

---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(ÁREA DE ZOOLOGIA)

---

**Estresse nos morcegos *Artibeus obscurus* e *Artibeus fimbriatus*  
(Chiroptera, Phyllostomidae) como resposta à perturbação ambiental**

**PAUL FRANÇOIS COLAS-ROSAS**

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

**Junho - 2009**

**Estresse nos morcegos *Artibeus obscurus* e *Artibeus fimbriatus*  
(Chiroptera, Phyllostomidae) como resposta à perturbação ambiental**

**PAUL FRANÇOIS COLAS-ROSAS**

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

Orientador: Prof. Dr. Ariovaldo Pereira da Cruz-Neto

Co-orientador: Prof. Dr. José Eduardo de Carvalho

**Rio Claro  
Junho - 2009**

## AGRADECIMENTOS

A todos que me auxiliaram nas coletas de campo, Daniel “Jaboti” Homem, Daniel “Passa-mal” Locoselli, Marina “Marininha” Cortes, com destaque para o André “Ganso” Teixeira da Silva por levar meu campo com mais seriedade que eu mesmo e por muitas vezes deixar seus interesses pessoais de lado para ajudar um amigo;

Ao Prof. Dr. Ariovaldo Pereira Cruz-Neto pela oportunidade de permitir o desenvolvimento do projeto desse estudo, ajudar-me a aprimorar desenho e raciocínio científico e pelas calorosas e produtivas discussões;

Ao Prof. Dr. José Eduardo de Carvalho pela ajuda e pelos valiosos conselhos;

Ao LABIC – Laboratório de Biologia da Conservação – pelo imprescindível auxílio logístico, especialmente a Valesca e a Leslie que nunca me deixaram na mão;

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Keico Okino Nonaka do departamento de ciências fisiológicas da UFSCAR São Carlos pelo auxílio laboratorial e pela enorme hospitalidade;

As repúblicas Morada, Só se for agora, 2 pra 1 e todos seus integrantes pela agradável e valiosa convivência;

Ao Siddartha e ao Ganso por serem “os caras” e por tornarem nossa república Comparsas uma verdadeira família;

Ao meu irmão Daniel Patrick, minha irmã Taluhama e minha mãe Maud Chantal pela compreensão durante minhas ausências e pela imensa dedicação nos momentos de presença;

A Márcia Correa e Mario Côrtes por me adotarem como um filho;

E finalmente a garota que mais admiro no mundo, Marina Correa Côrtes, por me mostrar que é possível preservar de longe o mesmo amor que conheci de perto. Você merece mais do que uma vida inteira pode oferecer.

## DEDICATÓRIA

“Dedico à primeira garota que está sentada ali na fila”

Raul Seixas – Tu és o MDC da minha vida.

## RESUMO

A resposta ao estresse tem uma importante função auxiliadora que permite que os organismos lidem e sobrevivam a ameaças ao seu equilíbrio interno. Entretanto, a ativação crônica da resposta ao estresse, como a causada pela perturbação do ambiente, pode acarretar em diversos efeitos deletérios diminuindo a aptidão dos indivíduos e colocando em risco populações locais das espécies. Investigamos o efeito da perturbação ambiental sobre os morcegos *Artibeus obscurus* e *Artibeus fimbriatus* de uma área preservada e de uma área perturbada de Mata Atlântica do Brasil. Indicadores ecológicos e fisiológicos foram utilizados para se verificar a sensibilidade à modificação ambiental, condição corpórea, e a resposta ao estresse entre populações das duas áreas. O índice ecológico de sensibilidade à perturbação, baseado em medidas de abundância, sugere que *A. obscurus* é mais tolerante a modificações ambientais do que *A. fimbriatus* (34% e 76%, respectivamente). As análises de índice de condição corpórea (IC) demonstraram que *A. obscurus* não demonstrou mudança na condição corpórea entre áreas enquanto *A. fimbriatus* apresentou menores valores de IC na área perturbada do que na preservada. Adicionalmente, os níveis de base e de estresse-induzido do hormônio indicador de estresse (cortisol) não diferiram entre áreas para *A. obscurus* enquanto que uma marcada diferença foi observada para *A. fimbriatus* que apresentou níveis de base aproximadamente 52% maiores na área perturbada. Possivelmente, a maior tolerância a perturbação ambiental observada para *A. obscurus* seja decorrente da capacidade que esta espécie possui em habituar-se hormonalmente ao ambiente perturbado e evitar as conseqüências deletérias do estresse crônico. Por outro lado, a incapacidade de habituação de *A. fimbriatus* ao ambiente perturbado pode estar ocasionando debilitações, como as expressa pela diminuição do índice de condição corpórea.

## ABSTRACT

The stress response plays a physiological key role by allowing the organisms to cope and survive to situations of risks for your internal balance. However, the chronic activation of the stress response, as the one triggered by environmental disturbances, can result in several deleterious effects to the organisms, which may reduce the *fitness* and jeopardize the maintenance of populations of sensitive species. We investigated the effect of the environmental disturbance on the bats *Artibeus obscurus* and *Artibeus fimbriatus* in the Atlantic forest of Brazil. Ecological and physiological indicators were used to compare the sensitivity to environmental changes, body condition, and stress response between populations in an undisturbed and a disturbed area. The ecological index of sensitivity to changes, based on measures of population abundances, suggests that *A. obscurus* is more tolerant to environmental modifications than *A. fimbriatus* (34% and 76%, respectively). The body condition indexes (IC) of *A. obscurus* were similar between areas, whereas the IC of *A. fimbriatus* was smaller in the disturbed area compared to the undisturbed. Additionally, levels of basal and stress-induced circulating cortisol of *A. obscurus* did not differ between the two areas, whereas the hormonal levels of *A. fimbriatus* were markedly different, for instance presenting a baseline cortisol level 52% higher in the disturbed area. Possibly, the tolerance to environmental changes observed in *A. obscurus* is due to its higher habituation ability which prevents the species to suffer from the deleterious consequences of the chronic stress. On the other hand, the failure of habituation of *A. fimbriatus* to disturbed environments can lead to physiological disorders, as expressed by decrease the body condition index.

## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	08
1.1 Referências bibliográficas.....	11
2. CAPITULO 1 - Índice de condição corpórea dos morcegos <i>Artibeus obscurus</i> e <i>Artibeus fimbriatus</i> de áreas preservada e perturbada da Mata Atlântica.....	15
2.1 Introdução.....	15
2.3 Resultados.....	21
2.4 Discussão.....	24
2.5 Referências bibliográficas.....	27
3. CAPITULO 2 - Cortisol como indicador de estresse em <i>Artibeus obscurus</i> e <i>Artibeus fimbriatus</i> de áreas preservada e perturbada da Mata Atlântica.....	31
3.1 Introdução.....	31
3.2 Materiais e Métodos.....	35
3.3 Resultados.....	39
3.4 Discussão.....	44
3.5 Referências bibliográficas.....	49
4. CONCLUSÃO GERAL.....	54
ANEXO I – Mapa da distribuição das espécies estudadas.....	56
ANEXO II – Mapa das áreas estudadas.....	57
ANEXO III – Lista das espécies registradas .....	58
ANEXO IV – acervo fotográfico.....	59
ANEXO V – acervo fotográfico.....	60
ANEXO VI – acervo fotográfico.....	61

## INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é um dos países de maior diversidade do mundo, grande parte se deve a um complexo e exuberante conjunto de ecossistemas que compõem a Mata Atlântica, com de cerca 20.000 espécies de plantas, 1.400 espécies de vertebrados e milhares de invertebrados (LAURANCE, 2008). A Mata Atlântica é considerada o quarto bioma de maior importância para conservação da biodiversidade mundial (MYERS *et al.*, 2000), representada atualmente por apenas 7% da formação florestal original (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2008). No Brasil, a pressão antrópica sobre o bioma da Mata Atlântica é extremamente elevada, visto que cerca de 67% da população brasileira habitam nesse domínio (IBGE, 2007). As ameaças presentes se devem à destruição dos habitats (desmatamentos, queimadas, exploração dos recursos) e às constantes agressões aos ecossistemas naturais (poluição, introdução de espécies exóticas, doenças, caça ilegal, [TABARELLI *et al.*, 2005; MITTERMEIER *et al.*, 2005]).

Efeitos direta e indiretamente associados às atividades humanas sobrecarregam os organismos que naturalmente necessitam lidar com aspectos da própria história natural. Embora algumas populações de vertebrados resistam temporariamente aos estresses ambientais, várias têm demonstrado falhas e em alguns casos declínios populacionais (WINGFIELD, 2008). Compreender porque algumas espécies são sensíveis a modificações antrópicas em seu habitat enquanto outras parecem não ser afetadas possui fortes aplicações teóricas e práticas para a biologia da conservação.

Atualmente, têm se utilizado parâmetros ecológicos, como modificações na abundância entre áreas perturbadas e não-perturbadas, com intuito de se determinar como os mamíferos são tolerantes a modificações (COSSON *et al.*, 1999; HENRY *et al.*, 2007). Entretanto, essas medidas de sensibilidade não levam em consideração diferenças de tolerância intrínsecas de cada espécie a perturbação. Neste sentido,

medidas de parâmetros fisiológicos que contém informações sobre o estatus de saúde e que poderiam estar relacionadas ao sucesso reprodutivo são complementos plausíveis. Entre estes indicadores, os índices de condição corpórea (STEVENSON & WOODS Jr, 2006) e a concentração de hormônios (ROMERO, 2004) têm sido sugeridos como ferramentas auxiliares para esta finalidade.

O índice de condição corpórea é utilizado com o intuito de inferir sobre parâmetros de difícil mensuração como bem estar e saúde. Normalmente são utilizados como indicadores de estatus fisiológico, tais como nutrição, acúmulo de gordura, massa muscular e estrutura esquelética. Desta maneira, também podem ser utilizados indiretamente para inferir sobre a aptidão darwiniana (fitness), através de aspectos de sucesso de forrageio, habilidade de confronto, sucesso de cópula e resistência a pressões ambientais (DOBSON, 1992; JAKOB *et al.*, 1996; SCHULTE-HOSTEDDE *et al.*, 2001; KREBS & SINGLETON, 1993, LUČAN, 2006). Já o monitoramento das funções endócrinas tem sido utilizado como importante ferramenta na conservação das espécies, atuando como indicador do estatus fisiológico, suscetibilidade ao estresse ambiental e potencial reprodutivo em vertebrados silvestres (WINGFIELD *et al.*, 1997; WINGFIELD & SAPOLSKY, 2003; WASSER *et al.*, 1997; CREEL, 1997; MASON, 1998). Neste caso, assume-se que a amplitude da resposta hormonal está correlacionada com a saúde de um animal, e por extensão, com a saúde de toda a população. Hormônios que respondem ao estresse como os glicocorticóides cortisol e corticosterona são amplamente utilizados na averiguação direta da resposta ao estresse em populações silvestres (ROMERO, 2004). Alguns trabalhos utilizando hormônios do estresse e índices corpóreos ou massa corpórea em conjunto têm garantido resultados satisfatórios (WILLIAMS *et al.*, 2008; KITAYSKY *et al.*, 1999; LUCAS *et al.*, 2006; NUNES *et al.*, 2006).

Recentemente, a disciplina ou ciência da “fisiologia da conservação” têm se desenvolvido como um novo campo da pesquisa e de manejo dentro da biologia da conservação (WIKELSHY & COOKE, 2006). Um ramo desta disciplina é a “endocrinologia da conservação”, definida como sendo os “estudos endócrinos que podem contribuir para a conservação dos animais silvestres” com o objetivo de reduzir a perda da biodiversidade global e aumentar a sobrevivência e reprodução

das espécies ameaçadas (COCKREM, 2005). As pesquisas em endocrinologia da conservação normalmente se inserem em três tipos de estudos: teóricos, diagnósticos e de manejo. Questões básicas sobre a biologia dos animais são tidas como teóricas, os diagnósticos englobam questões sobre o estatus fisiológico e comportamental de animais ou populações, e finalmente as de manejo são diretamente aplicadas a questões de conservação (COCKREM, 2005).

Poucos estudos enfocando a resposta hormonal do estresse em quirópteros foram realizadas até o momento, sendo 4 norte-americanos (REEDER, *et al.*, 2004a, 2004b; REEDER, *et al.*, 2006; WIDMAIER *et al.*, 1994), um na Inglaterra (GUSTAFSON & BELT, 1981), um na Índia (KRISHNA *et al.*, 1998) e um na América Central (KLOSE *et al.*, 2006). Uma parcela ainda menor desses estudos foi realizada em ambiente natural.

Os morcegos representam a segunda maior ordem de mamíferos em termos de número de espécies (WILSON & REEDER, 2005). Devido à radiação evolutiva eles ocupam níveis tróficos desde consumidores primários até terciários, alimentando-se de néctar, pólen, frutos, insetos, peixes, sangue, vertebrados e folhas, selecionando em muitos casos hábitos específicos (HILL & SMITH, 1985; FENTON, 1992). Os morcegos são importantes em processos ecológicos através de suas interações como polinizadores, dispersores de sementes, e controladores da população de insetos (FLEMING, 1993; WHITTAKER, 1993; MEDELLÍN & GAONA, 1999).

Morcegos frugívoros formam uma parcela considerável das comunidades de morcegos em ambientes neotropicais (MUSCARELLA & FLEMING, 2007) e atuam como eficientes dispersores de sementes de florestas primárias para áreas de floresta secundárias (LOPEZ & VAUGHAN, 2004) auxiliando os mecanismos de regeneração e sucessão secundária em áreas tropicais degradadas e clareiras (GORCHOV *et al.*, 1993). A abundância de morcegos frugívoros encontrados na Mata Atlântica reflete a importância desta guilda nas comunidades de morcegos, onde muitas espécies de plantas quiropterocóricas são capazes de manter uma comunidade diversificada de morcegos ao longo de todo o ano (PASSOS *et al.*, 2003).

Sobreposições inevitáveis das atividades humanas e dos habitats de animais silvestres ocorrem frequentemente fazendo com que as ações antrópicas exerçam efeitos diretos e indiretos nas populações naturais. Compreender como os animais respondem às situações de distúrbios sociais e ambientais é fundamental para avaliar os possíveis impactos imediatos e a longo-prazo na integridade fisiológica e viabilidade populacional das espécies em questão. O entendimento mais aprofundado do funcionamento ecológico do organismo desponta como mais uma ferramenta para a tomada de ações conservacionistas. Neste contexto, o presente trabalho envolve aspectos ecológicos e a endocrinologia da conservação como forma de diagnosticar os possíveis efeitos do estresse em populações de quirópteros ocupando habitats empobrecidos e impactados por ações de natureza antrópica.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COCKREM, J.F. Conservation and behavioral neuroendocrinology. **Hormones and Behavior**, v. 48, p. 492 – 501, 2005.

COSSON, J.F.; PONS, J.M.; MASSON, D. 1999. Effects of forest fragmentation on frugivorous and nectarivorous bats in French Guiana. *Journal of Tropical Ecology*, 15: 515–534.

CREEL, S.; CREEL, N.M.; MONFORT, S.L. Radiocollaring and stress hormones in African wild dogs. **Conserv. Biol.**, v. 11, p. 544-548, 1997.

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

FENTON, M.B. **Bats. Facts on File**, New York, 1992.

FLEMING, T.H. Plant-visiting bats. **American Scientist**, v. 81, p. 461-647, 1993.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. 2008. **Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica, período 2000-2005**. Fundação SOS Mata Atlântica, São Paulo, Brazil. 157pg. [online] [www.sosmatatlantica.org.br](http://www.sosmatatlantica.org.br).

GORCHOV, D.L.; CORNEJO, F.; ASCORRA, C.; JARAMILLO, M. The role of seed dispersal in the natural regeneration of rain forest after strip-cutting in the Peruvian Amazon, p. 339-349. *In*: T.H. FLEMING & A. ESTRADA (Eds). **Frugivory and seed dispersal: ecological and evolutionary aspects**. Dordrecht, W. Kluwer Academic Publishers, 1993.

GUSTAFSON, A.W.; BELT, W.D. The Adrenal Cortex during activity and hibernation in the male little brown bat, *Myotis lucifugus lucifugus*: Annual Rhythm of plasma cortisol levels. **Gen. Comp. Endocrinology**, v. 44, p. 269-278, 1981.

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

HILL, J.E.; SMITH J.D. **Bats, a natural history**. Texas University Press, Austin, 1985.

IBGE. 2007. **Contagem da População de 2007**. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [online] [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br) (acesso em 23 fev 2009).

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

KITAYSKY, A.S.; WINGFIELD, J.C.; PIATT, J.F. Dynamics of food availability, body condition and physiological stress response in breeding Black-legged Kittiwakes. **Functional Ecology**, v. 13, p. 577–584, 1999.

KLOSE, S.M; SMITH, C.L.; DENZEL, A.J. and KALKO, E.K.V. Reproduction elevates the corticosterone stress response in common fruit bats. **J Comp Physiol 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.

KRISHNA, A.; SINGH, K.; DOVAL, J.; CHANDA, D. Changes in Circulating Insulin and Corticosterone Concentrations During Different Reproductive Phases and Their Relationships to Body Weight and Androstenedione Concentration of Male *Scotophilus heathi*. **Journal of Experimental Zoology**, v. 281, p. 201–206, 1998.

LAURANCE, W.F. Conserving the hottest of the hotspots. **Biological Conservation**, *in press*, 2008.

LOPEZ, J. E.; VAUGHAN, C. Observations on the role of frugivorous bats as seed dispersers in Costa Rican secondary humid forests. **Acta Chiropterologica**, v. 6, n. 1, p. 111–119, 2004.

LUČAN, R. K. Relationships between the parasitic mite *Spinturnix andegavinus* (Acari: Spinturnicidae) and its bat host, *Myotis daubentonii* (Chiroptera: Vespertilionidae): seasonal, sex- and age-related variation in infestation and possible impact of the parasite on the host condition and roosting behaviour. **Folia Parasitologica**, v. 53, p. 147–152, 2006.

LUCAS, J.R.; FREEBERG, T.M.; EGBERT, J.; SCHWABL, H. Fecal corticosterone, body mass, and caching rates of Carolina chickadees (*Poecile carolinensis*) from disturbed and undisturbed sites. **Hormones and Behavior**, v. 49, p. 634–643, 2006.

- MASON, G. The physiology of the hunter deer. **Nature**, v. 391, p. 22, 1998.
- MEDELLÍN, R.A.; GAONA, O. Seed dispersal by bats and birds in forest and disturbed habitats in Chiapas, México. **Biotropica**, v. 31, p. 432-441, 1999.
- MITTERMEIER, R.A., FONSECA, G.A.B., RYLANDS, A.B., BRANDON, K. A. Brief History of Biodiversity Conservation in Brazil. **Conservation Biology**, v. 19, p. 601-607, 2005.
- MUSCARELLA, R.; FLEMING, T.H. 2007. The Role of Frugivorous Bats in Tropical Forest Succession. **Biological Reviews**, 82(4): 573-590.
- MYERS, N., MITTERMEIER, R.A., FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–858, 2000.
- NUNES, S.; PELZ, K.M.; MUECKE, E.M.; HOLEKAMP, K.E.; ZUCKER, I. Plasma glucocorticoid concentrations and body mass in ground squirrels: Seasonal variation and circannual organization. **General and Comparative Endocrinology**, v. 146, p. 131–138, 2006.
- PASSOS, F.C.; SILVA, W. R.; PEDRO, W. A.; BONIN, M. R. Frugivoria em morcegos (Mammalia, Chiroptera) no Parque Estadual Intervales, sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 20, n. 3, p. 511–517, 2003.
- 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, E.P. Baseline and Stress-Induced Glucocorticoids During Reproduction in the Variable Flying Fox, *Pteropus hypomelanus* (Chiroptera: Pteropodidae). **Journal of Experimental Zoology**, v. 301A, p. 682–690, 2004b.
- REEDER, D.M.; RAFF, H.; KUNZ, T.H.; WIDMAIER, E.P. Characterization of pituitary-adrenocortical activity in the Malayan flying fox (*Pteropus vampyrus*). **J Comp Physiol B**, v. 176, p. 512-519, 2006.
- ROMERO, L. M. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. **Trends in Ecology and Evolution**. V. 19, n. 5, p. 249-255, 2004.
- SCHULTE-HOSTEDDE, A.I.; MILLAR, J.S.; HICKLING, G.J. Evaluating body condition in small mammals. **Canadian Journal Zoology**. 79: 1021–1029, 2001.
- TABARELLI, M.; PINTO, L.P.; SILVA, J.M.C.; HIROTA, M. BEDÊ, L. Challenges and Opportunities for Biodiversity Conservation in the Brazilian Atlantic **Forest Conservation Biology**, v. 19, p. 695–700, 2005.

WASSER, S.K.; BEVIS, K.; KING, G.; HANSON, E. Noninvasive physiological measures of disturbance in the northern spotted owl. **Conservation Biology**, v. 11, p. 1019- 1022, 1997.

WHITTAKER, J.O. Bats, beetles and bugs: more big brown bats mean less agricultural pests. **Bats**, v. 11, n.1, p. 23, 1993.

WIDMAIER, E.P.; HARMER, T.L.; SULAK, A.M.; KUNZ, T.H. Further characterization of the pituitary-adrenocortical responses to stress in Chiroptera **Journal of Experimental Zoology**, v. 269, n. 5, p. 442-449, 1994.

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

WILLIAMS, C.T.; KITAYSKY, A.S.; KETTLE, A.B.; BUCK, C.L. Corticosterone levels of tufted puffins vary with breeding stage, body condition index, and reproductive performance. **General and Comparative Endocrinology**, v. 158, p. 29–35, 2008.

WILSON, D.E.; REEDER, D.M. **Mammal Species of the World**. A Taxonomic and Geographic Reference (3rd ed), Johns Hopkins University Press, 2005.

WINGFIELD, J.C. Comparative endocrinology, environment and global change. **General and Comparative Endocrinology**, v. 157, p. 207–216, 2008.

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.; SAPOLSKY, R.M. Reproduction and Resistance to Stress: When and How. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 15, p. 711-724, 2003.

## CAPITULO 1

Efeito de perturbações ambientais sobre a saúde dos morcegos *Artibeus obscurus* e *Artibeus fimbriatus* (Chiroptera: Phyllostomidae) na Mata Atlântica

### INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica é considerada o quarto bioma de maior importância para conservação da biodiversidade mundial (MYERS *et al.*, 2000). Com apenas 7% de sua área original (FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2008), este bioma sofre com diferentes impactos humanos, especialmente a perda e fragmentação de habitats (TABARELLI *et al.*, 2005). Os animais que vivem nos fragmentos e remanescentes alterados pelo homem necessitam lidar ou se ajustar às novas condições ambientais. Entretanto, animais de diferentes espécies respondem de formas diferentes às perturbações causadas pelo homem (PARMESAN, 2006; WALKER *et al.*, 2005), e os efeitos sobre sua aptidão variam (HOFER & EAST, 1998; SCHULTE-HOSTEDDE *et al.*, 2005).

A resposta ao estresse ambiental tem uma importante função auxiliadora que permite que os organismos lidem e sobrevivam a ameaças que perturbem seu equilíbrio (GREENBERG *et al.*, 2002). Distúrbios naturais ou antrópicos desencadeiam uma série de respostas fisiológicas no organismo, entre elas o desvio dos estoques energéticos para o exercício dos músculos, o aumento da frequência cardiovascular, o aumento da pressão sanguínea, a diminuição da sensibilidade a dor, além da supressão temporária das funções anabólicas custosas e de longo prazo (crescimento, reprodução, inflamação, digestão), até uma situação mais adequada ou de menor risco (SAPOLSKY, 1990; SAPOLSKY, *et al.*, 2000; WINGFIELD & SAPOLSKY, 2003). Entretanto, a ativação crônica da resposta ao estresse pode prejudicar seriamente a saúde. Se os estoques energéticos são constantemente mobilizados ao invés de serem estocados, os tecidos saudáveis podem se atrofiar, ocorrendo fadiga. As mudanças cardiovasculares podem promover hipertensão, que por consequência podem danificar o coração, os vasos sanguíneos e os rins. O adiamento indefinido dos processos construtivos prejudica o crescimento, a restauração dos tecidos, reduz a fertilidade e diminui as funções

imunes aumentando a suscetibilidade a doenças (SAPOLSKY, 2000; SAPOLSKY *et al.*, 2000; REEDER & KRAMER, 2005). Desta maneira, a resposta fisiológica contínua de um organismo a perturbação ambiental pode refletir em consequências negativas a sua condição corpórea. Sendo assim, é muito importante entender como organismos de diferentes espécies são influenciados por essas perturbações, a fim de se inferir os impactos humanos sobre a biodiversidade.

Para investigar esse fenômeno, índices de condição corpórea têm sido utilizados como indicadores de estatus fisiológico, tais como nutrição, acúmulo de gordura, massa muscular e estrutura esquelética. Desta maneira, também podem ser utilizados indiretamente para inferir sobre a aptidão (DOBSON, 1992; JAKOB *et al.*, 1996). Esses índices são um método vantajoso por ser de fácil computação e por não necessitar do uso de métodos destrutivos (HAYES & SHONKWILER, 2001).

O objetivo geral do índice de condição corpórea é determinar um valor que expresse a massa corpórea de um indivíduo ajustado em relação ao tamanho corpóreo (ou um indicador deste). Estas correções evitam que diferenças individuais no tamanho do corpo influenciem os valores do índice de condição. Na utilização de índices de condição assume-se que, para um determinado tamanho, um indivíduo mais pesado necessariamente tem mais acúmulo de gordura, maior peso ósseo, muscular ou outro tecido e estão, presumidamente, em melhores condições de sobrevivência e reprodução (HAYES & SHONKWILER, 2001). Adicionalmente, indicadores de condição corpórea dos animais de uma determinada área podem prover informações sobre a qualidade do habitat em que a população se encontra (SPEAKMAN, 2001).

Este estudo foi conduzido em uma floresta primária contínua de mata Atlântica e em uma floresta secundária perturbada e com extenso histórico de degradação, ambas no litoral norte de São Paulo. Verificou-se o efeito da perturbação ambiental sobre duas espécies de quiropteras com grande similaridade filogenética, morfológica e alimentar, os morcegos *Artibeus obscurus* e *Artibeus fimbriatus*.

O morcego *Artibeus obscurus* tem ampla distribuição desde a porção norte da América do Sul até o sudeste do Brasil, possui ocorrência em biomas variados, sendo encontrado principalmente em florestas tropicais úmidas e ambientes

secundários (GARDNER, 2008). Parâmetros ecológicos sugerem uma baixa sensibilidade dessa espécie a modificações ambientais (COSSON *et al.*, 1999; HENRY *et al.*, 2007). Em contra partida, o morcego *Artibeus fimbriatus* ocorre de maneira bem mais restrita da porção leste e sul do Brasil e nas adjacências com o Paraguai e nordeste da Argentina (GARDNER, 2008). Habitam florestas tropicais úmidas (primárias e secundárias), especialmente a mata atlântica, é raramente encontrada em cidades e mais freqüentemente encontrada próximo ao nível do mar (ZORTÉA, 2007).

A sensibilidade das espécies a perturbação foi sugerida com base em um índice ecológico de sensibilidade ambiental e averiguada com a utilização de índice de condição corpórea. Testamos a hipótese de que perturbações no habitat influenciam negativamente a condição corpórea (inferida através de índice de condição corpórea) das populações de morcegos da Mata Atlântica. Predizemos desta maneira que as populações da área perturbada apresentem índices de condição corpórea menores que as populações controle da área preservada, como resposta a perturbação ambiental. Entretanto, apesar das duas espécies selecionadas apresentarem características de persistência a perturbação ambiental, tais como grande tamanho corpóreo, abundância em áreas preservadas e hábito de forrageio no dossel (Cosson *et al.* 1999), sugerimos que outras características como as fisiológicas, além das ecológicas e de história natural, podem influenciar na suscetibilidade a perturbação ambiental. Com base em informações como ampla distribuição geográfica e ocorrência em habitats variados, esperamos que as populações de *A. obscurus* apresentem menor suscetibilidade a perturbação ambiental em relação a *A. fimbriatus*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Áreas de Estudo

Foram amostradas duas áreas de Mata Atlântica na cidade de Ubatuba, litoral norte do estado de São Paulo. Uma em um ambiente preservado no Parque Estadual da Serra do Mar e outra em um ambiente perturbado no Parque Estadual da Ilha Anchieta, distantes uma da outra por cerca de 30 km.

O Parque Estadual da Serra do Mar possui uma área de quase 315.000 ha, numa extensão que vai desde a divisa de São Paulo com o Rio de Janeiro até Itariri, no sul do Estado, passando por toda a faixa litorânea. É a maior e mais preservada área de proteção integral de toda a Mata Atlântica. O núcleo Picinguaba (23°20'52"S, 44°48'41"W), uma das unidades que compõem o parque, abrange uma área de aproximadamente 47.000 ha, e faz a ligação entre o Parque Estadual da Serra do Mar com o Parque Nacional da Serra da Bocaina (80.000ha) e com a Área de Proteção Ambiental do Cairuçu, no Estado do Rio de Janeiro (30.000 ha), formando um grande e diversificado corredor para a fauna (Instituto Florestal, 2006).

O Parque Estadual da Ilha Anchieta (23°32'29"S, 45°03'34"W) é uma ilha continental de 828 ha próxima a costa de Ubatuba/SP, distante do continente por apenas 540 m de istmo submerso. A ilha teve sua cobertura original de mata atlântica bastante alterada em função das diferentes fases de sua ocupação (monoculturas de café, cana-de-açúcar, pastos, a alambiques, presídio penitenciário). Uma grande parcela da Ilha Anchieta teve sua cobertura vegetal completamente devastada e os locais não desmatados foram alvos de corte de madeira para lenha ou construção civil (INSTITUTO FLORESTAL, 1989). Em 1977 a área foi transformada em Parque Estadual, possibilitando a regeneração natural da vegetação, porém ocorreram períodos de introdução de espécies vegetais e animais exóticas. Atualmente alguns desses animais exóticos são encontradas na área em densidades médias 6,5 vezes maiores que outras áreas de mata atlântica do estado de São Paulo (BOVERDORP & GALETTI, 2007). Alguns desses mesopredadores são responsáveis por predação de ninhos e inibir a colonização de aves vindas do continente (GALETTI *et al.*, no prelo). Atualmente a Ilha é um dos lugares de menor produtividade de frutos da Mata Atlântica (GENINI *et al.*, no prelo) e é considerada um dos maiores pólos turísticos de Ubatuba e recebendo cerca de 90 mil turistas por ano.

Os dados meteorológicos para o município de Ubatuba/SP foram obtidos através de banco de dados do Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas (CIIAGRO, 2008). Utilizou-se a equação do índice de aridez mensal ( $I = 12 * \text{precipitação} / \text{temperatura} + 10$ ) de De Martonne (1926) para averiguar, entre as campanhas, meses considerados secos ( $I < 20$ ) e chuvosos ( $I > 20$ ). As campanhas com menores temperaturas e pluviosidade reduzida foram testadas contra as

demais para se verificar possíveis efeitos de sazonalidade sobre o índice de condição corpórea.

### Coleta dos dados

Foram realizadas 6 noites de coletas por campanha, sendo 3 noites consecutivas em cada área (preservada e perturbada). As campanhas foram feitas nos meses de novembro/2006; abril, julho, setembro/2007 e fevereiro, abril/2008. Os morcegos foram capturados através de metodologia padrão de redes de neblina, os indivíduos foram marcados com anéis metálicos numerados e as seguintes características 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 Scout<sup>tm</sup> Electronic Balance). Recapturas feitas em um mesmo campo não foram consideradas nas análises.

Os indivíduos coletados foram mantidos aproximadamente por 2 horas em sacolas de pano e variações de peso por recente ingestão de água ou alimento foram minimizadas pela excreção de urina e fezes.

### Índice de sensibilidade a perturbação ambiental

Utilizou-se como índice de sensibilidade a perturbação ambiental a equação:  $[(\text{taxa de captura na área preservada} - \text{taxa de captura na área perturbada}) / (\text{taxa de captura na área preservada} + \text{taxa de captura na área perturbada}) \times 100]$  (COSSON *et al.*, 1999; Henry *et al.*, 2007), sendo a taxa de captura igual ao número de capturas da espécie dividida pelo esforço amostral empregado na área. Índice de sensibilidade igual a 100% indica que a espécie só ocorreu na área preservada, 0% indica que ela só ocorreu em quantidades iguais em ambas as áreas e -100% indica que ela só ocorreu na área perturbada. Os valores de taxa de captura de estudos passados para a área preservada de Picinguaba (GERALDES, 2005) e para a área perturbada da Ilha Anchieta (AIRES, 1998) foram somadas as obtidas nesse estudo para a obtenção mais representativa do índice de sensibilidade para cada espécie.

### Análise dos dados

Cada população consistiu em machos e fêmeas de uma mesma área. As fêmeas reprodutivas foram excluídas das análises, por considerarmos que estas podem estar com peso alterado em função da gravidez ou lactação.

Inicialmente os dados de antebraço e massa corpórea foram logaritmizados para se atender as premissas de linearidade. Em seguida as regressões lineares foram calculadas entre as variáveis logaritmizadas do antebraço (variável dependente) e da massa corpórea (variável independente) para as populações de *A. fimbriatus* e *A. obscurus* da área preservada (Picinguaba) e para a área perturbada (Ilha Anchieta). Conduzimos as análises usando regressões lineares padrões (tipo I) ao invés de regressões de médias geométricas (tipo II), como forma de obter predições mais acuradas para a determinação dos índices de condição corpórea (SCHULTE-HOSTEDDE *et al.*, 2005; KREBS, 1989). A relação de linearidade entre logaritmo da massa corpórea e logaritmo do antebraço foi avaliada através da distribuição dos resíduos da regressão plotados em função do tamanho do antebraço. Adicionalmente, foi testado, através de regressões quadráticas, se haveria um incremento expressivo do  $R^2$  em relação às equações lineares utilizadas como modelo.

Adotou-se como índice de condição corpórea (IC) a relação massa observada/massa predita. Espera-se que a média das razões da massa observada pela massa predita pela equação linear de uma população seja sempre igual a 1. Para se comparar IC de populações diferentes é necessário que os valores preditos de massa corpórea sejam obtidos a partir de uma mesma regressão (KREBS & SINGLETON, 1993). Optou-se em escolher a regressão significativa da área de maior coeficiente de determinação  $R^2$  (porcentagem de variância da variável dependente explicada pelo modelo) para obter os valores preditos de massa corpórea para a área rejeitada. Espera-se, por exemplo, que no caso da equação da regressão linear da área perturbada seja escolhida, os valores de IC obtidos para a área preservada sejam significativamente maiores que a média das razões da massa observada/predita da área perturbada, ou seja, uma média hipotética igual a 1. Essa diferença foi testada através de teste-t student para uma amostra contra uma média hipotética igual a 1, com nível de significância de 95%.

Verificou-se adicionalmente a independência do IC adotado com a variável de tamanho (antebraço) através de testes de correlação de Pearson, correlações significantes indicam dependência e devem ser interpretadas com cautela.

## RESULTADOS

O esforço amostral para Picinguaba foi de 7.533 h.m<sup>2</sup> e para a Ilha Anchieta foi de 11.097 h.m<sup>2</sup> (área de cada rede multiplicada pelo número total de redes usadas em cada noite e pelo número total de horas amostradas, segundo STRAUBE & BIANCONI, 2002).

Em Picinguaba, foram analisados 55 indivíduos de *A. obscurus* e 41 indivíduos de *A. fimbriatus*. Na Ilha Anchieta foram analisados 33 indivíduos de *A. obscurus* e 15 indivíduos de *A. fimbriatus*. *Artibeus obscurus* foi a espécie mais capturada nos dois ambientes e correspondeu a 38,6% das capturas de Picinguaba e 23,1% das capturas da Ilha Anchieta, enquanto *Artibeus fimbriatus* foi a segunda espécie em porcentagem de capturas correspondendo a 28,3% em Picinguaba e a quarta na Ilha Anchieta com 10,7% das capturas. Foram recapturados sete indivíduos de *A. obscurus*, cinco inicialmente marcados neste estudo (marcados entre quatro meses e um ano atrás) e dois correspondentes a estudos anteriores marcados há nove anos atrás (AIRES, 1998) e três anos atrás (CRUZ-NETO, dados não publicados).

As campanhas de jul/07 e set/07 apresentaram as menores temperaturas e índices pluviométricos, entretanto, de acordo com o índice de aridez de De

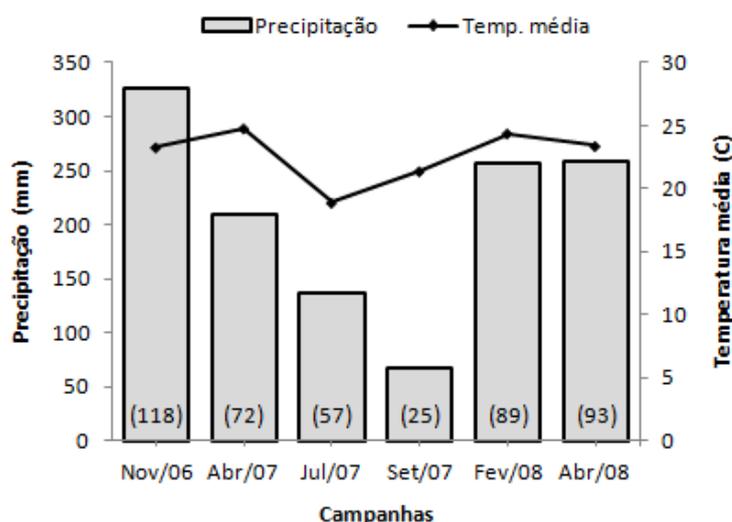


Figura 1 – Precipitação total mensal e temperatura média do município de Ubatuba/SP em cada mês de amostragem. Valores entre parênteses dentro das barras correspondem ao Índice de Aridez de De Martonne (I).

Martonne, nenhuma campanha foi caracterizada como seca ( $I < 20$ , Figura 1).

Os índices de sensibilidade obtidos através da soma dos dados desse estudo com estudos anteriores indicaram que *A. fimbriatus* foi consideravelmente mais sensível a perturbação ambiental que *A. obscurus* (76% e 34%, respectivamente, tabela 1).

**Tabela 1** – Capturas de *A. obscurus* e *A. fimbriatus* e esforço amostral (h.m<sup>2</sup> rede) para cada estudo. Taxas de captura correspondem a soma das capturas/soma dos esforços (h.m<sup>2</sup> rede) para cada área e índice de sensibilidade em porcentagem para cada espécie. \*dados da cota 50m sobre o nível do mar.

		<i>A. obscurus</i>	<i>A. fimbriatus</i>	Esforço (h.m <sup>2</sup> rede)
	Este estudo	64	47	7533
Picinguaba	GERALDES (2005)*	158	352	22812
	Taxa de captura	$7,3 \times 10^{-3}$	$13,1 \times 10^{-3}$	--
	Este estudo	39	18	11097
Ilha Anchieta	AIRES (1998)	37	19	9975
	Taxa de captura	$3,6 \times 10^{-3}$	$1,8 \times 10^{-3}$	--
	<b>Índice de Sensibilidade</b>	<b>34%</b>	<b>76%</b>	

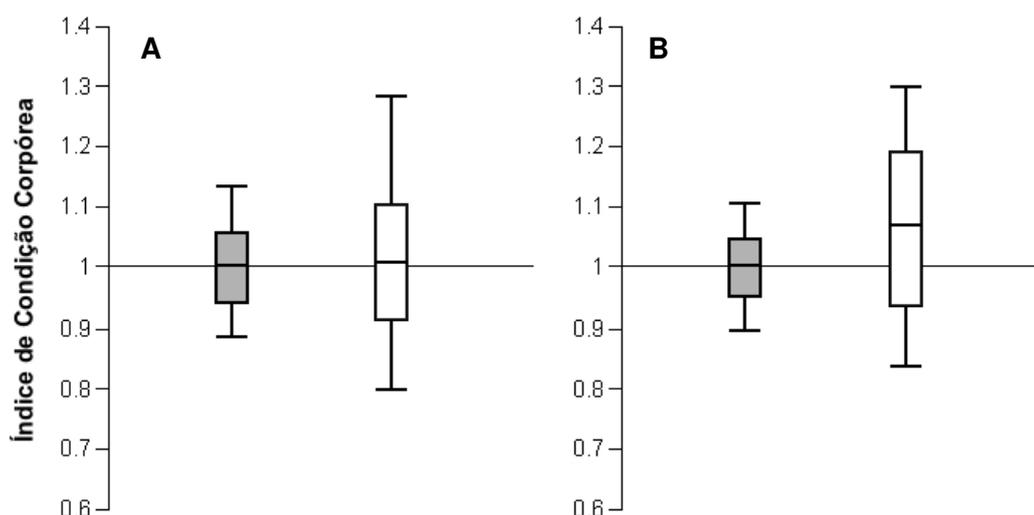
Todas as regressões lineares calculadas foram significativas, entretanto as regressões das populações da Ilha Anchieta tiveram maiores valores de R<sup>2</sup> quando comparadas as de Picinguaba. Para *A. obscurus* o modelo da Ilha Anchieta explicou 23% da variação da massa corpórea contra 7% de Picinguaba e para *A. fimbriatus* o modelo da Ilha Anchieta explicou 93% contra 69% de Picinguaba (Tabela 2).

Os valores dos índices de condição corpórea (IC) de Picinguaba somados aos da Ilha Anchieta não diferiram significativamente entre as campanhas nos meses de menor pluviosidade e temperaturas (jul/07 e set/07) das demais campanhas (*A. obscurus*: Mann Whitney; U= 556,5; p=0,07 e *A. fimbriatus*: teste-t; t=0.878; p=0,38). Sugerindo que nesse estudo os ICs não foram influenciados por sazonalidade entre as campanhas.

**Tabela 2** – Significância da Análise de Variância (ANOVA) para os Coeficientes das regressões, porcentagem da variância da variável dependente explicada pela equação ( $R^2$ ) e equação log-log da regressão linear para as populações de *A. obscurus* e *A. fimbriatus* de Picinguaba e da Ilha Anchieta.

	PICINGUABA		ILHA ANCHIETA	
	<i>A. obscurus</i> (n=55)	<i>A. fimbriatus</i> (n=41)	<i>A. obscurus</i> (n=33)	<i>A. fimbriatus</i> (n=15)
Coef. regressão ANOVA (p)	0,045	<0,001	0,003	<0,001
$R^2$	0,07	0,69	0,23	0,93
Equação	$y = 1,086x - 0,771$	$Y = 3,563x - 10,876$	$y = 1,044x - 0,606$	$Y = 3,327x - 9,949$

Os índices de condição corpórea (IC) para a população de *A. obscurus* de Picinguaba (área preservada) não foram significativamente maiores que a média hipotética igual a 1, esperada para população de *A. obscurus* da Ilha Anchieta (teste t para uma amostra, média=1,01; desv. pad.=0,10; T=0,775; gl=54, p=0,22; figura 2A). Entretanto, a média dos IC da população de *A. fimbriatus* diferiram significativamente da média 1, esperada para a população de *A. fimbriatus* da Ilha Anchieta (teste t-student para uma amostra, média=1,07; desv. pad.=0,13; T=3,309;



**Figura 2** – Índices de condição Corpórea (massa observada/predita) para as populações de **A:** *A. obscurus* e **B:** *A. fimbriatus* para a Ilha Anchieta (caixa cinza) e Picinguaba (caixa branca). Linha horizontal no centro da caixa representa a média, extremidades verticais da caixa representam os desvios-padrões e as linhas horizontais acima e abaixo da caixa representam a amplitude dos dados. Linha contínua no centro do gráfico representa a média esperada para as populações da Ilha Anchieta cujas equações foram utilizadas (IC=1).

p=0,001; figura 2B).

A distribuição dos resíduos das regressões ao longo do eixo do antebraço verificados através de inspeção visual indicaram que os dados se comportaram como lineares. As regressões quadráticas testada tiveram aumento de  $R^2$  negligenciável e não significativo em relação às equações lineares utilizadas (aumento de  $R^2$ : >0,02 e p=0,41 para *A. obscurus* da Ilha Anchieta;  $R^2$ : >0,004 e p=0,43 para *A. fimbriatus* da Ilha Anchieta), indicando que o uso das equações lineares foram adequadas.

Não houve correlação significativa dos valores de IC e da medida de antebraço para nenhuma das duas espécies de Picinguaba ou da Ilha Anchieta, indicando independência do índice de condição utilizado com o indicador de tamanho corporal (Correlação de Pearson; *A. obscurus* Picinguaba: r=-0,003; p=0,98; *A. obscurus* Ilha Anchieta: r=-0,194; p=0,26; *A. fimbriatus* Picinguaba: r=0,008; p=0,62; *A. fimbriatus* Ilha Anchieta: r=0,06; p=0,98).

## DISCUSSÃO

A hipótese de que a perturbação ambiental influenciaria negativamente a condição corpórea foi verificada apenas para *Artibeus fimbriatus*, corroborando a alta sensibilidade a perturbação ambiental sugerida pelo índice ecológico de sensibilidade.

A elevada diferença do índice ecológico de sensibilidade à perturbação apresentada por *A. fimbriatus* se deve a discrepância de abundância entre o ambiente preservado e o perturbado, enquanto que para *A. obscurus* estas diferenças na abundância entre áreas ocorreram de forma minimizada. Observação semelhante foi descrita para a Guiana Francesa em áreas perturbada e preservada comparando-se *Artibeus jamaiscensis* e *Artibeus obscurus* (HENRY *et al.*, 2007).

Na Guiana Francesa, em áreas altamente fragmentadas, porém próximas a contínuos florestais, *A. obscurus* foi classificado como sendo uma espécie de baixa sensibilidade à perturbação ambiental por ser abundante em ambas as áreas (HENRY *et al.*, 2007; COSSON *et al.*, 1999). Entretanto, parâmetros como a razão sexual e hematócrito revelaram que essa resistência pode ser errônea e que os

indivíduos dessa espécie, na realidade, apresentavam baixa eficiência de forrageio e carência nutricional (HENRY *et al.*, 2007). Em contrapartida, nossos resultados corroboram a verificação de baixa sensibilidade a perturbação em *A. obscurus* visto que a massa corpórea ajustada em função do tamanho corporal, representado pelos IC, não diferiram entre essas áreas ao contrário do que seria esperado no caso de carência nutricional crônica. Adicionalmente, as constantes recapturas assim como o tempo decorrido entre elas (meses a até 9 anos), indicam uma freqüente e duradoura utilização da Ilha Anchieta pelos indivíduos de *A. obscurus*.

Aparentemente não ocorreram mudanças climáticas drásticas que pudessem alterar a condição corpórea dos morcegos (figura 1). Os resultados obtidos são provavelmente devido a diferenças ocasionadas pela qualidade do habitat (e todos os efeitos dela derivada) e de como as espécies estudadas lidam com essas modificações. Estudos com mamíferos atribuíram a perda de massa corpórea (HARRIS *et al.*, 2002) e da reserva de gordura (MICHEL *et al.*, 2005) ao estresse crônico. Mais especificamente, diversos trabalhos em vertebrados citam uma correlação negativa entre índices de condição corpórea e a resposta hormonal ao estresse (BREUNER & HAHN, 2003; WILLIAMS *et al.* 2008, WAYE & MASON, 2008; CABEZAS *et al.*, 2007). Nossos resultados sugerem que os menores índices de condição corpórea da população *A. fimbriatus* na área perturbada podem estar associados a uma constante resposta ao estresse ocasionada pela perturbação ambiental. Por outro lado, a ausência da variação de IC no caso de *A. obscurus* indica que a espécie se ajusta satisfatoriamente à perturbação do habitat ou que, de fato, este ambiente não ocasiona estresse para esta espécie.

Aparentemente, *A. fimbriatus* é uma espécie mais suscetível a ambientes degradados e a diferença dos índices de condição corpórea entre as áreas indica uma maior dificuldade em suprir a demanda energética, provavelmente recaindo refletindo em carência nutricional. Considerando que o índice de sensibilidade a perturbação para esta espécie foi elevado devido a abundância relativamente menor que a do ambiente preservado, uma possível resposta ao empobrecimento do habitat é a migração para florestas mais estruturadas do continente. A baixa abundância populacional de *A. fimbriatus* na Ilha Anchieta poderia ser parcialmente explicada pelos eventuais deslocamentos de indivíduos para fora de áreas degradadas. Especulações semelhantes foram feitas para outros

*Artibeus* durante períodos alimentares desfavoráveis (AGUIAR & MARINHO-FILHO, 2007; PASSOS *et al.*, 2003). Costa *et al.* (2006) relatam o deslocamento de um indivíduo dessa espécie por mais de 21 km pelo mar, e nos leva a crer que a curta distância da Ilha Anchieta ao continente não seria uma barreira física intransponível a *A. fimbriatus*. A ausência de recapturas deste estudo e de morcegos dessa espécie marcados nos estudos anteriores (AIRES, 1998; CRUZ-NETO, dados não publicados) poderia ser explicada por eventuais migrações ao continente. Nesse caso, a Ilha Anchieta pode estar atuando como um filtro onde as espécies que não ajustam e demonstram quedas no estado de saúde migram ao invés de se perpetuar no ambiente.

Cosson *et al.* (1999) sugerem que a persistência das espécies em um ambiente perturbado é possível dependendo das características ecológicas e de história de vida dos animais. Entretanto, apesar das espécies selecionadas nesse estudo serem ecologicamente semelhantes, elas apresentaram respostas diferentes a mesma fonte de perturbação ambiental. Possivelmente o ambiente perturbado da Ilha Anchieta não é suficientemente prejudicial a *A. obscurus* a ponto de ocasionar resposta crônica ao estresse ou a espécie é hábil em ajustar suas demandas com o intuito de evitar essa situação. Por outro lado este mesmo ambiente perturbado acarretaria respostas fisiológicas em *A. fimbriatus* que refletiriam em diminuição da condição corpórea. Essa hipótese pode ser averiguada a partir de comparações de mediadores fisiológicos indicadores de estresse entre populações de ambientes perturbados e preservados.

Concluimos que a perturbação ambiental pode afetar negativamente a condição corpórea em morcegos da Mata Atlântica, entretanto espécies tolerantes a perturbação ambiental, como *A. obscurus*, parecem ser pouco afetadas quando comparadas a espécies mais sensíveis como *A. fimbriatus*.

Os Índices de condição corpórea são ferramentas de inferências ecológicas vantajosas graças à facilidade de computação de suas variáveis. Entretanto, seu potencial de predição pode ser ampliado se associado a observações ecológicas como dinâmicas populacionais ou medidas fisiológicas como obtenção energética e os hormônios de estresse (WAYE & MASON, 2008; BREUNER & HAHN, 2003).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, L.M.S.; MARINHO-FILHO, J. 2007. Bat frugivory in a remnant of Southeastern Brazilian Atlantic forest. **Acta Chiropterologica**, 9(1): 251–260.

AIRES, C.C. **Inventário e soroprevalência para raia e leptospirose dos morcegos (Chiroptera, Mammalia) do Parque Estadual da Ilha Anchieta, Ubatuba, São Paulo**. Monografia. Faculdades Integradas de Guarulhos, São Paulo, 60pgs, 1998.

BOVENDORP, R.S.; GALETTI, M. Density and population size of mammals introduced on a land-bridge island in southeastern Brazil. **Biological Invasions**, v. 9, p. 353-357, 2007.

BREUNER, C.W.; HAHN, T.P. Integrating stress physiology, environmental change, and behavior in free-living sparrows. **Hormones and Behavior**, v. 43, p. 115–123, 2003.

CABEZAS, S.; BLAS, J.; MARCHANT, T.A.; MORENO, S. Physiological stress levels predict survival probabilities in wild rabbits. **Hormones and Behavior**, v. 51, p. 313–320, 2007.

CIIAGRO. **Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas**. 2008. [online] <http://www.ciiagro.sp.gov.br/ciiagroonline/>

COSSON, J.F.; PONS, J.M.; MASSON, D. Effects of forest fragmentation on frugivorous and nectarivorous bats in French Guiana. **Journal of Tropical Ecology**, 15: 515–534, 1999.

COSTA, L.M.; PRATA, A.F.D.; MORAES, D.; CONDE, C.F.V.; Jordão-Nogueira, T.; Esbérard, C.E.L. Deslocamento de *artibeus fimbriatus* sobre o mar. **Chiroptera Neotropical**, v. 12, n. 2, p. 289, 2006.

DE MARTONNE, E. Une nouvelle fonction climatologique: l'indice d'aridité, **Météorologie**, 2: 449–458, 1926.

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

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. 2008. **Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica, período 2000-2005**. Fundação SOS Mata Atlântica, São Paulo, Brazil. 157pg. [online] [www.sosmatatlantica.org.br](http://www.sosmatatlantica.org.br).

GALETTI, M.; BOVENDORP, R.S.; FADINI, R.F.; GUSSONI, C.O.A.; RODRIGUES, M.; ALVAREZ, A.D.; GUIMARÃES JR., P.R.; ALVES, K. Hyper abundant mesopredators and bird extinction in an Atlantic forest island. *No prelo*.

GARDNER, A.L. Order Chiroptera: Family Phyllostomidae. *In: Mammals of South America*. Gardner, A.L. 2008 (Ed.) The University of Chicago Press, Chicago. 669 pgs, 2008.

GENINI, J., GALETTI, M., MORELATTO, L.P.C. Fruiting phenology of palms and trees in an Atlantic rainforest island. **Flora**, 204:131–145, 2009.

GERALDES, M.P. 2005. **Diversidade e estratificação altitudinal de conjuntos taxonômicos de morcegos na Mata Atlântica da Serra do Mar**, São Paulo. Tese de doutorado em Zoologia, Universidade de São Paulo, USP. São Paulo. 253p.

GREENBERG, N.; CARR, J.A.; SUMMERS, C.H. Causes and Consequences of Stress. **Integ. and Comp. Biol.**, v. 42, p. 508-516, 2002.

HARRIS, R.B.; MITCHELL, T.D.; SIMPSON, J.; REDMANN JR., S.M.; YOUNGBLOOD, B.D.; RYAN, D.H. Weight loss in rats exposed to repeated acute restraint stress is independent of energy or leptin status. **Am. J. Physiol.: Regul., Integr. Comp. Physiol.** 282 (1): R77–R88, 2002.

HAYES, J.P.; SHONKWILER, J.S. *In: Body composition analysis of animals: a handbook of non-destructive methods*. Speakman, J. R. (Ed.) Cambridge University Press, New York, USA. pp. 8-39, 2001.

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**, 139: 462-467, 2007.

HOFER, H.; EAST, M.L. Biological Conservation and Stress. **Advances in the Study of Behavior**, v. 21, p. 405-525, 1998.

INSTITUTO FLORESTAL. Plano de Manejo do Parque Estadual da Ilha Anchieta. Secretaria do Meio Ambiente, Instituto Florestal. **Série Registros**. Nº 1, p. 1-103. 1989.

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

KREBS, C.J. **Ecological Methodology**. Harper and Row Publishers, New York. 654 pp, 1989.

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

MICHEL, C.; DUCLOS, M.; CABANAC, M.; RICHARD, D. Chronic stress reduces body fat content in both obesity-prone and obesity-resistant strains of mice. **Hormones and Behavior**, 48:172 – 179, 2005.

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

PARMESAN, C. Ecological and Evolutionary Responses to Recent Climate Change. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.** v. 37, p. 637-669, 2006.

PASSOS, F.C.; SILVA, W.R.; PEDRO, W.A.; BONIN, M.R. Frugivoria em morcegos (Mammalia, Chiroptera) no Parque Estadual Intervales, sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 20(3): 511–517, 2003.

REEDER, D.M.; KRAMER, K.M. Stress in free-ranging mammals: integrating physiology, ecology and natural history. **Journal of Mammalogy**, v. 86, n. 2, p. 225-235, 2005.

SAPOLSKY, R.M. Stress Hormones: Good and Bad. **Neurobiology of Disease** v. 7, p. 540-542, 2000.

SAPOLSKY, R.M. Stress in the wild. **Scientific American**, p. 106-113, 1990.

SAPOLSKY, R.M.; ROMERO, L.M.; MUNCK, A.U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. **Endocrine Reviews**, v. 21, n.1, p. 55-89, 2000.

SCHULTE-HOSTEDDE, A.I.; ZINNER, B.; MILLAR, J.S.; HICKLING, G.J. Restitution of mass-size residual: validating body condition indices. **Ecology**, v. 86, n. 1, p. 155-163, 2005.

SPEAKMAN, J.R. Introduction. *In*: **Body composition analysis of animals: a handbook of non-destructive methods**. Speakman, J. R. (Ed.) Cambridge University Press, New York, USA. pp. 1-7, 2001.

STRAUBE, F.C.; BIANCONI, G.V. Sobre a grandeza e a unidade utilizada para estimar esforço de captura com utilização de redes-de-neblina. **Chirop. Neotrop.**, v. 8 n. 1-2, p. 150-152, 2002.

TABARELLI, M.; PINTO, L.P.; SILVA, J.M.C.; HIROTA, M. BEDÊ, L. Challenges and Opportunities for Biodiversity Conservation in the Brazilian Atlantic Forest. **Conservation Biology**, v. 19, p. 695–700, 2005.

WALKER, G.B.; BOERSMA, P.D.; WINGFIELD, J.C. Field Endocrinology and Conservation **Biology. Integr. Comp. Biol.**, v. 45, p. 12–18, 2005.

WAYE, H.L.; MASON, R.T. A combination of body condition measurements is more informative than conventional condition indices: Temporal variation in body condition and corticosterone in brown tree snakes (*Boiga irregularis*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 155, p. 607–612, 2008.

WILLIAMS, T.C.; KITAYSKY, A.S.; KETTLE, A.B.; BUCK, C.L. Corticosterone levels of tufted puffins vary with breeding stage, body condition index, and reproductive performance. **General and Comparative Endocrinology**, v. 158, n. 1, p. 29-35, 2008.

WINGFIELD, J.C.; SAPOLSKY, R. M. Reproduction and Resistance to Stress: When and How. **J. Neuroendocrinology**, v. 15, p. 711-724, 2003.

ZORTÉA, M. Família Phyllostomidae: Subfamília Stenodermatinae. *In: Morcegos do Brasil*. Reis, N. R.; Peracchi, A. L.; Pedro, W. A & Lima, I. P. (Eds). Londrina, PR, 107-128, 2007.

## CAPITULO 2

### Efeito de perturbações ambientais sobre a resposta ao estresse em morcegos das espécies *Artibeus obscurus* e *Artibeus fimbriatus*

#### INTRODUÇÃO

Os seres vivos em seus ambientes naturais estão sujeitos a lidar com contínuas variações ambientais, sejam elas cíclicas ou esporádicas (ROMERO *et al.*, 2000; WINGFIELD, 2005). Além das variações naturais, animais também sofrem os efeitos das mudanças drásticas ocasionadas pelo homem podendo resultar em sobrecarga aos organismos (CAREY, 2005).

Parâmetros ecológicos como mudanças na abundância entre áreas perturbadas e não-perturbadas têm sido utilizado com intuito de se determinar como as espécies são tolerantes a modificações (COSSON *et al.*, 1999; HENRY *et al.*, 2007). Entretanto, essas medidas de sensibilidade não levam em consideração diferenças intrínsecas da espécie na tolerância a perturbação. Neste sentido, medidas de parâmetros fisiológicos que contém informações sobre o estatus de saúde são complementos plausíveis que contribuem para a compreensão dos efeitos das perturbações ambientais sobre as espécies. O monitoramento das funções endócrinas tem sido sugerido como ferramentas auxiliares para esta finalidade (ROMERO, 2004). Elas atuam como indicadores do estatus fisiológico (CREEL, 1997; MASON, 1998), suscetibilidade a estresse ambiental (WASSER, 1997) e potencial reprodutivo em vertebrados silvestres (WINGFIELD *et al.*, 1997). Presume-se que a amplitude da resposta hormonal está correlacionada com a saúde de um animal, e por extensão, com a saúde de toda a população (ROMERO, 2004) e permite, desta forma, inferir sobre possíveis sobrecargas e características de estresse.

O termo estresse é frequentemente utilizado para expressar três conceitos distintos, que são: os estímulos que causam estresse (internos e externos), a resposta emergencial fisiológica e comportamental a estes estímulos – ou resposta ao estresse – e a conseqüência patológica do excesso de estimulação da resposta emergencial – ou estresse crônico (ROMERO *et al.*, 2009; LE MOAL, 2007). O uso

de uma palavra em comum para diferentes significados tem gerado confusões na compreensão dos mecanismos envolvidos (ROMERO *et al.*, 2009).

A resposta ao estresse tem uma importante função auxiliadora que permite que os organismos lidem e sobrevivam a ameaças que perturbem seu equilíbrio (GREENBERG *et al.*, 2002). Distúrbios naturais (ex. encontro com predadores e competidores, ou variação brusca em algum evento climático) desencadeiam uma série de respostas fisiológicas no organismo, como, por exemplo, desvio dos estoques energéticos para o exercício dos músculos, aumento da frequência cardiovascular, aumento da pressão sanguínea, diminuição da sensibilidade a dor, aumento da sensibilidade sensorial, maior rapidez cognitiva, melhor recuperação das experiências armazenadas na memória, além da supressão temporária das funções anabólicas custosas e de longo prazo (crescimento, reprodução, inflamação, digestão), até que o estímulo estressor cesse (SAPOLSKY, 1990; SAPOLSKY, *et al.*, 2000; WINGFIELD & SAPOLSKY, 2003). Entretanto, a ativação crônica da resposta ao estresse pode prejudicar seriamente a saúde. Se a glicose é constantemente mobilizada ao invés de ser estocada, os tecidos saudáveis podem se atrofiar, ocorrendo a fadiga. As mudanças cardiovasculares podem promover hipertensão, que por consequência podem danificar o coração, os vasos sanguíneos e os rins. O adiamento indefinido dos processos construtivos pode prejudicar o crescimento, a restauração dos tecidos, reduzir a fertilidade e diminuir as funções imunes aumentando a suscetibilidade a doenças (SAPOLSKY, 1999; SAPOLSKY *et al.*, 2000; REEDER & KRAMER, 2005). O empobrecimento de habitat pode ser identificado como um distúrbio persistente, que pode ocasionar a ativação crônica da resposta ao estresse e consequentemente efeitos deletérios para a saúde do organismo.

Um dos modelos para se estudar os efeitos do estresse é o da “extensão reativa”, recentemente proposto por Romero *et al.* (2009) com o intuito de integrar os estudos biomédicos com animais de laboratório e humanos, assim como estudos ecológicos de campo com animais silvestres. Este modelo propõe que um mediador fisiológico pode ser monitorado em quatro amplitudes de reação distintas: i) amplitude da Homeostase Preditiva, ii) amplitude da Homeostase Reativa, iii) Sobrecarga Homeostática e iv) Falha Homeostática.

A amplitude de reação da Homeostase Preditiva consiste na amplitude circadiana e sazonal normal desse mediador fisiológico, por exemplo, em diferentes horas do dia, estação do ano ou de história de vida (gravidez, lactação, etc.). A Homeostase Reativa consiste em um aumento além da amplitude circadiana e sazonal, cuja função serve para restabelecer a homeostase. Esse acréscimo se refere ao aumento do mediador fisiológico necessário para combater uma mudança ambiental não previsível, como uma mudança ambiental brusca ou um predador, e é comumente chamada de resposta ao estresse. A Homeostase Preditiva somada a da Homeostase Reativa é considerada a extensão de reação normal de um indivíduo.

Quando um mediador fisiológico supera a amplitude máxima da reação normal, ou seja, excede o limite superior da Homeostase Reativa, o animal entra em um estado patológico que é a Sobrecarga Homeostática. Nesse estado o próprio mediador fisiológico causa problemas ao organismo e sua manutenção ocasiona debilitações fisiológicas, podendo resultar em morte. Em contraste, quando um mediador fisiológico não consegue se manter na extensão de reação normal, que é acima do limite inferior da Homeostase preditiva, o processo fisiológico que este mediador regula não pode ser mantido e também há ocorrência de deficiências fisiológicas e como consequência a morte. Neste modelo, a extensão de reação normal define a amplitude do mediador em um animal saudável, entretanto, a manutenção indefinida do mediador na amplitude da Homeostase Reativa torna o indivíduo mais vulnerável a entrar num estado de Sobrecarga Homeostática.

Hormônios que respondem ao estresse como os glicocorticóides (cortisol e corticosterona) são mediadores fisiológicos que geram mudanças no comportamento e na fisiologia do animal que permitem que eles fujam ou suportem determinados distúrbios (SAPOLSKY *et al.*, 2000). Esses hormônios exercem um importante papel regulando o balanço energético dos animais, particularmente durante períodos de mudanças sociais ou ambientais que requerem altos gastos energéticos (NUNES *et al.*, 2006). Entretanto, enquanto os níveis normais de glicocorticóides são necessários para os animais manterem o balanço homeostático e energético (DALLMAN *et al.* 1993), níveis elevados desses hormônios por períodos prolongados são prejudiciais, causando perda muscular, deterioração das funções imunes e redução das taxas de crescimento e de reprodução (SAPOLSKY *et al.*, 2000; WINGFIELD & ROMERO, 2001).

Estudos com vertebrados demonstram um aumento no nível de glicocorticóides quando expostos a modificações em seus ambientes naturais. Entre essas modificações estão a degradação e perturbação ambiental (LUCAS *et al.*, 2006), a intensidade da atividade humana (PEREIRA *et al.*, 2006), redução na disponibilidade de recursos alimentares (KITAYSKY, *et al.*, 1999), o aumento no risco de predação (BOONSTRA *et al.*, 1998), entre outras causas naturais e antrópicas que podem resultar na conseqüente diminuição da aptidão reprodutiva das populações de animais silvestres. O aumento nos níveis de base dos glicocorticóides devido a uma potencial causa de estresse é documentado para diversos vertebrados (REEDER *et al.*, 2004a; MALISCH *et al.*, 2007; VITOUSEK *et al.*, 2008; KITAYSKY *et al.*, 1999; GREGORY *et al.*, 1996), entretanto a concentração desses hormônios em resposta ao estresse-induzido é variada e pode ser elevada (WALKER *et al.*, 2005; ROMERO *et al.*, 2008) ou reprimida (MALISCH *et al.*, 2007; KITAYSKY *et al.*, 1999) em relação a animais que aparentemente não estão sobre situação de estresse.

Entretanto, apesar da influência negativa do estresse crônico em populações naturais, também existem casos de populações resistentes ao estresse ambiental que conseguem se manter saudáveis e reproduzir com sucesso (WINGFIELD & SAPOLSKY, 2003). A habituação ou aclimatação é uma forma de ajuste ao ambiente que permite que as espécies resistam ao estresse ambiental. Na habituação, após repetitivas exposições a uma mesma fonte de estresse, o organismo diminui gradativamente a intensidade da resposta até níveis normais por não perceber mais a fonte estressante como sendo nociva. Conseqüentemente, quando um animal está habituado ele não é mais considerado cronicamente estressado (CYR & ROMERO, 2009).

Nesse contexto, compreender melhor como as populações animais lidam com situações de estresse, principalmente as de natureza antrópica é fundamental para entender quais as conseqüências das ações humanas para a integridade das populações silvestres e diversidade de espécies.

Este trabalho teve como objetivo quantificar os níveis de base (amplitude da Homeostase Preditiva) e da resposta ao estresse-induzido (amplitude da Homeostase Reativa) do glicocorticoide cortisol em populações de um ambiente preservado (controle) de Mata Atlântica primária e um ambiente perturbado de Mata Atlântica secundária com longo histórico de perturbação.

Verificou-se o efeito da perturbação ambiental sobre a resposta ao estresse – indicado pelo hormônio cortisol – em populações de duas espécies de quirópteros com grande similaridade filogenética, morfológica e alimentar, os morcegos *Artibeus obscurus* e *Artibeus fimbriatus*.

O morcego *Artibeus obscurus* tem ampla distribuição desde a porção norte da América do Sul até o sudeste do Brasil, possui ocorrência em biomas variados, sendo encontrado principalmente em florestas tropicais úmidas e ambientes secundários (GARDNER, 2008). Parâmetros ecológicos sugerem uma baixa sensibilidade dessa espécie a modificações ambientais (COSSON *et al.*, 1999; HENRY *et al.*, 2004). Em contra partida, o morcego *Artibeus fimbriatus* ocorre de maneira bem mais restrita da porção leste e sul do Brasil e nas adjacências com o Paraguai e nordeste da Argentina (GARDNER, 2008). Habitam florestas tropicais úmidas (primárias e secundárias), especialmente a mata atlântica, é raramente encontrada em cidades e mais freqüentemente encontrada próximo ao nível do mar (ZÓRTEA, 2007).

Investigamos o efeito da perturbação ambiental como potencial fonte de estresse em populações de morcegos da Mata Atlântica assumindo que os padrões hormonais da área preservada representam valores normais de uma população saudável e, portanto distinções nesse padrão são decorrentes da resposta a uma fonte de estresse. Predizemos desta maneira que a população da área perturbada apresentariam em relação à área preservada, i) maiores concentrações nos níveis de base do hormônio cortisol e ii) distinções nos padrões de resposta ao estresse-induzido.

Por fim, reforçando a idéia de que espécies diferentes podem responder de maneira distinta as perturbações ambientais, esperamos que a grande distribuição e flexibilidade de ocupar ambientes variados apresentada por *A. obscurus* seja reflexo de uma maior tolerância a modificações ambientais ao contrário de *A. fimbriatus*.

## MATERIAIS E MÉTODO

### Áreas de Estudo

Foram amostradas duas áreas de Mata Atlântica na cidade de Ubatuba, litoral norte do estado de São Paulo. Uma em um ambiente preservado no Parque

Estadual da Serra do Mar e outra em um ambiente perturbado no Parque Estadual da Ilha Anchieta, distantes uma da outra por cerca de 30 km.

O Parque Estadual da Serra do Mar possui uma área de quase 315.000 ha, numa extensão que vai desde a divisa de São Paulo com o Rio de Janeiro até Itariri, no sul do Estado, passando por toda a faixa litorânea. É a maior e mais preservada área de proteção integral de toda a Mata Atlântica. O núcleo Picinguaba (23°20'52"S, 44°48'41"W), uma das unidades que compõem o parque, abrange uma área de aproximadamente 47.000 ha, e faz a ligação entre o Parque Estadual da Serra do Mar com o Parque Nacional da Serra da Bocaina (80.000ha) e com a Área de Proteção Ambiental do Cairuçu, no Estado do Rio de Janeiro (30.000 ha).

O Parque Estadual da Ilha Anchieta (23°32'29"S, 45°03'34"W) é uma ilha continental de 828 ha próxima a costa de Ubatuba/SP, distante do continente por apenas 540 m de istmo submerso. A ilha teve sua cobertura original bastante alterada em função das diferentes fases de sua ocupação (monoculturas de café, cana-de-açúcar, pastos, a alambiques, presídio penitenciário). Uma grande parcela da Ilha Anchieta teve sua cobertura vegetal completamente devastada e os locais não desmatados foram alvos de corte de madeira para lenha ou construção civil (INSTITUTO FLORESTAL, 1989). Em 1977 a área foi transformada em Parque Estadual, possibilitando a regeneração natural da vegetação, porém ocorreram períodos de introdução de espécies vegetais e animais exóticas. Atualmente alguns desses animais exóticos são encontradas na área em densidades médias 6,5 vezes maiores que outras áreas de mata atlântica do estado de São Paulo (BOVENDORP & GALETTI, 2007). Alguns desses mesopredadores são responsáveis por predação de ninhos e inibir a colonização de aves vindas do continente (GALETTI *et al.*, no prelo). Atualmente a Ilha é um dos lugares de menor produtividade de frutos da Mata Atlântica (GENINI *et al.*, 2009) e é considerada um dos maiores pólos turísticos de Ubatuba e recebendo cerca de 90 mil turistas por ano.

#### Coleta dos dados

As campanhas foram realizadas nos meses de novembro/2006; abril, julho, setembro/2007 e fevereiro, abril/2008. Cada campanha consistiu em 6 noites de

coletas, 3 noites consecutivas no Parque Estadual da Serra do Mar núcleo Picinguaba e outras 3 noites consecutivas no Parque Estadual da Ilha Anchieta.

Em cada área foram armadas por noite de campanha de 3 a 4 redes de neblina juntas em forma de “Y”. Os coletores permaneciam em uma distância inferior a 5 metros do conjunto de redes e as checagens eram feitas em intervalos de 2 a 3 minutos ou sempre que fosse possível ouvir gritos ou movimentação das redes por morcegos capturados. Após coleta das amostras de sangue (veja a baixo), os indivíduos foram marcados com anéis metálicos numerados e as seguintes características foram registradas: espécie, sexo, condição reprodutiva, massa corpórea e tamanho do antebraço. Utilizou-se paquímetro de 0,1mm de precisão e uma balança portátil com 0,01g de precisão (Ohaus Adventurer<sup>tm</sup> Electronic Balance).

Variações circadianas nos níveis de cortisol são documentadas para morcegos (WIDMAIER & KUNZ, 1993; WIDMAIER *et al.*, 1994), normalmente os maiores níveis circadianos ocorrem logo após o despertar (REEDER & KRAMER, 2005). Visando minimizar estas variações circadianas optamos pela permanência das redes em campo por período de exatamente 6 horas após o anoitecer em cada dia de coleta. Consideramos a primeira parcela da noite como horário “pré-alimentar” e a segunda parte da noite considerada “pós-alimentar” foi desprezada.

#### Coleta de Sangue

A coleta de sangue foi feita usando tubos capilares heparinizados através da perfuração da veia superior do propatágio ou do uropatágio com uma agulha de baixo calibre. O aumento da concentração dos glucocorticóides, em mamíferos, leva geralmente entre 3 a 5 minutos para começar a ser detectável no sangue (WINGFIELD & ROMERO, 2001). Visando amostrar o nível de base das populações, ou seja, a concentração de cortisol durante suas atividades normais sem a influência de estresse, a primeira punção foi realizada sempre em tempo inferior a 3 minutos. As amostras foram descartadas sempre que o tempo de punção inicial excede o intervalo de 3 minutos. Para verificação da resposta ao estresse-induzido, outras três coletas de sangue foram realizadas após 30 minutos, 60 minutos e 120 minutos da captura. Em cada intervalo de tempo foram coletados de 3 a 6 capilares de

sangue. Os animais foram contidos em sacos de pano entre os intervalos de cada coleta de sangue.

#### Estocagem das Amostras

Imediatamente após a coleta de sangue, os capilares eram selados com Critoseal®, identificados e colocados em um isopor com bolsas térmicas a baixas temperaturas. Ao final de cada noite de coleta as amostras de sangue eram levadas ao alojamento, transferidas dos capilares para eppendorfs de 0,5 ml e centrifugadas por 15 min a 10.000 rpm em microcentrifuga portátil. Em seguida o plasma foi separado das células sanguíneas utilizando-se uma microseringa de 100 µl. Em campo, as amostras foram congeladas a -10 °C. Após o retorno do campo, as amostras foram transferidas a um freezer especial e mantidas a -70 °C até a quantificação dos hormônios em laboratório.

#### Análise hormonal e procedimentos estatísticos

Os morcegos apresentam tanto cortisol quanto corticosterona como esteróides glicocorticóides e normalmente possuem padrões similares de oscilação (REEDER *et al.* 2004a). Entretanto, a concentração de corticosterona é significativamente menor que a de cortisol, representando em alguns morcegos somente de 5 a 30% do total de glicocorticóides liberado (REEDER *et al.* 2004a; WIDMAIER & KUNZ, 1993). Para minimizar a quantidade de sangue a ser coletada preferimos realizar as quantificações apenas com o cortisol, presumindo que a resposta da corticosterona será semelhante e de menor magnitude.

As quantificações de cortisol foram realizadas através de técnica de Radioimunoensaio (RIA), com kits específicos disponíveis no mercado (Coat-a-Count® Cortisol, Siemens Medical Solutions Diagnosis). A porcentagem de reatividade-cruzada com corticosterona apresentada pelo fabricante foi considerada desprezível (<1%) não representando influência significativa no procedimento de quantificação do cortisol. Sempre que possível as amostras foram quantificadas em duplicatas e o valor médio foi utilizado.

Para verificar possível efeito sazonal sobre os níveis de base das concentrações de cortisol os dados entre áreas foram agrupados e as campanhas com menores temperaturas e pluviosidade reduzida (jul/07 e set/07, cap.1 figura 1)

foram testadas (teste U de Mann-Whitney) contra as demais (nov/06, abr/07, fev/08 e abr/08, cap.1 figura 1).

Para cada espécie, testou-se através de análise de variância bifatorial (two-way ANOVA) diferenças nas concentrações de cortisol de cada intervalo entre machos e fêmeas (exceto fêmeas reprodutivas) da área preservada e da área perturbada. Os dados das concentrações de cortisol entre machos e fêmeas em um mesmo intervalo foram agrupados sempre que não ocorresse diferença significativa. Quando necessário testou-se com o mesmo teste diferenças nas concentrações de cortisol de cada intervalo entre as áreas.

Diferenças nas concentrações de cortisol em cada intervalo foram testadas em cada agrupamento de sexo dados através de análises de análise de variância paramétrica (one-way ANOVA) ou análise de variância não-paramétrica (Kruskal-Wallis one-way ANOVA) com análises *post-hoc* o teste de Tukey e o método de Dunn, para ANOVA paramétrica e não-paramétrica, respectivamente.

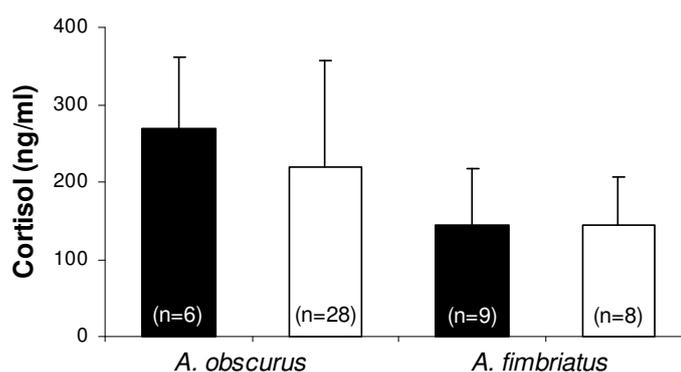
O teste U de Mann-Whitney foi empregado para se testar diferenças no nível de base (ou Homeostase preditiva) entre a área preservada e a área perturbada.

As fêmeas reprodutivas foram excluídas de todas as análises anteriormente citadas, mas tiveram seus padrões de concentração de cortisol no plasma (Homeostase preditiva e reativa) descritos.

## RESULTADOS

Foram capturados 63 (8 fêmeas reprodutivas) indivíduos de *A. obscurus* e 46 (5 fêmeas reprodutivas) indivíduos de *A. fimbriatus* em Picinguaba. Na Ilha Anchieta foram capturados 35 (2 fêmeas reprodutivas) indivíduos de *A. obscurus* e 16 (1 fêmea reprodutiva) indivíduos de *A. fimbriatus*. Foram recapturados 7 indivíduos de *A. obscurus*, cinco deste estudo (marcados entre 4 meses e 1 ano atrás) e dois correspondentes a estudos anteriores marcados a 9 anos atrás (AIRES, 1998) e 3 anos atrás (CRUZ-NETO, dados não publicados).

As concentrações dos níveis de base de *A. obscurus* e *A. fimbriatus* não diferiram significativamente entre as estações de menores temperaturas e pluviosidade das demais, sugerindo ausência de sazonalidade dos dados (figura 1).



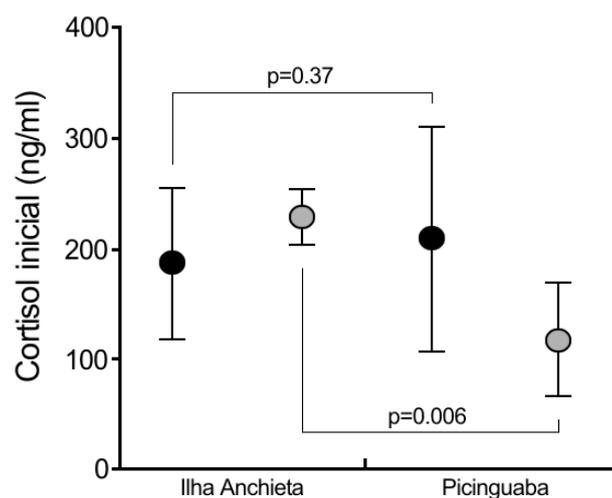
**Figura 1** – Comparação entre níveis de base do hormônio cortisol em *A. obscurus* e *A. fimbriatus* entre as campanhas de menor temperatura/pluviosidade (barras escuras) e de maior temperatura/pluviosidade (barras brancas). Barras representam a média e linha horizontal o desvio-padrão. Teste de Mann-Whitney, *A. obscurus*:  $U=143$  e  $p=0.06$ ; *A. fimbriatus*:  $U=73$  e  $p=0.96$ .

Não foram encontradas diferenças nas concentrações cortisol de um mesmo intervalo entre machos e fêmeas de *Artibeus obscurus* em Picinguaba (two-way ANOVA,  $F=0,92$  e  $p=0,34$ ) assim como também não houve diferença na Ilha Anchieta (two-way ANOVA,  $F=2,37$  e  $p=0,13$ ). *Artibeus fimbriatus* não apresentou diferença entre sexos para Picinguaba (two-way ANOVA,  $F=0,17$  e  $p=0,68$ ), porém houve diferença significativa entre as concentrações de cortisol de 60 e 120 minutos para a Ilha Anchieta (two-way ANOVA,  $F=7,46$  e  $p=0,02$ ; Tukey,  $q=3.06$  e  $p=0,05$ ) (tabela 2).

#### Nível de base como indicador de estresse

Visto que nas áreas não houve diferenças entre sexo os machos e fêmeas (exceto as reprodutivas) da mesma área de cada espécie foram agrupados para representar a medida inicial (nível de base ou amplitude da homeostase preditiva) de cortisol para a espécie dessa área. Para *A. obscurus* não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de cortisol da linha de base entre área preservada (Picinguaba) e área perturbada (Ilha Anchieta). Entretanto, para *A.*

*fimbriatus* houve diferença altamente significativa entre as áreas comparadas, sendo a linha de base 51,9% maior na área perturbada que na preservada (Figura 2; teste de Mann-Whitney; *A. obscurus*: T=236,00 e P=0,367; *A. fimbriatus*: T=61,00 e P=0,006).

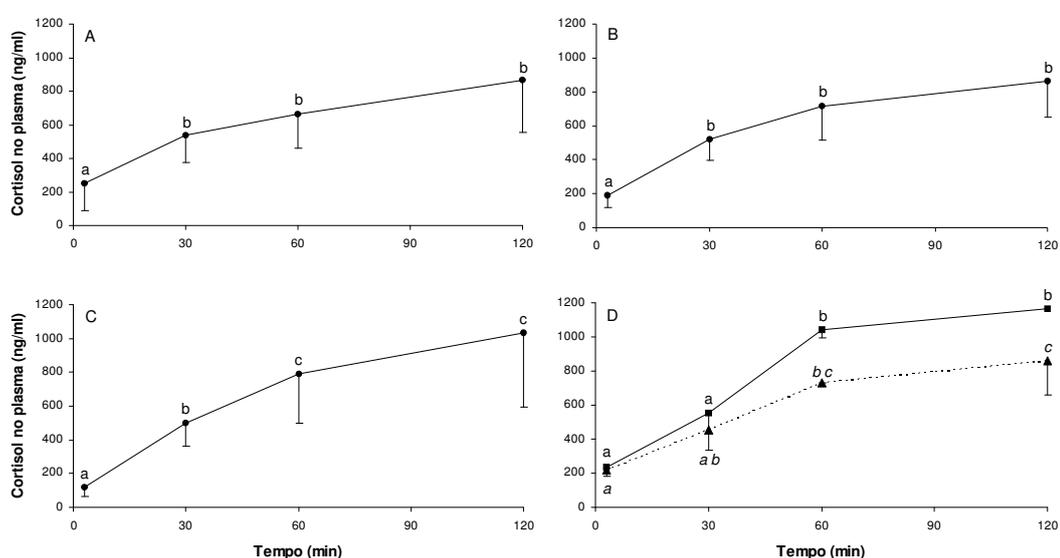


**Figura 2** – Comparação do nível de base de cortisol (círculos) e do desvio-padrão (linhas horizontais) de *A. obscurus* (preto) e *A. fimbriatus* (cinza) entre áreas. Os valores de significância para o teste de Mann-Whitney estão indicados

### Resposta ao estresse-induzido

A partir dos resultados das análises de variância bifatorial os dados foram agrupados em 5: i) *A. obscurus* de Pinguaba (machos e fêmeas não-reprodutivas), ii) *A. obscurus* da Ilha Anchieta (machos e fêmeas não-reprodutivas), iii) *A. fimbriatus* de Pinguaba (machos e fêmeas não-reprodutivas), iv) fêmeas de *A. fimbriatus* da Ilha Anchieta e v) machos de *A. fimbriatus* da Ilha Anchieta. Diferenças nas concentrações de cortisol entre os tempos de medidas (linha de base vs 30min. vs 60min. vs 120min.) foram verificadas e estão apresentadas na figura 3.

Para *A. obscurus* o padrão entre áreas foi semelhante, a concentração de cortisol no plasma diferiu significativamente do nível de base a partir da medida de 30 minutos de estresse-induzido em ambas as áreas (figura 3 A-B). Para *A. fimbriatus* o padrão da resposta hormonal foi distinto entre áreas. Na área preservada (figura 3C) a concentração de cortisol diferiu do nível basal após 30 minutos, porém na área perturbada resposta ao estresse-induzido foi mais lenta tanto para machos quanto para fêmeas de *A. fimbriatus* da área perturbada, diferindo significativamente do nível de base apenas aos 60 minutos de estresse induzido e diferindo entre machos e fêmeas (figura 3D).



**Figura 3** – Concentrações médias de cortisol no plasma (ng/ml) e desvios-padrão em função dos tempos de coleta de sangue (minutos). Para cada gráfico, letras minúsculas diferentes significam diferença estatística entre as medidas (one-way ANOVA ou Kruskal-Wallis). A: *Artibeus obscurus* (♀♂) de Pinguaba, B: *Artibeus obscurus* (♀♂) da Ilha Anchieta, C: *Artibeus fimbriatus* (♀♂) de Pinguaba, D: *Artibeus fimbriatus* fêmeas da Ilha Anchieta (triângulos e linha tracejada) e *Artibeus fimbriatus* machos da Ilha Anchieta (quadrados e linha contínua).

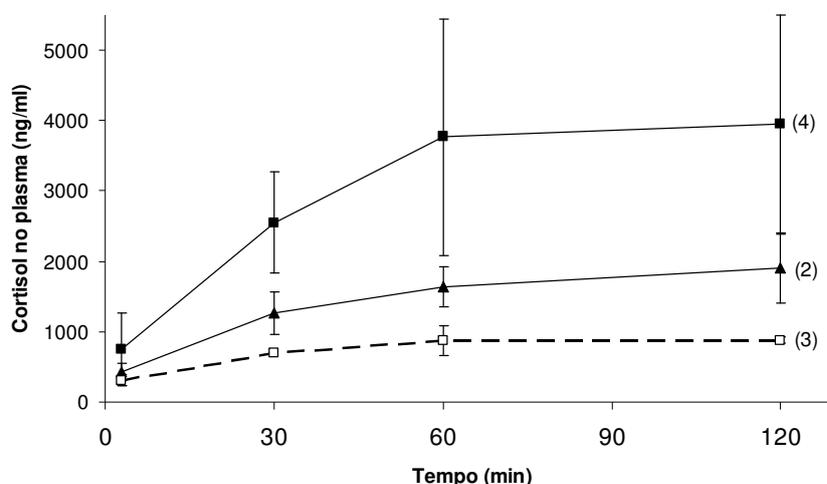
Os valores para cada tempo de medida de cortisol para cada grupo estão apresentados na tabela 3.

**Tabela 3** – Concentrações médias de cortisol (ng/ml) e desvios-padrão no plasma entre os tempos de coleta para cada grupo. Número de amostras indicados entre parênteses.

Grupo	Descrição	nível de base	30 min.	60 min.	120 min.
Grupo 1	<i>Artibeus obscurus</i> (♂ e ♀) de Picinguaba	253,16 ±162,34 (n=19)	538,36 ±164,10 (n=25)	661,03 ±204,18 (n=26)	867,02 ±313,57 (n=25)
Grupo 2	<i>Artibeus obscurus</i> (♂ e ♀) da Ilha Anchieta	186,30 ±67,06 (n=15)	517,49 ±118,85 (n=13)	712,42 ±197,81 (n=18)	861,23 ±208,23 (n=10)
Grupo 3	<i>Artibeus fimbriatus</i> (♂ e ♀) de Picinguaba	118,39 ±50,81 (n=13)	497,52 ±134,99 (n=20)	789,98 ±291,74 (n=19)	1034,26 ±443,11 (n=18)
Grupo 4	<i>Artibeus fimbriatus</i> fêmeas não-reprodutivas da Ilha Anchieta	218,06 ±37,60 (n=2)	452,11 ±116,00 (n=3)	730,90 ±0,58 (n=3)	858,89 ±199,22 (n=3)
Grupo 5	<i>Artibeus fimbriatus</i> machos da Ilha Anchieta	238,14 ±7,30 (n=2)	550,78 ±115,47 (n=2)	1043,25 ±48,35 (n=2)	1163,75 (n=1)

#### Fêmeas reprodutivas: um caso especial

Devido ao reduzido número de capturas de fêmeas reprodutivas de *A. fimbriatus*, apenas as observações para as fêmeas de *A. obscurus* serão descritas. Foi possível verificar diferenças expressivas no padrão da resposta ao estresse entre fêmeas grávidas e a lactantes (figura 4). As fêmeas grávidas de *A. obscurus* de Picinguaba apresentaram linha de base de cortisol de aproximadamente 750 ng/ml e as fêmeas grávidas da Ilha Anchieta de aproximadamente 425 ng/ml, valores considerados altos se comparados aos apresentados pelo restante da população (223,66 ng/ml, veja tabela 3). As fêmeas lactantes apresentaram concentração inicial de cortisol de aproximadamente 300 ng/ml, resultado mais próximo ao da média da população. As concentrações após estresse-induzido para as fêmeas grávidas de *A. obscurus* da Ilha Anchieta foram maiores que o dobro do pico observado para a população (865,36 ng/ml, veja tabela 3). Entretanto o mais surpreendente foram as concentrações de cortisol alcançadas pelas fêmeas grávidas de Picinguaba (média de aproximadamente 3950 ng/ml, chegando até os 5800 ng/ml) após o estresse-induzido.



**Figura 4** – Concentração média de cortisol no plasma de fêmeas reprodutivas de *A. obscurus* em função do tempo de coleta do sangue. Quadrados pretos (linha contínua): fêmeas grávidas de Picinguaba, triângulos pretos (linha contínua): fêmeas grávidas da Ilha Anchieta, quadrados brancos (linha tracejada): fêmeas lactantes de Picinguaba. (números de amostras de cada grupo entre parênteses). Não foram capturadas fêmeas lactantes na Ilha Anchieta.

## DISCUSSÃO

Verificou-se com as medidas do hormônio cortisol que os níveis de base para *A. fimbriatus* na área perturbada foram cerca de 52% mais elevados que os da área preservada. Adicionalmente, os indivíduos de *A. fimbriatus* da área perturbada apresentaram uma resposta mais lenta ao estresse induzido, necessitando de cerca de 60 minutos para a concentração diferir do nível de base enquanto que na área preservada o acréscimo significativo do hormônio ocorreu após 30 minutos de estresse-induzido. Por último, em Picinguaba o padrão da resposta ao estresse não diferiu entre machos e fêmeas e nem de suas concentrações máximas e tempo de ascensão. Já para a Ilha Anchieta machos e fêmeas apresentaram padrões diferentes na resposta ao estresse, sendo que o pico de concentração máxima de cortisol das fêmeas foi reduzido em relação aos machos e em relação à população da área preservada. Em contrapartida, *A. obscurus*, apresentou diferença significativa nas concentrações do nível de base, nem no padrão de resposta ao estresse ou na concentração máxima de cortisol entre as áreas.

Aparentemente as variáveis climáticas da sazonalidade não influenciaram significativamente nos níveis de cortisol das populações selecionadas, entretanto uma pronunciada diferença pode ser observada entre as fêmeas reprodutivas e o restante da população. Klose *et al.* (2006) também verificaram que a reprodução é a principal moduladora da resposta ao estresse em *Artibeus jamaicensis* e refutaram a idéia da sazonalidade como influenciadora para ambientes tropicais.

Nossos resultados sugerem que a população de *A. fimbriatus* da Ilha Anchieta não consegue lidar de forma satisfatória com a perturbação do habitat e apresenta indicativos de estresse crônico quando comparada à população de Picinguaba (área preservada). Por outro lado, *A. obscurus* aparentemente se ajustou satisfatoriamente ao ambiente perturbado e não apresentou indicativos de resposta crônica ao estresse, estando provavelmente habituado (=aclimatado) com o ambiente perturbado da Ilha Anchieta.

Romero (2004) aponta que o reconhecimento do estado de habituação (=aclimatação) e desabilitação (= facilitação) como fatores de confusão em inferências sobre o estado de estresse entre populações silvestres. Cyr e Romero (2009) sugerem quatro testes diagnósticos para se reconhecer e estabelecer um estado de habituação entre populações de um ambiente estressante e não estressante: teste 1) a resposta ao estresse-induzido deve ser restituída diante de um novo estressor (desabilitação), teste 2) as populações habituadas não devem apresentar características de declínio de saúde, teste 3) o nível basal do mediador fisiológico não deve se alterar entre populações e teste 4) para estressores de longo prazo (como as perturbações ambientais) medidas múltiplas do mediador fisiológico devem ser tomadas ao longo do ano para controlar variações naturais das populações. Nesse estudo, a perturbação no ambiente é a fonte de estresse contínua e repetitiva e, portanto a fonte de estresse para a habituação. O protocolo empregado de estresse-induzido constituísse como uma nova fonte de estresse agudo e é a fonte de estresse para verificar a desabilitação. A resposta ao estresse-induzido semelhante entre as áreas para as populações de *A. obscurus* é um indicativo que a população da Ilha Anchieta demonstra desabilitação e atende a diagnose do teste 1. Os índices de condição corpórea são ferramentas que podem ser usadas para inferir sobre a aptidão e saúde dos indivíduos de uma população (DOBSON, 1992; JAKOB *et al.*, 1996), as comparações feitas no capítulo 1

demonstram que *A. obscurus* não apresenta declínio de saúde na Ilha Anchieta e atende a diagnose do teste 2. A comparação entre os níveis de base do hormônio cortisol de *A. obscurus* entre a área perturbada e preservada não sofreram modificação atendendo a diagnose do teste 3. A exclusão das fêmeas reprodutivas das análises e as coletas ao longo do ano diluíram possíveis efeitos estressantes pontuais, como as tempestades ou predadores, e representaram a variação da homeostase preditiva atendendo a premissa do teste 4.

Fortes evidências demonstram habituação ao estresse na população de *A. obscurus* da Ilha Anchieta e por oposição sugerem que a população de *A. fimbriatus* não esteja habituada e responde ao estresse no ambiente perturbado da Ilha Anchieta. As diferenças observadas nos níveis de base e no padrão de estresse-induzido para *A. fimbriatus* do ambiente perturbado reforçam essa idéia.

De acordo com o modelo de “extensão reativa” proposto por Romero (2009) podemos enquadrar as respostas hormonais apresentadas pelas populações das duas espécies desse estudo da seguinte maneira: i) os níveis de base das populações de *A. fimbriatus* da área preservada e de *A. obscurus* da área preservada e perturbada estariam em uma região da amplitude da homeostase preditiva (variação normal de atividade) distante do limite com a homeostase reativa (estado emergencial para lidar com a fonte de estresse) e ii) os níveis de base das populações de *A. fimbriatus* da área perturbada estariam localizadas numa região da amplitude da homeostase preditiva muito próxima do limite para a homeostase reativa. Em i) as ações cotidianas como forrageio ou procura por abrigos dificilmente passariam para o estado emergencial da homeostase reativa, enquanto que em ii) os indivíduos estão suscetíveis e mesmo ações cotidianas poderiam ocasionar a entrada no estado de homeostase reativa. No modelo proposto, estar constantemente em homeostase reativa reduz o limiar para se entrar em sobrecarga homeostática e torna o indivíduo mais vulnerável a apresentar debilitações fisiológicas e a desenvolver um quadro patológico (ROMERO *et al.*, 2009).

Neste contexto, a incapacidade de *A. fimbriatus* se habituar se ao estresse crônico de longo prazo imposto pelo ambiente perturbado da Ilha Anchieta força os indivíduos a entrarem na amplitude reativa com maior frequência e gradualmente reduzir o limiar para se alcançar a sobrecarga homeostática. Eventualmente, se o limiar da sobrecarga homeostática sofrer considerável redução, mesmo baixas

concentrações do hormônio cortisol poderiam ocasionar a rápida mudança da homeostase preditiva até a sobrecarga homeostática (ROMERO *et al.*, 2009) e resultar debilitações do estado de saúde e da aptidão, conforme sugerido pela redução do Índice de condição corpórea no capítulo 1.

Um mecanismo pouco compreendido é o da resposta ao estresse das fêmeas reprodutivas. Aparentemente um padrão estabelecido é que ocorre um exacerbado aumento da resposta ao estresse-induzido no período de gestação e que as respostas são minimizadas no período de gestação (ATKINSON & WADDELL, 1995; KLOSE *et al.*, 2006; REEDER *et al.* 2004a, ROMERO, 2002).

Apesar das fêmeas reprodutivas de *A. obscurus* não serem diretamente o foco do estudo, apresentaram resultados interessantes. As concentrações da linha de base em fêmeas grávidas foram consideradas altas, enquanto que as das fêmeas lactantes se assemelharam as das fêmeas não-reprodutivas, corroborando com o padrão acima descrito. A resposta ao estresse-induzido das fêmeas grávidas do ambiente preservado foi extremamente alta (cerca de 5x a das fêmeas não-reprodutivas), alcançando mais de 5800 ng/ml em alguns indivíduos, sendo agora a maior concentração já registrada para quirópteras, que era a do megaquiróptero *Pteropus hypomenanus* (cerca de 3000 ng/ml de glicocorticóides totais, REEDER, *et al.*, 2004b).

Alguns autores defendem que as proteínas globulina ligadores de corticosteróides (CBG - "corticosteroid-binding globulin"), permitem que altas concentrações de glicocorticóides sejam alcançadas minimizando seus efeitos deletérios (ROMERO, 2002; REEDER & KRAMER, 2005; BOONSTRA, 2005; KLOSE *et al.*, 2006). A principal teoria acredita que cerca de 90-95% dos glicocorticóides liberados no plasma se ligam a CBG. Apenas os glicocorticóides livres da CBG são biologicamente ativos para atuar nos tecidos, o restante permanece no plasma, como um reservatório, e pode ser gradativamente utilizado ou rapidamente liberado em caso de necessidade. Antagonicamente, nos machos a testosterona atua como um inibidor na produção de CBG (BOONSTRA, 2005) e nas fêmeas os estrógenos funcionam como um potencial indutor da síntese dessa proteína e, portanto, permite uma concentração muito maior do total de glicocorticóides circulantes nas fêmeas reprodutivas que nos machos (DE KLOET *et al.*, 1998). O estresse crônico regula negativamente a CBG, via inibição do eixo

gonadal, e resulta em mais glicocorticóides livres (BOONSTRA, *et al.*, 1998; DE KLOET *et al.*, 1998).

Embora conhecida as conseqüências a saúde devido a altas concentrações crônicas de glicocorticóides (SAPOLSKY, 1990), a atenuação da liberação desses hormônios na resposta ao estresse não necessariamente é benéfica se essa concentração estiver de alguma forma associada à sobrevivência do animal (ROMERO & WIKELSKI, 2002; CABEZAS *et al.*, 2007). Nos mamíferos, a gravidez e a lactação são consideradas os períodos de maior demanda metabólica (WADE & SCHNEIDER, 1992). O investimento de energia durante a gravidez inclui a produção fetal, uterina, placentária e mamária, e cuidado com a prole. Durante a reprodução o aumento dos níveis de glicocorticóides é concebível para lidar com esse período de maior demanda energética (ROMERO, 2002). O aumento das concentrações normais de glicocorticóides durante a gravidez pode facilitar a rápida disponibilização energética, enquanto que a exacerbada resposta ao estresse pode estar relacionado com o aumento da sobrevivência (CABEZAS *et al.*, 2007) visando o sucesso da prole. A diminuição dos glicocorticóides próximos aos níveis normais durante a lactação pode ser uma estratégia para evitar as conseqüências dos efeitos deletérios de altas concentrações desses hormônios passados à prole durante a amamentação (KLOSE *et al.* 2006 e REEDER *et al.*, 2004). Nesse sentido em determinadas situações da história de vida do animal é vantajoso combater os altos níveis de glicocorticóides enquanto em outras não.

De maneira geral, o padrão hormonal de resposta ao estresse é ainda pouco compreendido e torna difícil a interpretação sem um completo entendimento das respostas adaptativas do eixo hormonal do estresse (BOONSTRA, 2005), provavelmente esta dificuldade não permite ainda classificar uma amplitude da concentração do mediador como sendo saudável ou nociva. Entretanto a averiguação da habituação em uma população de uma área perturbada pode ser satisfatoriamente inferida através da comparação de níveis de base e de estresse-induzido do mediador fisiológico com uma área controle.

As diferenças da resposta a perturbação ambiental entre *A. obscurus* e *A. fimbriatus* está provavelmente relacionada com a sensibilidade fisiológica ao ambiente e sua capacidade de habituação a fonte de estresse. Espécies de quirópteras com baixa sensibilidade a perturbação ambiental são provavelmente

mais aptas a manter a saúde fisiológica em uma grande variedade de ambientes e possuem grande vantagem na ocupação de ambientes degradados.

Sugerimos que estudos futuros de endocrinologia da conservação em populações silvestres sejam conduzidos monitorando-se ao mesmo tempo mais de um mediador de resposta ao estresse e as relacionando com padrões de história de natural ligados ao *fitness*. A averiguação conjunta de mediadores como glicocorticóides totais (cortisol ou corticosterona), glicocorticóides livres, proteína ligadora de corticosterona (CBG) e hormônio adenocorticotrófico (ACTH) e suas relações com taxas de sobrevivência, taxa de fecundidade e outras medidas de aptidão podem fornecer informações valiosas para o avanço dos estudos desse novo ramo da ciência além de intensificar sua aplicação para a conservação.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATKINSON, H.C.; WADDELL, B.J. The hypothalamic–pituitary–adrenal axis in rat pregnancy and lactation: circadian variation and interrelationship of plasma adrenocorticotropin and corticosterone. **Endocrinology**, v. 136, p. 512–520, 1995.

BOONSTRA, R. Equipped for life: the adaptive role of the stress axis in male mammals. **Journal of Mammalogy**, v. 86, n. 2, p. 236-247, 2005.

BOONSTRA, R.; HIK, D.; SINGLETON, G.R. and TINNIKOV, A. The impact of predator-induced stress on the Snowshoe hare cycle. **Ecology Monographs**, v. 79, n. 5, p. 371–394, 1998.

BOVENDORP, R.S.; GALETTI, M. Density and population size of mammals introduced on a land-bridge island in southeastern Brazil. **Biological Invasions**, v. 9, p. 353-357, 2007.

CABEZAS, S.; BLAS, J.; MARCHANT, T.A. and MORENO, S. Physiological stress levels predict survival probabilities in wild rabbits. **Hormones and Behavior**, v. 51, p. 313–320, 2007.

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

CREEL, S.; CREEL, N.M.; MONFORT, S.L. Radiocollaring and stress hormones in African wild dogs. **Conserv. Biol.**, v. 11, p. 544-548, 1997.

CYR, N.E.; ROMERO, L.M. Identifying hormonal habituation in field studies of stress. **General and Comparative Endocrinology**, 161, p.295–303, 2009.

DALLMAN, M.F.; STRACK, A.M.; AKANA S.F.; BRADBURY, M.J.; HANSON, E.S.; SCRIBNER, K.A.; SMITH, M. Feast and famine: critical role of glucocorticoids with insulin in daily energy flow. **Frontiers neuroendocrinol.**, 14, p. 303–347, 1993.

DE KLOET, E.R.; VREUGDENHIL, E.; OITZL, M.S. and JOËLS, M. Brain Corticosteroid Receptor Balance in Health and Disease. **Endocrine Reviews**, v. 19, n. 3, p. 269–301, 1998.

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

GALETTI, M.; BOVENDORP, R.S.; FADINI, R.F.; GUSSONI, C.O.A.; RODRIGUES, M.; ALVAREZ, A.D.; GUIMARÃES JR., P.R.; ALVES, K. Hyper abundant mesopredators and bird extinction in an Atlantic forest island. *No prelo*.

GARDNER, A.L. Order Chiroptera: Family Phyllostomidae. *In: Mammals of South America*. Gardner, A.L. 2008 (Ed.) The University of Chicago Press, Chicago. 669 pgs, 2008.

GENINI, J., GALETTI, M., MORELATTO, L.P.C. Fruiting phenology of palms and trees in an Atlantic rainforest island. **Flora**, 204, p.131–145, 2009.

GREENBERG, N.; CARR, J.A.; SUMMERS, C.H. Causes and Consequences of Stress. **Integ. and Comp. Biol.**, v. 42, p. 508-516, 2002.

GREGORY, L.F.; GROSS, T.S.; BOLTEN, A.B.; BJORNDAL, K.A.; GUILLETTE JR., L.J. Plasma Corticosterone Concentrations Associate with Acute Captivity Stress in Wild Loggerhead Sea Turtles (*Caretta caretta*) **General and Comparative Endocrinology**, 104, p. 312–320, 1996.

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**, 139, p. 462-467, 2007.

INSTITUTO FLORESTAL. Plano de Manejo do Parque Estadual da Ilha Anchieta. Secretaria do Meio Ambiente, Instituto Florestal. **Série Registros**. Nº 1, p. 1-103. 1989.

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

KITAYSKY, A.S.; WINGFIELD, J.C. and Piatt, J.F. Dynamics of food availability, body condition and physiological stress response in breeding Black-legged Kittiwakes. **Functional Ecology**, v. 13, p. 577–584, 1999.

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

LE MOAL, M. Historical approach and evolution of the stress concept: a personal account. **Psychoneuroendocrinology**, 32, p. S3–S9, 2007

LUCAS, J.R.; FREEBERG, T.M.; EGBERT, J. and SCHWABL, H. Fecal corticosterone, body mass, and caching rates of Carolina chickadees (*Poecile carolinensis*) from disturbed and undisturbed sites. **Hormones and Behavior**, v. 49, p. 634–643, 2006.

MALISCH, J.L.; SALTZMAN, W.; GOMES, F.R.; REZENDE, E.L.; JESKE, D. R.; GARLAND Jr., T. Baseline and Stress-Induced Plasma Corticosterone Concentrations of Mice Selectively Bred for High Voluntary Wheel Running. **Physiological and Biochemical Zoology**, 80(1), p. 146–156, 2007.

MASON, G. The physiology of the hunter deer. **Nature**, v. 391, p. 22, 1998.

NUNES, S.; PELZ, K.M.; MUECKE, E.M.; HOLEKAMP, K.E.; ZUCKER, I. Plasma glucocorticoid concentrations and body mass in ground squirrels: Seasonal variation and circannual organization. **General and Comparative Endocrinology**, v. 146, p. 131–138, 2006.

PEREIRA, R.J.G.; DUARTE, J.M.B. and NEGRÃO, J.A. Effects of environmental conditions, human activity, reproduction, antler cycle and grouping on fecal glucocorticoids of free-ranging Pampas deer stags (*Ozotoceros bezoarticus bezoarticus*). **Hormones and Behavior**, v. 49, p. 114 – 122, 2006.

REEDER, D.M. and KRAMER, K.M. Stress in free-ranging mammals: integrating physiology, ecology, and natural history. **Journal of Mammalogy**, v. 86, n. 2, p. 225–235, 2005.

REEDER, D.M.; KOSTECZKO, N.S.; KUNZ, T.H. and 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. and WIDMAIER, E.P. Baseline and Stress-Induced Glucocorticoids During Reproduction in the Variable Flying Fox, *Pteropus hypomelanus* (Chiroptera: Pteropodidae). **Journal of Experimental Zoology**, v. 301A, p. 682–690, 2004b.

ROMERO, L.M. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. **TRENDS in Ecology & Evolution**. v.19, n.5, p. 249–255, 2004.

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.; DICKENS, M.J.; CYR, N.E. The reactive scope model — A new model integrating homeostasis, allostasis, and stress. **Hormones and Behavior**, 55, p. 375–389, 2009.

ROMERO, L.M.; MEISTER, C.J.; CYR, N.E.; KENAGY, G.J.; WINGFIELD, J.C. Seasonal glucocorticoid responses to capture in wild free-living mammals. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, 294, p. R614–R622, 2008.

ROMERO, L.M.; REED, J.M. and WINGFIELD, J.C. Effects of Weather on Corticosterone Responses in Wild Free-Living Passerine Birds. **General and Comparative Endocrinology**, v. 118, p. 113–122, 2000.

ROMERO, L.M.; WIKELSKI, M. Exposure to tourism reduces stress-induced corticosterone levels in Galápagos marine iguanas. **Biological Conservation**, v. 108, p. 371–374, 2002.

SAPOLSKY, R. Stress in the wild. **Scientific American**, p. 106-113, 1990.

SAPOLSKY, R.M. Glucocorticoids, stress, and their adverse neurological effects: relevance to aging. *Experimental gerontology*, 34(6), p. 721-32, 1999.

SAPOLSKY, R.M.; ROMERO, L.M.; MUNCK, A.U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. **Endocrine Reviews**, v. 21, n.1, p. 55-89, 2000.

VITOUSEK, M.N.; RUBENSTEIN, D.R.; NELSON, K.N.; WIKELSKI, M. Are hotshots always hot? A longitudinal study of hormones, behavior, and reproductive success in male marine iguanas. **General and Comparative Endocrinology**, 157, p. 227–232, 2008.

WADE, G.N. and SCHENEIDER, J.E. Metabolic fuels and reproduction in female mammals. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 16, p. 235-272, 1992.

WALKER, B.G.; BOERSMA, P.D.; WINGFIELD, J. Physiological and Behavioral Differences in Magellanic Penguin Chicks in Undisturbed and Tourist-Visited Locations of a Colony. **Conservation Biology**, 19 (5), p. 1571-1577, 2005.

WASSER, S.K.; BEVIS, K.; KING, G.; HANSON, E. Noninvasive physiological measures of disturbance in the northern spotted owl. **Conservation Biology**, v. 11, p. 1019- 1022, 1997.

WIDMAIER, E.P. and KUNZ, T.H. Basal, Diurnal and Stress-Induced Levels of Glucose and Glucocorticoids in Captive Bats. **Journal of Experimental Zoology**, v. 265, p. 533-540, 1993.

WIDMAIER, E.P.; HARMER, T.L.; SULAK, A.M. and KUNZ, T.H. Further characterization of the pituitary-adrenocortical responses to stress in Chiroptera **Journal of Experimental Zoology**, v. 269, n. 5, p. 442-449, 1994.

WINGFIELD, J. C. The concept of allostatis: coping with a capricious environment. **Journal of Mammalogy**, v. 86, p. 248–254, 2005.

WINGFIELD, J.C. AND ROMERO, L.M. Adrenocortical responses to stress and their modulation in free-living vertebrates. In **Handbook of Physiology**; Section 7: The Endocrine System; Volume IV: Coping with the Environment: Neural and Endocrine Mechanisms (McEwen, B.S. and Goodman, H.M., eds), pp. 211–234, Oxford University Press, 2001.

WINGFIELD, J.C. and SAPOLSKY, R.M. Reproduction and Resistance to Stress: When and How. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 15, p. 711-724, 2003.

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.

ZORTÉA, M. Família Phyllostomidae: Subfamília Stenodermatinae. *In*: **Morcegos do Brasil**. Reis, N. R.; Peracchi, A. L.; Pedro, W. A & Lima, I. P. (Eds). Londrina, PR, 107-128, 2007.

## CONCLUSÃO GERAL

O índice ecológico de sensibilidade a perturbação ambiental indicou *Artibeus fimbriatus* como sendo uma espécie relativamente mais sensível a perturbações que *Artibeus obscurus* (76% e 34%, respectivamente). Os resultados obtidos com o índice de condição corpórea (capítulo 1) e com o hormônio cortisol (capítulo 2) corroboraram a indicação do índice ecológico.

Nesse estudo, as populações da área preservada foram consideradas populações controle, ou seja que não sofrem de estresse causado pela perturbação ambiental. No capítulo 1, o índice de condição corpórea de *A. fimbriatus* da população da área preservada foi significativamente maior do que o esperado para a população da área perturbada, enquanto que em *A. obscurus* não houve diferença entre áreas. Adicionalmente, através do indicador fisiológico de estresse, o hormônio cortisol, observou-se que a população de *A. fimbriatus* da Ilha Anchieta apresentou características de resposta ao estresse ambiental enquanto que essas respostas hormonais ao estresse não foram evidenciadas para *A. obscurus*.

No capítulo 2, comparamos as concentrações de níveis de base (níveis normais circadianos e circanuais) e de estresse-induzido (resposta a um agente estressor) de cortisol e entre as populações da área preservada e perturbada. O nível de base e de estresse-induzido de *A. obscurus* apresentou resposta hormonal semelhante entre área preservada e perturbada sendo considerado um indicativo de tolerância a perturbação ambiental. Fortes evidências apontam para um estado de habituação hormonal dessa espécie aos fatores de estresse da Ilha Anchieta, ou seja, a espécie passa a não mais reconhecer o ambiente como estressante e conseqüentemente diminui sua resposta hormonal a níveis semelhantes aos observados para as populações da área preservada. Por outro lado, a população de *A. fimbriatus* da Ilha Anchieta apresenta fortes características de uma população sob estresse ambiental. A população da área perturbada apresentou níveis de base do hormônio cortisol aproximadamente 52% maiores do que na área preservada, além disso a resposta ao estresse-induzido foi significativamente mais lenta nesta população, necessitando de cerca de 60 minutos para a concentração diferir do nível de base enquanto que na área preservada o acréscimo significativo do hormônio ocorreu após 30 minutos de estresse-induzido. A habituação pode ser considerada como uma forma de se evitar os efeitos deletérios do estresse ocasionados pelas

altas concentrações por períodos prolongados desses hormônios. A incapacidade de *A. fimbriatus* de se habituar ao ambiente perturbado da Ilha Anchieta aumenta a chance da população apresentar um estado de sobrecarga homeostática, em que o hormônio cortisol causa distúrbios fisiológicos que podem ocasionar conseqüências negativas a saúde do animal. Assim, os menores índices de condição corpórea observados para a área perturbada em relação a preservada para esta espécie pode ser um efeito do estresse imposto pela perturbação ambiental a condição corpórea do organismo.

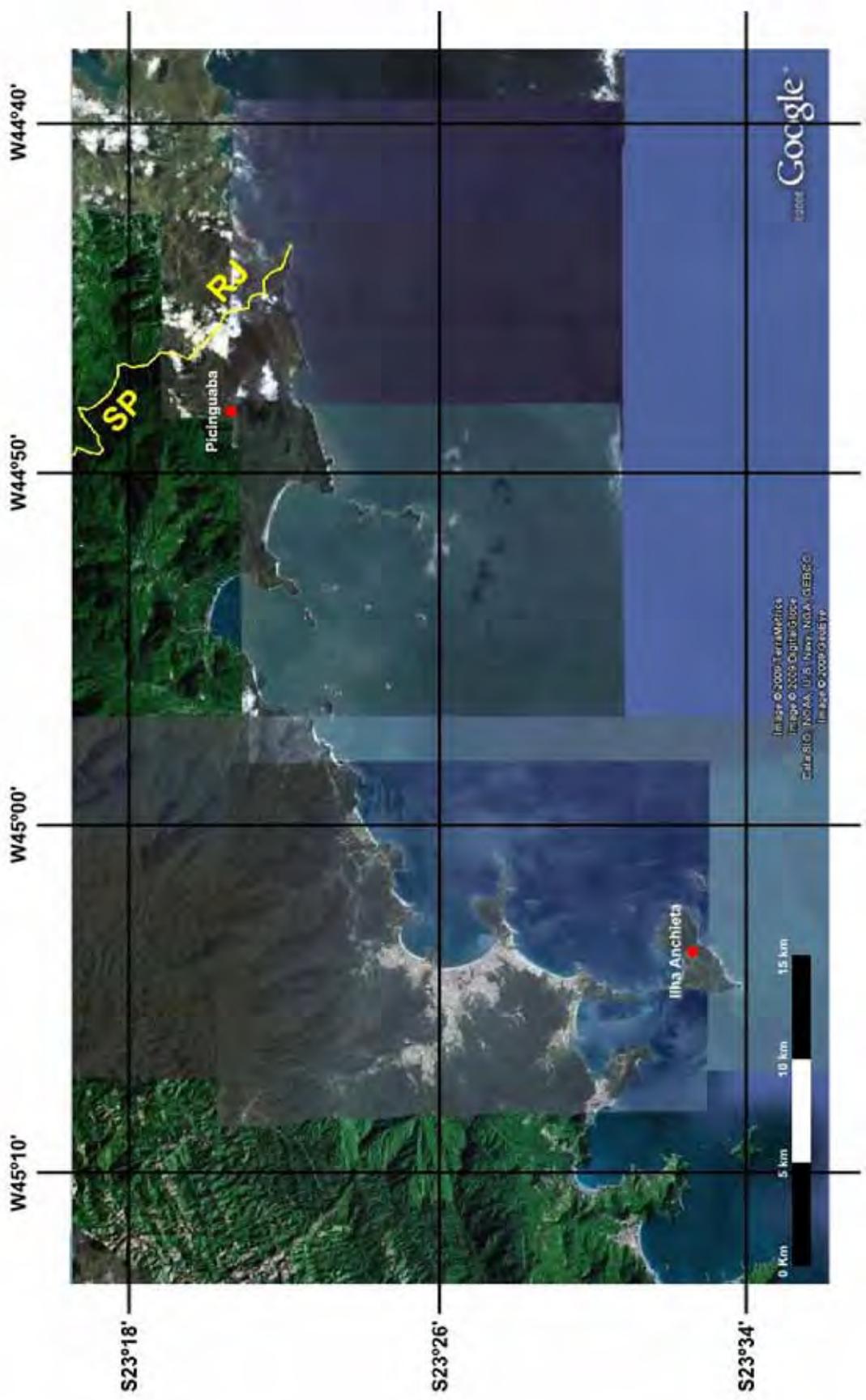
Aparentemente, a tolerância apresentada por *A. obscurus* se deve a capacidade de habituação dessa espécie a um ambiente estressante. Possivelmente as espécies de quirópteras com baixa sensibilidade a perturbação ambiental são mais aptas a manter a saúde fisiológica em uma grande variedade de ambientes e possuem grande vantagem na ocupação de ambientes degradados.

**ANEXO I** – Distribuição Brasileira de *Artibeus obscurus* (em cinza) e *Artibeus fimbriatus* (em azul). Quadrado indicado por seta representa a área de estudo, em maiores detalhes no ANEXO II.



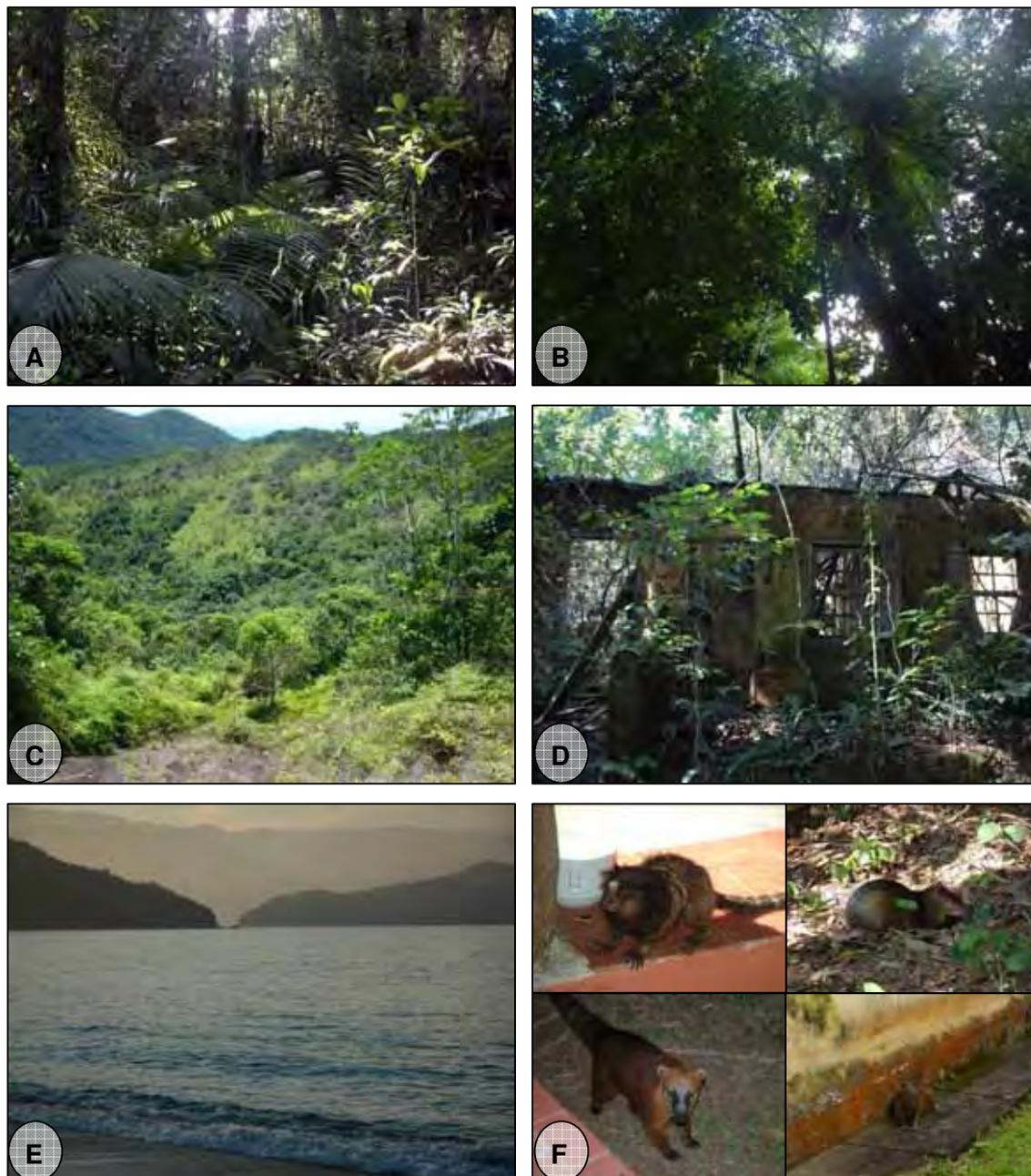
Adaptado de GARDNER, A.L. **Mammals of South America**. The University of Chicago Press, 2008

**ANEXO II** – Mapa do município de Ubatuba, São Paulo, Brasil. Pontos vermelhos indicam os locais de coleta: Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Picinguaba e Parque Estadual da Ilha Anchieta.



**Anexo III** – Lista das espécies, capturas totais e percentuais de captura dos morcegos registrados na Ilha Anchieta e em Picinguaba durante o período de estudo.

Espécie	Ilha Anchieta		Picinguaba	
	Capturas totais	Porcentagem de Captura	Capturas totais	Porcentagem de Captura
<i>Artibeus obscurus</i>	39	23,1	64	38,6
<i>Artibeus fimbriatus</i>	18	10,7	47	28,3
<i>Artibeus lituratus</i>	29	17,2	6	3,6
<i>Carollia perspicillata</i>	10	5,9	15	9,0
<i>Tonatia bidens</i>	34	20,1	12	7,2
<i>Sturnira lilium</i>	14	8,3	3	1,8
<i>Sturnira tildae</i>	---	---	4	2,4
<i>Desmodus rotundus</i>	4	2,4	---	---
<i>Micronycteris megalotis</i>	4	2,4	---	---
<i>Platyrrhinus lineatus</i>	---	---	3	1,8
<i>Glossophaga soricina</i>	3	1,8	1	0,6
<i>Anoura caudifer</i>	2	1,2	1	0,6
<i>Anoura geoffroyi</i>	---	---	1	0,6
<i>Myotis nigricans</i>	8	4,7	---	---
<i>Platyrrhinus lineatus</i>	1	0,6	---	---
<i>Trachops cirrhosus</i>	---	---	3	1,8
<i>Glyphonycteris daviesi</i>	---	---	2	1,2
<i>Chiroderma doriae</i>	3	1,8	2	1,2
<i>Vampyressa pusilla</i>	---	---	1	0,6
<i>Artibeus cinereus</i>	---	---	1	0,6
<b>TOTAL</b>	169	100%	166	100%



**ANEXO V** – **A:** estrutura da Mata Atlântica preservada de Picinguaba, **B:** dossel desenvolvido da Mata Atlântica preservada de Picinguaba, **C:** floresta secundária de Mata Atlântica da Ilha Anchieta (primeiro plano) e antigos campos antrópicos (segundo plano), **D:** antigas moradias militares em meio à floresta secundária regenerante da Ilha Anchieta, **E:** porção da Ilha Anchieta (primeiro plano a esquerda) distante apenas 540 m do continente (segundo plano a direita), **F:** superpopulação dos animais introduzidos na Ilha Anchieta em 1983 (superior esquerda: *Callithrix penicillata*, superior direita: *Dasyprocta* sp., inferior esquerda: *Nasua nasua*, inferior direita: *Hydrochoerus hydrochaeris*).



**ANEXO VI** – **G**: balança e paquímetro de precisão utilizado nas biometrias de campo, **H**: proximidade do coletor a rede para coleta da primeira amostra de sangue em tempo inferior a 3 minutos, **I**: coleta de sangue por venipunctura da asa, **J**: sangue coletado em capilares heparinizados mantidos resfriado durante a noite de coleta, **K**: Stenodermatinae *Artibeus obscurus*, **L**: Stenodermatinae *Artibeus fimbriatus*, **M**: Recaptura de uma fêmea de *Artibeus obscurus* anilhada por Carolina Aires em 1998.



**ANEXO VII - N:** Stenodermatinae *Chiroderma doriae*, **O:** Glossophaginae *Anoura caudifera*, **P:** Fêmea grávida do Phyllostominae *Tonatia bidens*, **Q:** Phyllostominae *Micronycteris megalotis*, **R:** Phyllostominae *Trachops cirrhosus* registrado apenas em Picinguaba, **S:** Phyllostominae *Glyphonycteris daviesi* registrado em Picinguaba, primeiro registro para o sudeste brasileiro.