório, e centrifugadas por 15 min a 10.000 rpm em microcentrífuga portátil. Em seguida o plasma foi separado das células sanguíneas. As amostras foram mantidas em freezer a -20°C até a quantificação dos hormônios. No Laboratório de Comportamento e Fisiologia Evolutiva, nas dependências da Universidade de São Paulo.

As amostras de plasma sanguíneo foram extraídas com éter segundo Mendonça e colaboradores (1996). Resumidamente, foram adicionados 3 mL de éter etílico às amostras de plasma, agitadas por 30 segundos e centrifugadas a 4°C por 9 minutos a 1800 rpm, sendo os tubos de ensaio contendo as amostras mantidos a -80°C por 7 min. A fase líquida foi então transferida para novos tubos de ensaio, os quais foram mantidos em capela de exaustão de

gases para evaporação do éter, por aproximadamente 72 horas. O hormônio glucocorticóide analisado foi o cortisol. Estudos com morcegos, apesar de evidenciarem presença tanto de cortisol quanto de corticosterona, verificaram que os perfis de variação de ambos eram iguais, mas que o cortisol apresentava maiores concentrações na circulação (REEDER et al., 2004a e b; REEDER et al., 2006; REEDER; WIDMAIER, 2009), facilitando a detecção e análises. Dessa forma, após o processo de extração, as amostras foram ressuspensas e a concentração de cortisol dosada através de kits comerciais de imunoenensaio enzimático (ELISA), segundo orientações do fabricante (*IBL International* - RE50261 - *Cortisol in human serum and plasma*). A leitura da placa foi realizada em espectrofotômetro (comprimento de onda 450 nm). A média do coeficiente de variação intra-ensaios foi de 2,02%. Foram testadas diversas diluições (2,5x, 5x, 10x, 20x), e por fim, os dados foram escolhidos de acordo com o menor coeficiente de variação.

Foram analisadas amostras de 26 indivíduos da espécie *Artibeus lituratus*, sendo 14 provenientes da área fragmentada e 12 da área contínua, e quatro amostras de indivíduos da espécie *Carollia perspicillata*, todos provenientes da área fragmentada, sendo assim, foram realizados testes estatísticos apenas para a espécie *A. lituratus*. Os dados com coeficiente de variação acima de 20% não foram considerados nas análises. O paralelismo com a curva padrão foi determinado a partir de três pools de amostras de plasma de *Artibeus lituratus*, uma vez que não foram obtidas amostras suficientes das outras espécies (Figura 3).

O baixo número amostral se deveu às restrições de horário impostas pela metodologia, à necessidade de se utilizar apenas indivíduos adultos e fora do período reprodutivo, além da baixa taxa de captura das duas espécies pequenas, *Sturnira lillium* e *Carollia perspicillata*. Não foi possível obter dados suficientes de baseline para nenhuma das espécies, uma vez que a concentração no plasma foi muito abaixo do que esperada, baseando-se em literatura, para a maior parte dos indivíduos (Figura 8), e devido a baixa sensibilidade do kit, não foi possível determinar a concentração de cortisol. As análises foram realizadas considerando apenas os tempos de punção de 30, 60 e 180 minutos, após a captura. Foram realizados perfis hormonais considerando os grupos Fragmentado – inverno e verão, Contínuo – inverno e verão.



**Figura 8.** Paralelismo para três pools de amostras plasmáticas com a curva padrão de cortisol.

### 3.7. Manuseio e Análise dos Dados

No caso de condição corpórea, foram realizadas preliminarmente análises de variância fatorial (ANOVA) para testar a influência dos anos de coleta, sexo, área e sazonalidade sobre a massa dos indivíduos e então determinar qual seria o agrupamento dos dados para realizar as regressões entre massa e antebraço que determinam cada índice. O agrupamento dos dados e as regressões realizadas mudam de acordo com a metodologia proposta por cada índice. Após o cálculo dos índices, foi realizada uma ANOVA de três fatores, para determinar diferença na condição corpórea entre as áreas fragmentada e contínua, levando em consideração o ano de coleta (2011 x 2012), área (fragmentada x contínua) e a sazonalidade (inverno x verão) para cada um dos índices calculados. Por fim, para comparar os índices entre si, foi realizada uma correlação entre os três índices calculados para os indivíduos de *A. lituratus* e uma correlação entre os três índices dos indivíduos de *C. perspicillata*.

No caso dos dados de cortisol obtidos, verificou-se que os não seguiam uma distribuição normal, portanto foram ajustados através da transformação em logaritmo natural. Testou-se a influência da massa sobre a concentração plasmática de cortisol, separadamente para cada tempo e, a partir disso, as análises estatísticas foram realizadas, uma vez que, caso a massa pode ser um dos fatores de influência na intensidade da liberação de hormônios glucocorticóides (WINGFIELD et al,1995). Foi gerado um Modelo Geral Linear (MGL) para testar a influência do sexo (macho e fêmea), tempo de punção (30, 60 e 180 minutos), sazonalidade (inverno e verão) e ambiente (fragmentado e contínuo), além das interações entre os fatores. Caso a interação não fosse significativa, era retirada para que o modelo ficasse mais robusto. Para verificar se há relação entre os parâmetros estudados foi realizada uma correlação de Pearson entre a concentração máxima de cortisol e os índices de condição corpórea dos indivíduos que possuíam os dois dados.

## 4. RESULTADOS

---

### 4.1. Índices de Condição corpórea

Foram obtidos dados de condição corpórea para 189 indivíduos da espécie *Artibeus lituratus*, sendo 77 provenientes da área fragmentada e 112 da área contínua, 18 indivíduos de *Carollia perspicillata*, sendo 12 da área fragmentada e seis da contínua, e 23 indivíduos de *Sturnira lillium*, sendo três da área fragmentada e 20 da contínua

#### 4.1.1. *Análises preliminares – “Scale Mass Index”*

Para *Artibeus lituratus* não foi possível testar todas as interações considerando todas as variáveis, assim o fator sexo foi excluído e testou-se apenas ano, estação e tratamento. Apenas as variáveis ano e estação foram significativas ( $F=27,30$  e  $12,83$ , respectivamente;  $p<0,001$ ). Foram realizadas regressões separadas por ano e por estação, no entanto, a regressão para o inverno de 2011 não foi significativa, assim realizou-se uma regressão única para o ano de 2011 e duas regressões para 2012, uma para inverno e outra para verão (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resultado das regressões significativas realizadas entre log massa corpórea e log do antebraço de *A. lituratus*, com valores de  $b$  e  $r$ , os quais são necessários para cálculo dos índices de condição corpórea.

| Regressão           | $b$   | $R$   | $p$     |
|---------------------|-------|-------|---------|
| <b>2011</b>         | 0,653 | 0,221 | 0,025*  |
| <b>Inverno 2012</b> | 1,737 | 0,497 | 0,003*  |
| <b>Verão 2012</b>   | 0,844 | 0,474 | <0,001* |

Para *Carollia perspicillata* foi possível testar o efeito de ano e tratamento, e apenas ano apresentou efeito significativo sobre a massa corpórea ( $F=9,231$ ;  $p<0,01$ ). Sendo assim,

foram realizadas duas regressões que, no entanto, não foram significativas. Os dados foram unidos e realizou-se uma regressão única, a qual também não foi significativa, logo não foi possível calcular nenhum índice para a espécie *Carollia perspicillata*.

Por fim, no caso de *Sturnira lillium* só foi possível testar o fator ano. Realizou-se então um teste-t entre as massas dos anos de 2011 e 2012 e não foi verificada diferença entre as médias ( $p=0,09$ ), portanto foi realizada uma regressão única para determinar o índice (Tabela 2).

**Tabela 2.** Resultado da regressão significativa realizada entre log massa corpórea e log do antebraço de *S. lillium*, com valores de b e r, os quais são necessários para cálculo dos índices de condição corpórea.

| Regressão   | b     | R     | p      |
|-------------|-------|-------|--------|
| 2011 + 2012 | 2,187 | 0,565 | 0,005* |

#### 4.1.2. Análises preliminares – Índice de Resíduos

Para *A. lituratus*, foi realizada uma nova regressão com todos os indivíduos ( $p<0.001$ ), e os resíduos gerados por essa regressão foram utilizados como medida de condição corpórea.

Já para *S. lillium*, foram utilizados os resíduos da mesma regressão utilizada para o cálculo do “Scale Mass Index” (Tabela 3).

#### 4.2.2. Análises preliminares – Índice Yobs/Ypred

Para *A. lituratus*, a partir da regressão entre o log da massa e o log do antebraço dos animais provenientes do ambiente contínuo ( $p<0,05$ ), gerou-se a seguinte equação:  $\text{Massa} = 0,786 + (0,809 * \text{Antebraço})$ .

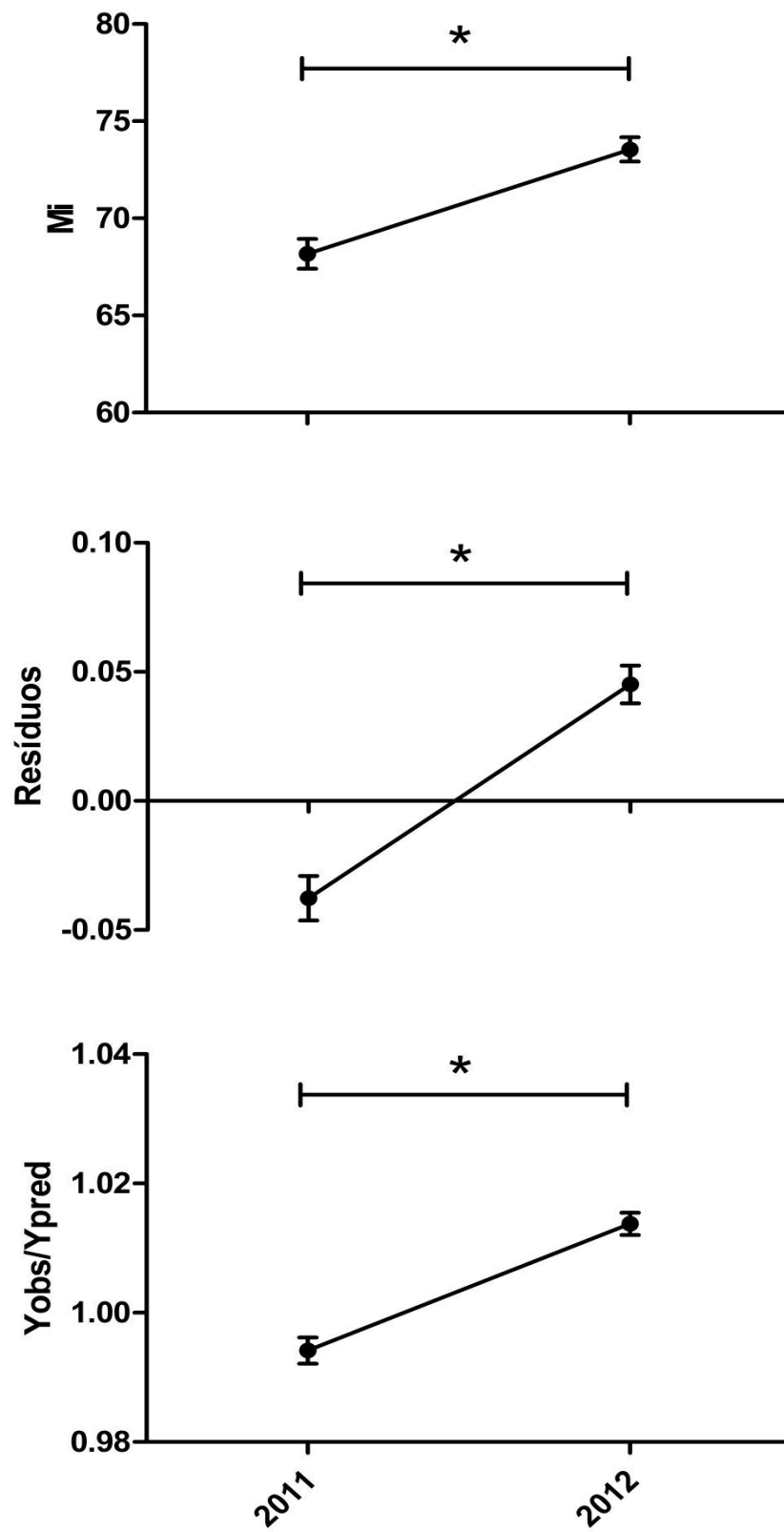
Já no caso de *S. lillium*, a regressão entre log da massa e log do antebraço dos animais do ambiente contínuo ( $p<0,05$ ) gerou a equação:  $\text{Massa} = -3,634 + (1,779 * \text{Antebraço})$ .

#### 4.2.3. Análise estatística dos Índices

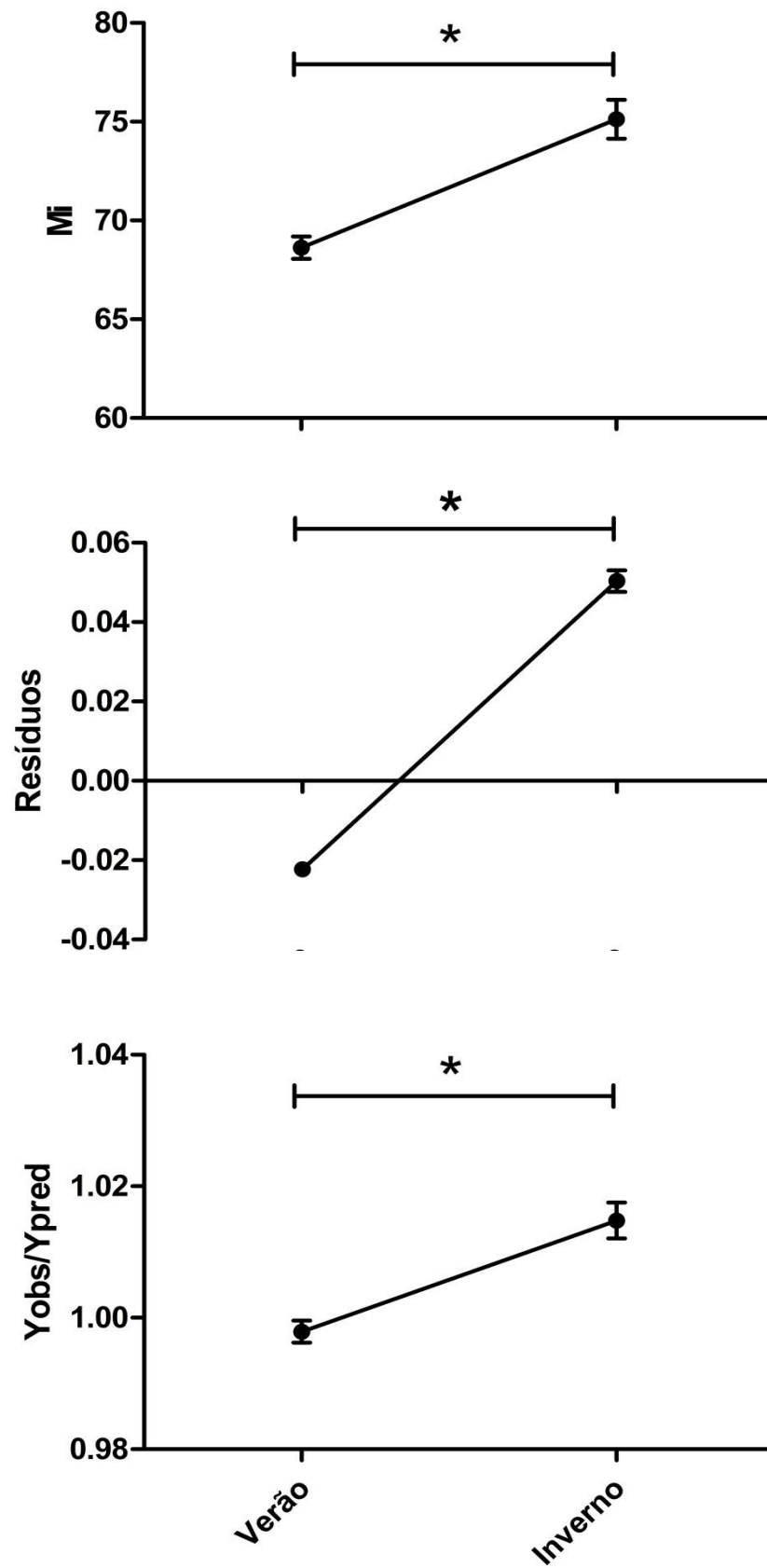
Os resultados diferiram entre os índices no caso da espécie *Artibeus lituratus*, com o “Scale Mass Index” indicando diferença entre anos de coleta ( $F=7,65$ ;  $p<0,01$ ), estações

( $F=22,09$ ;  $p<0,001$ ) e ambientes ( $F=4,42$ ,  $p<0,05$ ), enquanto que os outros dois índices indicam diferença significativa apenas para anos de coleta ( $F=24,15$  e  $18,94$ , Índices Resíduos e  $Y_{obs}/Y_{pred}$ , respectivamente;  $p<0,001$ ) e estações ( $F=18,94$  e  $18,35$ , Índices Resíduos e  $Y_{obs}/Y_{pred}$ , respectivamente;  $p<0,001$ ).

Em todos os casos, animais do ano de 2012 apresentam média de condição corpórea maior que animais do ano de 2011 (Figura 9). Assim como animais coletados no inverno apresentam média maior que animais coletados no verão (Figura 10).

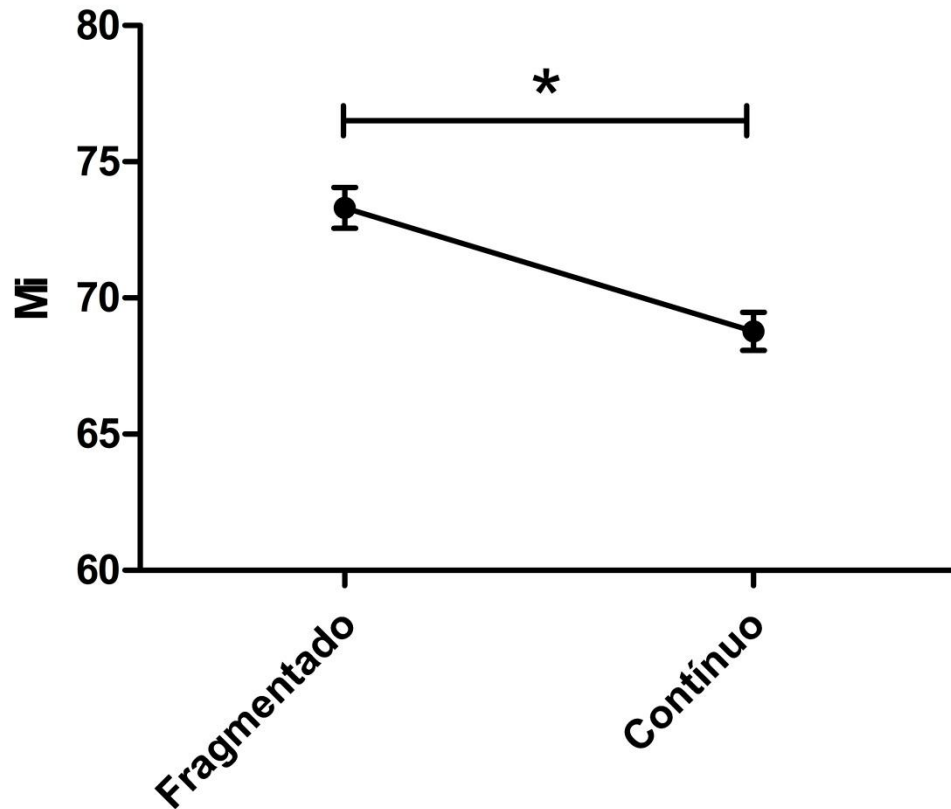


**Figura 9.** Médias e erros padrão dos índices de condição corpórea testados para *Artibeus lituratus*, considerando o ano de coleta. (A) —Scale Mass Index”; (B) Índice de Resíduos; (C)  $Y_{obs}/Y_{pred}$ . (\*) Diferença significativa.



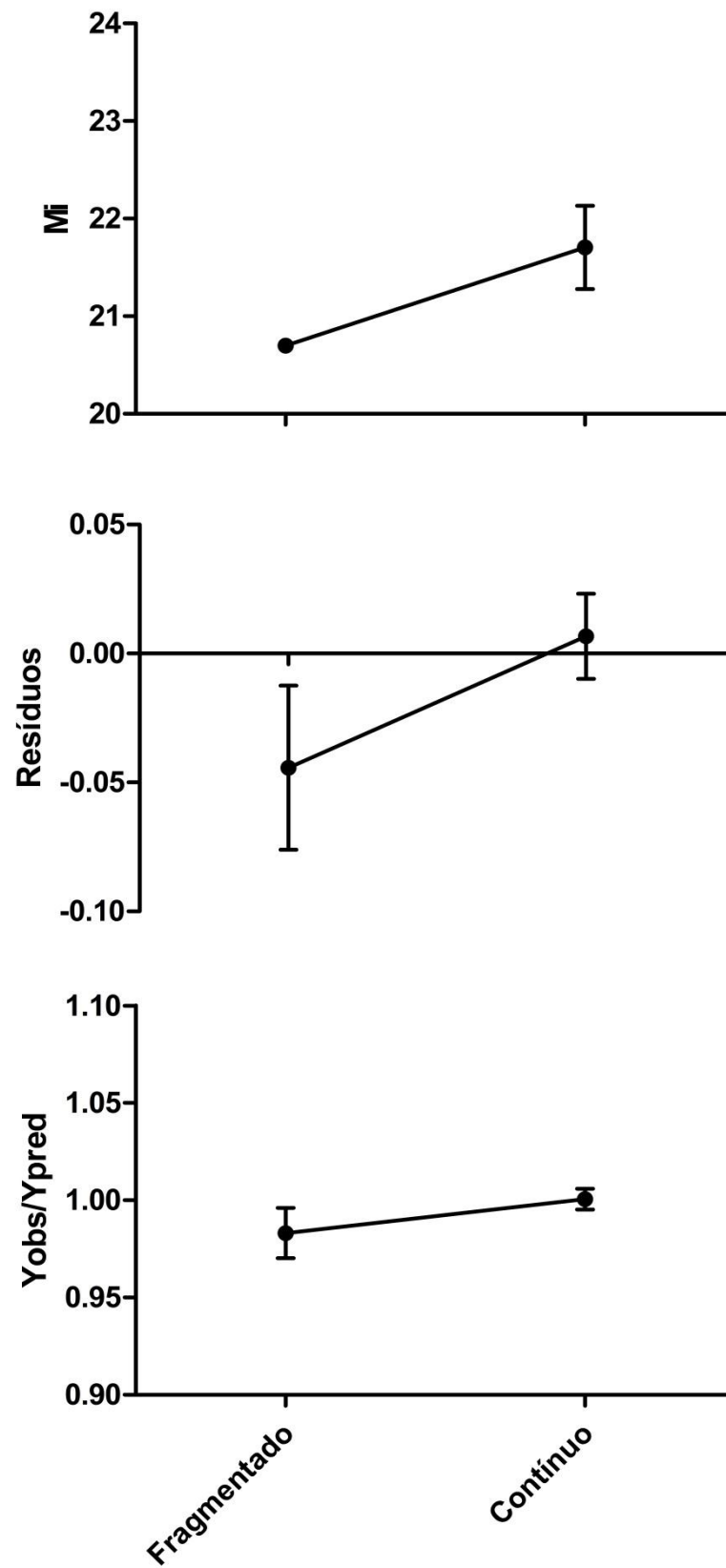
**Figura 10.** Médias e desvios padrões dos índices de condição corpórea testados para *Artibeus lituratus*, considerando a estação do ano. (A) “Scale Mass Index”; (B) Índice de Resíduos; (C) Yobs/Ypred. (\*) Diferença significativa.

De acordo com Scale Mass Index, animais do ambiente fragmentado apresentam condição corpórea significativamente maior que animais de ambiente contínuo (Figura 11).



**Figura 11.** Média e desvio padrão do “Scale Mass Index”, considerando o ambiente de coleta.  
(\*) Diferença significativa.

No caso de *S. lillium* apenas a diferença entre as áreas foi testada, devido à baixa representatividade sazonal, assim foi realizado um teste-t. Não foi verificada diferença significativa entre os ambientes para nenhum dos índices testados (Figura 12).



**Figura 12.** Médias e desvios padrões dos índices de condição corpórea testados para *Sturnira lillium*. Não foi verificada diferença entre os ambientes para nenhum dos índices.

Testou-se então a correlação entre os três índices calculados para *A. lituratus* e *S. lillium*. Verificou-se que em ambos os casos, os três índices são altamente correlacionados (Tabela 3).

| <i>A. lituratus</i> | <b>Mi</b> | <b>Resíduos</b> | <b>Y/Y</b> |
|---------------------|-----------|-----------------|------------|
| <b>Mi</b>           | 1,0000    | 0,8428          | 0,8271     |
|                     | p= ---    | p=0,00*         | p=0,00*    |
| <b>Resíduos</b>     | .8428     | 1,0000          | 0,9995     |
|                     | p=0,00*   | p= ---          | p=0,00*    |
| <b>Y/Y</b>          | 0,8271    | 0,9995          | 1,0000     |
|                     | p=0,00*   | p=0,00*         | p= ---     |

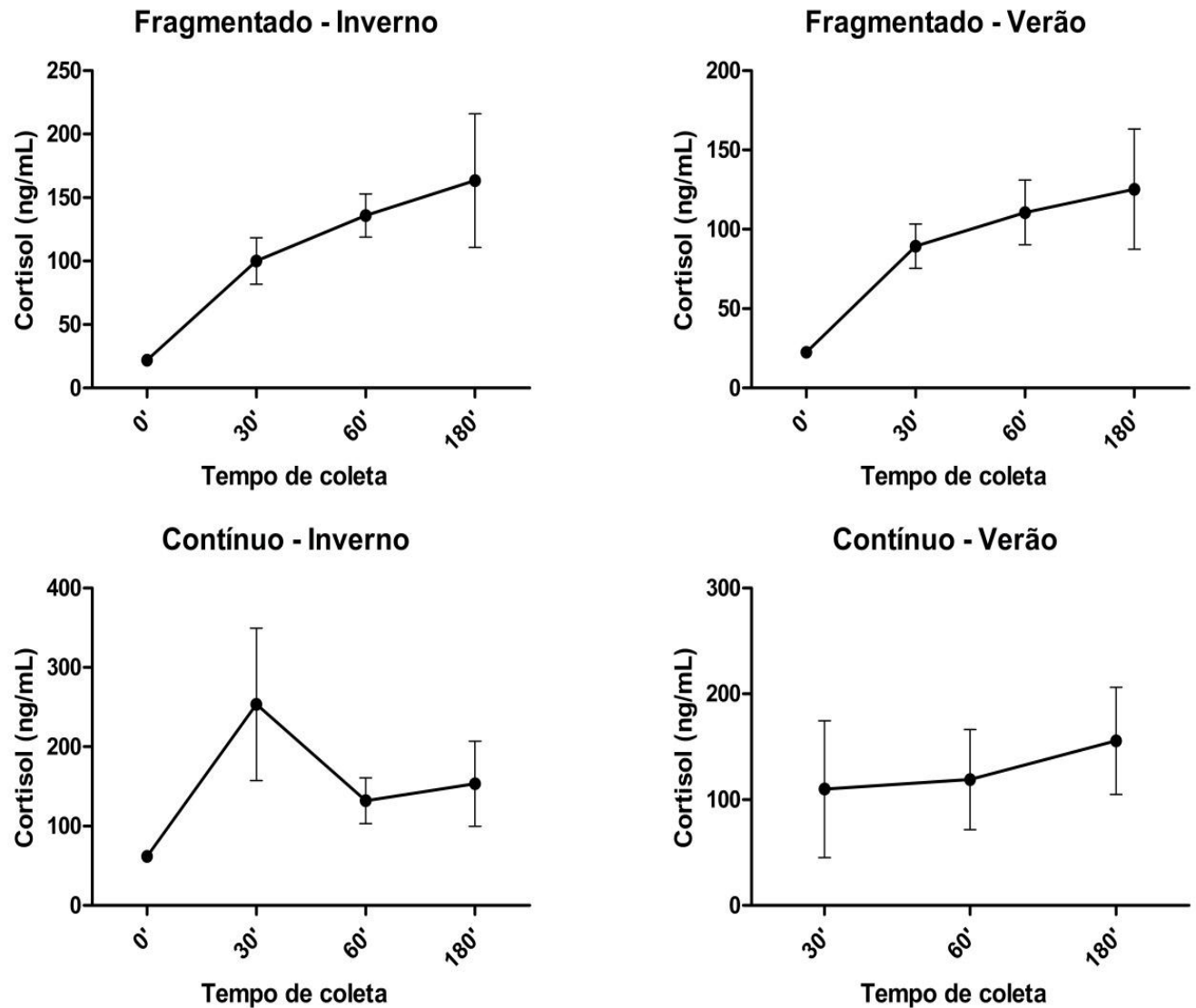
  

| <i>S. lillium</i> | <b>Mi</b> | <b>Resíduos</b> | <b>Y/Y</b> |
|-------------------|-----------|-----------------|------------|
| <b>Mi</b>         | 1,0000    | 0,8775          | 0,8103     |
|                   | p= ---    | p=0,000*        | p=0,000*   |
| <b>Resíduos</b>   | 0,8775    | 1,0000          | 0,9919     |
|                   | p=0,000*  | p= ---          | p=0,00*    |
| <b>Y/Y</b>        | 0,8103    | 0,9919          | 1,0000     |
|                   | p=0,000*  | p=0,00*         | p= ---     |

**Tabela 3.** Matriz de Correlação entre os índices calculados para *A. lituratus* e *S. lillium*.

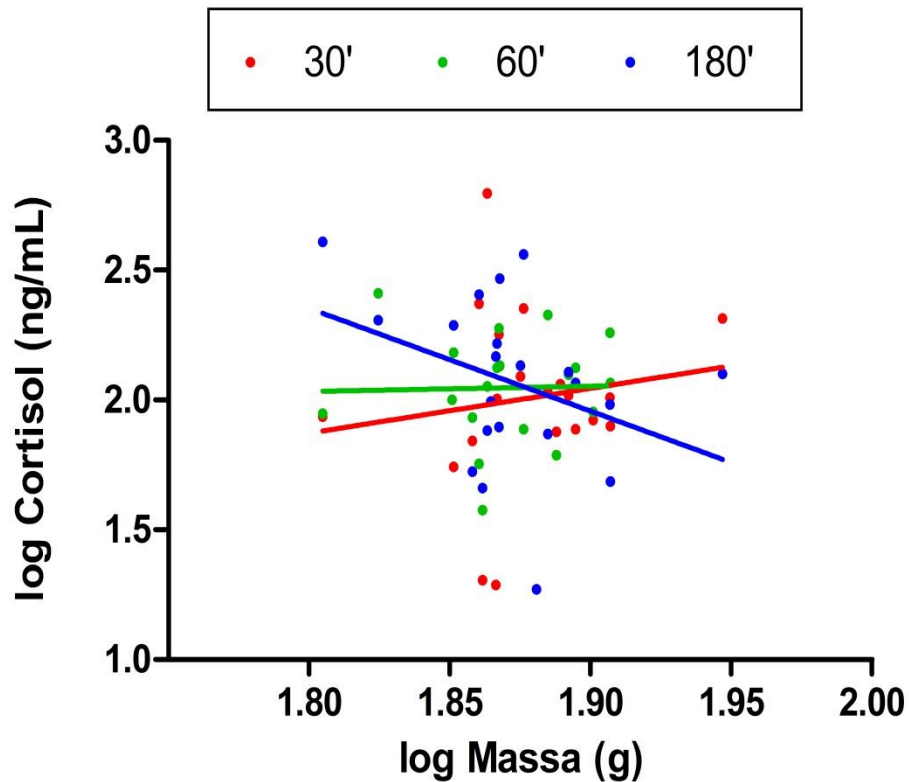
### 4.3. Dosagem de cortisol plasmático

Para o ambiente fragmentado, em ambas as estações, pode-se observar uma semelhança no padrão do perfil de concentração de cortisol. A concentração aumenta em todos os tempos, com o pico ocorrendo após 180 minutos do estímulo estressor. Os dados de baseline são semelhantes, porém, durante o inverno, a concentração de cortisol é maior em todos os tempos de coleta. Já para o ambiente contínuo, verifica-se um padrão diferenciado no perfil hormonal ao compararmos as estações. Durante o inverno, o pico da concentração ocorre após 30 minutos da indução a estresse, enquanto que no verão, o pico ocorre apenas aos 180 minutos. (Figura 13).



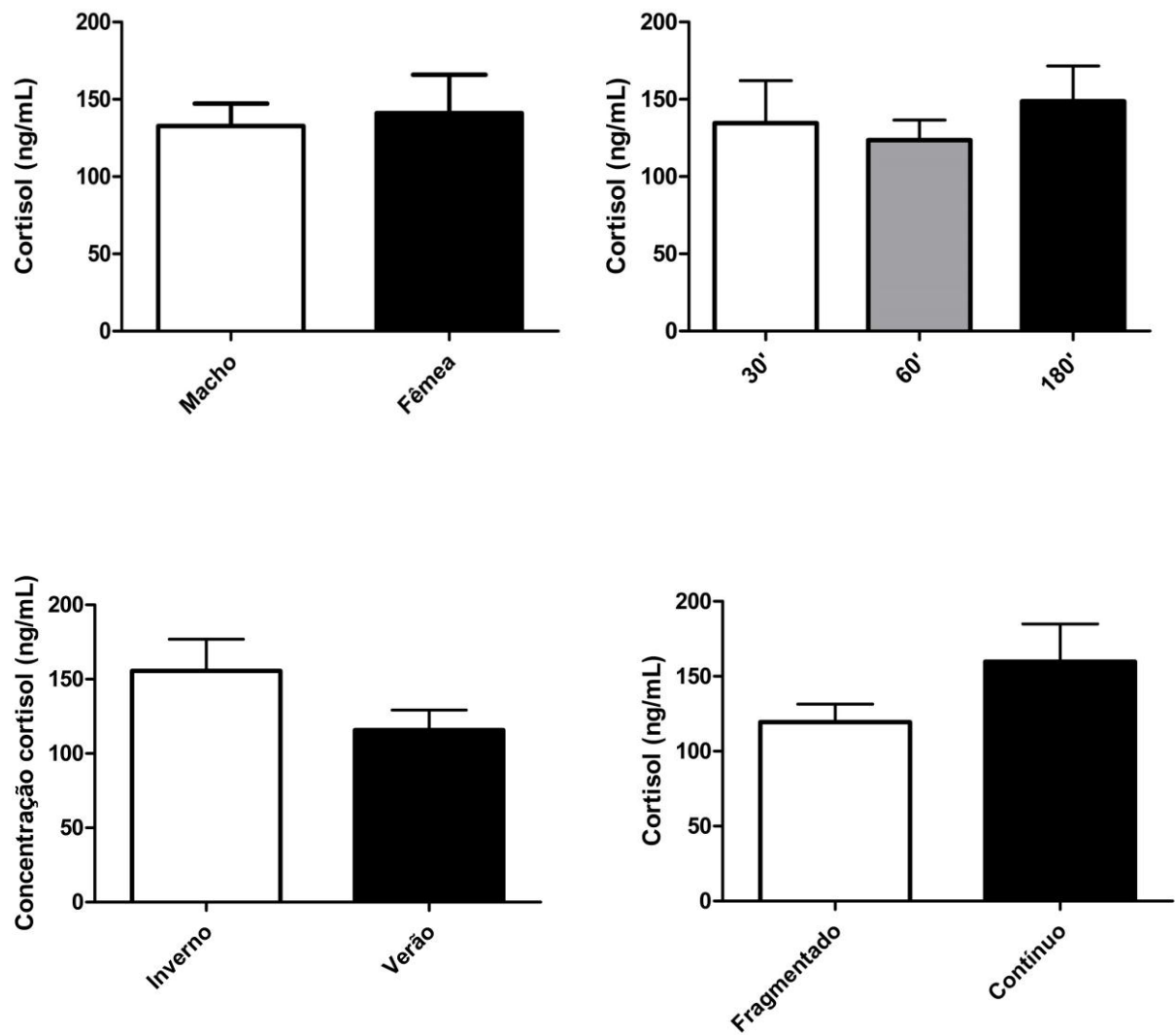
**Figura 13.** Médias e desvios padrão das concentrações plasmáticas de cortisol para a espécie *A. lituratus*, para cada tempo de coleta, separadas em estações e área de coleta.

Não foi verificada influência da massa sobre a concentração de cortisol plasmático, em nenhum tempo de punção (Figura 14), sendo assim, desconsiderou-se a variável massa nas análises posteriores.



**Figura 14.** Regressão linear entre log da massa dos indivíduos (g) e log da concentração de cortisol (ng/mL), separadamente para cada tempo de punção.

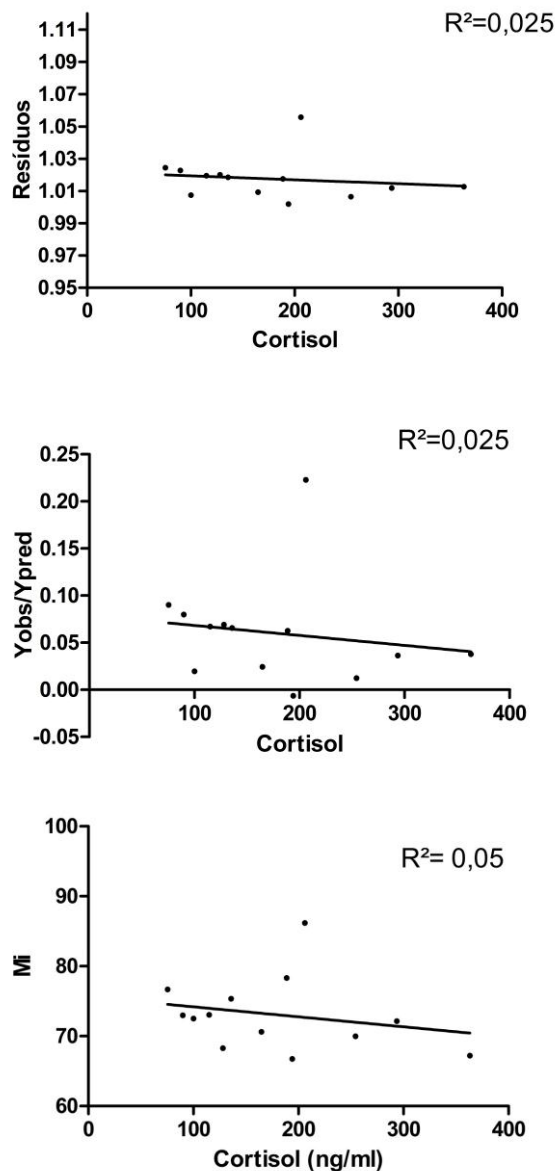
Testou-se o efeito do sexo, da sazonalidade, do ambiente e do tempo de punção sob a concentração plasmática de cortisol através de um Modelo Geral Linear (MLG). Todas as interações foram testadas e uma vez que nenhuma delas foi significativa, foram retiradas para que o modelo ficasse mais robusto. Por fim, a análise de variância do modelo final não indicou diferença nas médias de cortisol para nenhuma das variáveis testadas (Figura 15).



**Figura 15.** Médias e erros padrão das concentrações plasmáticas de cortisol (ng/mL) para a espécie *A. lituratus*, separadamente entre: (A) sexos – macho (n=38) e fêmea (n=23); tempos, 30 (n=21), 60 (n=19) e 180 minutos (n=21); ambientes – fragmentado (n=36) e contínuo (n=25); estações – inverno (n=31) e verão (n=30).

#### 4.3.1. Concentração de Cortisol e Condição corpórea

Para verificar se os dados de concentração de cortisol e condição corpórea apresentam relação, foi realizada uma correlação de Pearson entre os índices calculados e o valor de pico de condição corpórea do indivíduo correspondente, para os indivíduos em que havia os dois dados. Nenhuma correlação apresentou significância (Figura 16).



**Figura 16.** Correlações entre a concentração de cortisol e os índices de condição corpórea —Scale Mass Index” (Mi), Índice de Resíduos e Índice Massa observada/Massa predita (Yobs/Ypred) para os indivíduos da espécie *A. lituratus* em que ambos os dados foram coletados.

## 5. DISCUSSÃO

---

### 5.1. Condição corpórea

Foram utilizados três índices diferentes para inferir a condição corpórea das populações estudadas, uma vez que índices diferentes muitas vezes podem trazer resultados diferentes. No entanto, os diferentes índices apresentam uma alta correlação, para as duas espécies testadas e além disso, indicaram resultados semelhantes, com o “Mass Scaled Index” apenas se diferenciando dos outros quando o fator ambiente foi considerado para *A. lituratus*.

Os resultados obtidos no presente trabalho são contrários aos esperados inicialmente. Não foi observada diferença significativa na condição corpórea das populações de *S. lillium* e, no caso de *A. lituratus*, esse índice foi maior no hábitat alterado para um dos índices testados. Estes resultados sugerem que a fragmentação não estaria causando estresse energético para nenhuma das espécies. São diversas as possíveis explicações para que o balanço energético dessas espécies não seja afetado ou, no caso de *A. lituratus*, seja afetado positivamente.

Tem-se da literatura que *A. lituratus* apresenta grande plasticidade alimentar e, em caso de escassez de recursos, esses animais consomem uma variedade de espécies de plantas disponíveis, utilizando-se de uma estratégia alimentar mais generalista (PASSOS; GRACIOLLI, 2004). Apesar de grandes consumidoras de *Ficus* sp. e *Cecropia* sp. (PASSOS et al., 2003), as espécies de *Artibeus* podem flexibilizar sua dieta, devido à variação geográfica e densidades de figueiras (FLEMING, 1986), por exemplo. Um incremento na quantidade de nutrientes na dieta da espécie poderia melhorar o balanço energético e consequentemente aumentar a condição corpórea da população. O fato dos indivíduos desta espécie se deslocarem por grandes distâncias, utilizando o mosaico de fragmentos como um contínuo (BIANCONI et al. 2006), parece facilitar ampliação do nicho alimentar.

A capacidade de tolerar a fragmentação do hábitat requer maior capacidade de deslocamento, maior tolerância à escassez de recursos e maior capacidade de ajustar os sistemas fisiológicos responsáveis pela manutenção da homeostase. Estas capacidades estão associadas a uma melhor condição corpórea. Apesar de não ser possível diferenciar causa e efeito nesta relação, e tampouco determinar quais os mecanismos específicos usados para

assegurar uma maior condição corpórea, o fato de *A. lituratus* ajustar esta condição também em função da sazonalidade, independentemente do grau de conservação da área, sugere que esta capacidade pode ser uma característica da espécie. Além disso, *A. lituratus* apresentou maiores índices de condição corpórea no ano de 2012, o qual, em ambas as áreas, apresentou maior amplitude térmica e menor precipitação média diária e menor produtividade primária, corroborando os resultados já discutidos: em situações menos favoráveis, esta espécie é capaz de manter a condição corpórea. Esta capacidade confere uma vantagem adaptativa em situações aonde o ambiente é modificado de forma rápida e imprevisível e, portanto, constitui um atributo que permite a esta espécie tolerar os efeitos da fragmentação.

*S. lillium* não apresentou diferenças na condição corpórea em resposta à fragmentação. Possivelmente essa espécie possui outras estratégias alternativas que possibilitam sua permanência nas áreas fragmentadas. Já foi demonstrado que essa espécie adota uma estratégia termoregulatória, reduzindo a temperatura corporal e entrando em estado de hipotermia, em resposta à restrição de alimentos em ambientes de baixa temperatura, tanto em cativeiro, quanto em campo (AUDET; THOMAS, 1997). Essa depressão da temperatura corpórea em mamíferos e aves homeotérmicas tem como consequência a redução no gasto energético e na perda de água evaporativa (VOGT; LYNCH, 1982), e, de acordo com Audet e Thomas (1997), estima-se que a economia energética para essa espécie varia entre 30 e 73%, dependendo da temperatura corporal mínima atingida (entre 22 e 31°C). Nesse mesmo estudo, foi evidenciada uma forte relação entre hipotermia e perda na massa corpórea, sugerindo que esse ajuste da temperatura corporal está relacionado com mudanças no tamanho dos estoques de gordura. Por ser uma espécie de pequeno tamanho corporal, uma pequena depleção nos estoques energéticos já é suficiente para que esses animais entrem em hipotermia. Assim, a possibilidade de economizar energia através da redução na temperatura corpórea pode conferir uma vantagem na ocupação de ambientes instáveis ou modificados, e possivelmente é uma estratégia que pode contribuir com a permanência dessa espécie em ambientes fragmentados.

## **5.2. Dosagem de cortisol plasmático**

Sabe-se que a sensibilidade do eixo HPA (hipotálamo-pituitária-adrenal), responsável pela resposta do estresse, pode variar de indivíduo para indivíduo dentro de uma mesma população (WINGFIELD et al., 1998). A variação na resposta e na intensidade de liberação de hormônios glucocorticóides pode estar relacionada a vários fatores, como por exemplo,

status social, massa corpórea, condição corpórea, tamanho dos depósitos de gordura, estágio reprodutivo (SCHWABL, 1995; WINGFIELD, 1994; WINGFIELD et al., 1995; KLOSE et al., 2006), e essa variação individual pode responder a diferentes fatores dependendo da espécie, não podendo ser estabelecida uma relação universal (WINGFIELD et al., 1998). No caso presente, não foi verificada nenhuma relação dos dados de cortisol com massa corpórea ou condição corpórea, assim, possivelmente essa variação individual se deve a outros fatores, que não foram detectados por esse estudo.

A concentração de base de cortisol e a concentração após um estresse induzido apresentam efeitos fisiológicos e comportamentais diferentes, assim, para uma avaliação mais completa do status fisiológico de uma população em relação a outra, os dois tipos de dados devem ser utilizados (ROMERO, 2004). No caso do presente trabalho, foi possível testar apenas a concentração de cortisol após o estresse induzido, uma vez que as concentrações dos dados de baseline foram menores do que as esperadas (COLAS-ROSAS, 2009; REEDER et al., 2004; LEWANZIK et al., 2012)..

Para avaliar o estresse induzido, a concentração de cortisol foi determinada após 30, 60 e 180 minutos do evento estressor, que no caso ocorria no momento da captura dos animais. Esperava-se que houvesse diferença entre os tempos para cada tratamento, indicando um momento de pico na concentração e uma posterior queda, que refletiriam a resposta normal a um estímulo estressor (ROMERO, 2004). Alguns trabalhos indicam que, no caso de morcegos, após 45-60 minutos do estímulo, a concentração já atinge seu pico (KLOSE et al., 2006), no caso desse trabalho, não foi verificada diferença entre os tempos de coleta, assim, a partir dos 30 minutos, pode-se considerar que a concentração de cortisol já havia atingido o auge. Além disso, esperávamos que aos 180 minutos já pudesse ser detectada uma redução na concentração de cortisol plasmático, o que também não aconteceu. O fato de repetidas punções de sangue terem sido realizadas no mesmo indivíduo pode ter impossibilitado a detecção dessa queda, uma vez que o estímulo estressor se repetiu.

O sexo não foi um fator de influência na concentração de cortisol dos indivíduos testados. É importante ressaltar que os indivíduos analisados estavam fora do período reprodutivo, uma vez que mudanças no estado reprodutivo podem alterar a sensibilidade do eixo HPA (KLOSE et al., 2006). Reeder e colaboradores (2006) também não detectaram diferença nos níveis de cortisol entre machos e fêmeas da espécie de morcego *Pteropus vampyrus*. Já no caso do trabalho realizado por Reeder e colaboradores (2004c) com a espécie de morcego *Myotis lucifugus*, detectou-se diferença entre machos e fêmeas nos níveis de glucocorticóides, porém essa diferença variou dependendo do estado reprodutivo da fêmea

(início ou final de gravidez, período de lactação, pré-hibernação) e do momento de captura (antes ou depois da alimentação).

Conforme esperado inicialmente para a espécie *Artibeus lituratus*, não foi observada diferença entre os níveis totais de cortisol do ambiente fragmentado e contínuo. Apesar de a área fragmentada apresentar menor produtividade (evidenciada pelo menor PPL), o que pode estar relacionado indiretamente com disponibilidade de recursos, a espécie *A. lituratus* utiliza a paisagem fragmentada de forma integrada, como uma paisagem contínua, não sendo fiel a apenas um fragmento e apresentando alta mobilidade entre os fragmentos (BIANCHONI et al., 2006), além disso, apresenta uma grande plasticidade alimentar, adotando uma dieta mais generalista em caso de escassez de recursos (PASSOS; GRACIOLLI, 2004). Isso fica evidente quando verificamos que, de fato, animais do ambiente fragmentado estão apresentando melhor condição corpórea, ou seja, possivelmente não está havendo um estresse energético, relacionado à falta de recursos e, portanto, isso não está se refletindo na liberação de cortisol.

Por fim, verificou-se que a sazonalidade também não apresenta um efeito significativo sobre os níveis de cortisol dos indivíduos analisados. Esse resultado vai de encontro à hipótese inicial, pois era esperado que houvesse uma flutuação nos níveis de hormônio em função da sazonalidade já que numa revisão realizada por Romero (2002), concluiu-se que na maior parte das espécies terrestres estudadas há uma modulação sazonal tanto dos níveis basais de hormônios glucocorticóides quanto na secreção de hormônios num caso de estresse induzido. Essa relação entre uma dada estação do ano e a regulação do eixo HPA se mostra espécie-específica, sexo-específica e depende muito do custo energético relativo que cada estação pode ter para cada espécie (REEDER; KRAMER, 2005). De fato, ciclos sazonais na funcionalidade eixo HPA evoluíram em resposta a mudanças previsíveis de fatores abióticos, como as estações do ano, e fatores bióticos, como a estação reprodutiva, e esses ritmos são especialmente bem marcados em espécies que habitam locais com mudanças sazonais extremas e de recursos limitados (REEDER; KRAMER, 2005). No caso da espécie de morcego *Artibeus jamaicensis*, em um estudo realizado no Panamá, verificou-se que a estação seca está relacionada com um aumento da atividade reprodutiva e, conseqüentemente, há um aumento nos níveis de glucocorticóides (KLOSE et al., 2006). Nesse caso, foi constatado que o aumento do glucocorticóide está relacionado ao período reprodutivo, e não diretamente ao fator ambiental. Já para um estudo realizado com as espécies de morcego *Carollia perspicillata* e *Desmodus rotundus*, verificou-se que para *C. perspicillata*, uma espécie frugívora, a variação sazonal nos níveis de cortisol máximo foi diferente para as duas

populações estudadas: aquelas originárias de uma “floresta seca”, em que há uma flutuação sazonal na disponibilidade de recursos, apresentaram diferenças nos níveis de cortisol máximo entre as estações, enquanto que a população pertencente à “floresta úmida”, na qual os recursos são igualmente abundantes ao longo do ano, não apresentou diferença nos níveis de cortisol máximo entre as estações (LEWANZIK et al., 2012). No caso da espécie *D. rotundus*, uma espécie hematófaga, não foi verificada diferença nas concentrações de cortisol basal entre o ambiente de origem (floresta seca ou úmida), no entanto, a concentração de cortisol máximo variou entre os ambientes e as estações. Essa variação parece não estar relacionada com a disponibilidade de recursos, pois além de haver uma disponibilidade relativamente constante de presas ao longo do ano, os animais provenientes da “floresta úmida” apresentam níveis maiores de cortisol máximo, mesmo estando mais próximos da fonte de alimento (LEWANZIK et al., 2012).

## 6. CONCLUSÃO

---

O presente estudo fornece dados que permitem uma abordagem mais aprofundada dos efeitos da fragmentação sobre algumas espécies de morcegos. Os dados de condição corpórea indicam uma melhor condição corpórea para as populações de *A. lituratus* no ambiente fragmentado, na estação seca e no ano de menor produtividade primária e de maior desafio climático. Contrariando a hipótese inicial, os dados de cortisol não estão correlacionados com os de condição corpórea, não havendo diferença nos níveis de cortisol dos animais do ambiente fragmentado quando comparados aos animais do ambiente contínuo. Também não foi verificada flutuação sazonal nos níveis de cortisol para a espécie *A. lituratus*. Possivelmente esta espécie apresenta atributos que lhe conferem uma plasticidade ecológica, comportamental e até mesmo fisiológica, o que garante uma vantagem adaptativa para lidar com situações menos favoráveis. Para a espécie *S. lilium*, a diferença não significativa da condição corpórea entre os ambientes indica que essa espécie provavelmente responde às alterações no hábitat com uma estratégia distinta. A redução no gasto energético a partir do torpor é uma medida eficaz e que pode explicar a não-alteração nos índices de condição corpórea testados.

Os resultados obtidos com esse trabalho são pontuais, porém de extrema relevância, pois trazem informações fundamentais a respeito da resposta fisiológica dessas espécies em um curto período de tempo, além de novas informações sobre dados de cortisol para morcegos, e sobre a relação entre índices de condição corpórea e a concentração de cortisol em resposta aos efeitos da fragmentação. Não obstante, é fundamental que mais estudos sejam realizados, de modo que se entenda de forma abrangente, os mecanismos fisiológicos utilizados pelas espécies para lidar com essas mudanças.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

AUDET, D.; THOMAS, D. W. Facultative hypothermia as a thermoregulatory strategy in the phyllostomid bats, *Carollia perspicillata* and *Sturnira lilium*. **Journal of Comparative Physiology**, v. 167, p. 146-52, 1997.

BIANCONI, G.V.; MIKICH, S.B.; PEDRO, W.A. Movements of bats (Mammalia, Chiroptera) in Atlantic Forest remnants in southern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 23, n. 4, p. 1199-1206, 2006.

BRADSHAW, D. Environmental endocrinology. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 152, p. 125–141, 2007.

BROSSET, A.; CHARLES-DOMINIQUE, P.; COCKLE, A.; COSSON, J.; MASSON, D. Bat communities and deforestation in French Guiana. **Canadian Journal of Zoology**, v.74, p. 1974–1982, 1996.

BUSCH, D.S.; HAYWARD L.S. Estresse in a conservation context: a discussion of glucocorticoid actions and how levels change with conservation-relevant variables. **Biological Conservation**, v. 142, p. 2844–2854, 2009.

CAREY, C. How physiological methods and concepts can be useful in conservation biology. **Integrative and Comparative Biology**, v. 45, n. 1, p. 4-11, 2005.

CASTRO-ARELLANO, I.; PRESLEY, S. J.; SALDANHA, L. N.; WILLIG, M. R.; WUNDERLE, J. M. Effects of reduced impact logging on bat biodiversity in terra firme forest of lowland Amazonia. **Biology Conservation**, v. 138, p. 269-285, 2007.

CHRISTE, P.; ARLETTAZ, R.; VOGEL, P. Variation in intensity of a parasitic mite (*Spinturnix myoti*) in relation to the reproductive cycle and immunocompetence of its bat host (*Myotis myotis*). **Ecology Letters**, v. 3, p. 207–212, 2000.

COLAS-ROSAS, P. F. Estresse nos morcegos *Artibeus obscurus* e *Artibeus fimbriatus* (Chiroptera, Phyllostomidae) como resposta à perturbação ambiental. **Dissertação de Mestrado**. Instituto de Biociências, Unesp, Rio Claro, SP, 2009.

COOKE, S. J.; O'CONNOR, C. M. Making conservation physiology relevant to policy makers and conservation practitioners. **Conservation Letters**, v. 3, n. 3, p. 159-166, 2010.

COSSON, J.F.; J.M. PONS; MASSON, D.. Effects of forest fragmentation on frugivorous and nectarivorous bats in French Guiana. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 15, n. 4, p. 515-534, 1999.

CYR, N.E.; ROMERO, L.M. Identifying hormonal habituation in field studies of stress. **Gen. Comp. Endocrinol.**, v. 161, p. 295–303, 2009.

DOBSON, F.S. Body mass, strutral size, and life-history patterns of the Columbian ground squirrel. **American Naturalist**, v. 140, p. 109-125, 1992.

DRINNAN, I. N. The search for fragmentation thresholds in a southern Sydney suburb. **Biological Conservation**, v.124, p. 339-349, 2005.

ELLENBERG, U.; SETIAWAN, A.N.; CREE, A.; HOUSTON, D.M.; SEDDON, P.J. Elevated hormonal stress response and reduced reproductive output in yellow-eyed penguins exposed to unregulated tourism. **General and Comparative Endocrinology**, v. 152, p. 54–63, 2007.

ESTRADA, A.; COATES–ESTRADA, R. Bats in continuous forest, forest fragments and in an agricultural mosaic hábitat–island at Los Tuxtlas, Mexico. **Biological Conservation**, v. 2, p. 237–245, 2002.

EVELYN, M. J.; STILES, D. A. Roosting requirements of two frugivorous bats (*Sturnira lilium* and *Arbiteus intermedius*) in fragmented Neotropical forest. **Biotropica**, v. 35, p. 405–418, 2003.

FAHRIG, L.; MERRIAM, G. Conservation of Fragmented Populations. **Conservation Biology**, v. 8, p. 50-59, 1994.

FENTON, M.B.; ACHARYA, L.; AUDET, D.; HICKEY, M.B.C.; MERRIMAN, C.; OBRIST, M.K.; SYME, D.M. Phyllostomid bats (Chiroptera: Phyllostomidae) as indicators of hábitat disruption in the Neotropics. **Biotropica**, v. 24, p. 440-446, 1992.

FLEMING, T. H. Opportunism versus specialization: the evolution of feeding strategies in frugivorous bats. In: ESTRADA, A.; FLEMING, T. H. (ed.). **Frugivores and seed dispersal**. Dordrecht, The Netherlands: Dr. W. Junk Publishers, 1986. p. 105-116.

FOWLER, G.S. Behavioral and hormonal responses of Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) to tourism and nest site visitation. **Biological Conservation**, v. 90, p. 143–149, 1999.

GALINDO-GONZÁLEZ, J.; SOSA, V.J. Frugivorous bats in isolated trees and riparian vegetation associated with human-made pastures in a fragmented tropical landscape. **Southwestern Naturalist**, v. 48, 2003.

GALINDO-GONZÁLEZ, J.; GUEVARA S & SOSA, V.J. Bat- and bird-generated seed rains at isolated trees in pastures in a tropical rainforest. *Conservation Biology*, v.14, p. 1693–1703, 2000.

GOSLER, A. G. Environmental and social determinants of winter fat storage in the great tit *Parus major*. **Journal of Animal Ecology**, p. 1-17, 1996.

GOYMANN, W.; MOSTL, E.; GWINNER, E. Corticosterone metabolites can be measured noninvasively in excreta of European stonechats (*Saxicola torquata rubicola*). **The Auk**, v. 119, p. 1167–1173, 2002.

HENRY, M.; COSSON, J.F.; PONS, J.M. Abundance may be a misleading indicator of fragmentation sensitivity : the case of fig-eating bats. *Biological Conservation*, v. 139, p. 462-467, 2007.

HUMPHREY, S. R. Nursery roosts and the community diversity of nearctic bats. **J. Mammal**, v. 56, p. 321-346, 1975.

JAKOB, E. M.; MARSHALL, S. D.; UETZ, G. W. Estimating fitness: a comparison of body condition indices. **Oikos**, v. 77, p. 61-67, 1996.

JANIN, A.; LENA, J.P.; JOLY, P. Beyond occurrence: Body condition and stress hormone as integrative indicators of habitat availability and fragmentation in the common toad. **Biological Conservation**, v. 144, n. 3, p. 1008-1016, 2011.

JOHNSTONE, C. P.; REINA, R. D.; LILL, A. Impact of anthropogenic habitat fragmentation on population health in a small, carnivorous marsupial. **Journal of Mammalogy**, v. 91, n. 6, p. 1332-1341, 2010.

JONES, G.; JACOBS, D. S.; KUNZ, T. H.; WILLIG, M. R.; RACEY, P. A. Carpenoctem: the importance of bats as bioindicators. **Endangered Species Research**, v. 8, p. 93 – 115, 2009.

KANUCH, P.; KRISTIN, A.; KRISTOFIK, J. Phenology, diet, and ectoparasites of Leisler's bat (*Nyctalus leisleri*) in the western Carpathians (Slovakia). **Acta Chiropterologica**, v. 7, p. 249–257, 2005.

KLOSE, S. M.; SMITH, C. L.; DENZEL, A. J.; KALKO, E. K. V. Reproduction elevates the corticosterone stress response in common fruit bats. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 192, p. 341–350, 2006.

KREBS, C. J.; SINGLETON, G. R. Indices of condition for small mammals. **Australian Journal of Zoology**, v. 41, p. 317–323, 1993.

LEWANZIK, D.; KELM, D. H.; GREINER, S.; DEHNHARD, M.; VOIGT, C. C. Ecological correlates of cortisol levels in two bat species with contrasting feeding habits. **General and Comparative Endocrinology**, v. 177, n. 1, p. 104–112, 2012.

MARTÍNEZ-MOTA, R.; VALDESPINO, C.; SÁNCHEZ-RAMOS, M.A.; SERIO-SILVA, J.C. Mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. **Oikos**, v. 1148, p. 1883–1891, 2009.

MCEWEN, B. S.; WINGFIELD, J. C. The concept of allostasis in biology and biomedicine. **Hormones and behavior**, v. 43, n. 1, p. 2–15, 2003.

MCEWEN, B. S.; WINGFIELD, J. C. What's in a name? Integrating homeostasis, allostasis and stress. **Hormones and behavior**, v. 57, n. 2, p. 105, 2010.

MIKICH, S. B.; OLIVEIRA, K. L. Revisão do plano de manejo do Parque Estadual Vila Rica do Espírito Santo. Curitiba: Mater Natura; Brasília: FNMA/MMA, 2003. 452p.

MILLER, T.; BRADSHAW, S.D. Adrenocortical function in a field population of a macropodid marsupial (*Setonix brachyurus*, Quoy & Gaimard). **J. Endocrinol.**, v. 82, p. 159–170, 1979.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G; A. B; KENT, J. Biodiversity Hotspots for conservation priorities. **Nature**, Londres, v. 403 p. 853 – 858, 2000.

NAVARRO-CASTILLA, Á.; BARJA, I.; OLEA, P. P.; PIÑEIRO, A.; MATEO-TOMÁS, P.; SILVÁN, G.; ILLERA, J. C.. Are degraded habitats from agricultural crops associated with elevated faecal glucocorticoids in a wild population of common vole (*Microtus arvalis*)?. **Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde**, 2013.

PASSOS F. C.; GRACIOLLI, G. Observações da dieta de *Artibeus lituratus* em duas áreas do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.21. n. 3, p. 487-489, 2004.

PASSOS, F. C. et al. Frugivoria em morcegos (Mammalia, Chiroptera) no Parque Estadual de Intervales, sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 3, p. 511-517, 2003.

PEIG, J.; GREEN, A.J. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. **Oikos**, v. 1148, p. 1883–1891, 2009.

PEIG, J.; GREEN, A. J. The paradigm of body condition: a critical reappraisal of current methods based on mass and length. **Functional Ecology**, v. 24, p. 1323-1332, 2010.

PERES, C.A.; GARDNER, T.A.; BARLOW, J.; ZUANON, J.; MICHALSKI, F.; LEES, A.; VIEIRA, I., MOREIRA, F.; FEELEY, K.J. Biodiversity conservation in human-modified Amazonian forest landscapes. **Biological Conservation**. v. 143, p. 2314–2327, 2010.

PÖRTNER, H.O., FARRELL, A.P. Physiology and climate change. **Science**, v. 322, p690–692, 2008.

PRESLEY, S. J.; WILLIG, M. R.; WUNDERLE, J. M.; SALDANHA, L. N. Effects of reduced-impact logging and forest physiognomy on bat populations of lowland Amazonian forest. **Journal of Applied Ecology**, v. 45, p. 14-25, 2008.

PUTZ, S.; GROENEVELD, J.; ALVES, L.; METZGER, J.; EHUTH, A. Fragmentation drives tropical forest fragments to early successional states: A modelling study for Brazilian Atlantic forests. **Ecological Modelling**, v. 222, n. 12, p. 1986-1997, 2011.

RACEY, P. A.; ENTWISTLE, A. E. Conservation ecology. In: KUNZ, T. H.; FENTON, M. B. (ed.), **Bat ecology**. Chicago: Chicago University Press, 2003. p. 680-743.

REEDER, D. M.; KOSTECZKO, N. S.; KUNZ, T. H.; WIDMAIER, E. P. Changes in baseline and stress-induced glucocorticoid levels during the active period in free-ranging male and female little brown myotis, *Myotis lucifugus* (Chiroptera: Vespertilionidae). **General and Comparative Endocrinology**, v. 136, p. 260–269, 2004a.

REEDER, D. M., KUNZ, T. H.; WIDMAIER, P. Baseline and stress-induced glucocorticoids during reproduction in the variable flying fox, *Pteropus hypomelanus* (Chiroptera: Pteropodidae). **Journal of Experimental Zoology. Part A, Comparative Experimental Biology**, v.301, p. 682–690, 2004b.

REEDER, D. M.; KOSTECZKO, N. S.; KUNZ, T. H.; WIDMAIER, E. P. Changes in baseline and stress-induced glucocorticoid levels during the active period in free-ranging male

and female little brown myotis, *Myotis lucifugus* (Chiroptera: Vespertilionidae). **General and Comparative Endocrinology**, v. 136, n. 2, p. 260-269, 2004c.

REEDER, D. M.; KRAMER, K. M. Stress in free-ranging mammals: integrating physiology, ecology, and natural history. **Journal of Mammalogy**, v. 86, p. 225–235, 2005.

REEDER, D. M.; RAFF, H.; KUNZ, T. H.; WIDMAIER, E. P. Characterization of pituitary–adrenocortical activity in the Malayan flying fox (*Pteropus vampyrus*). **Journal of Comparative Physiology B**, v. 176, n. 6, p. 513-519, 2006.

REEDER, D.M., WIDMAIER, E. P. Hormone analysis in bats. In Kunz, T. H; Parsons, S. editors. Ecological and behavioral methods for the study of bats. **Johns Hopkins University Press**, Baltimore, Maryland, p. 544-563, 2009.

REIS, N. R.; MULLER, M. F. Bat diversity of forests and open areas in a subtropical region of south Brazil. **Ecologia Austral**, v. 5, p. 31–36, 1995.

ROMERO, L. M. Seasonal changes in plasma glucocorticoid concentrations in free-living vertebrates. **General and Comparative Endocrinology**, v. 128, p. 1–24, 2002.

ROMERO, L.M. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. **Trends Ecol. Evol.**, v. 19, p. 249– 255, 2004.

ROMERO, L. M. Using the reactive scope model to understand why stress physiology predicts survival during starvation in Galápagos marine iguanas. **General and comparative endocrinology**, v. 176, n. 3, p. 296-299, 2012.

ROMERO, L. M.; WIKELSKI, M. Exposure to tourism reduces stress-induced corticosterone levels in Galapagos marine iguanas. **Biological conservation**, v. 108, n. 3, p. 371-374, 2002.

ROMERO, L.M.; REED, J.M. Collecting baseline corticosterone samples in the field: is under 3 min good enough? **Comparative Biochemistry and Physiology A– Molecular and Integrative Physiology**, v. 140, p. 73–79, 2004.

ROMERO, L. M.; DICKENS, M. J.; CYR, N. E. The reactive scope model—a new model integrating homeostasis, allostasis, and stress. **Hormones and Behavior**, v. 55, n. 3, p. 375-389, 2009.

SAPOLSKY, R. M.; ROMERO, L. M.; MUNCK, A. U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocrine Review**, v. 21, p. 55–89, 2000.

SCHULTE-HOSTEDDE, A. I.; MILLAR, J. S.; HICKLING, G. J. Evaluating body condition in small mammals. **Journal Zoology**, Canadian, v. 79, p. 1021-1029, 2001.

SCHULZE, M.D.; N.E. SEAVY, WHITACRE, D.F. A comparison of the phyllostomid bat assemblages in undisturbed neotropical forest and in forest fragments of a slash-and-burn farming mosaic in Peten, Guatemala. **Biotropica**, St. Louis, v. 32, n. 1, p. 174-184, 2000.

SCHWABL, H. Individual variation of the acute adrenocortical response to stress in the whitethroated sparrow. **Zoology**, v. 99, p. 113-120, 1995.

SOMERO, G. N. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine 'winners' and 'losers'. **The Journal of experimental biology**, v. 213, n. 6, p. 912-920, 2010.

SPEAKMAN, J.R.; RACEY, P.A. The influence of body condition on sexual development of male brown long-eared bats (*Plecotus auritus*) in the wild. **Journal of Zoology**, London, v. 210, p. 515-525, 1986.

SPEAKMAN, J. R. **Body composition analysis of animals: a handbook of non-destructive methods**. Cambridge: Cambridge University Press, 2001. 242 p.

STEVENSON, R. D.; WOODS JR., W. A. Condition indices for conservation: new uses for evolving tools. **Integrative and Comparative Biology**, v. 46, n. 6, p. 1169 - 1190, 2006.

SUORSA, P.; HUHTA, E.; NIKULA, A.; NIKINMAA, M.; JANTTI, A.; HELLE, H.; HAKKARAINEN, H. Forest management is associated with physiological stress in an oldgrowth forest passerine. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 270, p. 963-969, 2003.

TABARELLI, M.; MANTOVANI, W.; PERES, C.A.. Effects of habitat fragmentation on plant guild structure in the montane Atlantic forest of southeastern Brazil. **Biological Conservation**, v 91, p. 119-127, 1999.

TABARELLI M.; AGUIAR A.V. Prospects for biodiversity conservation in the Atlantic Forest: Lessons from aging human-modified landscapes. **Biological Conservation**, v. 143, p. 2328-2340, 2010.

TURNER JR., J.W.; NEMETH, R.; ROGERS, C.. Measurement of fecal glucocorticoids in parrotfish to assess stress. **General and Comparative Endocrinology**, v. 133, p. 341-352, 2003.

VIZOTTO, L. D.; TADDEI, V. A. **Chave para a determinação de quirópteros brasileiros**. São José do Rio Preto: Gráfica Francal, 1973. 72 p.

VOGT, D. F.; LYNCH, G. R. Influence of ambient temperature, nest availability, huddling and daily torpor on energy expenditure in the white-footed mouse *Peromyscus leucopus*. **Physiological Zoology**, v. 55, p. 56-63, 1982.

WALKER, B. G.; BOERSMA, P. D.; WINGFIELD, J. C. Field endocrinology and conservation biology. **Integr. Comp. Biol.**, v. 45, p. 12-18, 2005.

WIKELSKI, M.; WONG, V.; CHEVALIER, B.; RATTENBORG, N.; SNELL, H.L. Marine iguanas die from trace oil pollution. **Nature**, v. 417, p. 607-608, 2002.

WIKELSKI, M.; COOKE, S. T. Conservation physiology. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 21, n. 2, p. 38-46, 2006.

WINGFIELD, J.C. Modulation of the adrenocortical response to stress in birds, in: Davey, K.G., Peter, R.E., Tobe, S.S. (Eds.), **Perspectives in Comparative Endocrinology**, National Research Council, Canada, Ottawa, p. 520-528, 1994.

WINGFIELD, J. C.; O'REILLY, K. M.; ASTHEIMER, L. B. Ecological bases of the modulation of adrenocortical responses to stress in Arctic birds. **Am. Zool.**, v. 35, p. 285-294, 1995.

WINGFIELD, J.C.; JACOBS, J.; HILLGARTH, N. Ecological constraints and the evolution of hormone-behavior interrelationships. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 807, p. 22-41, 1997.

WINGFIELD, J. C.; MANEY, D. L.; BREUNER, C. W.; JACOBS, J. D.; LYNN, S.; RAMENOFISKY, M.; RICHARDSON, R. D. Ecological Bases of Hormone-Behavior Interactions: The "Emergency Life History Stage". **American Zoology**, v. 38, p. 191-206, 1998.

WINGFIELD, J.C.; KITAYSKY, A.S. Endocrine responses to unpredictable stress or anti-stress hormones. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, p. 600-609, 2002.

WINGFIELD, J. C.; ROMERO, L. M. Adrenocortical Responses to Stress and Their Modulation in Free-Living Vertebrates. **Comprehensive Physiology**. John Wiley & Sons, Inc. pp: 453-460, 2001.

ZUIDEMA, P. A; SAYER J.; DIJKMAN, W. Forest fragmentation and biodiversity: the case for intermediate-sized reserves. **Environmental Conservation**, v. 2, p. 290-297, 1996.