

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**ESTUDO DA COMUNIDADE DE ANUROS EM DIFERENTES CONDIÇÕES
RIPÁRIAS SOB INFLUÊNCIA DO CULTIVO DE CANA DE AÇÚCAR: SUBSÍDIOS
PARA A CONSERVAÇÃO**

Ludmila Cristina Baldi Rodrigues Moreno

Orientador: Cláudia Maris Ferreira Mostério

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

São Paulo

Setembro – 2013

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**ESTUDO DA COMUNIDADE DE ANUROS EM DIFERENTES CONDIÇÕES
RIPÁRIAS SOB INFLUÊNCIA DO CULTIVO DE CANA DE AÇÚCAR: SUBSÍDIOS
PARA A CONSERVAÇÃO**

Ludmila Cristina Baldi Rodrigues Moreno

Orientador: Cláudia Maris Ferreira Mostério

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

São Paulo

Setembro - 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Elaborada pelo Núcleo de Informação e Documentação. Instituto de Pesca, São Paulo

B177e

Baldi, Ludmila Cristina

Estudo da comunidade de anuros em diferentes condições ripárias sob influência do cultivo de cana de açúcar : subsídios para a conservação / Ludmila Cristina Baldi.

-- São Paulo, 2013.

vi, 76f. ; il. ; graf. ; tab.

Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de Agricultura e Abastecimento.

Orientadora: Cláudia Maris Ferreira Mostério

1. Riacho. 2. Fragmentação. 3. Agricultura. 4. Anurofauna. 5. Bacia do Rio Piracicaba. I. Mostério, Cláudia Maris Ferreira. II. Título.

CDD 639.94



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 31602-1	Data da Emissão: 23/11/2011 13:09
Dados do titular	
Nome: Cláudia Maris Ferreira Mostério	CPF: 571.739.409-82
Título do Projeto: Estudo da comunidade de anfíbios em diferentes condições ripárias sob influência do cultivo de cana de açúcar: subsídios para conservação	
Nome da Instituição: Instituto de Pesca-Sec Agricultura e Abastecimento-São Paulo	CNPJ: 46.384.400/0030-83

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Instalação de armadilhas	11/2011	12/2011
2	Coleta	01/2012	09/2012

De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA n° 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio n° 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	Os pit-fall devem conter aparatos que diminuam stress (insolação e/ou afogamento) dos animais, os quais devem ser fechados ou retirados quando inativos. O pesquisador é responsável pela inspeção das armadilhas diariamente. Para o sacrifício dos exemplares sugerimos a utilização dos métodos recomendados pela RESOLUÇÃO 714/2002-CFMV e/ou da American Society of Ichthyologist and Herpetologist. Guidelines for Use of Live Amphibians and Reptiles in Field and Laboratory Research (Ash, 2004).
---	--

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Ludmila Cristina Baldi Rodrigues Moreno	Pesquisador	228.190.048-73	238902006 ssp-SP	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
---	-----------	----	--------------------	------

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa n°154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 66855136



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

“ESTUDO DA COMUNIDADE DE ANUROS EM DIFERENTES
CONDIÇÕES DE MATA RIPÁRIA, SOB INFLUÊNCIA DO CULTIVO
DA CANA DE AÇÚCAR: SUBSÍDIOS PARA A CONSERVAÇÃO”

AUTOR: Ludmila Cristina Baldi Rodrigues Moreno

ORIENTADOR: Prof.^a. Dr.^a. Claudia Maris Ferreira Mostério

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de
MESTRE EM AQUICULTURA E PESCA, Área de Concentração em
Aquicultura, pela Comissão Examinadora:



Prof.^a. Dr.^a. Claudia Maris Ferreira Mostério

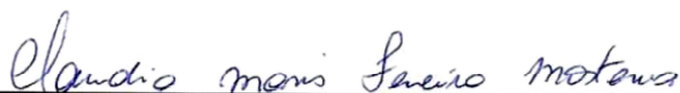


Prof.^a. Dr.^a. Marta Maria Antoniazzi



Prof.^a. Dr.^a. Cinthia Aguirre Brasileiro

Data da realização: 27 de setembro de 2013



Presidente da Comissão Examinadora
Prof.^a. Dr.^a. Claudia Maris Ferreira Mostério

“Dedico aos meus pais Lourdes e Edvaldo, pelo amor, dedicação, incentivo e toda a contribuição para minha formação”.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pelas bênçãos e preces ouvidas, a Jesus pelo modelo de humildade e amor o qual quero sempre seguir. Aos meus Pais e Mães Orixás e meus tão amados guias de trabalho espiritual. Obrigada pelas inspirações, vibrações positivas e amparo em todos os momentos da minha vida.

Agradeço aos meus pais Lourdes e Edvaldo, por terem me dado à vida, me criado com amor e por todo suporte que me permitiu estudar.

A Dra. Cláudia Maris, pela oportunidade, orientação, amizade e dedicação. Um exemplo de pessoa e profissional extraordinária do qual será sempre modelo.

Ao meu marido Gabriel, pelo amor, apoio e toda compreensão nos momentos de ausência.

As minhas melhores amigas Carol, Raquel e Gabriella, companheiras de momentos bons e ruins.

Ao Sérgio pela ajuda na montagem das armadilhas.

Ao querido João Batista pelas viagens inesquecíveis e ajuda indispensável nas coletas, sem você nada disso seria possível!

Aos amigos de pesquisa, coleta e coração: Fernanda Bastos, Katerine Carvalho, Juliana Macedo, Pedro Verdan, Fernanda Menezes, Patrícia Teixeira, Adriana Sacioto, Márcio Hipolito e Juliana Gradisse!

A Dra. Katharina Eichbaum Esteves pela excelente coordenação do projeto e toda ajuda com o artigo.

Ao Dr. Taran Grant e a MSc. Mariane Targino do Instituto de Biociências da USP (Zoologia) pela identificação das espécies.

A Carla Cassini da UNESP pela identificação do gênero de *Adenomera*.

Ao Dr. Carlos Jared, Dra. Marta Maria Antoniazzi e MSc. Pedro Mailho Fontana pela disponibilização do Laboratório de Biologia Celular do Instituto Butantã e ajuda nas análises histológicas.

Ao Dr. Fábio Cop da UNESP/Rio Claro pelas análises estatísticas.

Ao Dr. Márcio Hipolito do Instituto Biológico, pela disponibilização do Laboratório Interinstitucional de Sanidade em Aquicultura (LISA) e por toda a ajuda durante a realização deste trabalho.

Ao Fabrício Oda, pelas dicas, sugestões e ajuda em todos os momentos que precisei.

A Isabella Leal Bordon e Leonardo Tachibana pela atenção e ajuda com as tabelas e análises.

Ao Luiz Evangelista pelas análises da água.

Aos Professores da Pós-Graduação do Instituto de Pesca pelos ensinamentos.

A todos os funcionários do Instituto de Pesca.

Aos professores que participaram da minha banca de qualificação e defesa, pelas excelentes sugestões e enriquecimento do trabalho.

A todos os amigos do Instituto de Pesca pela troca de ideias, experiências, viagens em disciplinas.

A FAPESP, pela bolsa e apoio financeiro ao projeto.

A equipe de coleta imbatível dirigida pelo Comandante Hamilton: João Batista, Juliana Macedo, Katerine Carvalho, Fernanda Bastos, Pedro Perereca, Cláudia Maris, Patrícia Teixeira...! Este foi um dos momentos mais especiais e divertidos da minha vida! A ajuda e companhia de vocês foram primordiais para a execução e sucesso deste trabalho. Muito Obrigada! Amo todos de coração!

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

Sumário

Agradecimentos	i
Sumário	iv
Resumo Geral	v
Abstract General	vi
Introdução Geral.....	2
Referências Bibliográficas	11
Capítulo 1 - Estudo da comunidade de Anuros em diferentes vegetações ripárias: Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar.....	15
Resumo.....	15
Abstract	16
Introdução	17
Materiais e Métodos	19
Resultados	24
Discussão.....	28
Agradecimentos	34
Referências Bibliográficas	35
Capítulo 2 - Morfologia do tegumento de <i>Rhinella ornata</i> oriunda de diferentes paisagens: Cana de Açúcar e Mata Fechada.....	44
Resumo.....	44
Abstract.....	45
Introdução	46
Materiais e Métodos	48
Resultados e Discussão.....	51
Agradecimentos	59
Referências Bibliográficas	59
Considerações finais	62

Estudo da comunidade de Anuros em diferentes condições ripárias sob influência do cultivo de cana de açúcar: subsídios para a conservação

Ludmila Cristina Baldi^{a*}, Cláudia Maris Ferreira^b

^{a*}MSc. Instituto de Pesca, APTA/SAA, Avenida Francisco Matarazzo 455, Água Branca, São Paulo, Brasil. *Corresponding author: ludmilacristina@hotmail.com. Tel. +55(11) 98386-7975

^b Scientific Research - Instituto de Pesca, APTA/SAA, Avenida Francisco Matarazzo 455, Água Branca, São Paulo, Brasil. E-mail: claudia@pesca.sp.gov.br

Resumo Geral

As zonas ripárias ocorrem na interface entre os ambientes aquático e terrestre caracterizando-se pela vegetação marginal de pequenos riachos. Nesta região acontecem importantes interações, com alta biodiversidade e grande diversidade de processos ambientais. Estudos têm mostrado que diferentes características da anurofauna tais como composição, riqueza, abundância e biomassa estão relacionadas a variações na cobertura vegetal, e que a destruição da zona ripária pode afetar as comunidades de anfíbios de diversas formas, uma vez que estas espécies geralmente utilizam esta região após a metamorfose para forrageamento ou dispersão. Considerando a expansão do cultivo da Cana de Açúcar no Estado de São Paulo, e a escassa informação existente sobre seus impactos nas zonas ripárias de pequenos riachos, o presente estudo visou conhecer melhor os efeitos que esta cultura pode exercer sobre a anurofauna presente nestas regiões. Realizamos coletas nas zonas ripárias de riachos localizados na Bacia do Rio Piracicaba – São Paulo/Brasil, com as seguintes condições de vegetação: Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar. A anurofauna foi capturada por meio de armadilhas de interceptação e queda (*pitfall traps*) com cercas guia e encontro visual limitado por tempo. Índices de Riqueza, Composição e Abundância de espécies foram avaliados entre as diferentes paisagens. Análises morfológicas do tegumento de espécimes de *Rhinella ornata* foram feitas a fim de detectar diferenças estruturais indicativas da plasticidade destes animais aos diferentes entornos (Cana de Açúcar e Mata Fechada). Pretendeu-se, também, identificar os fatores ambientais impactantes sobre as comunidades estudadas, subsidiando medidas adequadas de manejo e conservação das espécies e dos ecossistemas em questão.

Palavras-chave: riacho, fragmentação, agricultura, anurofauna, Bacia do Rio Piracicaba

Study of Anuran community in different riparian conditions under influence of sugar cane cultivation: subsidies for conservation

Ludmila Cristina Baldi^{a*}, Cláudia Maris Ferreira^b

^{a*}MSc. Instituto de Pesca, APTA/SAA, Avenida Francisco Matarazzo 455, Água Branca, São Paulo, Brasil. *Corresponding author: ludmilacristina@hotmail.com. Tel. +55(11) 98386-7975

^b Scientific Research - Instituto de Pesca, APTA/SAA, Avenida Francisco Matarazzo 455, Água Branca, São Paulo, Brasil. E-mail: claudia@pesca.sp.gov.br

Abstract General

The riparian zones occur at the interface between the aquatic and terrestrial environments, it is characterized by marginal vegetation of small streams. Important interactions occur in this region, with high biodiversity and great diversity of environmental processes. Studies have shown that the different characteristics of anurans, such as composition, richness, abundance and biomass are related to variations in vegetation cover, and the destruction of riparian zone can affect amphibian communities in many ways, whereas these animals use the region after metamorphosis for foraging or dispersal. Considering the expansion of sugar cane cultivation in São Paulo, and the limited information available on their impacts on riparian zones of small streams, the present study aimed to better understand the effects that this culture can have on the anurans present in these locals. We conducted the work in riparian zones of streams located in the Piracicaba River Basin - São Paulo / Brazil, with the following conditions of vegetation: Closed Forest, Open Forest and Sugarcane. The anurans were captured using pitfall traps with fence guide and visual encounter limited by time. We have compared the composition, abundance and species richness among the different landscapes. Morphological analysis of *Rhinella ornata* integument was made in order to detect structural differences indicative of individuals plasticity at different locations (Sugarcane and Closed Forest). The intention was also to identify the environmental factors impacting on the communities studied, supporting appropriate measures for management and conservation of species and ecosystems in question.

Keywords: stream, fragmentation, agriculture, anuran, Piracicaba River Basin

INTRODUÇÃO GERAL

Introdução Geral

As zonas ripárias ocorrem na interface entre os ambientes aquático e terrestre, constituindo, portanto, a vegetação marginal de riachos. Sua importância já foi reconhecida pela Legislação Federal Brasileira, que protege esses espaços desde a elaboração do Código Florestal de 1965, considerando-os Áreas de Preservação Permanente (APP).

No tocante à função ecológica, as zonas ripárias atuam sobre uma série de fatores importantes para o desenvolvimento de comunidades, como a ciclagem de nutrientes, retenção de resíduos, formação de habitats e de corredores para a biodiversidade, que facilitam o deslocamento da biota e a troca genética entre as populações. Possui papel ainda como auxiliar no controle biológico de pragas e formação de microclima pela melhoria da qualidade do ar, da água e do solo (MORO, 2003). Outros fatores como controle da temperatura, sombreamento, retenção, armazenamento e liberação de nutrientes, aumento da estabilidade das margens, fornecimento de material lenhoso, e proteção contra distúrbios em diversas escalas na bacia de drenagem, são consideradas as principais funções exercidas pela zona ripária (PUSEY e ARTHINGTON, 2003).

Diferentes características da anurofauna como composição, riqueza, abundância e biomassa de espécies estão relacionadas às variações na cobertura vegetal, e a destruição da zona ripária pode afetar as comunidades de anfíbios de diversas formas. ROTHERMEL e SEMLISCH (2002) afirmam que a elevada temperatura e baixa umidade do solo encontrado em áreas abertas são limitantes para anfíbios, que apresentam altas taxas de perda de água por evaporação bem como uma limitação na dispersão. Neste sentido a diminuição na ocorrência e riqueza de espécies aumenta conforme o isolamento de áreas úmidas e conversão do habitat em áreas de agricultura. Estas alterações podem ocorrer ao nível de indivíduo ou comunidade, através de modificações no sucesso reprodutivo, sobrevivência de ovos e larvas, perda de sincronização de processos reprodutivos em relação às variações sazonais, mudanças na estrutura e diversidade do habitat e na dinâmica trófica (PUSEY e ARTHINGTON, 2003; SILVANO *et al.*, 2003), uma vez que estas espécies

geralmente utilizam esta região após a metamorfose para forrageamento ou dispersão (OLSON *et al.*, 2007).

Os anfíbios habitam um amplo espectro de diferentes habitats, e seu tegumento possui características únicas que permitem a sobrevivência destes animais sob diferentes condições ambientais (FELSEMBURGH e BRITOGITIRANA, 2008), desempenhando funções como proteção mecânica e química (ALMEIDA *et al.*, 2007), transporte iônico, absorção hídrica e respiração (SULLIVAN *et al.*, 2000).

Por outro lado, a grande dependência de umidade torna-os altamente vulneráveis às variações ambientais, e, portanto, à extinção local. De acordo com BLAUSTEN e BALDEN (2003), a pele dos anfíbios, é exposta e permeável, o que os leva a absorver facilmente as substâncias do meio. Além disso, o ciclo de vida complexo de muitas espécies - aquático e terrestre - expõe esses animais às mudanças ambientais. Estes atributos e o fato de anfíbios serem ectotérmicos os tornam especialmente sensíveis às mudanças de temperatura, precipitação e aumentos de radiação ultravioleta. A alta permeabilidade tegumentar, característica da maior parte das espécies de anfíbios, acarreta a perda particularmente elevada de água quando comparados a outros tetrápodes, expondo-os a um alto risco de desidratação em ambiente terrestre (TITON e GOMES, 2012).

As possíveis causas de declínio de anfíbios variam desde mudanças climáticas e poluição industrial até a poluição por agrotóxicos. Todavia a principal ameaça aos anfíbios no Brasil e no mundo atualmente é a degradação, destruição e fragmentação de habitats (BEEBEE e GRIFFITHS, 2005, ROSSA-FERES *et al.*, 2010).

Atualmente o Brasil é reconhecido mundialmente como um dos maiores produtores de Cana de Açúcar, fato este relacionado à estratégia geral do desenvolvimento do uso do etanol desde 1975 (BRITO CRUZ, 2010), ao seu balanço energético positivo e ao baixo custo de produção (MARTINELLI e FILOSO, 2008). Estes últimos autores sugerem que a questão da sustentabilidade da produção de etanol ainda necessita ser mais bem analisada, antes que a expansão da Cana de Açúcar comprometa importantes serviços ambientais fornecidos pelos ecossistemas, atualmente já bastante ameaçados.

Neste contexto, o Estado de São Paulo é o maior produtor de Cana de Açúcar do país, com cinco milhões de hectares plantados e 393 milhões de toneladas (IEA, 2010), participando com 50% da cobertura nacional (MARTINELLI e FILOSO, 2008). Embora a porcentagem de pasto represente aproximadamente 51% do uso do solo no Estado de São Paulo e a Cana de Açúcar 14% (SILVA *et al.*, 2007), diversas bacias apresentam extensas áreas de plantio desta cultura, como a Bacia do Rio Piracicaba (34%), segundo levantamento recente realizado por SILVA *et al.* (2007).

Não têm sido observados declínios significativos na cobertura de vegetação nativa em função da expansão da Cana de Açúcar, porém estudos recentes realizados no Estado de São Paulo têm mostrado que apenas 25% das florestas ripárias foram mantidas, quando consideradas as principais bacias do estado. Os 75% restantes (4500 km²) foram convertidos em áreas de cultivo de Cana de Açúcar ou pasto, sendo que nas duas bacias com maior porcentagem de Cana de Açúcar (Piracicaba e Mogi-Guaçu), somente 13-18% da vegetação ripária foi preservada (SILVA *et al.*, 2007).

Paralelamente, problemas ambientais têm sido associados com esta cultura podendo citar-se as altas taxas de erosão do solo (SPAROVEK e SCHNUG, 2001), o que leva a deposição de sedimentos em reservatórios, áreas de inundação, rios e córregos. Este fato é agravado pelo transporte de fertilizantes e resíduos de agroquímicos que comprometem a qualidade da água (CORBI *et al.*, 2006). Além disto, problemas de eutrofização dos ambientes aquáticos também têm sido observados, devido ao excesso de uso de nitrogênio em áreas de cultivo (MARTINELLI e FILOSO, 2008).

A sensibilidade geral dos anfíbios indica a necessidade de realização de estudos adicionais detalhados destes organismos em uma variedade de tipos de habitats (BARRET e GUYER, 2008). Alguns estudos, como os realizados por VOS e CHARDON (1998) e GARDNER *et al.* (2007) indicam a ocorrência de maior riqueza de espécies de anfíbios em áreas de vegetação nativa, comparativamente às florestas secundárias e áreas de agricultura.

Desta forma, a compreensão dos efeitos da atividade canavieira sobre as zonas ripárias e os anuros que nela habitam, pode ser importante para compreender as relações destes animais com o seu habitat, além de oferecer subsídios às medidas de conservação destas regiões, principalmente tendo em

vista que estas influências, particularmente no Brasil, ainda são pouco conhecidas.

Baseado nestas informações e considerando a crescente expansão canavieira no Estado de São Paulo, os objetivos do presente estudo foram estudar a influência desta cultura sobre as zonas ripárias e a comunidade de anuros destes locais, estabelecendo comparações entre regiões mais preservadas e aquelas inseridas no contexto agrícola, além de analisar a morfologia do tegumento de espécimes oriundos das diferentes paisagens, a fim de detectar diferenças morfológicas indicativas da plasticidade dos animais nos diferentes locais.

Para tanto, esta dissertação será apresentada em dois capítulos, cada um no formato de um artigo científico, como descritos a seguir:

Capítulo 1 - *Estudo da comunidade de Anuros em diferentes vegetações ripárias: Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar.*

Neste capítulo iremos abordar o impacto do cultivo da Cana de Açúcar no ecossistema ripário e conseqüentemente sobre a comunidade de anuros habitantes dessas regiões, através da comparação dos índices ecológicos obtidos para cada paisagem – Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar. Também pretendemos avaliar se a prática agrícola da Cana de Açúcar está ou não impactando os ecossistemas ripários a ponto de influenciar a riqueza e composição de espécies de anuros, além de subsidiar medidas de conservação.

Capítulo 2 - *Morfologia do tegumento de *Rhinella ornata* oriunda de diferentes paisagens: Cana de Açúcar e Mata Fechada.*

Neste capítulo pretendemos avaliar diferenças entre o tegumento dos espécimes oriundos de diferentes paisagens: Mata Fechada e Cana de Açúcar, a fim de detectar diferenças estruturais indicativas da plasticidade destes animais às diferentes condições ambientais.

Área de Estudo

A Bacia do Rio Piracicaba abrange uma extensão de 11.402,84 km², percorrendo 250 quilômetros, desde as suas nascentes na Serra da Mantiqueira (Minas Gerais) até o rio Tietê, em São Paulo (CASTELLANO e BARBI, 2006). Dentre os principais cursos d'água que atravessam a área da Bacia do Rio Piracicaba estão os rios Atibaia e o Jaguari, locais onde foi conduzido o presente estudo, com 2.828,76 Km² e 2.323,42 Km² de extensão dentro do estado de São Paulo, respectivamente (PCJ, 2011) (Figura 1). O Rio Piracicaba é uma continuação do rio Jaguari, quando este se encontra com o Atibaia. Pelo fato de passarem por mais de um Estado, são considerados de domínio federal (CASTELLANO e BARBI, 2006). O clima da região é subtropical (SILVEIRA *et al.*, 2000), com temperaturas médias anuais entre 18°C e 22°C (CARAM, 2010). A média anual de precipitação é de 1.405 mm (SILVA *et al.*, 2007). Há predominância de dois tipos de solos argilosos: Latossolo Vermelho-Amarelo e Argissolos (MANSOR, 2006).

Ao longo do último século, a cobertura dos solos na bacia do Piracicaba tem sofrido grandes alterações, as quais causaram modificações significativas na paisagem original e na qualidade de suas águas. As culturas de Cana de Açúcar, de cítricos e pastagens são as mais importantes, tanto em termos econômicos quanto em extensão (DEL GRANDE *et al.*, 2003).

Esta região tem sofrido, nas últimas décadas, um significativo aumento populacional, industrial e urbano, sendo a mais populosa do Estado de São Paulo, com cerca de cinco milhões de habitantes. Abriga o segundo polo industrial do país, respondendo por mais de 7% do PIB brasileiro. Suas principais atividades estão voltadas à agroindústria, química, têxtil, metalúrgica e de eletroeletrônica; e às culturas de Cana de Açúcar, laranja, pinus, eucalipto e outras (CETESB, 2010). Sua área é ocupada principalmente por pasto (43%), seguido por Cana de Açúcar (34%) e floresta natural (10%) (SILVA *et al.*, 2007).

Neste estudo foram selecionadas três diferentes condições de vegetação ripária considerando-se três riachos para cada situação, localizados nas sub-bacias dos Rios Atibaia e Jaguari: 1- Vegetação ripária com predomínio de Cana de Açúcar (Cana de Açúcar), Vegetação ripária formada por floresta em processo de regeneração dentro de uma paisagem agrícola

(Mata Aberta) e 3- Vegetação ripária preservada (Mata Fechada) (Figuras 2, 3 e 4).

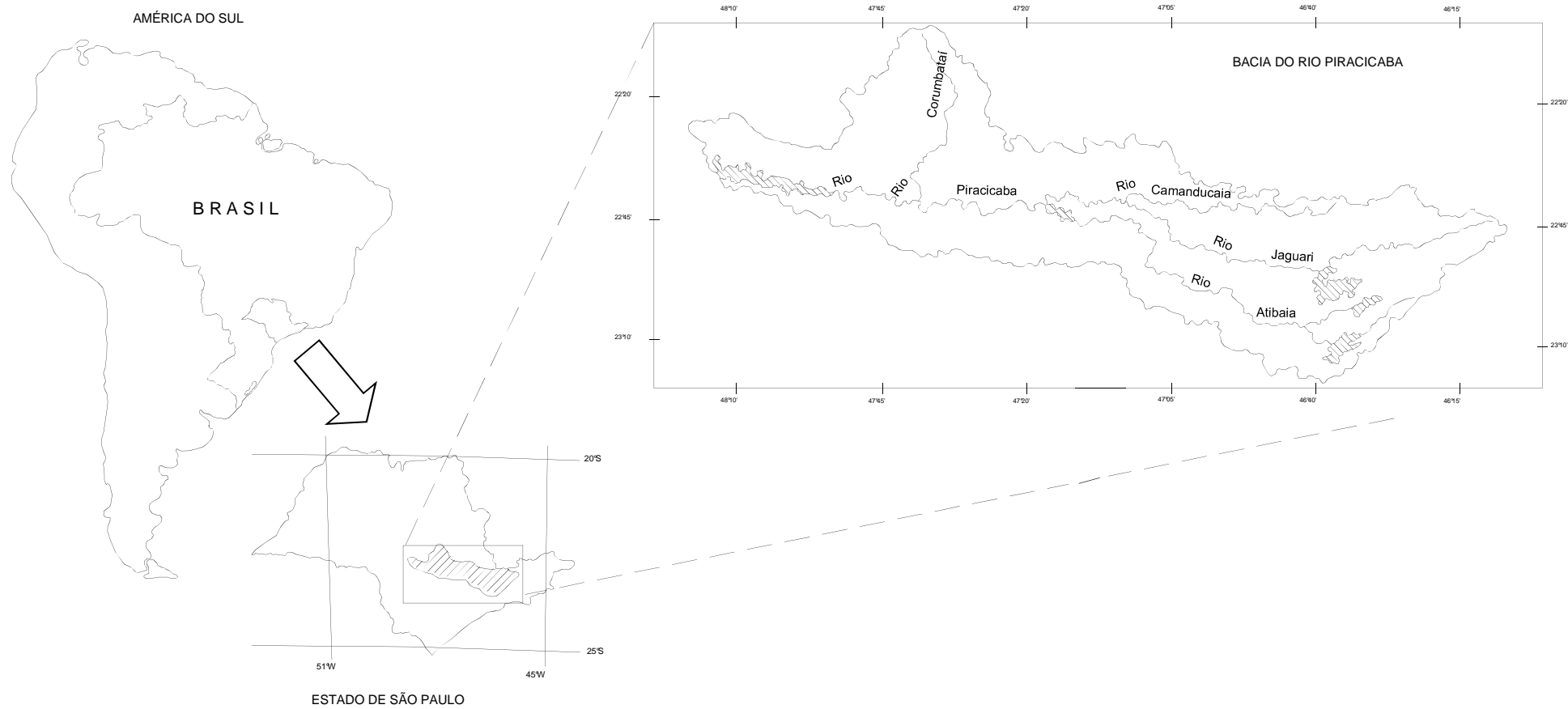


Figura 1 – Mapa com a localização da Bacia do Rio Piracicaba e as sub-bacias dos Rios Atibaia e Jaguari dentro do Estado de São Paulo/SP, Brasil.



Córrego São Francisco 1



Córrego São Francisco 2 (SF2)



Córrego do Açude (AC)

Figura 2 – Aspecto geral dos córregos com entorno Cana de Açúcar. SF1 e SF2 = Sub-bacia do Rio Atibaia (Bacia do Rio Piracicaba), Cosmópolis/SP. AC= Sub-bacia do Rio Jaguari (Bacia do Rio Piracicaba), Americana/SP. A: período do corte da cana. B: período posterior ao corte da cana.



Córrego da Ponte Funda



Córrego Canguçu (CA)



Córrego dos Bambus (BA)

Figura 3 – Aspecto geral dos córregos com entorno Mata Aberta. Sub-bacia do Rio Jaguari (Bacia do Rio Piracicaba). Cosmópolis/SP.



Córrego do Macaco Branco (MB)



Córrego Afluente do Macaco Branco (AMB)



Córrego do Josias (JO)

Figura 4 – Aspecto geral dos córregos com entorno Mata Fechada. Sub-bacia do Rio Jaguari (Bacia do Rio Piracicaba). MB e AMB=Pedreira/SP, JO=Holambra/SP.

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, P. G.; FELSEMBURGH, F. A.; AZEVEDO, R. A. & DE BRITO-GITIRANA, L. 2007 Morphological re-evaluation of the parotoid glands of *Bufo ictericus* (Amphibia, Anura, Bufonidae). *Contributions to Zoology*, Amsterdam, 76(3): 145-152.
- BARRETT, K. E. e GUYER, C. 2008 Differential responses of amphibians and reptiles in riparian and stream habitats to land use disturbances in western Georgia, USA. *Biological Conservation*, Barking, 141: 2290-2300.
- BEEBEE, T.J.C.; GRIFFITHS, R.A. 2005 The amphibian decline crisis: A watershed for conservation biology? *Biological Conservation*, Barking, 125: 271–285
- BLAUSTEIN, A.R. e BELDEN, L.K. 2003 Amphibian defenses against ultraviolet-B radiation. *Evolution & Development*, Malden, 5(1): 89–97.
- BRITO-CRUZ, C.H. Etanol de Cana de Açúcar: quando a sustentabilidade se junta à produtividade. Disponível em: <<http://www.fapesp.br/materia/5533/noticias/a-pesquisa-no-etanol-da-cana.htm>>. Acesso em: 03 abr. 2012.
- CARAM, R.O. 2010 Mudanças no uso e cobertura do solo e resposta hidrológica da bacia do rio Piracicaba, 140p. (Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo).
- CASTELLANO, M. e BARBI, F. 2006 Avanços na gestão compartilhada dos recursos hídricos nas bacias dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiáí. *São Paulo em Perspectiva*, São Paulo: Fundação Seade, 20(2): 46-58.
- CBH-PCJ, 2010 COMITÊ DAS BACIAS HIDROGRÁFICAS DOS RIOS PIRACICABA, CAPIVARI E JUNDIAÍ. Relatório da situação dos recursos hídricos da UGRHI 5. São Paulo: Comitê das Bacias Hidrográficas dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiáí.
- CETESB. 2010 Qualidade das águas superficiais no Estado de São Paulo. Série Relatórios. São Paulo.
- CORBI, J.J.; STRIXINO, S.T.; SANTOS, A.; DEL GRANDE, M. 2006 Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em córregos adjacentes a áreas de cultivo de Cana de Açúcar (Estado de São Paulo, Brasil). *Química Nova*, São Paulo, 29: 61-65.
- DEL GRANDE, M.; REZENDE, M.O.O.; ROCHA, O. 2003 Distribuição de compostos organoclorados nas águas e sedimentos da bacia do rio Piracicaba/SP - Brasil. *Química Nova*, São Paulo, 26 (5): 678-686.

- FELSEMBURGH, F.A. e BRITO-GITIRANA, L. de 2008 Avaliação Morfológica Do Tegumento de Fêmeas de *Proceratophrys Boiei*, *Espaço e Geografia*, Universidade de Brasília, 11(1): 59-72.
- GARDNER, T.A.; RIBEIRO-JUNIOR, M.A.; BARLOW, J.; ÁVILA-PIRES, T.C.S.; HOOGMOED, M.S.; PERES, C.A. 2007 The Value of Primary, Secondary, and Plantation Forests for a Neotropical Herpetofauna. *Conservation Biology*, Boston, 21(3): 775–787.
- GREGORY, S.V.; SWANSON, F.J.; McKEE, W.A.; CUMMINS, K.W. 1991 An ecosystem perspective of riparian zones. Focus on links between land and water. *BioScience*, Washington, 41:540-551.
- IEA, 2010. Área e produção de dos principais produtos da agropecuária do Estado de São Paulo. Banco de Dados. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/banco/menu.php>>. Acesso em: 05 mar. 2012.
- MANSOR, M.T.C.; FILHO, J.T.; ROSTON, D.M. 2006 Avaliação preliminar das cargas difusas de origem rural, em uma sub-bacia do Rio Jaguari, SP. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, 10(3): 715-723.
- MARTINELLI, L.A. e FILOSO, S. 2008 Expansion of sugarcane ethanol production in Brazil: environmental and social challenges. *Ecological Applications*, Tempe, 18(4): 885-898.
- MORO, R.S. 2003 Riparian pedoenvironments vegetation in the region of Campos Gerais, state of Paraná, Brazil: a review of the literature. *Terra Plural*, Ponta Grossa, 4(2):179-192.
- NAIMAN, R.J.; BILBY, R.E.; BISSON, P.A. 2000 Riparian Ecology and Management in the Pacific Coastal Rain Forest. *BioScience*, Washington, 50(11): 996-1011.
- OLSON, D.H.; ANDERSON, P.D.; FRISSELL, C.A.; WELSH JR, H.H.; BRADFORD, D.F. 2007 Biodiversity management approaches for stream–riparian areas: Perspectives for Pacific Northwest headwater forests, microclimates, and amphibians. *Forest Ecology and Management*, Amsterdam, 246:81-107.
- PUSEY, B.J. e ARTHINGTON, A.H. 2003 Importance of the riparian zone to the conservation and management of freshwater fish: a review. *Marine and Freshwater Research*, East Melbourne, 54:1-16.
- RODRIGUES, R.R. 2000 Uma discussão nomenclatural das formações ciliares. In: (RODRIGUES, R.R.; LEITÃO FILHO, H.F.L., editores.) *Matas ciliares: conversação e recuperação*. São Paulo: EdUSP, p.91-99.
- ROSSA-FERES, D.C.; SAWAYA, R.J.; FAIVOVICH, J.; GIOVANELLI, J.G.R.; BRASILEIRO, C.A.; SCHIESARI, L.; ALEXANDRINO, J.; HADDAD, C.F.B.

- 2010 Amphibians of São Paulo State, Brazil: state-of-art and perspectives. *Biota Neotropica*, Campinas, 11(1a): 2-19.
- ROTHERMEL, B.B. e SEMLITSCH, R.D. 2002 An experimental investigation of landscape resistance of forest versus old-field habitats to emigrating juvenile amphibians. *Conservation Biology*, Boston, 16(5):1324 – 1332.
- SILVA, A.M.; NALON, M.A.; KRONKA, F.J.N.; ALVARES, C.A.; CAMARGO, P.B.; MARTINELLI, L.A. 2007 Historical land-cover/use in different slope and riparian buffer zones in watersheds of the state of São Paulo, Brazil. *Scientia Agricola*, Piracicaba, 64(4): 325-335.
- SILVEIRA, A.M.; VICTORIA, R.L.; BALLESTER, M.V.; CAMARGO, P.B.; MARTINELLI, L.A.; PICCOLO, M.C. 2000 Simulação dos efeitos das mudanças no uso da terra na dinâmica de carbono no solo na bacia do rio Piracicaba. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Distrito Federal, 35(2): 389-399.
- SPAROVEK, G. e SCHNUG, E. 2001 Temporal erosion-induced soil degradation and yield loss. *Soil Science Society of America Journal*, Madison, 65:1479-1486.
- SULLIVAN, P.A.; HOFF, K.V.S.; HILLYARD, S.D. 2000 Effects of anion substitution on hydration behavior and water uptake of the red-spotted toad, *Bufo punctatus*: is there an anion paradox in amphibian skin? *Chemical Senses*, Oxford, 25: 167–172.
- TITON JR, B. e GOMES, F.R. 2012 Water balance and geographical distribution of amphibians. *Revista da Biologia*, São Paulo, 8:49-57.
- TOLEDO, L.F.; ZINA, J.; HADDAD, C.F.B. 2003 Temporal and Spatial Distribution in an Anuran Community in Municipality of Rio Claro, São Paulo, Brazil. *Holos Environment*, Rio Claro, 3(2):136-149.
- VOS, C.C. e CHARDON, J.P. 1998 Effects of habitat fragmentation and road density on the distribution pattern of the moor frog *Rana arvalis*. *Journal of Applied Ecology*, Oxford, 35:44–56.

CAPÍTULO 1

Estudo da comunidade de anuros em diferentes vegetações ripárias: Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar

Ludmila Cristina Baldi^{a*}, Cláudia Maris Ferreira^b

^{a*}MSc. Instituto de Pesca, APTA/SAA, Avenida Francisco Matarazzo 455, Água Branca, São Paulo, Brasil. *Corresponding author: ludmilacristina@hotmail.com. Tel. +55(11) 98386-7975

^b Scientific Research - Instituto de Pesca, APTA/SAA, Avenida Francisco Matarazzo 455, Água Branca, São Paulo, Brasil. E-mail: claudia@pesca.sp.gov.br

Resumo

O presente estudo procurou verificar a influência de diferentes paisagens ripárias sobre a comunidade de anuros, comparando a composição, abundância e riqueza de espécies entre os diferentes locais. Para tanto, foram selecionados nove trechos de riachos, sob três condições de vegetação ripária: Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar. Capturamos 223 indivíduos pertencentes a cinco famílias e 17 espécies. O índice de riqueza de espécies Chao1 demonstrou que ao padronizar o esforço amostral, o entorno de Mata Fechada apresenta maior riqueza de espécies comparada aos entornos Mata Aberta e Cana de Açúcar, estes últimos com riqueza de espécies semelhantes. As Curvas de Abundância e Biomassa (Curvas ABC) nos entornos de Mata Fechada apresentaram uma sobreposição da curva do peso em relação às curvas de dominância numérica, indicando que estes ambientes apresentam menores níveis de perturbação e também evidenciando um gradiente de perturbação da Mata Fechada para a Cana de Açúcar. Além disso, o índice de similaridade de Bray-Curtis apresentou um efeito significativo do tipo de entorno em relação à composição de espécies. As zonas ripárias formadas por Cana de Açúcar e Mata Aberta limitaram a distribuição de algumas espécies, como os Hilídeos e outras associadas à serapilheira, o que permitiu a colonização do local por espécies de áreas abertas e resistentes à pressão antrópica.

Palavras-chave: Fragmentação, anfíbios, monocultura, agricultura

Study of Anuran community in different riparian vegetation: Closed Forest, Open Forest and Sugar Cane

Ludmila Cristina Baldi^{a*}, Cláudia Maris Ferreira^b

^{a*}MSc. Instituto de Pesca, APTA/SAA, Avenida Francisco Matarazzo 455, Água Branca, São Paulo, Brasil. *Corresponding author: ludmilacristina@hotmail.com. Tel. +55(11) 98386-7975

^b Scientific Research - Instituto de Pesca, APTA/SAA, Avenida Francisco Matarazzo 455, Água Branca, São Paulo, Brasil. E-mail: claudia@pesca.sp.gov.br

Abstract

The current study has tried to verify the influence of different riparian landscapes over the community of anurans, comparing the composition, abundance and species richness among the different sites. Nine sections of streams were selected, under three riparian vegetation conditions: Closed Forest, with preserved woodland; Open Forest, with woodland in high state of regeneration within an agricultural landscape, and Sugar Cane. We captured 223 individuals belonging to five families and 17 species. The Chao1 species' richness index demonstrated that by standardizing sampling effort, the riparian zone formed by Closed Forest has higher species richness compared to Open Forest and Sugarcane areas, the last ones with similar species richness. The abundance and biomass curves (ABC curves) in Closed Forest showed an overlap of the weight curve in relation to the numerical dominance curves, indicating that these environments have lower levels of disturbance as well as evidencing a gradient of disturbance from Closed Forest to Sugar Cane. Moreover, the Bray-Curtis similarity revealed a significant effect of the landscape in relation to species composition. The riparian zone formed by Sugar Cane and Open Forest have limited the distribution of some species, such as hylids and others associated with litter, which allowed the colonization of the site by species of open areas and resistant to anthropogenic pressure

Key-words: Fragmentation, amphibian, monoculture, agriculture

Introdução

A zona ripária ocorre na interface entre ambientes aquáticos e terrestres, caracterizando-se pela vegetação marginal de riachos. Segundo Décamps et al. (2004) as zonas ripárias controlam o fluxo e as características dos nutrientes e outros materiais sobre o local, abrigam ricos conjuntos de flora e fauna, e têm aplicações comprovadas para a gestão de bacias hidrográficas e da vida selvagem. Outros fatores como controle da temperatura, sombreamento, retenção, armazenamento e liberação de nutrientes, aumento da estabilidade das margens, fornecimento de material lenhoso, e proteção contra distúrbios em diversas escalas na bacia de drenagem, são considerados as principais funções exercidas pela zona ripária (Pusey e Arthington, 2003).

Estudos têm mostrado que diferentes características da anurofauna tais como composição, riqueza, abundância e biomassa estão relacionadas às variações na cobertura vegetal, e que a destruição da zona ripária pode afetar as comunidades de anfíbios de diversas formas (Heinen, 1992; Vos e Chardon, 1998; Alford e Richards, 1999; Neckel-Oliveira et al., 2000; Joly et al., 2001; Bulger et al., 2003; Cushman, 2006; Fischer et al., 2006; Gibbons et al., 2006; Gardner et al., 2007; Moraes et al., 2007; Souza et al., 2008; Mann et al., 2009).

Estas alterações podem ocorrer ao nível de indivíduo ou comunidade, através de modificações no sucesso reprodutivo, sobrevivência de ovos e larvas, perda de sincronização de processos reprodutivos em relação às variações sazonais, mudanças na estrutura e diversidade do habitat e na dinâmica trófica (Pusey e Arthington, 2003; Silvano et al., 2003), uma vez que estas espécies geralmente utilizam esta região após a metamorfose para forrageamento ou dispersão (Olson et al., 2007).

Segundo Semlitsch e Boodie (2003) e Rittenhouse e Semlitsch (2007), os anfíbios adultos necessitam tanto do riacho quanto da sua zona ripária, já que grandes quantidades de energia são transferidas entre estas regiões, devido à migração entre ambas (Gibbons et al., 2006). Além disto, estes animais se utilizam dos dois habitats para completar seu ciclo de vida, tornando-os especialmente suscetíveis às perdas e degradações (Semlitsch, 2000).

Embora muitas destas alterações ocorram gradualmente, modificações persistentes na qualidade do habitat podem afetar a comunidade de anfíbios drasticamente, com uma recuperação que pode levar várias décadas (Harding et al., 1998). Rothermel e Semlisch (2002) sugerem que a diminuição na ocorrência e riqueza de espécies aumenta com o isolamento de áreas úmidas e conversão do habitat em áreas de agricultura.

Atualmente o Brasil é reconhecido mundialmente como um dos maiores produtores de Cana de Açúcar, fato este relacionado à estratégia geral do desenvolvimento do uso do etanol desde 1975 (Brito Cruz, 2010), ao seu balanço energético positivo e ao baixo custo de produção. Todavia, a despeito destas vantagens, a questão da sustentabilidade da produção de etanol ainda necessita ser mais bem analisada, antes que a expansão da Cana de Açúcar comprometa importantes serviços ambientais fornecidos pelos ecossistemas, atualmente já bastante ameaçados (Martinelli e Filoso, 2008). Estes mesmos autores relatam que o Estado de São Paulo é o maior produtor de Cana de Açúcar do país, com cinco milhões de hectares plantados e 393 milhões de toneladas (IEA, 2010), participando com 50% da cobertura nacional.

Embora a porcentagem de pasto represente aproximadamente 51% do uso do solo no Estado de São Paulo e a Cana de Açúcar 14% diversas bacias apresentam extensas áreas de plantio desta cultura, como a Bacia do Rio Piracicaba (34%), segundo levantamento realizado por Silva et al. (2007). A este respeito os autores deste estudo reportam que no Estado de São Paulo apenas 25% das florestas ripárias foram mantidas, quando consideradas as principais bacias do estado. Os 75% restantes (4500 km²) foram convertidos em áreas de cultivo de Cana de Açúcar ou pasto, sendo que nas duas bacias com maior porcentagem de Cana de Açúcar (Piracicaba e Mogi-Guaçu), somente 13-18% da vegetação ripária foi preservada.

Paralelamente a estes levantamentos, problemas ambientais têm sido associados com a cultura da Cana de Açúcar, podendo citar-se as altas taxas de erosão do solo, o que leva à deposição de sedimentos em reservatórios, áreas de inundação, rios e riachos, e ao transporte de fertilizantes e resíduos de agroquímicos que comprometem a qualidade da água (Sparovek e Schnug, 2001; Corbi et al., 2006; Martinelli e Filoso, 2008).

A sensibilidade geral dos anfíbios indica a necessidade de estudos detalhados adicionais destes organismos em uma variedade de habitats (Barret e Guyer, 2008). Alguns estudos, como os realizados por Vos e Chardon (1998) e Gardner et al. (2007) indicam a ocorrência de maior riqueza de espécies de anfíbios em áreas de vegetação nativa, comparativamente às florestas secundárias e áreas de agricultura.

Este estudo procurou verificar a influência da cultura canavieira sobre as zonas ripárias e conseqüentemente, sobre a comunidade de anuros que ali se estabelecem. Para testar essas predições, amostramos três diferentes condições de vegetação ripária (- com plantio de Cana de Açúcar, - mata em fase de recuperação, com dossel aberto, em meio à monocultura, - e locais com a mata em melhor estado de conservação, com o dossel fechado, inseridas em um contexto urbano), a fim de responder as seguintes perguntas: 1) Estaria a prática agrícola da Cana de Açúcar impactando os ecossistemas ripários a ponto de influenciar a riqueza e composição de espécies de anuros habitantes destes locais? 2) Existem diferenças quanto à composição e riqueza de espécies entre os diferentes tipos de ambiente (Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar)?

Materiais e Métodos

Área de Estudo

O presente estudo foi conduzido na região Sudeste do Brasil, interior do Estado de São Paulo, nas sub-bacias dos Rios Atibaia e Jaguari (Bacia do Rio Piracicaba), região localizada na transição entre os Biomas Mata Atlântica e Cerrado (IBGE, 2004). Escolhemos três diferentes condições de vegetação ripária, distribuídas em nove riachos entre 1ª, 2ª e 3ª ordem, considerando-se três riachos para cada situação: 1- Vegetação ripária formada pelo plantio da cana (Cana de Açúcar), 2- Vegetação ripária formada por floresta em regeneração dentro de uma paisagem agrícola (Mata Aberta) e 3- Vegetação ripária preservada (Mata Fechada) (Figura 1).

Para melhor caracterização da vegetação predominante dos três diferentes entornos, o uso do solo de cada microbacia foi determinado

utilizando o sistema de informação geográfica ArcInfo 9.3. Foram utilizadas bases cartográficas digitais do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) escala 1:50.000, das quais foram extraídos os temas de curva de nível e hidrografia. A partir destas informações, gerou-se um Triangle Irregular Network (TIN) e um modelo de relevo com 15 metros de resolução espacial. Assim, foi realizada a delimitação da área de contribuição direta de cada microbacia com base no relevo, curvas de nível e hidrografia, sendo quantificadas as categorias cobertura vegetal nativa, reflorestamento e cultivo de Cana de Açúcar, a seguir:

Cana de Açúcar - O uso predominante do solo nestas microbacias é agrícola, com 90% de sua paisagem composta pelo plantio da cana. Em menor quantidade ocorre a presença de gramíneas, bambus, árvores esparsas e grande processo erosivo nas margens do riacho.

-Córrego do Açude (AÇ) (22°41'53.6"S 47°14'39.3"W)

-Córrego São Francisco 1 (SF 1) (22°43'46.2"S 47°05' 10.5"W)

-Córrego São Francisco 2 (SF2) (22°43'46.7"S 47°05' 13.2"W)

Mata Aberta - Nestas microbacias ocorrem a presença de Vegetação Secundária da Floresta Estacional Semidecidual e Formação Arbórea / Arbustiva em Região de Várzea. Na zona ripária, ocorrem gramíneas em ambas as margens, arbustos e bambus, com presença marcante de *Ricinus communis* (mamona); dossel aberto.

-Córrego da Ponte Funda (PF) (22°38'28.3"S 47°08'22 .7"W)

-Córrego Canguçu (CA) (22°39'45.1"S 47°16'30.3"W)

-Córrego dos Bambus (BA) (22°42'1.94"S 47°6'53.43 "W)

Mata Fechada - As microbacias do entorno Mata Fechada não apresentaram cultivo canavieiro em seus arredores; a vegetação é constituída de Floresta Ombrófila Densa, Vegetação Secundária de Floresta Ombrófila Densa, Floresta Estacional Semidecidual e Vegetação Nativa em maior proporção, atingindo aproximadamente 30%; dossel fechado.

-Córrego do Macaco Branco (MB) (22°45'51.8"S 46°52' 45.7"W)

-Córrego Afluente do Macaco Branco (AMB) (22°45'51. 5"S 46°52'45.7"W)

-Córrego do Josias (JO) (22°36'17.2"S 47°04'55.5" W)

Na sub-bacia do Rio Jaguari os desmatamentos são intensos em virtude da expansão da urbanização e das atividades industrial e agrícola (72.4%), restando apenas 17.7% de vegetação natural remanescente (Whately e Cunha 2007).

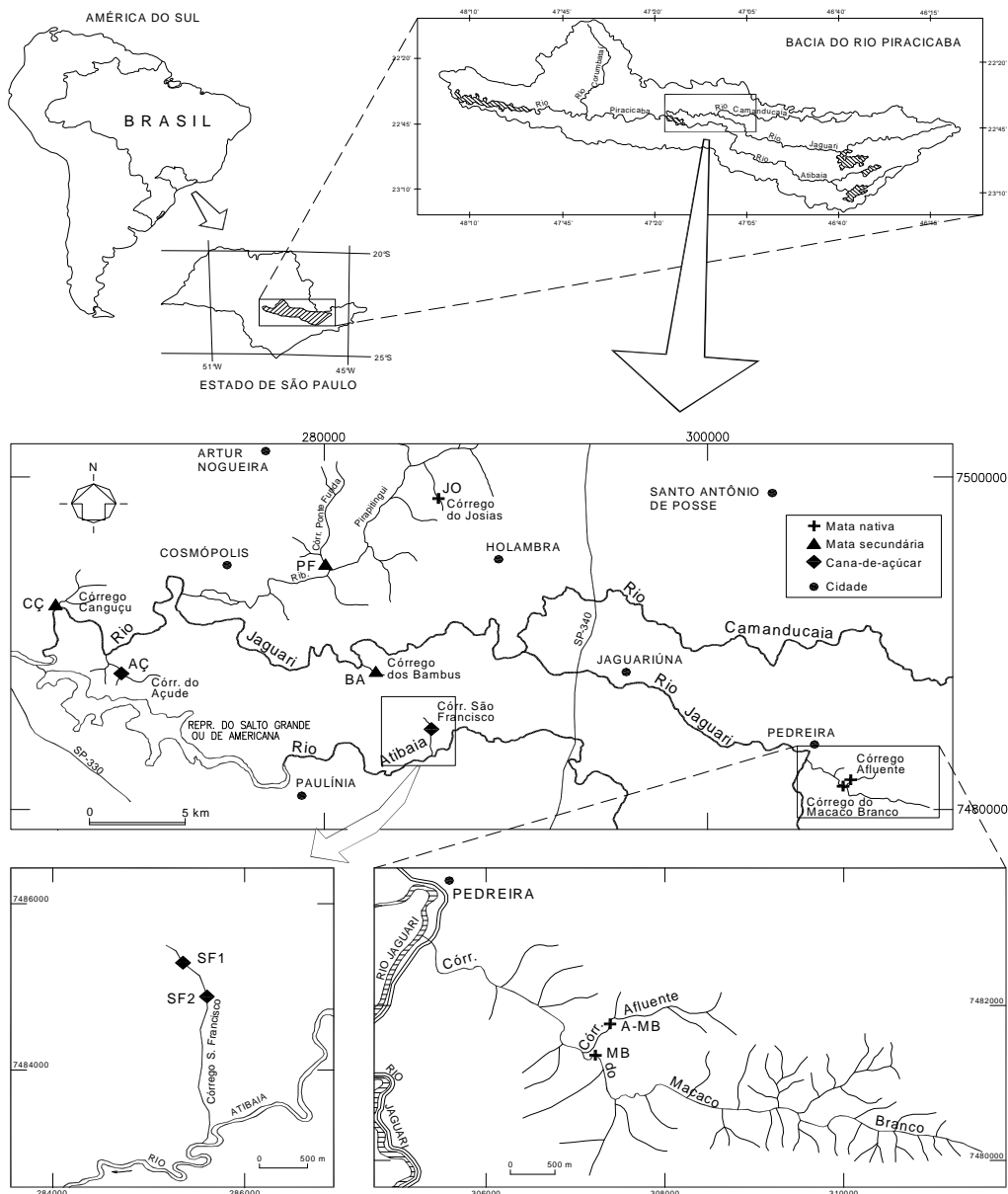


Figura 1: Mapa com a localização dos nove trechos de coleta dentro da Bacia hidrográfica do Rio Piracicaba, São Paulo, Brasil.

Amostragem da anurofauna

Realizamos cinco campanhas para a coleta de anuros nas zonas ripárias compreendendo os meses de Dezembro/2011, Março/2012, Maio/2012, Julho/2012 e Dezembro/2012 (Autorização de acordo com as leis Brasileiras número 31602-1, Ministério do Meio Ambiente, Instituto Chico Mendes de Conservação e Biodiversidade – ICMBio), com três metodologias distintas para animais adultos:

Armadilhas de interceptação e queda: Nos nove trechos de coleta instalamos uma armadilha (Corn, 1994; Cechin, Martins 2000). Cada armadilha constituiu-se de quatro baldes de 60 litros, enterrados ao nível do solo, e três cercas guias (telas de nylon) medindo 10m de comprimento e aproximadamente 0,6m de altura, montadas verticalmente na forma de “Y”, paralelamente ao riacho (distância da armadilha para o corpo d’água entre 5 e 10 metros), na zona ripária. Em cada campanha, as armadilhas permaneciam abertas por cinco dias consecutivos, sendo vistoriadas todos os dias pela manhã para a retirada dos animais.

Encontro Visual Limitado pelo tempo: Dedicamos 45 minutos à procura aleatória por animais que estivessem visualmente expostos num trecho variando de 100 metros ao longo da vegetação ripária. A equipe, composta por cinco pessoas, iniciava as buscas ao entardecer (após as 17h), utilizando lanternas, nos locais adjacentes ao ponto de coleta, totalizando aproximadamente 4 horas de procura em cada ponto de coleta/pessoa/campanha. Encontros ocasionais: Capturamos também os animais visualizados nos locais de coleta fora das armadilhas durante o período de vistoria das mesmas, ou quando da busca por encontro visual, compreendendo o período imediatamente anterior ou posterior ao intervalo estabelecido para tal.

Os animais capturados foram eutanasiados com injeção intraperitoneal de Tiopental Sódico (THIOPENTAX® 1.0g) (quantidade variando entre 0.1 a 0.3mg da solução por animal, de acordo com o tamanho), e posteriormente fixados em formalina tamponada 10%, e transferidos para álcool 70% após 24

horas. A identificação dos exemplares foi baseada nos trabalhos de descrição das espécies e consulta ao material disponível nas coleções de herpetologia do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), São Paulo/ SP e do Museu de Herpetologia Célio Fernando Batista Haddad (CFBH) da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro/SP/Brasil.

Os biomas os quais estão associados os trechos de coleta já foram inventariados dentro do Estado de São Paulo em outros trabalhos (Eterovick, 2003; Dixo e Verdade, 2006; Araújo et al., 2009; Araújo e Almeida-Santos, 2011; Maffei et al., 2011; Verdade et al., 2012), o que nos garantiu maior segurança na comparação da anurofauna entre os diferentes tipos de entornos propostos neste trabalho.

Análise dos dados

A riqueza de espécies e a suficiência amostral foram avaliadas por curvas de rarefação pelo estimador de riqueza Chao 1. Este estimador utiliza dados de abundância, e parte do princípio que as espécies compostas por exatamente 1 e 2 indivíduos são as que trazem a maior quantidade de informação sobre a riqueza total na comunidade. O estimador pode ser obtido por Colwell (2006). Inicialmente, foi feita uma curva de rarefação para todos os locais de coleta visando avaliar o padrão médio de aumento da riqueza em função do número de indivíduos coletados. A esta curva foi sobreposto o estimador de riqueza Chao 1. Em seguida foram feitas curvas de rarefação para cada tipo de entorno separadamente e a riqueza de espécies foi comparada padronizando o esforço amostral.

As curvas ABC (Curvas de Abundância e Biomassa) foram utilizadas para comparar os padrões de dominância em peso ou número. O método foi proposto inicialmente como forma de inferir sobre o estado de perturbação antrópica de comunidades. A premissa é de que comunidades menos perturbadas são caracterizadas por espécies de maior tamanho corpóreo que dominam em peso. Neste caso, a curva em peso se sobrepõe à curva em número. Por outro lado, em ambientes muito perturbados espera-se que as comunidades sejam caracterizadas por espécies oportunistas de tamanhos

menores e com altas taxas de natalidade e mortalidade e neste caso, a curva em número de sobreposição à curva em peso (Magurran, 2004).

A diversidade beta, entre locais, foi avaliada pelo índice de similaridade de Bray-Curtis. O índice desconsidera duplas ausências na comunidade (Krebs, 1999). A matriz de distância foi interpretada utilizando o escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) que, como outras técnicas de ordenação, têm como objetivo representar as principais estruturas de similaridade entre os objetos em poucas dimensões. Para verificar se a diversidade beta varia em função da distância geográfica, ou seja, locais próximos tem também uma fauna mais similar foi feito um teste de Mantel. Em seguida, o efeito do tipo de entorno (Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar) foi avaliado por uma PERMANOVA não paramétrica utilizando 1000 randomizações (Anderson, 2001). As análises de NMDS e a PERMANOVA foram realizadas no software R – versão 2.15.3 (R Development Core Team, 2013), utilizando respectivamente as funções “mantel”, “metaMDS” e “adonis”, disponíveis no pacote Vegan (Oksanen et al., 2010).

Resultados

Capturamos 223 indivíduos pertencentes a cinco famílias e 17 espécies (Tabela 1). A riqueza estimada pelo índice Chao1 foi de 19 espécies (Intervalo de Confiança entre 8 e 29 espécies).

Nos entornos Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar capturamos respectivamente 10, 6 e 13 espécies. *Rhinella ornata* foi a espécie dominante na Mata Fechada, enquanto que *Physalaemus cuvieri*, *Rhinella ornata* e *Rhinella icterica* dominaram na Mata Aberta e *Physalaemus cuvieri*, *Physalaemus centralis* e *Leptodactylus fuscus* na Cana de Açúcar.

As curvas de rarefação indicaram que um aumento no esforço amostral ainda deve adicionar novas espécies às comunidades. Entretanto, as curvas de rarefação para cada área separadamente sugerem que quando padronizado o esforço amostral, os entornos de Cana de Açúcar e Mata Aberta apresentam uma riqueza similar (aproximadamente 6 espécies), enquanto a riqueza esperada para o entorno de Mata Fechada é de aproximadamente 10 espécies (Figura 2a e 2b).

Tabela 1: Abundância das diferentes espécies capturadas nos entornos de Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar, dentro da Bacia hidrográfica do Rio Piracicaba, São Paulo, Brasil.

FAMÍLIA/ESPÉCIE	Mata Fechada	Mata Aberta	Cana de Açúcar
LEPTODACTYLIDAE			
<i>Physalaemus cuvieri</i> (Fitzinger, 1826)	3	10	61
<i>Physalaemus centralis</i> (Bokermann, 1962)	2	1	55
<i>Eupemphix nattereri</i> (Steindachner, 1863)	1	-	2
<i>Physalaemus marmoratus</i> (Reinhardt and Lütken, 1862)	-	-	5
<i>Adenomera thomei</i> (Almeida and Angulo, 2006)	-	1	-
<i>Leptodactylus fuscus</i> (Schneider, 1799)	-	1	23
<i>Leptodactylus mystacinus</i> (Burmeister, 1861)	1	-	4
BUFONIDAE			
<i>Rhinella icterica</i> (Spix, 1824)	-	5	1
<i>Rhinella ornata</i> (Spix, 1824)	14	9	4
MICROHYLIDAE			
<i>Elachistocleis cesarii</i> (Miranda-Ribeiro, 1920)	-	-	1
<i>Elachistocleis bicolor</i> (Guérin-Méneville, 1838)	-	-	5
CRAUGASTORIDAE			
<i>Haddadus binotatus</i> (Spix, 1824)	2	-	-
HYLIDAE			
<i>Hypsiboas faber</i> (Wied-Neuwied, 1821)	1	-	-
<i>Hypsiboas lundii</i> (Burmeister, 1856)	3	-	-
<i>Scinax fuscovarius</i> (Lutz, 1925)	3	-	2
<i>Scinax</i> sp (Wagler, 1830)	-	-	1
<i>Dendropsophus nanus</i> (Boulenger, 1889)	1	-	1
Abundância (nº de indivíduos)	31	27	165
Riqueza Observada	10	6	13
Riqueza de Chao 1	±10	±6	±6
Biomassa Total	236.08g	973.16g	637.03g

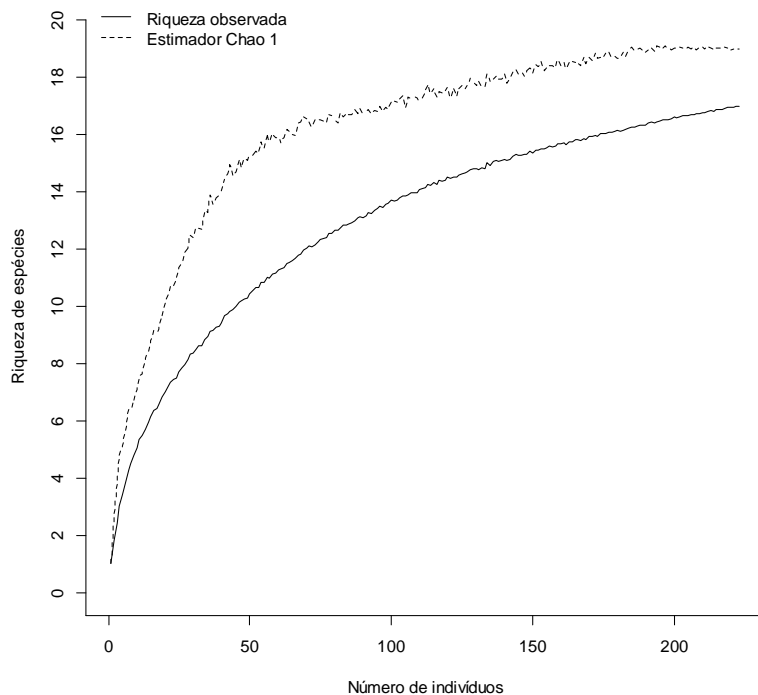


Figura 2a: Curva de rarefação para todos os locais de coleta - Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar - Bacia hidrográfica do Rio Piracicaba, São Paulo/Brasil. A curva contínua descreve a riqueza média observada enquanto a curva pontilhada descreve o estimador de riqueza Chao 1, ambas em função do esforço amostral (número de indivíduos).

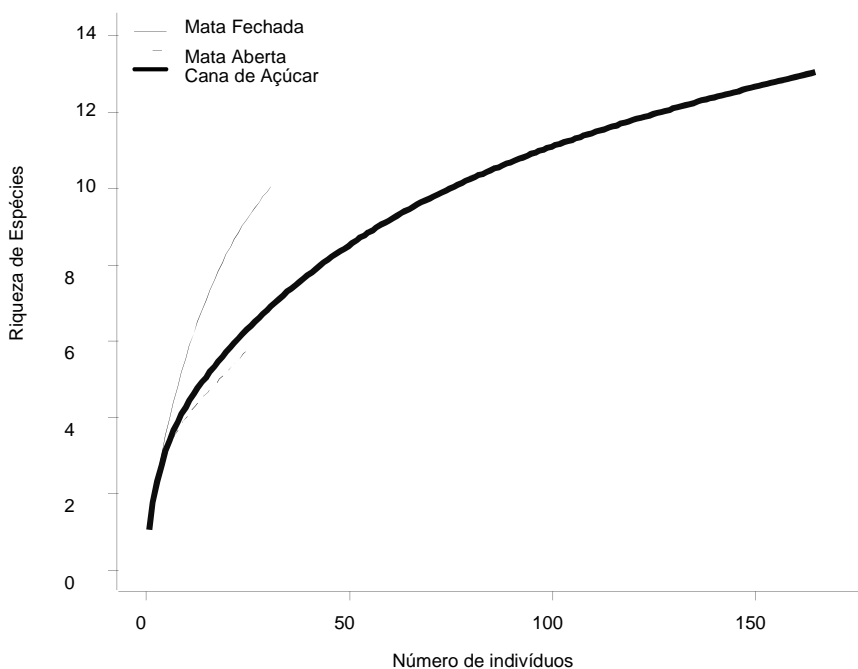


Figura 2b: Curvas de rarefação para cada tipo de entorno (Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar), dentro da Bacia hidrográfica do Rio Piracicaba, São Paulo/Brasil.

Para os entornos de Mata Fechada e Secundária as curvas de dominância em peso se sobrepueram às curvas de dominância em número (Curvas ABC). Já para as áreas de Cana de Açúcar, houve uma ligeira sobreposição da curva de abundância numérica (Figura 3).

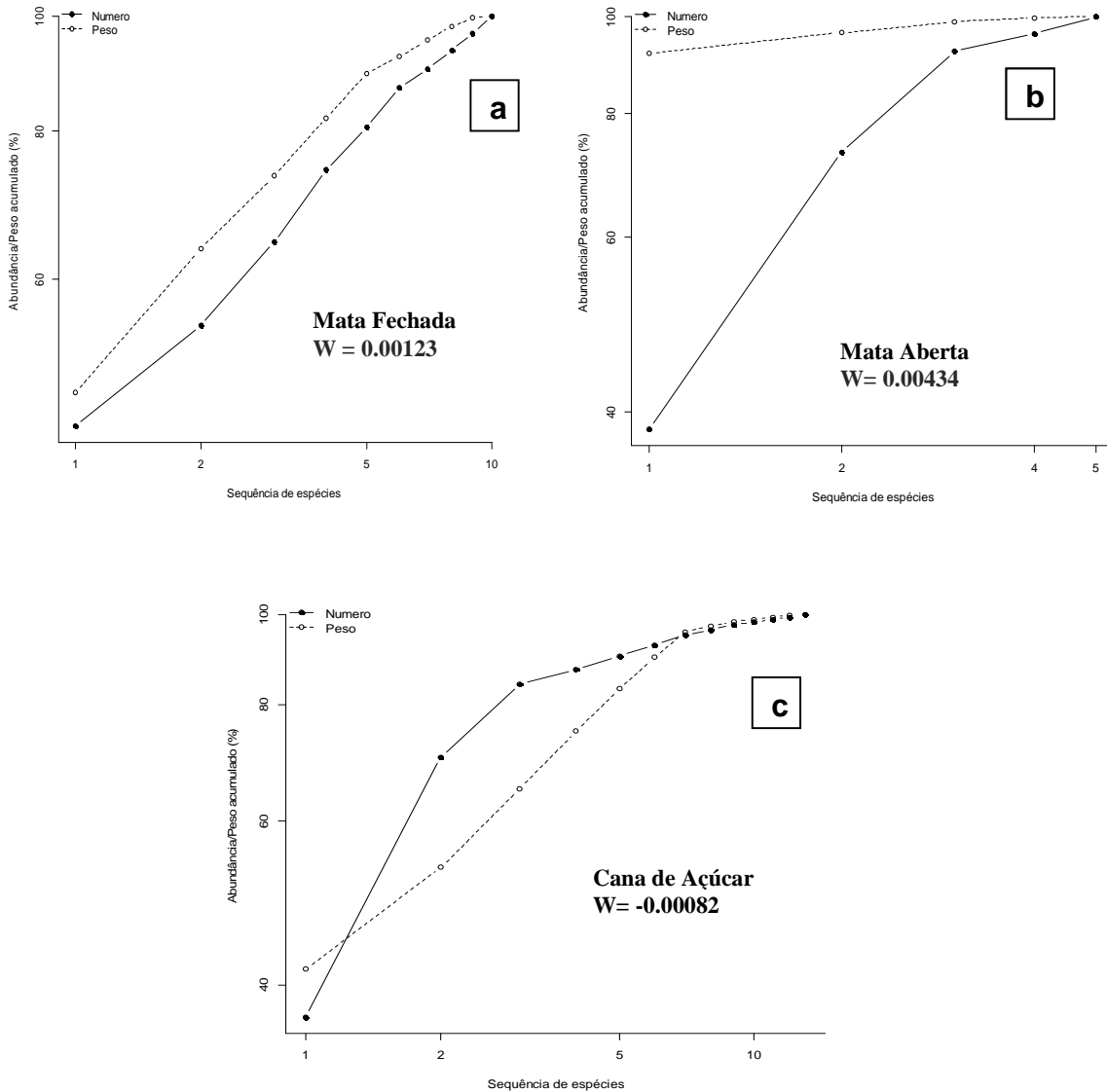


Figura 3: Curva de Abundância e Biomassa (ABC) de espécies para o entornos Mata Fechada (a), Mata Aberta (b) e Cana de Açúcar (c), amostrados dentro da Bacia hidrográfica do Rio Piracicaba, São Paulo, Brasil.

Embora os resultados da Análise de NMDS tenham mostrado grande sobreposição entre os locais de coleta, foi verificada uma ligeira separação ao longo do eixo 1 entre os entornos de Mata Fechada e de Cana de Açúcar

(Figura 4), enquanto os locais com predomínio de Mata Aberta possuem características intermediárias no que se refere à composição de espécies. Os resultados da PERMANOVA corroboraram este padrão, indicando um efeito significativo ($p = 0.001$) do tipo de entorno nos padrões de similaridade. O teste de Mantel indicou que não houve correlação entre a diversidade beta e a proximidade espacial entre os locais de coleta ($r = 0.09$, $p = 0.098$).

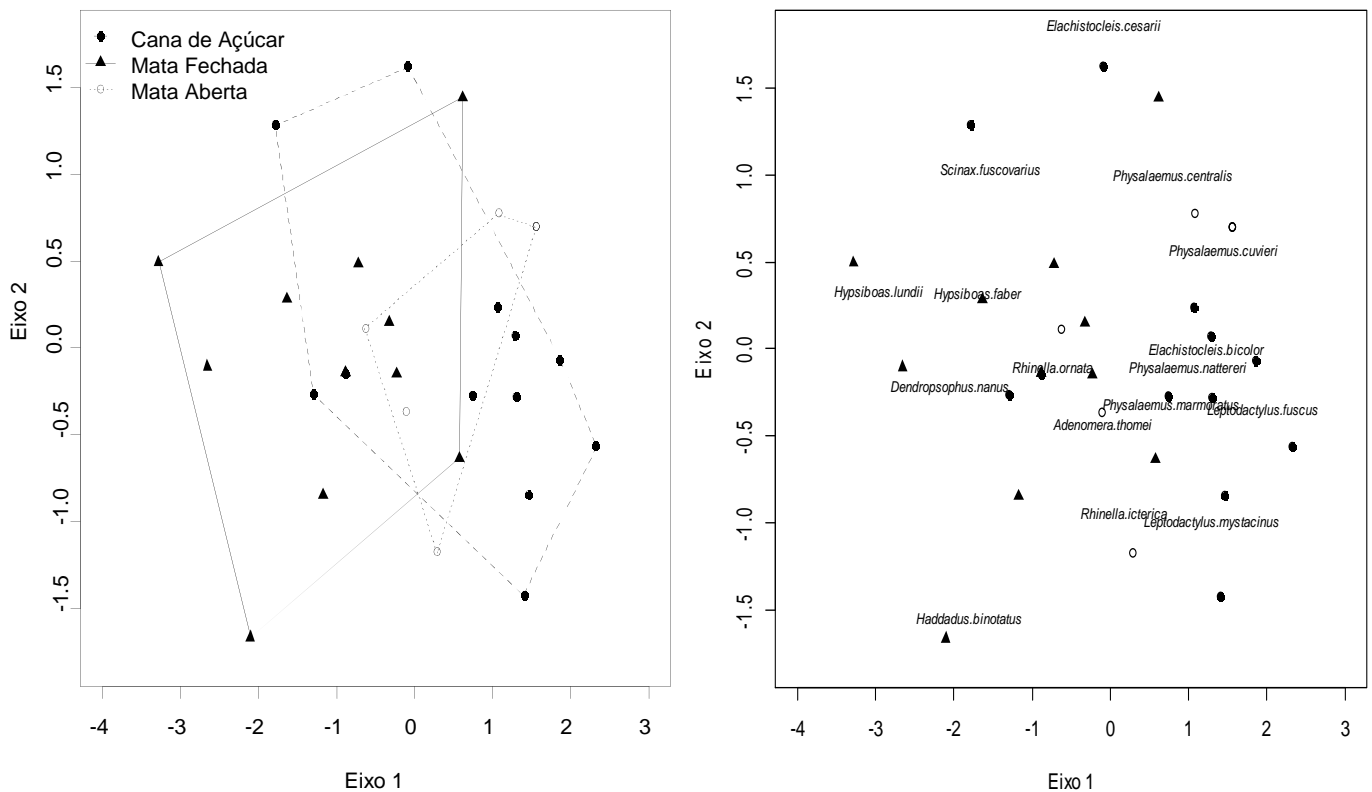


Figura 4: Resultado da análise de NMDS evidenciando o tipo de entorno e a relação com a composição de espécies

Discussão

Ao iniciar as amostragens nós esperávamos que os ambientes impactados pelo plantio da cana apresentassem menor riqueza e abundância de espécies, comparados aos habitats das áreas florestadas. Embora a diferença não tenha sido significativa, o índice de riqueza Chao1 demonstrou que ao padronizar o esforço amostral, o entorno de Mata Fechada apresenta

uma riqueza de espécies sutilmente maior comparada aos entornos Mata Aberta e Cana de Açúcar, estes últimos com riqueza de espécies semelhantes.

Observando as três paisagens estudadas, verificamos que as curvas de rarefação de espécies não atingiram um platô, indicando que com o aumento do esforço amostral seriam encontradas novas espécies. No entanto, os locais de estudo estão inseridos em uma paisagem já fragmentada pela ação antrópica, seja pela prática agrícola nos entornos Cana de Açúcar e Mata Aberta, seja pela urbanização nos entornos de Mata Fechada, o que pode ter contribuído para o baixo número de espécies encontradas, uma vez que metodologia usada na captura dos animais foi a mesma em todos os locais.

Além disso, matas ripárias são locais que geralmente apresentam baixa riqueza de espécies (Brandão e Araújo, 2001; Crema, 2008) já que é composta na sua maioria por juvenis pós-metamorfoseados em forrageio ou dispersão. As espécies encontradas neste trabalho são conhecidas por possuírem ampla distribuição e se reproduzirem em poças permanentes e/ou temporárias (Dixo e Verdade, 2006; Verdade et al., 2009) (exceto *Haddadus binotatus*), o que acarreta na diminuição da riqueza, já que nem todas as espécies utilizam essa região durante todo seu ciclo de vida.

Alguns dos fatores que podem contribuir para a diferença na composição e riqueza de espécies nos diferentes locais são: -a capacidade das populações de algumas espécies em colonizar o ambiente de área alterada, originado por ação antrópica e -a dependência de microambientes específicos para a reprodução por algumas espécies (Morales et al., 2007). *Haddadus binotatus*, por exemplo, foi encontrado apenas no entorno Mata Fechada, segundo Colombo et al. (2008) e Telles et al. (2012), esta espécie é habitante exclusiva da serapilheira de áreas florestadas, possuindo desenvolvimento direto e realizando a sua postura embaixo de folhas no interior da mata, o que limita sua distribuição em locais abertos e paisagens agrícolas. Dentre as espécies encontradas, apenas *Hypsiboas lundii* é totalmente dependente da floresta ripária (mata de galeria) em todas as fases do seu ciclo de vida (Brasileiro et al. 2005).

Considerando-se a soma da abundância por tipo de entorno, verificamos que cerca de 70% dos indivíduos foram capturados no entorno de Cana de Açúcar, o que evidencia maior abundância nestes locais. A alta abundância de

espécies em relação à biomassa evidenciada pelas curvas ABC nos entornos de Cana de Açúcar indica a colonização da área por espécies tipicamente generalistas, ou seja, pouco exigentes quanto ao tipo de sítio reprodutivo, que colonizam áreas abertas e antropizadas, tal como *Physalaemus centralis* e *Physalaemus cuvieri*, (Toledo et al., 2003; Dixo e Verdade, 2006; Vaz-Silva et al., 2007; Verdade et al., 2009; Morato et al., 2011).

Gardner et al. (2007) ao estudar população de anfíbios em três diferentes tipos de paisagem (mata primária, secundária e eucalipto) pôde também notar a presença de espécies generalistas com distribuição ampla nos locais de Mata Aberta e plantação de eucalipto, com maior incidência de espécies especialistas na floresta primária raramente encontradas em habitats perturbados, e hiperabundância de espécies menores na floresta secundária ou plantação de eucalipto, indicando que as respostas da comunidade para a conversão da floresta dependem do tipo de perturbação e a identidade das espécies constituintes. A colonização das plantações e florestas secundárias por anuros pode ser influenciada pela proporção de habitats mais preservados nos remanescentes das paisagens vizinhas (Fischer et al., 2006).

O fato de muitas espécies serem capazes de persistir em paisagens agrícolas é devido a disponibilidade de água presente nestes locais (Marsh et al, 2004;. Vasconcelos e Calhoun, 2004) e a ausência de predadores, o que os torna capazes de persistir como meta-populações através de uma paisagem alterada (Knutson et al, 2004).

Portanto, a degradação que os ecossistemas naturais vêm sofrendo, especialmente em função de ações antrópicas, tem causado alteração ou eliminação completa de micro habitats específicos explorados pelos anuros (Young et al., 2001). Estas alterações poderiam afetar espécies como *Rhinella ornata* (dominante no entorno de Mata Fechada). De acordo com Baldissera-Jr et al. (2004) e Prado et al. (2009), esta espécie está estritamente relacionada com o domínio de Mata Atlântica e áreas florestadas, sendo que a principal ameaça para esta espécie é o avançado processo de fragmentação florestal que tem sido registrado no interior do Estado de São Paulo, devido ao aumento das atividades agrícolas, principalmente da Cana de Açúcar (Prado et al., 2009).

Para os entornos de Mata Fechada e Mata Aberta a curva de dominância em peso se sobrepôs à curva de dominância em número (Curvas de Abundância e Biomassa – Curvas ABC), indicando que estes ambientes apresentam menores níveis de perturbação e também evidenciando um gradiente de perturbação da Mata Fechada para a Cana de Açúcar. Embora a curva de peso nos entornos de Mata Aberta tenham se sobressaído comparada à mesma curva obtida para os entornos de Mata Fechada, vale ressaltar a contribuição dos indivíduos adultos de *Rhinella icterica* encontrados no entorno Mata Aberta, que apresentaram em torno de 300 a 500g, justificando, portanto, esta diferença.

Os padrões de diversidade beta (similaridade) indicaram um efeito significativo do tipo de entorno em relação à composição de espécies, o qual evidenciou uma separação entre os entornos de Mata Fechada e Cana de Açúcar, enquanto que os entornos de Mata Aberta indicaram a existência de características intermediárias no que se refere à composição de espécies, já que apresentaram espécies comuns aos outros dois tipos de entorno. Estes padrões podem estar relacionados à lenta restauração da anurofauna nestes locais desde o período do desmatamento até a sucessão florística presente atualmente na região, uma vez que áreas florestais em processo de regeneração de uma mesma região geralmente possuem menor diversidade de espécies em relação a áreas florestais pouco perturbadas, além de diferirem na composição e nos padrões de dominância e abundância relativa de espécies da anurofauna (Heinen, 1992; Neckel-Oliveira et al., 2000). Nessa análise, há que se considerar que cada comunidade está submetida a níveis de estresse particulares, sendo quase impossível de detectar em que ponto um *continuum* de perturbação a comunidade está sendo amostrada.

Embora as populações possam se restabelecer em florestas em processo de regeneração, a recuperação da comunidade para os níveis pré-distúrbio podem levar muitos anos e pode não ocorrer se as florestas forem substituídas por monoculturas (Alford e Richards, 1999).

O resultado da análise de NMDS demonstrou semelhanças entre os pontos de coleta de acordo com as espécies encontradas em cada um deles, e o resultado da Permanova indicou um efeito significativo do tipo de entorno nos padrões de similaridade. Doan e Arriaga (2002) sugerem que a replicação de

amostras herpetológicas sejam realizadas em escalas sub-regionais (*i.e.*, >20km), a fim de evitar influências das paisagens adjacentes ao local de estudo. O resultado do teste de Mantel não encontrou correlação entre a diversidade beta e a proximidade espacial entre os locais de coleta, o que neste trabalho ajudou a fortalecer as diferenças encontradas entre o conjunto de espécies em cada tipo de entorno.

Ainda, de acordo com a Lista Vermelha de espécies ameaçadas da IUCN, neste trabalho não foram registradas espécies ameaçadas de extinção, embora haja uma tendência das populações de *Hypsiboas lundii* e *Eupemphix nattereri* ao declínio. Esta situação é mais crítica para *E. nattereri*, tendo em vista que esta espécie é sensível à perturbação antrópica. Já para *Physalaemus centralis*, *Physalaemus marmoratus* e *Rhinella ornata*, desconhece-se o status de sua população na natureza. A espécie *Elachistocleis cesarii* não possui dados disponíveis e todas as outras apresentam suas populações em nível estável (IUCN, 2012).

Segundo registros encontrados, a transformação das florestas em monocultura se deu no século XX. Do ano de 1960 a 2007, a área plantada com cana no Brasil aumentou de; 1.400.000-7.000.000 ha (Martinelli e Filoso, 2008). Nas duas principais bacias hidrográficas que tiveram a maior cobertura percentual de cana em 1997 (Piracicaba e Mogi), apenas 13-18% da vegetação ripária foi preservada (Silva et al., 2007). Não encontramos registros da fauna de anuros anterior a este período, o que não nos permitiu comparar a fauna existente hoje e antes do início da transformação.

Aspectos relacionados à conservação

Inferências confiáveis sobre os efeitos da perda da zona ripária sobre a anurofauna devido à prática do cultivo da Cana de Açúcar requerem atenção para as características ecológicas específicas de cada espécie que compõe determinada paisagem. É válido ressaltar que dentro do ecossistema ripário, ambos habitats são de igual importância para os anuros, já que grande parte das espécies usam o ambiente aquático e o terrestre para completarem seus complexos ciclos de vida (Semlitsch e Bodie, 2003). A partir de então, devem

ser estabelecidas medidas que atendam às exigências de todas as espécies que compõem a paisagem assim como a interação com os outros componentes do ecossistema ripário.

No que tange os ecossistemas brasileiros, a zona ripária se enquadra segundo o Novo Código Florestal Brasileiro (Art. 4º, inciso I, lei nº 12.651, de 25 de maio de 2012) como Área de Proteção Permanente (APP). Isto implica que cursos d'água naturais de largura inferior a 10 metros devem possuir vegetação marginal mínima de 30 metros; cursos d'água de 10 a 50 metros de largura devem possuir vegetação marginal com largura mínima de 50 metros (Orientações Gerais ao Produtor Rural, 2012).

Segundo Rittenhouse e Semlitsch (2007) a maioria dos anfíbios adultos usam habitats que variam de distâncias curta a intermediária dos locais de reprodução (30-200 m) durante a estação não reprodutiva. Embora este não seja um padrão para os anuros em geral, o processo de gestão ambiental devem considerar os requisitos de habitats específicos das espécies e assegurar-lhes a dispersão bem sucedida em busca dos recursos necessários a sua sobrevivência e sucesso reprodutivo. Finalmente, a distribuição dos indivíduos em diferentes distâncias dos locais de reprodução não é uniforme, portanto, a perda ou redução da zona ripária afetará uma grande proporção da população adulta e os jovens recém-metamorfoseados que buscam pela região seca.

Através da comparação feita entre as comunidades de anuros das diferentes paisagens ripárias, pudemos observar uma diferença quanto à composição de espécies nos diferentes entornos. As zonas ripárias formadas pelo plantio de Cana de Açúcar e de Mata Aberta favorecem a colonização de espécies r-estrategistas (dominantes numericamente, mas sem grandes proporções de biomassa na comunidade), espécies típicas de áreas abertas e resistentes à pressão antrópica, enquanto que as zonas ripárias com Mata Fechada permitem maior exploração pelos hilídeos e outros associados à serapilheira.

No entanto, a baixa riqueza de espécies no geral nos indica que outros fatores além da expansão agrícola influenciam na integridade das zonas ripárias e conseqüentemente na composição, riqueza e abundância de espécies de anuros: urbanização, especulação imobiliária e a conversão dos

ambientes em áreas de pastagem, que contribuem para o isolamento e fragmentação do habitat. Concluimos, portanto, que a prática agrícola da Cana de Açúcar, bem como outros fatores antrópicos estão contribuindo para a degradação e fragmentação das zonas ripárias, influenciando na riqueza, abundância e composição de espécies.

Este trabalho ressalta a importância de investigar os mecanismos causadores da distribuição das espécies, e como os diversos fatores que compõe a paisagem podem influenciar sobre as comunidades, além de ressaltar que um planejamento adequado, melhoria de práticas de uso do solo e proteção de riachos e da zona ripária são questões importantes a serem consideradas no que se refere à questão da sustentabilidade ambiental da produção de Cana de Açúcar. A largura da zona ripária também deve ser cuidadosamente observada em rios de áreas agrícolas, uma vez que o presente estudo indicou que os riachos de áreas com plantio de Cana de Açúcar sofreram perda e homogeneização de espécies, possivelmente causada pela menor integridade ambiental destes locais.

Agradecimentos

Agradecemos a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro ao projeto (2010/52069-6) e pela bolsa de Mestrado (2011/03047-2); ao Instituto de Pesca (APTA-SAA) pelo suporte institucional; ao Departamento de Zoologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo – no nome do Professor Dr. Taran Grant e da MSc. Mariane Targino pela ajuda na identificação das espécies; ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pela licença de coleta e transporte concedida e a todos os amigos que contribuíram para a realização deste trabalho.

Referências Bibliográficas

- ALFORD, A.R. e RICHARDS, J.R. 1999 Global Amphibian Declines: a problem in applied ecology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, Palo Alto, 30: 133-165.
- ANDERSON, M. J. 2001 A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Australian Journal of Ecology*, Canberra, 26: 32 – 46.
- BALDISSERA-Jr., F.A.; CARAMASCHI, U.; HADDAD, C.F.B. 2004 Review of the *Bufo crucifer* species group, with descriptions of two new related species (Amphibia, Anura, Bufonidae). *Arquivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro*, Rio de Janeiro, 62: 255–282.
- BARRETT, K. E. e GUYER, C. 2008 Differential responses of amphibians and reptiles in riparian and stream habitats to land use disturbances in western Georgia, USA. *Biological Conservation*, Essex, 141: 2290-2300.
- BRANDÃO, R. A. e ARAÚJO, A. F. B. 1998 A herpetofauna da Estação Ecológica de Águas Emendadas. In: Vertebrados da Estação Ecológica de Águas Emendadas: história natural e ecologia em um fragmento de cerrado do Brasil Central (MARINHO FILHO, J.; RODRIGUES, F. e GUIMARÃES, M. eds.). Brasília, Secretaria de Meio Ambiente Ciência e Tecnologia do Distrito Federal. p.9-21.
- BRASILEIRO, C.A.; SAWAYA, R.J.; KIEFER, M.C.; MARTINS, M. 2005 Amphibians of an open cerrado fragment in southeastern Brazil. *Biota Neotropica*, Campinas, 5(2): 1-17.
- BRITO-CRUZ, C.H. 2010 Etanol de Cana de Açúcar: quando a sustentabilidade se junta à produtividade. Disponível em: <<http://www.fapesp.br/materia/5533/noticias/a-pesquisa-no-etanol-da-cana.htm>>. Acesso em: 03 abr. 2012.
- BULGER, J. B.; SCOTT-JR., N.J.; SEYMOUR, R.B. 2003 Terrestrial activity and conservation of adult California red legged frogs *Rana aurora draytonii* in coastal forests and grasslands. *Biological Conservation*, Essex, 110:85–95.
- BURGETT, A.A.; WRIGHT, C.D.; SMITH, G.R.; FORTUNE, D.T.; JOHNSON, S.L. 2007 Impact of ammonium nitrate on wood frog (*Rana sylvatica*) tadpoles: effects on survivorship and behavior. *Herpetological Conservation and Biology*, Las Vegas, 2(1): 29-34.

- CALLISTO, M.; FERREIRA, W.R.; MORENO, P.; GOULART, M.; PETRUCIO, M. 2002 Aplicação de um protocolo de avaliação rápida da diversidade de habitats em atividade de ensino e pesquisa (MG-RJ). *Acta Limnologica Brasiliensia*, Rio Claro, 14(1): 91-98.
- CECHIN, S.M. e MARTINS, M. 2000 Eficiência de armadilhas de queda (pitfall traps) em amostragens de anfíbios e répteis no Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, São Paulo, 17:729-740.
- COLOMBO, P.; KINDEL, A.; VINCIPROVA, G.; KRAUSE, L. 2008 Composição e ameaças à conservação dos anfíbios anuros do Parque Estadual de Itapeva, município de Torres, Rio Grande do Sul, Brasil. *Biota Neotropica*, Campinas, 8(3): 230-240.
- COLWELL, R. K. 2006 EstimateS: statistical estimation of species richness and shared species from samples. Disponível em: <<http://viceroy.eeb.uconn.edu/EstimateS>>. Acesso em 15 mai.2012.
- CORBI, J.J.; STRIXINO, S.T.; SANTOS, A.; DEL GRANDE, M. 2006 Diagnóstico ambiental de metais e organoclorados em córregos adjacentes a áreas de cultivo de Cana de Açúcar (Estado de São Paulo, Brasil). *Química Nova*, São Paulo, 29: 61-65.
- CORN, P.S. 1994 Standard techniques for inventory and monitoring - Straight-line drift fences and pitfall traps. In: Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for amphibians (HEYER, W.R.; DONNELLY, M.A.; MCDIARMID, R.W.; HAYEK, L.C.; FOSTER, M.S., editors). Smithsonian Institution Press, Washington, p.118-124.
- CREMA, A. 2008 Diversidade e distribuição de anfíbios anuros associados a matas de galeria dentro e fora de Unidades de Conservação do Distrito Federal. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, Instituto de Biologia. 70p.
- CUSHMAN, S.A. 2006 Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: a review and prospectus. *Biological conservation*, Essex, 128(2): 231-240.
- DECAMPS, H.; PINAY, G.; NAIMAN, R.J.; PETTS, G.E.; MCCLAIN, M.E.; HILLBRICHT-ILKOWSKA, A.; HANLEY, T.A.; HOLMES, R.M.; QUINN, J.; GIBERT, J.; PLANTY-TABACCHI, A.; SCHIEMER, F.; TABACCHI, E.; ZALEWSKI, M. 2004 Riparian zones: where biogeochemistry meets biodiversity in management practice. *Polish Journal of Ecology*, Lomianki, 52 (1): 3-18.

- DEVINE, G.J. e FURLONG, M.J., 2007 Insecticide use: contexts and ecological consequences. *Agriculture and Human Values*, Florida, 24:281–306.
- DIXO, M.; VERDADE, V.K. 2006 Herpetofauna da Serrapilheira da Reserva Florestal de Morro Grande, Cotia (SP). *Biota Neotropica*, Campinas, 6(2): 1-20.
- DOAN, T.M. e ARRIAGA, W.A. 2002 Microgeographic variation in species composition of the herpetofaunal communities of Tambopata region, Peru. *Biotropica*, Washington, 34: 101-117.
- FISCHER, J.; LINDENMAYER, D.B.; MANNING, A.D. 2006 Biodiversity, ecosystem function, and resilience: ten guiding principles for commodity production landscapes. *Frontiers in Ecology and the Environment*, Washington, 4:80–86.
- GALLANT, A.L.; KLAVER, R.W.; CASPER, G.S.; LANNOO, M.J. 2007 Global rates of habitat loss and implications for amphibian conservation. *Copeia*, Washington, 4: 967–979.
- GARDNER, T.A.; RIBEIRO-JUNIOR, M.A.; BARLOW, J.; ÁVILA-PIRES, T.C.S.; HOOGMOED, M.S.; PERES, C.A. 2007 The Value of Primary, Secondary, and Plantation Forests for a Neotropical Herpetofauna. *Conservation Biology*, Cambridge, 21(3): 775–787.
- GIBBONS, J.W.; WINNE, C.T.; SCOTT, D.E.; WILLSON, J.D.; GLAUDA, X.; ANDREWS, K.M.; TODD, B.D.; FEDEWA, L.A.; WILKINSON, L.; TSALIAGOS, R.N.; HARPER, S.J.; GREENE, J.L.; TUBERVILLE, T.D.; METTS, B.S.; DORCAS, M.E.; NESTOR, J.P.; YOUNG, C.A.; AKRE, T.; REED, R.N.; BUHLMANN, K.; NORMAN, J.; CROSHAW, D.A.; HAGEN, C.; ROTHERMEL, B.B. 2006 Remarkable Amphibian Biomass and Abundance in an Isolated Wetland: Implications for Wetland Conservation. *Conservation Biology*, Cambridge, 20(5): 1457–1465.
- HARDING, J.S.; BENFIELD, E.F.; BOLSTAD, P.V.; HELFMAN, G.S.; LONES III, E.B.D. 1998 Stream biodiversity: the ghost of land use past. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, 95: 843-847.
- HATCH, A.C. e BLAUSTEIN, A.R., 2000 Combined effects of UV-B, nitrate, and low pH reduce the survival and activity level of larval cascades frogs (*Rana cascadae*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, New York, 39: 494–499.

- HEINEN, J.T. 1992 Comparisons of the Leaf Litter Herpetofauna in Abandoned Cacao Plantations and Primary Rain Forest in Costa Rica: Some Implications for Fauna Restoration. *Biotropica*, Washington, 24(3):431-439.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2004 Mapa de Biomas e de Vegetação. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomas.shtml>> Acesso em: 07 Ago. 2013.
- IEA, 2010. Área e produção de dos principais produtos da agropecuária do Estado de São Paulo. Banco de Dados. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/banco/menu.php>>. Acesso em: 05 mar. 2012.
- IRRIGART – Engenharia e Consultoria em Recursos Hídricos e Meio Ambiente Ltda. 2006 Plano de gerenciamento integrado para remediação e proteção dos recursos hídricos da Sub-Bacia do Atibaia com ênfase no Reservatório de Salto Grande, Americana/SP. Piracicaba, p.160.
- IUCN. 2012 IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em 27 mar. 2013.
- JOLY, P.; MIAUD, C.; LEHMANN, A.; GROLET, O. 2001 Habitat matrix effects on pond occupancy in newts. *Conservation Biology*, Cambridge, 15:239–248.
- KNUTSON, M.G.; SAUER, J.R.; OLSEN, D.A.; MOSSMAN, M.J.; HEMESATH, L.M.; LANNOO, M.J. 2000 Landscape associations of Frog and Toad Species in Iowa and Wisconsin, U.S.A. *Journal of the Iowa Academy of Science*, Iowa, 107(3): 134-145.
- KNUTSON, M.G.; RICHARDSON, W.B.; REINEKE, D.M.; GRAY, B.R.; PARMELEE, J.R.; WEICK, S.E. 2004 Agricultural Ponds Support Amphibian Populations. *Ecological Applications*, Pasadena, 14(3):669–684.
- KREBS, C. J. 1999 Ecological methodology. New York: Benjamin-Cummings, p. 620.
- MAGURRAN, A. E. 2004 Measuring biological diversity. Oxford: Blackwell Publishing, p. 256.
- MANN, R.M.; HYNE, R.V.; CHOUNG, K.B.; WILSON, S.P. 2009 Amphibians and agricultural chemicals: Review of the risks in a complex environment. *Environmental Pollution*, Barking, 157: 2903–2927.

- MARSH, D.M.; THAKUR, K.A.; BULKA, K.C.; CLARKE, L.B. 2004 Dispersal and colonization through open fields by a terrestrial, Woodland Salamander. *Ecology*, Washington, 85(12):3396–3405.
- MARTINELLI, L.A. e FILOSO, S. 2008 Expansion of sugarcane ethanol production in Brazil: environmental and social challenges. *Ecological Applications*, Pasadena, 18(4): 885-898.
- MORAES, R.A.; SAWAYA, R.J.; BARRELLA, W. 2007 Composição e diversidade de anfíbios anuros em dois ambientes de Mata Atlântica no Parque Estadual Carlos Botelho, São Paulo, sudeste do Brasil. *Biota Neotropica*, Campinas, 7(2): 27-36.
- MORATO, S.A.A.; LIMA, A.M.X.; STAUT, D.C.P.; FARIA, R.G.; SOUZA-ALVES, J.P.; GOUVEIA, S.F.; SCUPINO, M.R.C.; GOMES, R.; SILVA, M.J. 2011 Amphibians and Reptiles of the Refugio de Vida Silvestre Mata do Junco, municipality of Capela, state of Sergipe, northeastern Brazil. *Check List*, Viçosa, 7(6): 756-762.
- NAIMAN, R.J. e TURNER, M.G. 2000 A future perspective on North America's freshwater ecosystems. *Ecological Applications*, Pasadena, 10(4):958–970.
- NECKEL-OLIVEIRA, S.; MAGNUSSON, W.E.; LIMA, A.P.; ALBERNAZ, A.L.K. 2000 Diversity and distribution of frogs in an Amazonian savanna in Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 21: 317-326.
- NISLOW, K.H. 2005 Forest change and stream fish habitat: lessons from 'Olde' and New England. *Journal of Fish Biology*, 67: 186-204.
- ODA, F.H.; BASTOS, R.P.; LIMA, M.A.C.S. 2009 Anuran assemblage in the cerrado of Niquelândia, Goiás State, Brazil: diversity, local distribution and seasonality. *Biota Neotropica*, 9(4):219-232.
- OKSANEN, J.; BLANCHET, F.G.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; O'HARA, R.G.; SIMPSON, G.L.; SOLYMOS, P.; HENRY, M.; STEVENS, H.; WAGNER, H. 2010 Vegan: Community Ecology Package. R package version 1.17-0. Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=vegan>>. Acesso em: 05 mai.2012.
- OLSON, D.H.; ANDERSON, P.D.; FRISSELL, C.A.; WELSH JR, H.H.; BRADFORD, D.F. 2007 Biodiversity management approaches for stream-riparian areas: Perspectives for Pacific Northwest headwater forests, microclimates, and amphibians. *Forest Ecology and Management*, 246:81-107.

NOVO CÓDIGO FLORESTAL. 2012 Orientações Gerais ao Produtor Rural. Disponível em: www.srrp.com.br/.../ORIENTACOESGERAISCODIGOFLORESTAL.pdf. Acesso em: 14 mai.2013.

PIACENTE, F.J. 2005 Agroindústria canavieira e o sistema de gestão ambiental: o caso das usinas localizadas nas bacias hidrográficas dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí. Campinas. 175p. (Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas). Disponível em <http://www.sucree-thique.org/IMG/pdf/cp000804.pdf> Acesso em 16 jan. 2012.

PRADO, V.H.M.; SILVA, F.R.; DIAS, N.Y.N.; PIRES, J.S.R.; ROSSA-FERES, D.C. 2009 Anura, Estação Ecológica de Jataí, São Paulo state, southeastern Brazil. *Check List*, 5(3): 495-502.

PROJETO CANASAT (sem data, online). Monitoramento da Cana de Açúcar – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), Divisão de Sensoriamento remoto (DSR). Disponível em: <http://www.dsr.inpe.br/laf/canasat/cultivo.html>. Acesso em: 20 mai.2013.

PUSEY, B.J. e ARTHINGTON, A.H. 2003 Importance of the riparian zone to the conservation and management of freshwater fish: a review. *Marine and Freshwater Research*, 54:1-16.

RITTENHOUSE, T.A.G. e SEMLITSCH, R.D. 2007. Distribution of amphibians in terrestrial habitat surrounding wetlands. *Wetlands*, 27(1):153–161.

ROGOWITZ, G.L.; CORTES-RIVERA, M.; NIEVES-PUIGDOLLER, K. 1999 Water loss, cutaneous resistance, and effects of dehydration on locomotion of *Eleutherodactylus* frogs. *Journal of Comparative Physiology*, 169B:179–186.

ROTHERMEL, B.B. e SEMLITSCH, R.D. 2002 An experimental investigation of landscape resistance of forest versus old-field habitats to emigrating juvenile amphibians. *Conservation Biology*, 16(5):1324 – 1332.

ROUSE, J. D.; BISHOP, C.A.; STRUGER, J. 1999 Nitrogen pollution: an assessment of its threat to amphibian survival. *Environmental Health Perspectives*, 107:799–803.

SAS Institute Inc. 2002 SAS. Version 9.1. SAS Institute: Cary, North Carolina, USA.

- SEMLITSCH, R. D. e BODIE, J.R. 2003 Biological criteria for buffer zones around wetlands and riparian habitats for amphibians and reptiles. *Conservation Biology*, 17:1219– 1228.
- SEMLITSCH, R. D. 2000 Principles for management of aquatic breeding amphibians. *Journal of Wildlife Management*, 64:615–631.
- SILVA, F.R. e ROSSA-FERES, D.C. 2007 Uso de fragmentos florestais por anuros (Amphibia) de área aberta na região noroeste do Estado de São Paulo. *Biota Neotropica*, 7(2):141-148.
- SILVA, A. M.; NALON, M. A.; KRONKA, F. J. N.; ALVARES, C. A.; CAMARGO, P. B.; MARTINELLI, L. A. 2007 Historical land-cover/use in different slope and riparian buffer zones in watersheds of the State of São Paulo, Brazil. *Scientia Agricola*, 64:325-335.
- SILVANO, D.L.; COLLI, G. R.; DIXOM, M. B. O.; PIMENTA, B.V.S.; WIEDERHECKER, H.C. 2003 Fragmentação de Ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e Recomendações de políticas públicas. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. Disponível em: <http://www.uesc.br/dcb/area_conhecimento/ecologia/probio_fragmentacao_parte1.pdf> Acesso em: 02 abr.2012
- SOUZA, V.M.; SOUZA, M.B.; MORATO, E.F. 2008 Efeitos da sucessão florestal sobre a anurofauna (Amphibia: Anura) da Reserva Catuaba e seu entorno, Acre, Amazônia sul-ocidental. *Revista Brasileira de Zoologia*, 25 (1):49–57.
- SPAROVEK, G. e SCHNUG, E. 2001 Temporal erosion-induced soil degradation and yield loss. *Soil Science Society of America Journal*, 65:1479-1486.
- TELLES, F.B.T.; MENEZES, V.A.; MAIA-CARNEIRO, T.; DORIGO, T.A.; WINCK, G.R.; ROCHA, C.F.D. 2012 Anurans from the “Restinga” of Parque Natural Municipal de Grumari, state of Rio de Janeiro, southeastern Brazil. *Check List*, 8(6):1267-1273.
- TOLEDO, L.F.; ZINA, J.; HADDAD, C.F.B. 2003 Temporal and Spatial Distribution in an Anuran Community in Municipality of Rio Claro, São Paulo, Brazil. *Holos Environment*, 3(2):136-149.
- VASCONCELOS, D. e CALHOUN, A.J.K. 2004 Movement Patterns of Adult and Juvenile *Rana sylvatica* (LeConte) and *Ambystoma maculatum* (Shaw)

in Three Restored Seasonal Pools in Maine. *Journal of Herpetology*, 38(4):551-561.

VAZ-SILVA, W.; GUEDES, A.G.; AZEVEDO-SILVA; P.L., GONTIJO; F.F., BARBOSA, R.S.; ALOÍSIO, G.R.; OLIVEIRA, F.C.G. 2007 Herpetofauna, Espora Hydroelectric Power Plant, state of Goiás, Brazil. Check List, 3(4):338-345.

VERDADE, V.K.; RODRIGUES, M.T.; PAVAN, D. 2009 Anfíbios anuros da região da Estação Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba. In: Patrimônio da Reserva Biológica do Alto da Serra de Paranapiacaba: a antiga Estação Biológica do Alto da Serra (LOPES, M.I.M.S.; KIRIZAWA, M.; MELO, M.M.R.F.de, organizadoras). São Paulo, Instituto de Botânica, p.720.

VERDADE, V.K.; CARNAVAL, A.C.; RODRIGUES, M.T.; SCHIESARI, L.; PAVAN, D.; BERTOLUCI, J. 2012 Decline of Amphibians in Brazil. In: Amphibian Biology (HEATWOLW, H., editor; BARRIO-AMORÓS, C.L.; WILKINSON, J.W., co-editors), p.44.

VOS, C.C. e CHARDON, J.P. 1998 Effects of habitat fragmentation and road density on the distribution pattern of the moor frog *Rana arvalis*. *Journal of Applied Ecology*, 35:44–56.

WATSON, G.F.; DAVIES, M.; TYLER, M.J. 1995 Observations on temporary water in northwestern Australia. *Hydrobiologia*, 299: 53-93.

WHATELY, M. e CUNHA, P. 2007 Cantareira 2006: um olhar sobre o maior manancial de água da Região Metropolitana de São Paulo. São Paulo: Instituto Socioambiental, p.26.

YOUNG, B.E.; LIPS, K.R.; REASER, J.K.; IBÁÑES, R.; SALAS, A.W.; CEDEÑO, J.R.; COLOMA, S.R.; LA MARCA, E.; MEYER, J.R.; MUÑOZ, A.; BOLAÑOS, F.; CHAVES, G.; ROMOS, D. 2001. Population Declines and Priorities for Amphibian Conservation in Latin America. *Conservation Biology*, 15(5):1213-1223.

CAPÍTULO 2

Morfologia do tegumento de *Rhinella ornata* oriunda de diferentes paisagens: Cana de Açúcar e Mata Fechada

Ludmila Cristina Baldi^{a*}, Cláudia Maris Ferreira^b

^{a,*} MSc. - Instituto de Pesca, APTA/SAA, Avenida Francisco Matarazzo 455, Água Branca, São Paulo, Brasil. *Corresponding author: ludmilacristina@hotmail.com. Tel. +55(11) 98386-7975

^b Sicientific Research - Instituto de Pesca, APTA/SAA, Avenida Francisco Matarazzo 455, Água Branca, São Paulo, Brasil. E-mail: claudia@pesca.sp.gov.br

Resumo

O tegumento dos anfíbios desempenha diversas funções vitais à sobrevivência, como proteção mecânica e química, transporte iônico, absorção hídrica e respiração. A análise morfológica do tegumento diz muito sobre a relação dos anuros com seu ambiente, portanto, o presente trabalho objetivou comparar a morfologia do tegumento de espécimes de *Rhinella ornata* (Família Bufonidae), provenientes de diferentes paisagens - Cana de Açúcar e Mata Fechada – através de análises histológicas e histoquímicas, a fim de detectar diferenças na plasticidade dos indivíduos aos distintos locais. A análise morfológica do tegumento dos espécimes de *Rhinella ornata* através da Microscopia de luz ratificou a estrutura básica conhecida dos Bufonídeos. A epiderme apresentou um epitélio escamoso queratinizado estratificado com a camada córnea pouco desenvolvida; presença dos tecidos compactos e esponjoso formando a derme e hipoderme situada abaixo da derme com a presença de vasos sanguíneos, e presença de glândulas mucosas e granulosas no Estrato Esponjoso. Os resultados da Análise de Variância dois fatores demonstram que houve diferenças significativas para a interação das paisagens de Mata Fechada com a Cana de Açúcar quanto à região inguinal, que apresentou maiores valores da epiderme e epiderme total nos animais da Cana de Açúcar. O Estrato Esponjoso da região ventral apresentou-se maior nos espécimes da Cana de Açúcar e o Estrato Compacto, derme total e pele total, também foram mais espessas nas regiões dorsal e ventral dos animais da Cana. Apesar de estatisticamente significativa, estas diferenças demonstram modificações mecânicas apresentadas pelos animais dependendo do tipo de ambiente, sem indicações de haja diferença na capacidade de sobrevivência destes nos diferentes habitats.

Palavras-chave: anuros, pele, morfologia, histologia

Morphology of *Rhinella ornata* integument from different landscapes: Sugarcane and Closed Forest

Ludmila Cristina Baldi^{a*}, Cláudia Maris Ferreira^b

^{a,*} MSc. - Instituto de Pesca, APTA/SAA, Avenida Francisco Matarazzo 455, Água Branca, São Paulo, Brasil. *Corresponding author: ludmilacristina@hotmail.com. Tel. +55(11) 98386-7975

^b Sientific Research - Instituto de Pesca, APTA/SAA, Avenida Francisco Matarazzo 455, Água Branca, São Paulo, Brasil. E-mail: claudia@pesca.sp.gov.br

Abstract

The integument of amphibians performs several vital functions to survival, such as mechanical and chemical protection, ion transport, water absorption and respiration. Morphological analysis of the integument says a lot about the relationship of anurans with its environment, therefore the present study aimed to compare the morphology of *Rhinella ornata* integument (Bufonidae) from different landscapes - Sugarcane and Closed Forest - through histological and histochemical analysis to detect differences in plasticity of individuals at different locations. The results of morphological analysis by light microscopy ratified the basic structure of known Bufonidae. The epidermis presented a keratinized stratified squamous epithelium with less developed horny layer, presence of compact spongy tissue forming the dermis and hypodermis situated below the dermis. Blood vessels, mucous and granular glands were found in the spongy layer. The Analysis of Variance exhibited significant differences in the interaction of Closed Forest with Sugar Cane landscapes. The inguinal region showed higher values of the epidermis and total epidermis in animals from Sugar Cane. The spongy layer of the ventral region was higher in specimens from Sugarcane and the stratum compact, total dermis and total skin were also thicker in the dorsal and ventral animals from cane. Although statistically significant, these differences demonstrate mechanical modifications of animals depending on the environment, there is no indication of difference in survivability in these different habitats.

Key-words: anurans, skin, morphology, histology

Introdução

Os anfíbios habitam um amplo espectro habitats sendo encontrados desde desertos até regiões extremamente frias. O tegumento dos anfíbios desempenha diversas funções vitais à sobrevivência, como proteção mecânica e química (Almeida *et al.*, 2007), transporte iônico, absorção hídrica e respiração (Sullivan *et al.*, 2000). Apesar da característica permeável da pele desses animais, ela é dotada de adaptações únicas que permitem, em associação com comportamentos específicos, à sobrevivência destes animais sob as diferentes condições ambientais (Duellman e Trueb, 1996; Felseburgh *et al.*, 2007).

A epiderme dos anuros adultos é formada por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado organizado em quatro camadas de células: o estrato basal ou germinativo mais internamente, o estrato espinhoso e estrato granuloso e, mais externamente o Estrato Córneo, composto principalmente por queratinócitos (Brito-Gitirana e Azevedo, 2005). A derme é geralmente composta de duas camadas: o Estrato Esponjoso, que é formado por tecido conjuntivo frouxo, contendo células de pigmento, vasos sanguíneos e glândulas, e o Estrato Compacto, que é formado por uma série de camadas alternadas de feixes de fibras de colágeno dispostos de forma inter cruzada (Brito-Gitirana e Azevedo, 2005). Entre os estratos esponjoso e compacto, especialmente nos anuros terrestres, pode ocorrer a presença da camada calcificada (Brito-Gitirana e Azevedo, 2005; Felseburgh *et al.*, 2009; Azevedo *et al.*, 2005 e 2007), que atuaria para evitar a perda de água por de evaporação (Toledo e Jared, 1993). A camada calcificada não tem uma estrutura celular. É composta de uma substância amorfa, em conjunto com sais de cálcio. Em anuros de hábito principalmente terrestre, a camada aparece como contínua, imediatamente acima do Estrato Compacto.

A defesa química contra predadores típica destes animais depende das glândulas granulosas, também chamadas de glândulas de veneno. Além delas, também são encontradas glândulas mucosas relacionadas a outras funções como a respiração, equilíbrio de temperatura e hídrico (Duellman e Trueb, 1996; Rollins-Smith *et al.*, 2005). As glândulas de veneno secretam uma grande diversidade de peptídeos, proteínas, aminas biogênicas, esteroides e

alcaloides, os quais apresentam um largo espectro de atividades biológicas (Schwartz *et al.*, 2007; König e Bininda-Emonds, 2011), proporcionando assim proteção também uma proteção contra a infecções bacterianas e fúngicas (Almeida *et al.*, 2007). A morfologia e os padrões de distribuição das glândulas ao longo do corpo variam entre as espécies, às vezes em função da sua ecologia e história natural (Toledo e Jared, 1995; Prates *et al.*, 2011). As glândulas mucosas são compostas por diversas células mucosas e serosas, enquanto as granuladas são formadas por um sincício e contém secreção acidófila. Segundo Almeida *et al.* (2007) as glândulas multicelulares no tegumento dos anfíbios representam um avanço evolutivo significativo sobre o dos peixes.

Os anfíbios enfrentam um desafio hídrico particularmente pungente devido à necessidade de manutenção de uma alta permeabilidade de seu tegumento, que representa um importante órgão de troca de gases respiratórios neste grupo. A alta permeabilidade tegumentar, característica da maior parte das espécies de anfíbios, acarreta em taxas de perda de água particularmente elevadas quando comparados a outros tetrápodes, e expõe estes animais a um alto risco de desidratação em ambiente terrestre (Titon e Gomes, 2012).

De acordo com Blausten e Balden (2003), a pele dos anfíbios, é exposta e permeável o que os leva a absorver facilmente as substâncias presentes no ambiente. Além disso, o ciclo de vida complexo de muitas espécies, aquático e terrestre, expõe esses animais a mudanças ambientais. Estes atributos e o fato de anfíbios serem ectotérmicos os tornam especialmente sensível às mudanças de temperatura, precipitação e aumentos de radiação ultravioleta (UV).

Pouco se sabe sobre a histologia do tegumento de espécies brasileiras. Por outro lado, a análise morfológica do tegumento diz muito sobre a relação dos anuros com seu ambiente (Brito-Gitirana e Azevedo, 2005; Azevedo *et al.*, 2007; Felseburgh *et al.*, 2007). Tomando por base esta afirmação, o presente trabalho objetivou comparar a morfologia do tegumento da espécie *Rhinella ornata* (Família Bufonidae), provenientes de diferentes paisagens - Cana de Açúcar e Mata Fechada, a fim de detectar diferenças morfológicas indicativas da plasticidade dos indivíduos aos distintos locais.

Materiais e Métodos

Coleta dos animais

Capturamos oito espécimes adultos de *Rhinella ornata*, todos machos; peso médio de 10g e comprimento médio rostro-cloacal de 52mm para os animais da Mata Fechada e peso médio de 18.4g e comprimento médio rostro-cloacal de 57mm para os animais da Cana de Açúcar, na vegetação marginal de riachos (Mata Ripária) das sub-bacias dos rios Atibaia e Jaguari (Bacia do Rio Piracicaba), interior do Estado de São Paulo/Brasil, através de armadilhas de interceptação e queda (“pit fall traps” – Corn 1994; Cechin e Martins, 2000) (Autorização de acordo com as leis Brasileiras número 31602-1, Ministério do Meio Ambiente, Instituto Chico Mendes de Conservação e Biodiversidade – ICMBio), sendo quatro espécimes para cada tipo de mata ripária, a seguir:

Cana de Açúcar (22°41'53.6"S 47°14'39.3"W): O uso predominante do solo nesta região é agrícola, com 90% de sua paisagem composta pelo plantio da cana. Em menor quantidade ocorre a presença de gramíneas, bambus, árvores esparsas e grande processo erosivo nas margens do riacho (Figura 1a).

Mata Fechada (22°45'51.8"S 46°52'45.7"W): A vegetação é constituída de Floresta Ombrófila Densa, Vegetação Secundária de Floresta Ombrófila Densa, Floresta Estacional Semidecidual e Vegetação Nativa em maior proporção, atingindo aproximadamente 30% (Figura 1b).

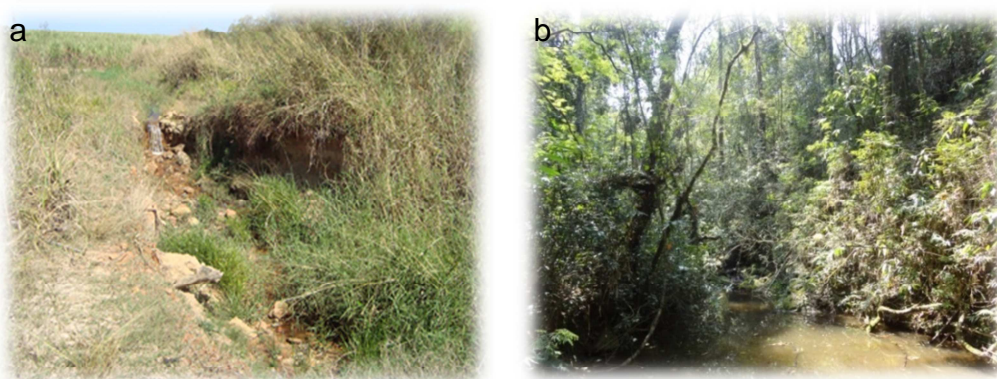


Figura 1 – Matas Ripárias dos riachos pertencentes às sub-bacias dos rios Atibaia e Jaguari (Bacia do Rio Piracicaba), interior do Estado de São Paulo/Brasil. Trechos de coleta dos espécimes de *Rhinella ornata* : a) Cana de Açúcar, b) Mata Fechada.

Os animais foram capturados no mês de Julho de 2012, estação seca do ano. Os dados climáticos foram obtidos através de estações meteorológicas, e se referem às temperaturas registradas nos municípios de Pedreira/SP (Mata Fechada) e Americana/SP (Cana de Açúcar), com médias de temperatura de 18.0°C e 18.8°C, respectivamente. Não foi possível registrar os valores de temperatura e umidade no interior das matas, no entanto, a Mata Fechada possuía temperatura mais amena e maior umidade devido ao sombreamento do local pelas árvores comparado a Cana de Açúcar, cuja incidência de luz solar era expressivamente maior.

Estudo histológico

Os animais capturados foram eutanasiados com injeção intraperitoneal de Tiopental Sódico (THIOPENTAX® 1,0g) e sexados. Fragmentos de pele dorsal, ventral e inguinal foram fixados com paraformaldeído a 10% pH 7.2, desidratados e incluídos em diversas orientações em historesina Leica® (glicol metacrilato). As amostras foram seccionadas em espessura entre 0.5 e 6µm com lâminas de vidro em micrótomo semiautomático Microm® HM 340. Após a obtenção dos cortes, as lâminas foram submetidas à técnica do Azul de Toluidina-Fucsina.

Estudo histoquímico

A fim de identificar a constituição química e os metabólitos presentes nas células e tecidos, usamos os seguintes métodos:

Método do Alcian Blue pH 2,5: Coloração com a solução de Alcian Blue a 1% em ácido acético a 3% com pH 2.5 por 20 minutos; Lavagem das lâminas em ácido acético a 3% durante 2 minutos; Contra coloração com Hematoxilina de Harris por 15 segundos; Montagem da lâmina com Entellan®.

Resultado: Mucopolissacarídeos ácidos e glicosaminoglicanos coram-se em azul.

Método do Azul de Bromofenol: Imersão dos cortes na solução de Azul de Bromofenol por 15 minutos; Banho em solução de ácido acético a 0.5% por três vezes (1 minuto cada); Lavagem em água destilada e em seguida em tampão PBS pH 7.2; Desidratação em série alcoólica de concentrações crescentes e diafanização em xilol; Montagem da lâmina com Entellan®.

Resultado: Proteínas coram-se em azul.

Estudo morfométrico

Os cortes histológicos da pele dorsal, ventral e inguinal de *Rhinella ornata* foram submetidos a uma análise morfométrica, considerando: espessura total da pele, da camada dérmica calcificada (caso presente), da epiderme e estrato córneo. Para cada indivíduo, foram considerados cinco cortes de 3µm de espessura, distanciados 20 cortes (30 µm) um do outro. As imagens das lâminas foram obtidas no microscópio Olympus BX51 acoplado a uma câmera digital e capturadas através do software Image-Pro da MediaCybernetics. A tomada de valores foi feita através da análise de fotomicrografias no aplicativo *Image-Pro Express*.

Análise estatística

As variáveis obtidas através da morfometria da pele dos animais coletados em ambos os entornos foram comparadas através de análises de variância para dois fatores (ANOVA) com medidas repetidas, discriminando-se diferenças entre grupos *a posteriori* através do teste de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0.05$. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão. Os dados foram analisados ou plotados com os softwares SigmaStat 3.5 e SigmaPlot 11.0.

Resultados e Discussão

A análise morfológica do tegumento dos espécimes de *Rhinella* através da Microscopia de luz revelou a estrutura básica conhecida dos Bufonídeos (Felsemburgh e Gitirana, 2008; Felsemburgh *et al.*, 2009), com as características já descritas anteriormente para a espécie *Rhinella ornata* (Felsemburgh *et al.*, 2009).

A epiderme apresentou um epitélio escamoso queratinizado estratificado com a camada córnea pouco desenvolvida; presença dos tecidos compactos e esponjoso formando a derme e hipoderme situada abaixo da derme com a presença de vasos sanguíneos. Em todas as regiões do corpo, a derme esponjosa abrigou as glândulas granulosas e mucosas, cujas porções secretoras são cercadas por células mioepiteliais.

No presente estudo, a ocorrência de vasos sanguíneos na região inguinal foi mais frequente próximo à epiderme do que em outras regiões, o que pode indicar uma atividade relacionada com o transporte de água (Felsemburgh *et al.*, 2009).

Em relação às características morfológicas, cada região do tegumento revelou distintos aspectos estruturais. Na região dorsal, a epiderme é formada por células organizados em camadas basal, intermediária e cornificada, com grande quantidade de espículas córneas. Estas espículas são caracterizadas por um aumento de camadas celulares realizadas por deposição de queratina (Figura 2) A região inguinal possui grande quantidade de vasos sanguíneos, ausência de espículas cornificadas e escassez de glândulas granulosas (Figura 3).

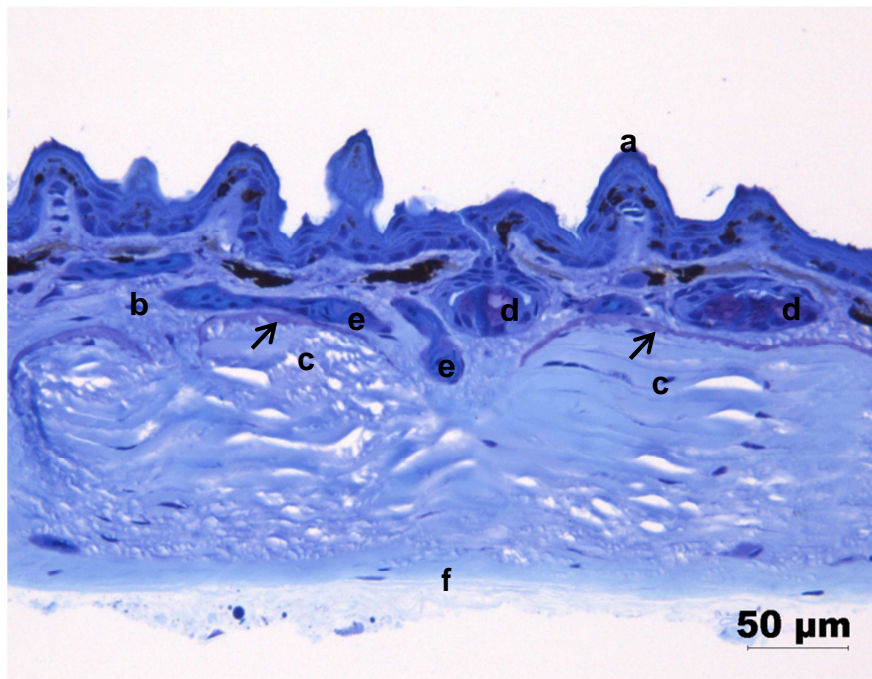


Figura 2: Corte histológico da região dorsal de espécime de *Rhinella ornata* da Cana de Açúcar. a)Espículas córneas, b)Estrato Esponjoso, c)Estrato Compacto com feixes de fibras colágenas, d)Glândulas mucosas, e)Vasos sanguíneos, f)Hipoderme, Seta)camada calcificada. Coloração: Azul de Toluidina-Fucsina.

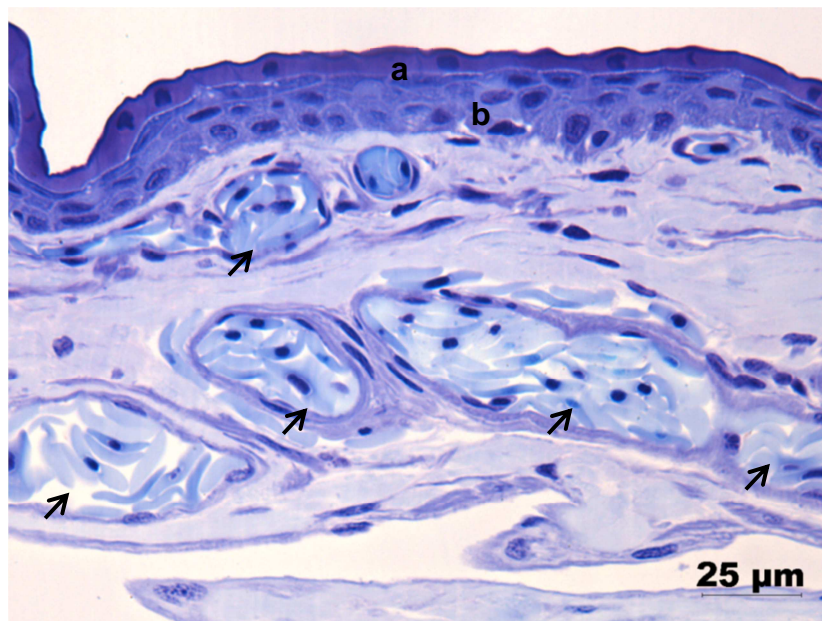


Figura 3: Corte histológico da região inguinal de espécime de *Rhinella ornata* da Cana de Açúcar. Note o alto grau de vascularização do tegumento. a) Estrato Córneo, b) Epitélio estratificado queratinizado (ambos formando a epiderme). Setas) Vasos sanguíneos com grande quantidade de eritrócitos. Coloração: Azul de Toluidina-Fucsina.

Já a região ventral possui superfície mais plana, apenas com algumas ligeiras elevações e sulcos irregulares (Figura 4). Com exceção da região inguinal, entre os estratos compacto e esponjoso houve a presença da camada calcificada, também conhecida por camada Eberth-Katschenko (EK) variando em espessura entre os diferentes animais, porém sem diferença significativa entre os ambientes (Tabela 1).

Os resultados da análise estatística demonstram diferenças significativas referentes à interação entre as paisagens Mata Fechada e Cana de Açúcar. Algumas estruturas do tegumento apresentaram maior espessura nos animais da Cana de Açúcar comparado os de Mata Fechada: epiderme e epiderme total (epiderme + estrato córneo) da região inguinal, estrato esponjoso da região ventral, estrato compacto, derme total e pele total das regiões dorsal e ventral (Tabela 1).

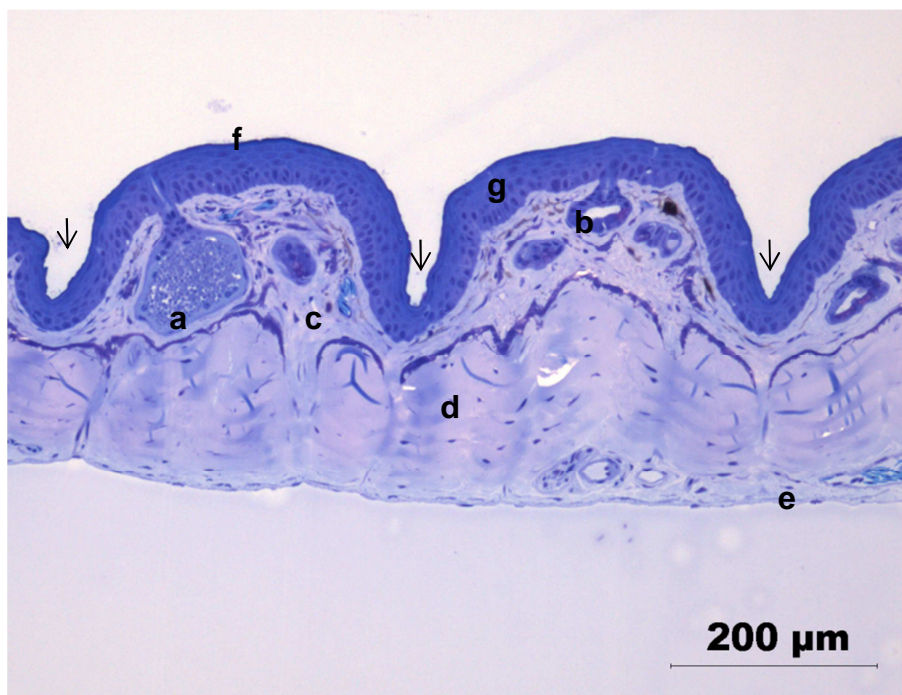


Figura 4: Corte histológico da pele ventral de espécime de *Rhinella ornata* da Mata Fechada. a) Glândula granulosa, b) Glândula mucosa, c) Estrato Esponjoso, d) Estrato Compacto, e) Hipoderme, f) Estrato Córneo, g) epitélio estratificado queratinizado, h) Camada Calcificada, Setas) Invaginações da epiderme. Coloração: Azul de Toluidina-Fucsina.

Tabela 1 – Resultados da morfometria da pele dos espécimes de *Rhinella ornata*. As espessuras de cada estrutura do tegumento estão expressas em micrômetros para os ambientes Mata Fechada e Cana de Açúcar.

	Mata Fechada			Cana de Açúcar			Valores de p Cana x Mata		
	Dorsal	Ventral	Inguinal	Dorsal	Ventral	Inguinal	Dorsal	Ventral	Inguinal
Estrato Córneo	2.90	3.29	4.795	3.28	3.40	4.65	0.402	0.813	0.742
Epiderme	14.09	27.96	24.09	17.81	34.56	37.14	0.385	0.157	0.025
Epiderme Total	16.99	31.26	28.88	21.10	37.95	41.79	0.343	0.149	0.023
Estrato Esponjoso	19.27	65.33	35.59	27.63	95.40	39.10	0.2	0.004	0.563
Camada Calcificada	7.41	5.12	0.00	8.25	5.06	0.00	0.61	0.972	-
Estrato Compacto	64.40	79.92	50.64	101.83	124.47	60.50	0.013	0.006	0.4
Derme Total	91.08	150.37	86.23	137.70	224.93	99.60	0.021	0.004	0.369
Pele Total	108.07	181.63	115.11	158.80	262.88	141.39	0.021	0.005	0.165

Os valores em negrito indicam as diferenças significativas segundo o Teste de Tukey ($p < 0.05$) para cada estrutura da pele e regiões do tegumento entre os diferentes ambientes.

De acordo com Azevedo *et al.* (2007) o estrato esponjoso é a camada da derme responsável pela reserva hídrica, o que neste caso favorece os animais da Cana de Açúcar que apresentaram o estrato esponjoso da região ventral mais espesso, proporcionando-os maior retenção e armazenamento de água. E a região inguinal, embora seja a maior responsável pela hidratação dos animais, já que é o local em que ocorre maior absorção de água, é também a região em que ocorre maior atrito com o solo. Como forma de proteção mecânica ao solo mais compacto e sem serapilheira no ambiente de Cana de Açúcar, estes animais podem ter desenvolvido uma epiderme mais espessa nesta região, sem, no entanto, atrapalhar a captação de água, uma vez que ela não é queratinizada (Felseburgh *et al.*, 2009).

A espessura total da pele dos animais provenientes do entorno Cana de Açúcar se revelou significativamente maior nas regiões dorsal e ventral comparada aos animais do entorno Mata Fechada. Estes resultados podem ser indicativos da plasticidade dos animais oriundos da Cana de Açúcar ao ambiente mais seco, ao passo que a região dorsal mais espessa regularia a perda d'água por evaporação e a ventral os protegeria mecanicamente do atrito com o solo desprovido de serapilheira.

Assim como ocorre em *Rhinella icterica* (Azevedo *et al.*, 2005), em *Rhinella ornata* a derme compacta não é uma camada contínua, mas é constituída de fibras colágenas dispostas em camadas alternadas. A derme

esponjosa é formada por tecido conjuntivo e aloja a porção secretora das glândulas exócrinas. Em todas as regiões analisadas, o Estrato Esponjoso evidenciou a presença de glândulas mucosas (Figura 5A) e granulosas (Figura 5B) ambas envolvidas por uma monocamada de células mioepiteliais. As glândulas mucosas estão geralmente associadas à manutenção da umidade e respiração cutânea, e as glândulas granulares, geralmente associadas à defesa química contra predadores e/ou infecção microbiana (Daly *et al.*, 2007; Jared *et al.*, 2009)

Dois tipos distintos de glândulas granulosas foram encontrados no tegumento de *Rhinella ornata*. A glândula do tipo I é mais comum, com conteúdo proteico (grânulos positivos ao Azul de Bromofenol - Figura 6). Já o segundo tipo é menos comum e maior que o primeiro. Ambas são glândulas granulosas sinciciais, porém os grânulos da glândula do tipo II não se coram ao Azul de Bromofenol (Figura 5) e ao Alcian Blue pH 2,5 (Figuras 7, 8 e 9)

Tais glândulas, aqui denominadas de tipo II, provavelmente se referem a outro tipo de glândula de veneno derivada do tipo mais comum. Produzem uma determinada quantidade de proteínas alojadas no sincício e provavelmente outros componentes que não foram identificados. Estas glândulas se assemelham às macro glândulas parotóides quanto a sua morfologia, com características apócrinas marcantes e também histoquímica, já que a maior parte das proteínas se encontra no sincício e não propriamente nos grânulos.

De acordo com Sciani *et al.* (2013), os teores de proteína não parecem ser um fator importante para a defesa dos bufonídeos, sugerindo que as proteínas podem não funcionar como toxinas, mas podem ser utilizadas basicamente como agentes homeostáticos. As substâncias tóxicas presentes nas macro glândulas parotóides que compõem o veneno dos sapos podem ser dividida basicamente em dois grupos: aminas biogênicas e derivados de esteroides. As aminas biogênicas incluem adrenalina e noradrenalina, bufoteninas, entre outros. Os derivados de esteroides incluem colesterol, ergosterol, bufotoxinas, bufodienolídeos, etc. (Sakate e Oliveira, 2000). Estas substâncias são importantes agentes de defesa química contra predadores (Maciel *et al.*, 2003; Sciani *et al.*, 2013).

As bufotoxinas em contato com a mucosa oral do predador, atinge a corrente sanguínea, provoca aumento da força de contração do coração (Sciani

et al., 2013), salivação intensa e excitação, paralisia, tremores, convulsões e, muitas vezes levando à morte (Sakate e Oliveira, 2000).

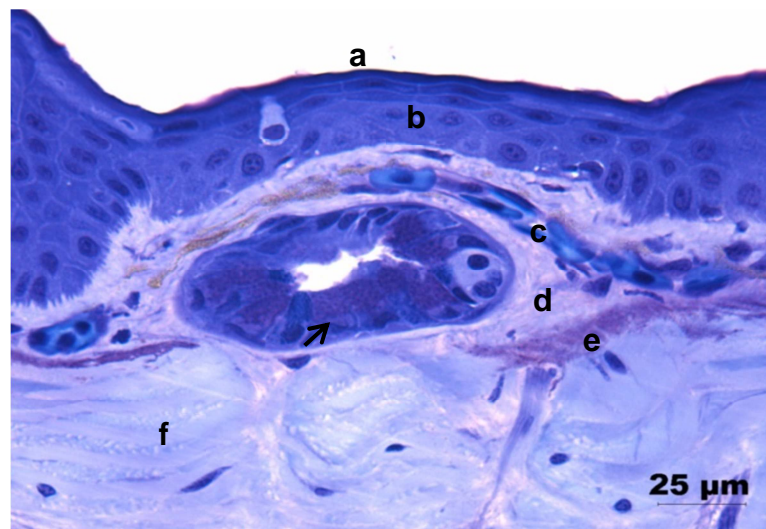


Figura 5A: Corte histológico da região ventral de espécime de *Rhinella ornata* da Mata Fechada, destacando a glândula mucosa com uma camada de células mioepiteliais (seta). a) Estrato Córneo, b) Epiderme, c) Vaso sanguíneo, d) Estrato Esponjoso, e) Camada Calcificada, f) Estrato Compacto com feixes de fibras colágenas. Coloração: Azul de Toluidina-Fucsina.

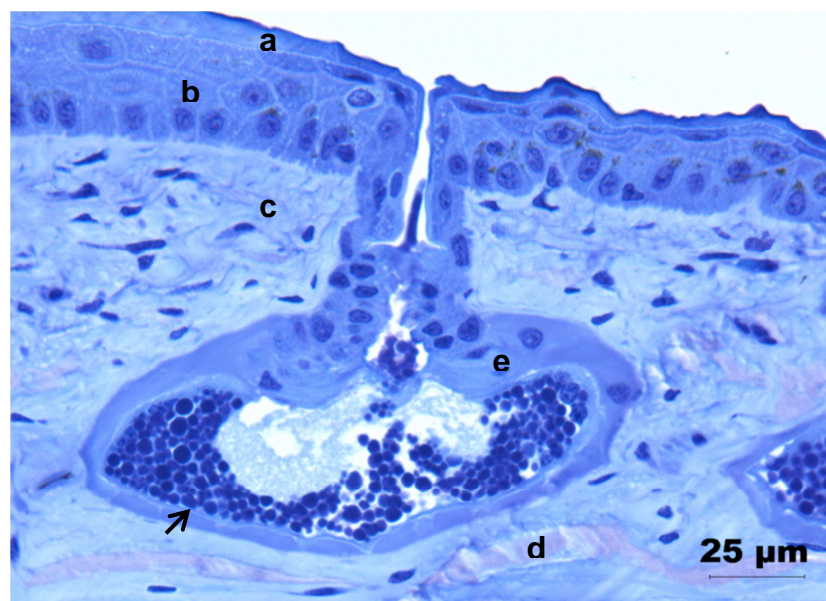


Figura 5B: Corte histológico da pele dorsal de espécime de *Rhinella ornata* da Cana de Açúcar, destacando a glândula granulosa (seta). a) Estrato Córneo, b) Epiderme, c) Estrato Esponjoso, d) Camada calcificada, e) Monocamada de células mioepiteliais. Coloração: Azul de Toluidina-Fucsina.

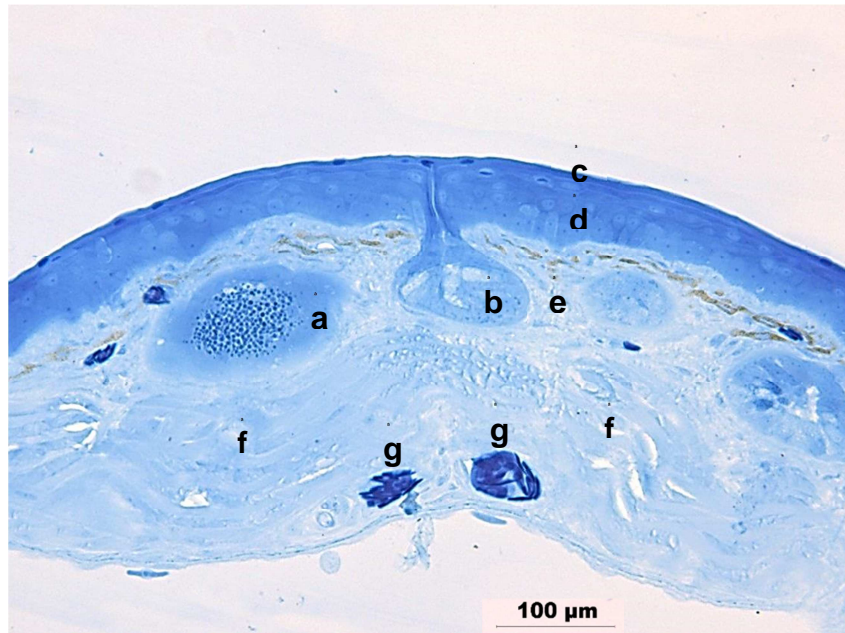


Figura 6: Corte histológico da pele ventral de espécime de *Rhinella ornata* da Cana de Açúcar. a) glândula granulosa tipo I positiva ao azul de bromofenol, b) Glândula granulosa tipo II negativa ao azul de bromofenol, c) Estrato Córneo pouco espesso, d) Epiderme, e) Estrato Esponjoso, f) Estrato Compacto com feixes de fibras colágenas, g) Vasos sanguíneos. Coloração: Azul de Bromofenol.

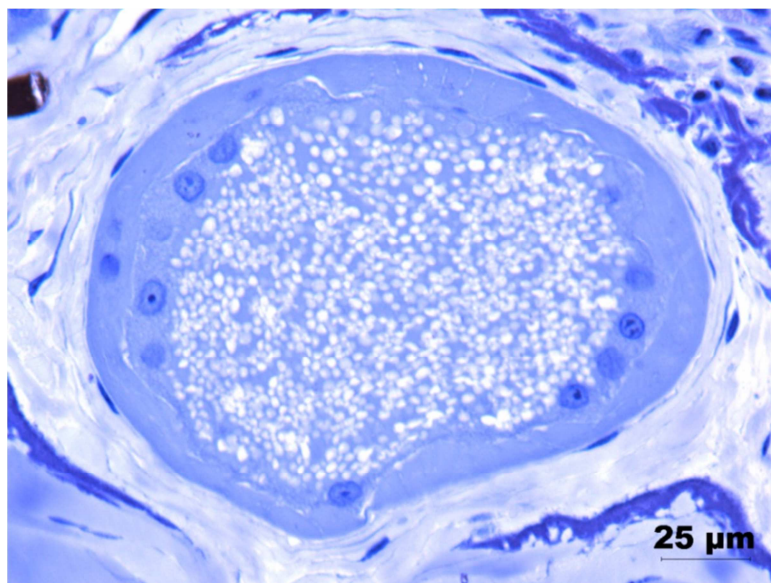


Figura 7: Corte histológico da região ventral de espécime de *Rhinella ornata* da Mata Fechada. Destacando a Glândula granulosa do tipo II. Coloração: Azul de Toluidina-Fucsina.

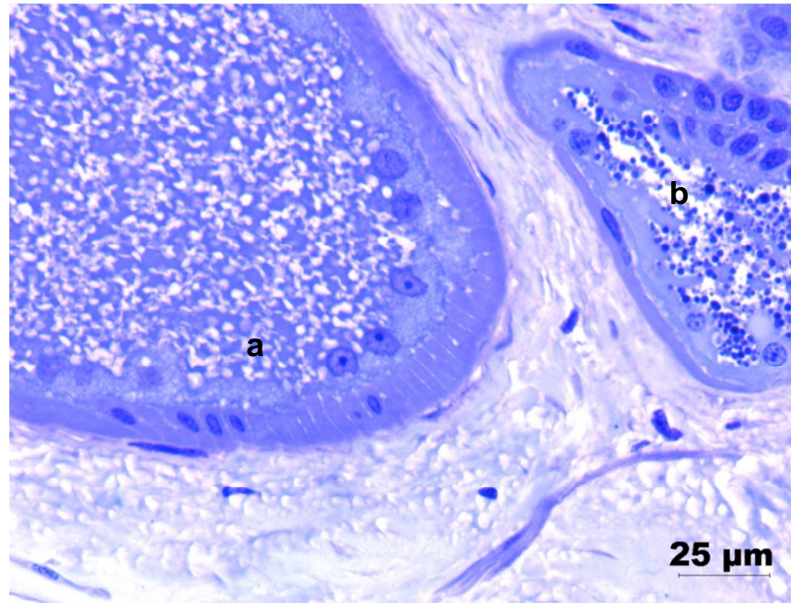


Figura 8: Corte histológico da região inguinal de espécime de *Rhinella ornata* da Mata Fechada. a) Glândula granulosa do tipo II, b) Glândula granulosa comum, típica dos Bufonídeos. Coloração: Azul de Toluidina-Fucsina.

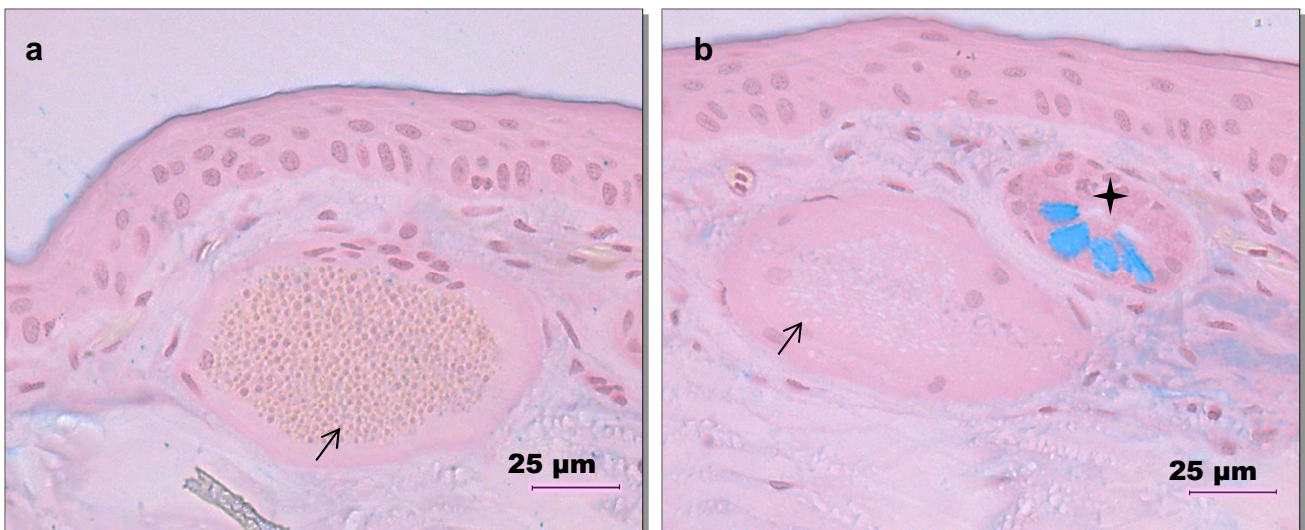


Figura 9: Corte histológico da região ventral de espécime de *Rhinella ornata* da Mata Fechada. a) Seta: Glândula granulosa comum, típica dos Bufonídeos, com grânulos negativos ao método Alcian Blue, b) Seta: Glândula granulosa (tipo II), grânulos negativos ao método Alcian Blue. Estrela: Glândula mucosa positiva ao método Alcian Blue. Coloração: Alcian Blue, Contra coloração: Hematoxilina de Harris.

Apesar de estatisticamente significativa, as diferenças apresentadas demonstram modificações mecânicas dos animais quanto ao tipo de ambiente, sem indicações de haja diferença na capacidade de sobrevivência destes nos diferentes habitats. Porém, vale ressaltar a importância dos estudos morfológicos dos tegumentos de anuros, fornecendo parâmetros de comparação entre os diferentes grupos para classificação sistemática, além de contribuir para os futuros estudos sobre o estilo de vida dos animais e suas adaptações regionais.

Agradecimentos

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro ao projeto (2010/52069-6) e pela bolsa de Mestrado (2011/03047-2); ao Instituto Butantan pelo auxílio técnico nos nomes do Dr. Carlos Jared, Dra. Marta Maria Antoniazzi e MSc. Pedro Mailho Fontana; ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pela licença de coleta e transporte concedida e a todos os amigos que contribuíram para a realização deste trabalho.

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, P. G.; FELSEMBURGH, F. A.; AZEVEDO, R. A. & DE BRITO-GITIRANA, L. 2007 Morphological re-evaluation of the parotoid glands of *Bufo ictericus* (Amphibia, Anura, Bufonidae). *Contributions to Zoology*, Amsterdam, 76(3): 145-152.
- AZEVEDO, R.A.; SANTANA, A. S. J.; BRITO-GITIRANA, L. 2005 Dermal collagen organization in *Bufo ictericus* and in *Rana catesbeiana* integument (Anuran, Amphibian) under the evaluation of laser confocal microscopy. *Micron*, Oxford, 36: 61-65.
- AZEVEDO, R.A.; CARVALHO, H.F.; BRITO-GITIRANA, L. 2007 Hyaluronan in the epidermal and the dermal extracellular matrix: its role in cutaneous hydric balance and integrity of anuran integument. *Micron*, Oxford, 38(6): 607–610.
- BLAUSTEIN, A.R. e BELDEN, L.K. 2003 Amphibian defenses against ultraviolet-B radiation. *Evolution & Development*, Malden, 5(1): 89–97.

- BRITO-GITIRANA, L. e AZEVEDO, R. A. 2005. Morphology of *Bufo ictericus* integument. *Micron*, Oxford, 36(6): 532-538.
- CECHIN, S.M. e MARTINS, M. 2000 Eficiência de armadilhas de queda (pitfall traps) em amostragens de anfíbios e répteis no Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, São Paulo, 17:729-740.
- CORN, P.S. 1994 Standard techniques for inventory and monitoring - Straight-line drift fences and pitfall traps. In: Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for amphibians (HEYER, W.R.; DONNELLY, M.A.; MCDIARMID, R.W.; HAYEK, L.C.; FOSTER, M.S., editors.). Smithsonian Institution Press, Washington, p.118-124.
- DALY, J.W.; WILHAM, J.M.; SPANDE, T.F.; GARRAFFO, H.M.; GIL, R.R.; SILVA, G.L.; VAIRA, M. 2007 Alkaloids in Bufonid Toads (Melanophryniscus): Temporal and Geographic Determinants for two Argentinian species. *Journal of Chemical Ecology*, New York, 33:871-887
- DUELLMAN, W.E. E TRUEB, L. 1994 Biology of Amphibians. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, p.670.
- FELSEMBURGH, F. A.; CARVALHO-e-SILVA, S. P.; BRITO-GITIRANA, L. 2007 Morphological characterization of the anuran integument of the *Proceratophrys* and *Odontophrynus* genera (Amphibia, Anuran, Leptodactylidae). *Micron*, Oxford, 38(5): 439-445.
- FELSEMBURGH, F.A. e BRITO-GITIRANA, L. de 2008 Avaliação Morfológica Do Tegumento de Fêmeas de *Proceratophrys boiei*, *Espaço e Geografia*, Universidade de Brasília, 11(1): 59-72
- FELSEMBURGH, F.A.; ALMEIDA, P.G.; CARVALHO-E-SILVA, S.P, BRITO-GITIRANA, L. de 2009 Microscopical methods promote the understanding of the integument biology of *Rhinella ornata* . *Micron*, Oxford, 40:198–205.
- JARED,C.; ANTONIAZZI, M.M.; JORDÃO, A.E.C.; SILVA, J.R.M.C.; GREVEN, H.; RODRIGUES, M.T. 2009 Parotoid macro glands in toad (*Rhinella jimí*): Their structure and functioning in passive defense. *Toxicon*, Oxford, 54:197–207.
- KÖNIG, E. e BININDA-EMONDS, O.R.P. 2011 Evidence for convergent evolution in the antimicrobial peptide system in anuran amphibians. *Peptides*, New York, 32: 20–25.

- PRATES, I.; ANTONIAZZI, M.M.; SCIANI, J.M.; PIMENTA, D.C.; TOLEDO, L.F.; HADDAD, C.F.B.; JARED, C. 2011 Skin Glands, Poison and Mimicry in Dendrobatid and Leptodactylid Amphibians. *Journal of Morphology*, New York, 000:000–000.
- ROLLINS-SMITH L.A.; REINERT, L.K.; O'LEARY, C.J.; HOUSTON, L.E.; WOODHAMS, D.C. 2005 Antimicrobial Peptide Defenses in Amphibian Skin. *Integrative and Comparative Biology*, McLean, 45:137–142 .
- SAKATE, M. e LUCAS de OLIVEIRA, P.C. 2000 Toad envenoming in dogs: effects and treatment, *The Journal of Venomous and Animal Toxins*, Botucatu, 6: 1–9.
- SCHWARTZ, C.A.; CASTRO, M.S.; PIRES Jr, O.R.; MACIEL, N.M.; SCHWARTZ, E.N.F.; SEBBEN, A. 2007 Princípios ativos da pele de anfíbios: Panorama atual e perspectivas. In: Nascimento L.B.; Oliveira, M.E., editors. *Herpetologia no Brasil II*. Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Herpetologia. p. 146–168.
- SCIANI, J.M.; ANGELI, C.B.; ANTONIAZZI, M.M.; JARED, C.; PIMENTA, D.C. 2013 Differences and Similarities among Parotoid Macro gland Secretions in South American Toads: A Preliminary Biochemical Delineation. *The Scientific World Journal*, Nasr, 2013:1-10.
- SULLIVAN, P.A.; HOFF, K.V.S.; HILLYARD, S.D. 2000 Effects of anion substitution on hydration behavior and water uptake of the red-spotted toad, *Bufo punctatus*: is there an anion paradox in amphibian skin? *Chemical Senses*, Oxford, 25: 167–172.
- TITON JR, B. e GOMES, F.R. 2012 Water balance and geographical distribution of amphibians. *Revista da Biologia*, São Paulo, 8:49-57.
- TOLEDO, R. C. e JARED, C. 1993 Cutaneous adaptations to water balance in amphibians. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Londres, 105A: 593-608.
- TOLEDO R.C. e JARED C. 1995 Cutaneous granular glands and amphibian venoms. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Londres, 111A (1): 1–29.

Considerações finais

No capítulo 1 deste trabalho pudemos observar diferenças quanto à composição de espécies nos diferentes entornos: Mata Fechada, Mata Aberta e Cana de Açúcar. A vegetação ripária constituída pelo plantio da cana demonstrou limitar a distribuição de algumas espécies, como por exemplo, os Hilídeos e outras associadas à serapilheira, como a espécie *Haddadus binotatus*. Nestes locais houve intensa colonização por espécies generalistas, de áreas abertas e resistentes à pressão antrópica, como *Physalaemus centralis* e *Physalaemus cuvieri*. Entretanto, outros fatores estão contribuindo para a fragmentação do habitat além da expansão agrícola, como as pastagens e a intensa urbanização, fato este que acarreta a diminuição na riqueza de espécies como um todo.

Já no capítulo 2, as análises morfológicas realizadas em diversas regiões do tegumento dos espécimes de *Rhinella ornata* (Dorsal, Ventral e Inguinal) revelaram diferenças significativas entre as paisagens Mata Fechada e Cana de Açúcar, referentes à espessura de algumas estruturas: a região inguinal apresentou maiores valores da epiderme e epiderme total (camada córnea + epiderme) nos animais da Cana de Açúcar. Também o Estrato Esponjoso da região ventral, Estrato Compacto, derme total e pele total, foram mais espessas nas regiões dorsal e ventral dos animais da cana. Embora significativas, as diferenças demonstram modificações mecânicas dos animais quanto ao tipo de ambiente, principalmente em relação ao atrito do solo seco e livre de serapilheira no ambiente agrícola com o corpo dos animais. No entanto, não há indicações de haja diferença na capacidade de sobrevivência destes nos diferentes habitats.

A melhoria da prática agrícola e outras atividades humanas são questões importantes a serem consideradas, a fim de contribuir com a integridade das zonas ripárias e a manutenção de uma comunidade de anuros diversificada.

Algumas estratégias para alcançar este objetivo seriam proteger os ecossistemas ripários dentro dos termos da Lei através do Código Florestal Brasileiro (Art. 4º, inciso I, lei nº 12.651, de 25 de maio de 2012) que considera estas regiões como Áreas de Proteção Permanente (APP). Outras medidas

seriam a criação de corredores ecológicos a fim de minimizar os efeitos da fragmentação, garantindo a dispersão dos animais e a manutenção do fluxo gênico entre as espécies e remoção e mitigação dos distúrbios antrópicos já instalados, a fim de permitir a recuperação de forma natural e gradual das zonas ripárias através de projetos de silvicultura.