

CNPq – COGEC/Coordenação do Programa de Pesquisa em Gestão de Ecossistemas

Edital MCT/CNPq/MEC/CAPES/FNDCT – Ação Transversal/FAPs Nº 47/2010 – Sistema Nacional de Pesquisa em Biodiversidade - SISBIOTA BRASIL

Pesquisa em Redes Temáticas para Ampliação do Conhecimento sobre a Biota, o Papel Funcional, Uso e Conservação da Biodiversidade Brasileira

Rede de Pesquisa
DIVERSIDADE DE ANFÍBIOS E RÉPTEIS, E HELMINTOS PARASITAS ASSOCIADOS,
NA REGIÃO AMAZÔNICA

I. Objetivos da Rede de Pesquisa:

A rede de pesquisa ora proposta tem como um de seus objetivos fortalecer os grupos de pesquisa de anfíbios e répteis das instituições que compõem o PPBIO Amazônia Oriental, através de uma maior integração entre as instituições e o desenvolvimento de projetos conjuntos. Essa foi uma das principais metas do PPBIO desde seu início (com relação à fauna e flora em geral), mas que ainda pouco se concretizou porque até o momento as atividades ficaram voltadas principalmente para a organização dos núcleos e estruturação das parcelas de estudo em cada núcleo. Por outro lado, o PPBIO abrange muitos protocolos e não dispõe de verba suficiente para uma real integração das diversas equipes de cada protocolo. Assim, através do SISBIOTA esperamos efetivamente permitir a integração entre os grupos voltados ao estudo de anfíbios e répteis nas várias instituições e, a partir daí, darmos um salto qualitativo no estudo desses animais.

Anfíbios e répteis representam importantes componentes do bioma Amazônia, incluindo espécies fossoriais, terrestres, arborícolas, sub-aquáticas e aquáticas, algumas podendo ser bastante abundantes, constituindo um importante componente da cadeia alimentar. Os anfíbios, em especial, apresentam ainda muitos problemas taxonômicos, com várias espécies nominais reconhecidamente representando complexos de espécies (Ávila-Pires et al., 2007), o que constitui um grave problema para a elaboração de políticas públicas visando sua proteção. Ao mesmo tempo, grande parte das espécies são sensíveis a perturbações ambientais e a constatação do desaparecimento ou declínio de populações de diversas espécies em várias partes do mundo, mesmo em locais preservados, levou à formação de grupos de estudo e à publicação de diversos artigos a respeito (p.ex., Blaustein & Wake, 1990; Collins & Storer, 2003). Na Amazônia até o momento não se constatou o declínio de populações de anfíbios,

supondo-se que não tenham ocorrido, mas de fato os dados que temos a respeito do grupo dificilmente seriam suficientes para constatar o declínio de populações na região. Comparativamente, os répteis são mais bem conhecidos, porém ainda é comum a descoberta de novas espécies (p.ex., Hoogmoed et al., 2009; Miralles & Carranza, 2010). Isso faz do grupo, especialmente os lagartos (por serem, em geral, mais facilmente observados), bons objetos para estudos ecológicos e biogeográficos, importantes para auxiliar-nos a entender a região, o que levou à formação de sua rica biodiversidade, e como melhor protegê-la.

Se a biodiversidade amazônica, em geral, é mal conhecida, o conhecimento sobre animais parasitas é ainda menor. Assim, nos propomos também aqui iniciar uma parceria com pesquisadores de helmintos parasitas de répteis, aproveitando de forma ainda mais eficiente os animais que serão coletados. Nesse momento o estudo dos helmintos será principalmente taxonômico, mas envolvendo também estudos moleculares e, se a colaboração que aqui se inicia for bem sucedida poderíamos iniciar estudos de co-evolução, uma área de grande interesse científico.

A combinação de estudos de longa duração em parcelas permanentes, permitindo um inventário o mais completo possível da fauna e seu acompanhamento ao longo do tempo, e levantamentos faunísticos em diversos locais complementares, não tão completos porém possibilitando o estudo de um maior número de localidades e, assim, um maior conhecimento da diversidade beta, constitui o desenho mais eficaz para aumentarmos nosso conhecimento sobre a Amazônia, em especial sobre os anfíbios e répteis. Dentro desse contexto e considerando a grande deficiência no número de pesquisadores na região e a importância de fortalecermos as equipes existentes, a fim de melhorarmos a qualidade das pesquisas, delimitamos os objetivos abaixo.

Objetivo 1 – Articular instituições e pesquisadores para ampliar recursos e complementar as pesquisas em biodiversidade de anfíbios e répteis, agregando atividades aos projetos de Rede de Pesquisa em Biodiversidade da Amazônia Oriental – PPBio (MCT/CNPq 558313/2009-4) e demais projetos associados de Núcleos Regionais.

Metas relativas ao objetivo 1:

- Incrementar o conhecimento da herpetofauna em 5 áreas contempladas no PPBio, atendendo aos respectivos objetivos da rede;
- Realizar 4 novas expedições na região, em locais pouco amostrados para a herpetofauna;
- Promover o intercâmbio entre os pesquisadores, a fim de qualificar o conhecimento nas diferentes instituições.

Objetivo 2 – Promover a formação e a qualificação de recursos humanos através do apoio a projetos de graduação e pós-graduação em sistemática e ecologia desenvolvidos no âmbito das regiões a serem estudadas pelo presente projeto.

Metas relativas ao objetivo 2

- Apoiar 5 projetos de conclusão de curso de graduação em sistemática ou ecologia de anfíbios ou répteis;
- Apoiar 5 projetos de Mestrado em sistemática ou ecologia de anfíbios ou répteis;
- Apoiar 3 projetos de Doutorado em sistemática ou ecologia de anfíbios ou répteis.

Objetivo 3 – Ampliar o conhecimento taxonômico e ecológico da Amazônia Brasileira, promovendo inventários estruturados de anfíbios e répteis em áreas de especial interesse taxonômico, biogeográfico e conservacionista na região, incluindo a coleta de amostras de tecidos para estudos filogenéticos e filogeográficos.

Metas relativas ao objetivo 3

- Realizar 4 expedições de 25 dias de duração cada, como parte de um inventário multi-taxonômico de áreas de especial interesse científico;
- Produzir material bibliográfico e de divulgação a partir dos dados obtidos nas expedições propostas.

Objetivo 4 – Realizar projetos de pesquisa de longa duração e obter dados comparativos, através da aplicação e aprimoramento dos protocolos de inventário de anfíbios e répteis nas parcelas do PPBio Amazônia Oriental, utilizando a infra-estrutura disponível nessas áreas.

Metas relativas ao objetivo 4

- Contribuir com a manutenção da infra-estrutura do PPBio;
- Aprimorar o conhecimento sobre a fauna de anfíbios e répteis da Amazônia, incluindo aspectos populacionais, de interações ecológicas e variação geográfica, a partir da aplicação dos protocolos estruturados de amostragem nas diversas parcelas do PPBio Amazônia Oriental e outros estudos comparativos entre essas áreas;

- Realizar expedições anuais a cada uma das parcelas do PPBio Amazônia Oriental;

Objetivo 5 – Integrar pesquisadores que trabalham com répteis e com helmintos parasitas desses animais, de forma a aproveitar de forma mais eficaz o material coletado, fortalecer ambos grupos de pesquisa e ampliar o conhecimento sobre esse importante grupo de parasitas.

Metas relativas ao objetivo 5

- Buscar helmintos parasitas de répteis nos indivíduos coletados nas expedições previstas;
- Identificar as espécies dos helmintos encontrados e caracteriza-los morfologicamente;
- Formar um estudante de graduação, dois estudantes de mestrado e um de doutorado nessa área;
- Publicar os resultados em dois ou mais artigos científicos.
- Iniciar a criação de uma coleção helmintológica com os espécimes coletados.

Objetivo 6 – Garantir a integração do Projeto SISBIOTA com a Rede PPBio – Amazônia Oriental e com os demais projetos associados, através da disponibilização de dados nas plataformas de integração do PPBio e da participação em reuniões de planejamento, trabalho, coordenação e comunicação de resultados.

Metas relativas ao objetivo 6

- Garantir a participação de integrantes do Projeto em 100% das reuniões promovidas pela coordenação da Rede;
- Disponibilizar 100% da informação gerada nos inventários RAP e RAPELD promovidos pelos núcleos no banco de dados de inventário da Rede;
- Disponibilizar dados das coleções científicas herpetológicas à Rede, através da Plataforma Specify e dos catálogos online de Zoologia;

II. PARCERIAS

Fazem parte da rede equipes da Universidade Federal do Pará, Universidade Federal Rural da Amazônia, Universidade Federal do Mato Grosso, Universidade Estadual do Mato Grosso,

Universidade do Oeste Paraense, Universidade Federal do Rio Grande do Norte e Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá.

III. PROJETOS

1. A DIVERSIDADE DE ANFÍBIOS E RÉPTEIS NO PARÁ: PREENCHENDO AS LACUNAS DE CONHECIMENTO
2. APROFUNDANDO O CONHECIMENTO SOBRE A HERPETOFAUNA: INFLUÊNCIA DOS FATORES AMBIENTAIS NA DIVERSIDADE DE ANFÍBIOS E RÉPTEIS DA FLORESTA NACIONAL DE CAXIUANÃ, PA
3. APROFUNDANDO O CONHECIMENTO SOBRE A HERPETOFAUNA: DIVERSIDADE, ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE DUAS TAXOCENOSSES DE SERPENTES NA AMAZÔNIA PARAENSE E MARANHENSE
4. DIVERSIDADE DE ANFÍBIOS E RÉPTEIS NA FLORESTA NACIONAL DO AMAPÁ
5. DIVERSIDADE DE ANFÍBIOS E RÉPTEIS NA AMAZÔNIA MERIDIONAL
6. DIVERSIDADE DE HELMINTOS PARASITOS DE ANFÍBIOS E RÉPTEIS NA AMAZÔNIA ORIENTAL
7. INTEGRAÇÃO DOS RESULTADOS

III.1 Projeto de Pesquisa:

A DIVERSIDADE DE ANFÍBIOS E RÉPTEIS NO PARÁ: PREENCHENDO AS LACUNAS DE CONHECIMENTO

II.1.1 Nome do coordenador do projeto de pesquisa e dos demais participantes da equipe, descrevendo, para cada um deles, as atividades no projeto:

Integrante	Função	Atividades	Dedicação em horas/Mês
Teresa Cristina Sauer de Avila Pires (MPEG)	Pesquisadora e coordenadora	Coordenação do projeto e responsável pelo estudo de lagartos e anfisbenas	15
Marinus S. Hoogmoed (MPEG)	Pesquisador	Estudo de répteis e anfíbios	10
Ana Lúcia da Costa Prudente (MPEG)	Pesquisadora	Estudo das serpentes	10

Obs.: Além dos pesquisadores mencionados, o projeto envolverá também estudantes de graduação, mestrado e doutorado vinculados ao setor de Herpetologia do MPEG.

III.1.2 Objetivos e metas a serem alcançados:

- Realizar expedições a quatro áreas pouco amostradas do estado do Pará, a fim de complementar o conhecimento sobre a fauna de anfíbios e répteis;
- Identificar todo o material herpetológico coletado;
- Descrever novas espécies, quando houver;
- Coletar helmintos parasitas encontrados nos anfíbios e répteis;
- Coletar tecidos para futuros estudos moleculares;

III.1.3 Metodologia a ser empregada:

Planeja-se realizar quatro expedições (uma por ano), como parte de um inventário multi-taxonômico de áreas de especial interesse científico. As áreas selecionadas compreendem a Terra do Meio, na região de Altamira; a Serra das Andorinhas, em São Geraldo do Araguaia; a Serra dos Carajás, em Parauapebas; e uma área na Calha Norte paraense, possivelmente na Terra Indígena Tumucumaque (a depender de autorização da Funai, com anuência da população indígena, e da obtenção de apoio logístico para se chegar à área).

A amostragem da herpetofauna será realizada por quatro pessoas, durante 20 dias efetivos de coleta, de forma a manter a possibilidade de comparação dos dados gerados com aqueles produzidos nas parcelas permanentes do PPBio. Os estudos serão conduzidos tendo como base o protocolo de coleta do PPBio, seguindo o desenho de pontos (parcelas de 250m de comprimento) e utilizando os dois métodos principais do protocolo – Procura Limitada por Tempo (PLT) e Armadilhas de Intercepção e Queda (AIQ):

1) Procura limitada por tempo (Greenberg *et al.* 1994; Ribeiro Jr. *et al.*, 2008): procura ativa, computando-se o tempo dispendido, realizada nos períodos diurno e noturno, ao longo dos transectos e ambientes contíguos considerados propícios para répteis e/ou anfíbios (unidade amostral = horas.homem). A PLT é importante para uma amostragem geral da herpetofauna, tanto em termos de cobertura taxonômica (armadilhas em geral são adequadas apenas a alguns grupos), como de cobertura dos diferentes ambientes. Por outro lado, é um método que exige pessoas treinadas e, mesmo com coletores experientes, é sujeita ao viés do coletor, o que traz dificuldades na comparação entre áreas ou estudos por esse método.

2) Armadilhas de intercepção e queda (Jones, 1981; Gibbons & Semlitsch, 1981a; Corn, 1994; Cechin & Martins 2000; Ribeiro Jr. *et al.*, 2008): cada armadilha será composta por 4 baldes de 60L enterrados ao rés do chão e dispostos em linha, separados entre si por 8 m de lona plástica. Buscar-se-á utilizar um total de 20 armadilhas, com distância mínima de 150m entre elas, amostrando tantos ambientes quanto possível. As armadilhas serão verificadas diariamente (uma vez por dia) durante o período de amostragem; todos os indivíduos capturados serão coletados. Coletas por AIQ têm a vantagem de serem independentes de coletor e amostrarem algumas

espécies que raramente são capturadas em coleta ativa. Por outro lado, a armadilha se direciona a animais da serapilheira, ainda que capture algumas espécies arborícolas que eventualmente vêm ao solo; nem todos os grupos são capturados; e nem sempre é possível instalá-las. Ambientes alagados ou rochosos, ou muito distantes do acampamento-base de cada expedição, não podem ser amostrados por esse método, tendo em vista a impossibilidade de instalação dos baldes no primeiro caso, e a inviabilidade de se vistoriar diariamente as armadilhas em locais muito distantes.

Exemplares encontrados ocasionalmente pela equipe de trabalho ou por terceiros na área de estudo serão considerados como encontros ocasionais.

Para cada exemplar observado e/ou capturado pela equipe ou por terceiros serão anotados os seguintes dados (quando aplicável): identificação, local, coordenadas geográficas tão próximo quanto possível do local de coleta, hábitat, microhábitat, dia, hora e nome dos coletores. No caso de animais coletados, serão obtidas as medidas morfométricas padrão para cada grupo (com régua milimetrada ou paquímetro) e, quando possível, verificado o sexo. Quando pertinente serão feitas anotações sobre a coloração e fotos do animal em vida. Serão também obtidas amostra de tecido para estudos moleculares e verificada a presença de helmintos parasitas de até dez exemplares por espécie.

Os espécimes coletados serão sacrificados com uma dosagem letal de anestésico, fixados em solução de formol a 4% (1 parte de formol comercial 37% e 9 partes de água) por no máximo 24 horas, etiquetados com número de campo e preservados em solução de álcool 70%, exceto por girinos, fixados e preservados em formol 4% (Franco *et al.*, 2002). As amostras de tecidos coletadas serão fixadas em álcool absoluto. Todo o material, exceto os helmintos, será depositado na Coleção Herpetológica do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG). Os helmintos serão depositados no Laboratório de Biologia Celular e Helmintologia Reinalda Marisa Lanfredi, sediado no Instituto de Ciências Biológicas da UFPA, para os estudos previstos no projeto 6 da Rede. Os anfíbios e répteis serão identificados com base no conhecimento e experiência dos pesquisadores e, quando necessário, com o auxílio da bibliografia especializada e por comparação com exemplares depositados em coleção.

Para cada expedição serão construídas curvas de rarefação para anfíbios e répteis separadamente, com o auxílio do programa EstimateS versão 7.5 (Colwell, 2005), tendo como base os registros por PLT e AIQ, considerando-se como amostra o dia de coleta (ou seja, as curvas representarão o número cumulativo de indivíduos coletados por dia versus o número cumulativo de espécies registradas). Embora tais curvas reflitam apenas os ambientes específicos e as condições momentâneas de coleta, não deixam de dar uma noção sobre a adequação do esforço de captura. Ademais, a relação das espécies registradas será comparada com uma relação das espécies esperadas para a área.

III.1.4 Descrição de como o projeto de pesquisa está inserido no Plano de Integração da Rede, ou seja, a integração com os outros projetos de pesquisa para atingir os objetivos da Rede:

O projeto está relacionado ao objetivo 1 da rede, de diminuir as lacunas no conhecimento da fauna de anfíbios e répteis da Amazônia. É uma abordagem complementar ao estudo de parcelas permanentes, neste caso permitindo o estudo de longo prazo da fauna, onde se consegue inventariar todas, ou a grande maioria das espécies que vivem na área, assim como obter maior número de dados ecológicos. Tais estudos exigem muito tempo e é impossível, a curto e médio prazo, ter toda a Amazônia conhecida a esse nível. As expedições aqui propostas, ainda que menos completas, permitem uma cobertura geográfica maior, em menor tempo. Os dois enfoques, portanto, são complementares, ambos igualmente importantes. O material coletado nessas expedições, incluindo exemplares, tecidos e helmintos parasitas, contribuirão diretamente com o estudo sobre helmintos (projeto 6) e a análise integrando todos os dados (projeto 7). Das expedições participarão bolsistas ou alunos da pós-graduação, constituindo importante aprendizado prático em sua formação.

III.1.5 Disponibilidade efetiva de infra-estrutura e de apoio técnico para o desenvolvimento do projeto:

O MPEG tem experiência e tradição na organização de expedições científicas. Cada uma das localidades indicadas para trabalho-de-campo necessitará de uma infra-estrutura específica, a qual será organizada para o estudo simultâneo de vários grupos taxonômicos. Para estudo do material, o campus de Pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) conta com o Laboratório de Herpetologia, a Coleção de Herpetológica, biblioteca especializada no setor de Herpetologia, biblioteca central, sala de informática, sala de aula e laboratórios multidisciplinares (Lab. genética molecular, Lab. microscopia de varredura, Lab. Geoprocessamento e de Modelagem). O Laboratório de Herpetologia do MPEG conta com infra-estrutura física e tecnológica adequada para o estudo e preservação do material biológico que vier a ser coletado, como: mobiliário, computadores, notebooks, impressoras (laser e jato de tinta), scanner, estereomicroscópios equipados com câmara clara e máquina digital, bibliografia especializada, entre outros. Associado ao laboratório está presente um dos maiores acervos científicos de répteis e anfíbios do Brasil e o principal da região Amazônica. Este acervo conta atualmente com mais de 80 mil exemplares, principalmente da região Amazônica.

III.1.6 Outras considerações:

Os dados obtidos serão também muito úteis ao projeto “Eficiência do Sistema de Unidades de Conservação da Amazônia Brasileira para a Preservação da Fauna de Lagartos (Reptilia: Squamata)”, da Rede GEOMA (Edital MCT/CNPq/CT-INFRA/GEOMA Nº 61/2009).

III.2 Projeto de Pesquisa:

APROFUNDANDO O CONHECIMENTO SOBRE A HERPETOFAUNA: INFLUÊNCIA DOS FATORES AMBIENTAIS NA DIVERSIDADE DE ANFÍBIOS E RÉPTEIS DA FLORESTA NACIONAL DE CAXIUANÃ, PA

III.3.1 Nome do coordenador do projeto de pesquisa e dos demais participantes da equipe, descrevendo, para cada um deles, as atividades no projeto:

Integrante	Função	Atividades	Dedicação em horas/Mês
Maria Cristina dos Santos Costa (UFPA)	Coordenadora e Pesquisadora	Coordenação dos estudos, planejamento e análise dos resultados	15
Teresa Cristina Sauer de Avila Pires (MPEG)	Pesquisadora Colaboradora	Auxílio no planejamento e análises	8
Marinus Steven Hoogmoed (MPEG)	Pesquisador Colaborador	Auxílio na identificação dos anfíbios	4
Jerriane Oliveira Gomes (MPEG)	Pesquisador Colaborador	Coleta e análise de dados	10

Obs.: Além dos pesquisadores mencionados, o projeto envolverá também estudantes de mestrado e eventualmente de graduação, vinculados à UFPA ou ao setor de Herpetologia do MPEG.

III.2.2 Objetivos e metas a serem alcançados:

O projeto visa realizar estudos ecológicos sobre os anfíbios e répteis na Floresta Nacional de Caxiuanã, contribuindo para entendermos quais os parâmetros ambientais que exercem maior influência na ocorrência de espécies desses dois grupos. A FLONA de Caxiuanã abriga tanto uma parcela do PPBIO como a Estação Científica Ferreina Penna, do MPEG, e foi recentemente também reconhecida como um sítio PELD. Diversos estudos já foram realizados na área, o que o torna um excelente local para se aprofundar estudos ecológicos. Sua infra-estrutura facilita também o desenvolvimento de dissertações de mestrado e outros estudos. Ademais, os dados obtidos no projeto poderão auxiliar na definição do zoneamento da FLONA, assim como serão úteis no monitoramento da área, quando de sua exploração econômica.

Um primeiro estudo buscando entender a distribuição espacial de anuros e lagartos da serapilheira na parcela do PPBIO em Caxiuanã foi realizado como dissertação de mestrado por Jerriane Oliveira Gomes (2008). O estudo, contudo, restringiu-se ao período seco, sendo importante compará-lo com o que ocorre no período chuvoso e realizar algumas réplicas em anos distintos. Além de estudos abrangendo a fauna geral de um ambiente, estudos enfocando uma única espécie ou comparando espécies próximas e simpátricas podem também ajudar a elucidar o que determina a distribuição desses animais. No caso dos anfíbios, a existência de corpos d'água é um fator determinante para muitas espécies, assim como as

características desses corpos d'água. Répteis sofrem menos influência a esse respeito, mas algumas espécies ocorrem predominantemente próximo a áreas alagadas. A existência de clareiras naturais também influencia a composição das espécies presentes em determinado local. Ainda que, em termos gerais, se conheçam as preferências ambientais de várias espécies, faltam estudos que nos permitam compreender melhor como esses animais se distribuem espacialmente e como interagem com o meio e com as demais espécies da mesma comunidade.

Objetivo 1 – Compreender a distribuição espacial dos anuros e dos lagartos de serapilheira na FLONA de Caxiuanã.

Objetivo 2 – Realizar estudos enfocando uma espécie ou espécies próximas, visando definir os ambientes onde vivem e os parâmetros ambientais mais importantes na definição de sua área de ocorrência.

Metas relativas aos dois objetivos:

- Realizar seis expedições à área ao longo dos três anos, abarcando tanto o período chuvoso como o período seco, para amostragem da fauna e de dados ambientais previamente definidos;
- Formar ao menos dois mestres em zoologia ou ecologia;
- Publicar dois trabalhos científicos;
- Disponibilizar os dados no banco de dados da rede.

III.2.3 Metodologia a ser empregada:

Para o objetivo 1 cada expedição totalizará 32 dias de amostragem (768 armadilhas.horas), com a participação de duas pessoas. A amostragem de anfíbios e lagartos será através de armadilhas de interceptação e queda. A configuração das armadilhas adotada será em forma de “Y”, com 4 baldes de 62 l, um central e três radiais unidos por cercas direcionadoras de lona plástica com 10x0.5 m. No total serão utilizados três conjuntos com 10 armadilhas cada, distantes entre si 1900m, totalizando 120 baldes. Em cada conjunto as armadilhas apresentarão uma distância de 100 m entre si, assim garantindo a independência espacial das amostras. Serão analisadas as seguintes variáveis ambientais: profundidade de serapilheira, área basal de árvores, cobertura vegetal do sub-bosque e cobertura do dossel, seguindo a mesma metodologia de Gomes (2008). Quando coletados os exemplares serão depositados na coleção científica do MPEG. Nesse caso, cada exemplar será medido e pesado, uma amostra de tecido será fixada em álcool absoluto, e o exemplar será fixado em formol 4% e preservado em álcool 70%. Análises

multivariadas serão utilizadas para se verificar o efeito das variáveis ambientais sobre o número de indivíduos e de espécies.

Para o objetivo 2 a metodologia será definida caso a caso, incluindo estudos focais e amostragens ao longo de transectos em diferentes ambientes.

III.2.4 Descrição de como o projeto de pesquisa está inserido no Plano de Integração da Rede, ou seja, a integração com os outros projetos de pesquisa para atingir os objetivos da Rede:

A FLONA de Caxiuanã foi a primeira parcela do PPBIO – Amazônia Oriental a ser concluída. Ela tem todas as condições para o desenvolvimento de estudos de médio e longo prazos, para permitir um conhecimento mais aprofundado da fauna e suas interações com o meio, um dos objetivos da Rede. É uma base também para se testar os protocolos para amostragem de anfíbios e répteis, assim como para estudos comparativos com outras localidades. Um dos objetivos do PPBIO e da presente Rede é o de obter pontos onde a biodiversidade possa ser considerada bem amostrada, servindo de parâmetro para comparações. A FLONA de Caxiuanã já acumula uma quantidade de dados razoáveis sobre anfíbios e répteis e esses novos estudos permitirão que se torne mais e mais um local de referência para a Amazônia Oriental.

Em parte dessas expedições serão também coletados helmintos parasitas de répteis, para o projeto 6.

III.2.5 Disponibilidade efetiva de infra-estrutura e de apoio técnico para o desenvolvimento do projeto:

A Estação Científica Ferreira Penna (ECFPn), que se localiza na parte norte da FLONA de Caxiuanã, possui uma base com alojamentos, refeitório, uma pequena biblioteca, laboratórios e acesso a internet, para atender os pesquisadores (Lisboa, 1998, 2002). A parcela do PPBIO dentro da FLONA de Caxiuanã fica afastada da ECFPn, mas conta com um alojamento simples. O transporte para a FLONA é usualmente feita em duas etapas, uma com barco de linha até Breves, e de lá com barco da ECFPn. Entre a ECFPn e a parcela do PPBIO o deslocamento é por lancha. Há diversas trilhas cortando a floresta na área da ECFPn, e a parcela de 25m² no sítio do PPBIO, com trilhas intercruzadas a cada 5m (http://marte.museu-goeldi.br/ppbio/ppbio15/index.php?option=com_content&view=article&id=47&Itemid=37).

Para o estudo do material coletado e análise dos dados, tanto a UFPA como o MPEG dispõem de laboratórios, computadores, estereomicroscópios e bibliotecas especializadas. O MPEG dispõe também de extensa coleção científica, para auxiliar na identificação de espécimes, quando necessário.

III.3 Projeto de Pesquisa:

APROFUNDANDO O CONHECIMENTO SOBRE A HERPETOFAUNA: DIVERSIDADE, ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE DUAS TAXOCENOSSES DE SERPENTES NA AMAZÔNIA PARAENSE E MARANHENSE

III.3.1 Nome do coordenador do projeto de pesquisa e dos demais participantes da equipe, descrevendo, para cada um deles, as atividades no projeto:

Integrante	Função	Atividades	Dedicação em horas/Mês
Ana Lúcia da Costa Prudente	Coordenadora	Coordenação do projeto e responsável pela orientação dos alunos de doutorado	15
Hipócrates de Menezes Chalkidis	Aluno de doutorado	Coleta , análise dos dados e redação do artigo científico referente à Taxocenose de serpentes da Floresta Nacional do Tapajós, Pará.	20
Carlos André Melo Palmeira	Aluno de doutorado	Coleta , análise dos dados e redação do artigo científico referente à Taxocenose de serpentes da na Reserva Biológica do Gurupi, Maranhão	20

III.3.2 Objetivos e metas a serem alcançados:

Este projeto propõe estudar as taxocenoses de serpentes de duas áreas na região Amazônica, localizadas em sítios do PPBIO: Floresta Nacional do Tapajós (FLONA do Tapajós), localizada no Baixo Rio Amazonas, oeste do Estado do Pará (2°45'-4°10' S; 54°45'-55°30' W), Município de Belterra, Pará; e Reserva Biológica do Gurupi (REBIO Gurupi) localizada a leste do Rio Tocantins, oeste do Estado do Maranhão (3-4°S; 46°30' W), nos municípios de Centro Novo do Maranhão, Bom Jardim e São João do Caru.

Serão buscados os seguintes objetivos: descrever a diversidade de serpentes das áreas; comparar a diversidade em áreas alteradas e preservadas; descrever os padrões de utilização do substrato e atividade diária das serpentes; avaliar a influência de variáveis ambientais na estrutura das taxocenoses; e avaliar o status de conservação das serpentes.

Além disso, esse projeto terá o objetivo de investir na formação de recursos humanos em Zoologia, com a formação de doutores pelo programa de Pós-Graduação em Zoologia da Universidade Federal do Pará e Museu Paraense Emílio Goeldi; e consolidar o grupo de pesquisa em biologia e taxonomia de Répteis do Museu Paraense Emílio Goeldi.

As metas a serem alcançadas são: produzir um artigo científico abordando a taxocenose da Flona do Tapajós, Pará; produzir um artigo científico abordando a taxocenose da Rebio Gurupi; formar dois doutores em Zoologia.

III.3.3 Metodologia a ser empregada:

Dados de Campo:

Os estudos serão conduzidos tendo como base o protocolo de coleta do PPBIO, que consiste em coletas de serpentes utilizando os seguintes métodos: armadilhas de interceptação e queda; procura visual limitada por tempo; coletas por terceiros e encontros ocasionais.

1 - Procura visual limitada por tempo (PVLТ) (MARTINS & OLIVEIRA, 1998): consiste no deslocamento a pé, lentamente, em trilhas, a procura de serpentes em todos os micro-ambientes (serrapilheira, troncos em decomposição, cavidades de troncos, vegetação, dentro de buracos no solo, e outros locais que podem servir de abrigo para a herpetofauna) visualmente acessíveis. Dos animais avistados, mas não coletados, cuja identificação seja segura, registra-se hora e local. As áreas serão amostradas de manhã e à noite. O esforço amostral e a taxa de encontro de serpentes serão medidos em horas-pessoa de procura visual.

2 - Armadilhas de interceptação e queda (AIQ) (GIBBONS & SEMLITSCH, 1981b; SAWAYA *et al.*, 2008): as armadilhas serão instaladas em duas trilhas de 5 km cada, uma no Norte e outra no Sul da Rebio. Em cada área, serão instalados conjuntos de armadilhas, distantes 300-500 m um do outro. Os conjuntos estarão dispostos em Y ou em linha, compostos por baldes de 60-100 litros. Os baldes estarão conectados uns aos outros, por uma lona plástica de 50 cm de altura, com a extremidade inferior enterrada no solo. Durante o período de amostragem, os baldes permanecerão abertos, sendo vistoriados diariamente. Após a conclusão dos trabalhos, os baldes permanecerão fechados, evitando a entrada de animais.

3 – Encontros por terceiros (CT) (CUNHA & NASCIMENTO, 1978; SAWAYA *et al.*, 2008): As coletas por terceiros serão realizadas por moradores da região. Para o acondicionamento e preservação das serpentes coletadas, serão distribuídos camburões de 15 l com formal a 10%. Para esses espécimes, serão registrados também informações de horário, data, ambiente e comportamento no momento da coleta. Para todas as serpentes coletadas serão amostradas as seguintes variáveis ambientais: umidade do ar, temperatura (ar e solo), precipitação pluviométrica, tipo de solo e abertura do dossel.

4- Encontros ocasionais (EO) (modificado de MARTINS & OLIVEIRA, 1998): serão considerados encontros ocasionais todas as serpentes eventualmente encontradas vivas ou mortas pela equipe fora do período de PLT. Para estes espécimes também serão registradas informações de horário, data, ambiente e comportamento no momento de coleta, etc.

Em campo e em laboratório, as serpentes serão sacrificadas com superdosagem de anestésico, injetada na cavidade torácica do animal. Após este procedimento, serão fixadas com formol a 10% e preservadas em álcool a 70%.

Análise de Dados:

A riqueza e abundância relativa de espécies será expressa e comparada por meio de tabelas de frequência e gráficos barras com a abundância relativa de cada espécie. A riqueza de espécies entre os ambientes será comparada por meio curvas de rarefação de espécies, com o eixo X ajustado para o

número estimado de indivíduos, o que evita tendências relacionadas a diferentes densidades de riqueza de espécies em diferentes ambientes (Gotelli, 2001). As curvas serão geradas com o programa EstimateS (Cowell, 1997) com 1.000 aleatorizações.

Para comparar o número de espécies de diferentes ambientes quando o número de indivíduos encontrado é diferente, é possível utilizar também o método da rarefação de espécies (Sanders, 1968). O método estima a riqueza e a dominância (porcentagem da espécie mais abundante) de amostras com maior número de indivíduos, retirando aleatoriamente destas o número de indivíduos da menor amostra, tornando-as comparáveis. Para essa análise, será utilizado o programa Ecosim 7.0 (Gotelli & Entsminger, 2001).

Para avaliar o efeito das variáveis ambientais sobre as taxocenoses de serpentes será utilizado os dados de temperatura, umidade relativa do ar e pluviosidade, na qual a abundância de serpentes será a variável dependente e as variáveis climáticas serão as variáveis independentes.

A estrutura da taxocenose será analisada a partir de uma matriz de uso de recursos, incluindo tamanho do corpo, uso do substrato, atividade diária e, se possível informações de dieta (Martins *et al.*, 2008). A partir da matriz de uso de recursos, será realizada a Análise de Coordenadas Principais (PCO), e uma análise de agrupamento (Manly, 1994) com o programa MVSP 3.13 (Kovach, 2005). A partir da ordenação e dendrogramas obtidos, será possível avaliar se os agrupamentos obtidos correspondem a grupos filogenéticos, o que pode ser interpretado como influência de fatores históricos na estruturação da taxocenose.

III.3.4 Descrição de como o projeto de pesquisa está inserido no Plano de Integração da Rede, ou seja, a integração com os outros projetos de pesquisa para atingir os objetivos da Rede:

Os dois estudos serão desenvolvidos em sítios do PPBIO Amazônia Oriental, dentro da metodologia do protocolo de répteis. Assim como o projeto 2, eles vão além do levantamento faunístico da área, para obter também dados ecológicos e buscar entender como as espécies se distribuem nessas áreas. Eles darão ainda um passo adicional, em conformidade com os objetivos da Rede de buscar informações que auxiliem na preservação da biodiversidade, ao buscar comparar áreas com pouco perturbadas com outras que sofreram alterações antrópicas. Tendo a FLONA de Caxiuanã já sido objeto de dois estudos intensivos de serpentes, essas duas novas áreas irão somar aos dados obtidos em Caxiuanã. Isso é particularmente interessante para serpentes pois esse grupo é de difícil amostragem e por isso quase não há áreas com amostragem suficiente de serpentes que permita uma comparação geográfica. Ademais, são grupos com muito pouca informação sobre suas preferências ecológicas e esses estudos servirão para preencher um pouco essa lacuna em nosso conhecimento.

Um dos doutorandos vinculados ao projeto é professor das Faculdades Integradas do Tapajós, situada em Santarém, Pará. Com seu doutoramento ele será o primeiro doutor em herpetologia residente no oeste do Pará, algo bastante importante para o início de um grupo local de pesquisas nessa área.

III.3.5 Disponibilidade efetiva de infra-estrutura e de apoio técnico para o desenvolvimento do projeto:

Para a realização dos trabalhos de campo, tanto a FLONA do Tapajós quanto a Rebio Gurupi contam com alojamentos para pesquisadores e estudantes e sede do IBAMA. Para a realização dos trabalhos de laboratório e análise dos dados, o campus de Pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), conta com o Laboratório de Herpetologia, a Coleção de Herpetologia, biblioteca especializada no setor de Herpetologia, biblioteca central, sala de informática, sala de aula e laboratórios multidisciplinares (Lab. genética molecular, Lab. microscopia de varredura, Lab. Geoprocessamento e de Modelagem). O Laboratório de Herpetologia do MPEG conta com toda infra-estrutura física e tecnológica necessária para o desenvolvimento deste projeto, como: mobiliário, computadores, notebooks, impressoras (laser e jato de tinta), scanner, estereomicroscópios equipados com câmara clara e máquina digital, bibliografia especializada, entre outros. Associado ao laboratório está presente um dos maiores acervos científicos de répteis e anfíbios do Brasil e o principal da região Amazônica. Este acervo, fundamental para o desenvolvimento dos trabalhos de taxonomia de serpentes neotropicais, conta atualmente com mais de 80 mil exemplares, principalmente da região Amazônica.

III.3.6 Outras considerações:

Os estudos das duas taxocenoses fazem parte do projeto de tese de doutorado de dois estudantes, e serão realizados independentemente por grupos distintos de pessoas. Portanto, esse projeto representa uma possível fonte de recursos para apoiar as atividades de campo dos dois projetos. Com a realização deste projeto, além dos estudos das comunidades de serpentes, será possível consolidar a linha de pesquisa em biologia, taxonomia e sistemática de Répteis do Museu Paraense Emílio Goeldi, assim como formar doutores em Zoologia na região Norte do Brasil, através do desenvolvimento de duas teses.

III.4 Projeto de Pesquisa:

DIVERSIDADE DE ANFÍBIOS E RÉPTEIS NA FLORESTA NACIONAL DO AMAPÁ

III.4.1 Nome do coordenador do projeto de pesquisa e dos demais participantes da equipe, descrevendo, para cada um deles, as atividades no projeto:

Integrante	Função	Atividades	Dedicação em horas/Mês
Teresa Cristina Sauer de Avila Pires (MPEG)	Coordenadora e pesquisadora	Coordenação das atividades e estudo taxonômico da herpetofauna, com ênfase nos lagartos	15
Adrian Garda (UFRN)	Pesquisador Colaborador	Estudos ecológicos da herpetofauna, com ênfase em anfíbios	10
Marinus S. Hoogmoed	Pesquisador Colaborador	Estudos taxonômicos da herpetofauna	10

Obs.: Além dos pesquisadores mencionados, o projeto envolverá também estudantes de graduação, mestrado e/ou doutorado, trabalhando-se em colaboração com o Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA).

III.4.2 Objetivos e metas a serem alcançados:

O projeto visa realizar um inventário da fauna de répteis e anfíbios da Floresta Nacional do Amapá, tendo como base o protocolo de Herpetofauna do PPBIO, visando ampliar o conhecimento dessa área da Amazônia, que representa a porção mais oriental das Guianas, e possibilitar a comparação dessa área com outras áreas amazônicas. A FLONA do Amapá forma um grande maciço (412 mil ha) de floresta tropical úmida, com predominância de terra firme, e apresenta-se bastante preservada, com acesso viável apenas via fluvial, a partir do rio Araguari. A Flona é limitada a leste pelo rio Falsino, a oeste pelo rio Araguari, ao norte pelo pequeno rio conhecido como Mutum, e ao sul, sua porção mais acessível, pela confluência do Araguari e o Falsino. Nos extremos norte e leste emergem cadeias de montanhas de altitude significativa, supostamente do mesmo complexo do Tumucumaque (http://marte.museu-goeldi.br/ppbio/ppbio15/index.php?option=com_content&view=article&id=50&Itemid=37).

O Amapá é o único sítio da Rede PPBIO que não conta atualmente com financiamento, razão pela qual o presente projeto será fundamental para que os estudos de répteis e anfíbios na grade da FLONA do Amapá possam ser realizados. Atualmente é a única parcela do PPBIO que representa a parte das Guianas da Amazônia brasileira. Ademais, a coleção herpetológica do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA), apesar de instituída, não dispõe de um herpetólogo contratado para organizá-la e necessita bastante de suporte técnico.

Objetivo 1. Ampliar o conhecimento sobre a herpetofauna nessa parte da Amazônia, especialmente permitindo a realização de estudos de médio e longo prazos.

Metas relativas ao objetivo 1:

- Realizar quatro expedições à FLONA do Amapá, para o inventário de anfíbios e répteis.

Objetivo 2. Promover a formação e qualificação de recursos humanos através do apoio a projetos de graduação e pós-graduação em sistemática e ecologia.

Metas relativas ao objetivo 2:

- Apoiar um projeto de pós-graduação em sistemática ou ecologia;
- Apoiar a participação de alunos da graduação nos estudos realizados na grade do PPBIO Amapá.

Objetivo 3. Apoiar a organização da coleção herpetológica do IEPA.

Metas relativas ao objetivo 3:

- Organizar 80% do material já disponível e que venha a ser coletado e depositado na coleção, inclusive os dados vinculados;
- Garantir as condições ótimas de preservação de 100% de material incorporado;
- Garantir a identificação correta do material a ser incorporado nas coleções.

Objetivo 4. Apoiar a manutenção da grade do PPBIO da FLONA do Amapá, permitindo a continuidade do estudo de sua fauna e flora.

Metas relativas ao objetivo 4:

- Prover um gerente de campo para o sítio do PPBIO FLONA do Amapá pelo período de um ano;
- Contribuir com a manutenção da grade.

Objetivo 5. Garantir a integração do Projeto com a Rede PPBio – Amazônia Oriental e com os demais projetos associados

Metas relativas ao objetivo 5:

- Garantir a participação de integrantes do projeto em 100% das reuniões da Rede;
- Disponibilizar 100% da informação gerada pelo projeto no banco de dados de inventário da Rede.

III.4.3 Metodologia a ser empregada:

Serão realizadas quatro expedições, de 10 a 20 dias cada uma. As amostragens serão realizadas na parcela do PPBIO da FLONA do Amapá, tendo como base a metodologia proposta pelo protocolo, buscando cobrir a maior área amostral possível, mas também os diversos ambientes existentes na área. A metodologia será semelhante àquela indicada no projeto 1. O material coletado será dividido entre as coleções herpetológicas do IEPA e do MPEG.

III.4.4 Descrição de como o projeto de pesquisa está inserido no Plano de Integração da Rede, ou seja, a integração com os outros projetos de pesquisa para atingir os objetivos da Rede:

Como já mencionado, a FLONA do Amapá é o único sítio do PPBIO na região das Guianas. Será, portanto, um importante sítio para comparações biogeográficas. Espera-se com este projeto melhor estruturar a coleção do IEPA e a grade do PPBIO, de forma que os objetivos da rede de fortalecer instituições locais e melhorar nosso conhecimento sobre a biodiversidade amazônica possam ser atingidos.

III.4.5 Disponibilidade efetiva de infra-estrutura e de apoio técnico para o desenvolvimento do projeto:

O projeto se beneficiará da estrutura e das coleções do MPEG, já descritos nos projetos anteriores. O IEPA abriga uma coleção zoológica denominada Fauna do Amapá, a qual inclui cerca de 500 exemplares de anfíbios e répteis. Apesar disso, a instituição não possui nenhum herpetólogo contratado e, como consequência, a coleção necessita de cuidados. Jucivaldo Dias Lima, mestre pelo PPGZOO UFPA-MPEG é vinculado à coleção, mas de forma temporária e instável. De qualquer forma, o IEPA é uma base de apoio próximo a Macapá, ponto de partida para o sítio do PPBIO. A grade do PPBIO da FLONA do Amapá já está totalmente instalada.

III.5 Projeto de Pesquisa:

DIVERSIDADE DE ANFÍBIOS E RÉPTEIS NO PARQUE NACIONAL DE JURUENA, AMAZÔNIA MERIDIONAL

II.5.1 Nome do coordenador do projeto de pesquisa e dos demais participantes da equipe, descrevendo, para cada um deles, as atividades no projeto:

Integrante	Função	Atividades	Dedicação em horas/Mês
Marcos André de Carvalho	Coordenador e Pesquisador	Coordenação e amostragem de répteis e anfíbios	8
Ricardo Alexandre Kawashita Ribeiro	Pesquisador colaborador	Amostragem de répteis e anfíbios	120
Luana Aparecida de Arruda Gomes	Bolsista	Amostragem de répteis e anfíbios	48
Anelise Figueredo Silva	Bolsista	Amostragem de répteis e anfíbios	48

III.5.2 Objetivos e metas a serem alcançados:

O projeto visa realizar um inventário da fauna de répteis e anfíbios do Parque Nacional de Juruena, usando protocolos de coleta padronizados, de forma a ampliar o conhecimento taxonômico e ecológico da Amazônia Meridional, possibilitar a comparação dessa área com outras áreas amazônicas e auxiliar no entendimento sobre o contato entre Amazônia e Cerrado. O Parque Nacional do Juruena, criado em comemoração ao Dia Mundial do Meio Ambiente, pelo Decreto de 05 de junho de 2006, está localizado entre o norte do Estado de Mato Grosso e sul do Amazonas, conta com uma área de 1,9 milhões de hectares, nos Municípios de Apiacás, Nova Bandeirantes e Cotriguaçu, no Estado de Mato Grosso; Apuí e Maués, no Estado do Amazonas, entre as coordenadas 57°30' e 59°30' de longitude Oeste e 7° e 9° latitude Sul. É o terceiro maior parque do Brasil, atrás apenas do Parque Nacional Montanhas do Tumucumaque (com 3,9 milhões de ha) e

do Parque Nacional do Jaú (com 2,3 milhões ha). Caracteriza-se pela vegetação de transição entre Floresta Amazônica e Cerrado. O Parque Nacional Juruena era uma das últimas unidades de conservação faltantes para a composição do Corredor de Conservação do Sul da Amazônia, um mosaico de Unidades de Conservação que podem conter o processo de degradação na região. Os dados obtidos no projeto deverão também auxiliar na definição do plano de manejo da unidade.

Objetivo 1. Ampliar o conhecimento taxonômico e ecológico da herpetofauna na Amazônia Meridional, promovendo inventários estruturados rápidos em áreas selecionadas.

Metas relativas ao objetivo 1:

- Realizar 4 expedições ao PARNA do Juruena, para o inventário de répteis e anfíbios.

Objetivo 2. Promover a formação e a qualificação de recursos humanos através do apoio a projetos de graduação e pós-graduação em sistemática e ecologia.

Metas relativas ao objetivo 2:

- Apoiar 2 projetos de conclusão de curso de graduação em sistemática ou ecologia;
- Apoiar 2 projetos de Mestrado em sistemática ou ecologia.

Objetivo 3. Ampliar os acervos das coleções científicas de Zoologia apoiadas pelo Núcleo Amazônia Meridional (UNEMAT E UFMT).

Metas relativas ao objetivo 3:

- Depositar 50% dos espécimes coletados na coleção da UNEMAT e 50 % na coleção da UFMT;
- Garantir as condições ótimas de preservação de 100% de material incorporado;
- Garantir a identificação correta do material a ser incorporado nas coleções.

Objetivo 4. Garantir a integração do Projeto com a Rede PPBio – Amazônia Oriental e com os demais projetos associados

Metas relativas ao objetivo 4:

- Garantir a participação de integrantes do projeto em 100% das reuniões da Rede;
- Disponibilizar 100% da informação gerada pelo projeto no banco de dados de inventário da Rede.

III.5.3 Metodologia a ser empregada:

Durante as expedições a amostragem seguirá o desenho de pontos (parcelas de 250m, ao invés do levantamento completo da grade-padrão do PPBIO, de 25m²), seguindo a metodologia RAP, de forma a cobrir maior área amostral. Isso permitirá maior flexibilidade e adaptabilidade a

situações específicas, sem perder a padronização metodológica e comparabilidade. Além disso, serão avaliadas as diferentes paisagens existentes na unidade de conservação, de forma que sua maioria seja contemplada no estudo.

Para levantamento de répteis e anfíbios deverá ser utilizado o método de *Procura Limitada por Tempo* (PLT; *sensu* Campbell & Christman, 1982; Martins & Oliveira, 1998), que será realizado em parcelas retas de 250 m x 10 m, dispostas em locais estratégicos, escolhidos a partir da análise de imagens de satélite e interpretação de carta de vegetação atual do estado, selecionando-se áreas intactas do ponto de vista de conservação. A PLT consiste no deslocamento a pé, lentamente, a procura de anfíbios e répteis em todos os microambientes visualmente acessíveis. O esforço amostral e a taxa de encontro serão medidos em horas-homem de procura visual. Em cada parcela será realizado um esforço de 3 horas-homem/período, sendo que por expedição deverão ser totalizadas pelo menos 30 horas-homem/período de procura. Cada espécime encontrado será capturado com a mão, pinção ou gancho. Para cada indivíduo capturado e/ou observado será registrado em formulário as seguintes informações: espécie; medidas corporais; sexo; local, data e horário da observação; tipo de ambiente; substrato; atividade; condições ambientais (incluindo umidade relativa do ar e temperatura do ar e do substrato); e observações adicionais de atividade. Além disso, o encontro de espécimes vivos ou mortos durante outras atividades que não na PLT, como deslocamento entre as áreas de amostragem, serão classificados como *Encontros Ocasionalis*. Serão incluídos indivíduos encontrados tanto em mata contínua como em seus arredores e estradas de acesso. As coletas por terceiros incluem encontros com coleta ou apenas observação por pesquisadores ou moradores da região.

O inventário herpetológico será realizado por meio de quatro expedições. Os resultados das expedições deverão ser publicados em forma de artigos científicos. Cada expedição terá 15 dias de duração, não sobrepostos aos períodos propostos no PPBio Amazônia Meridional.

Todas as informações geradas pelo projeto serão inclu[ui]das nas plataformas eletrônicas de integração da Rede.

III.5.4 Descrição de como o projeto de pesquisa está inserido no Plano de Integração da Rede, ou seja, a integração com os outros projetos de pesquisa para atingir os objetivos da Rede:

A presente proposta se constitui em um dos Projetos de Pesquisa associados à Rede PPBio – Amazônia Oriental, refletindo a continuidade das ações de qualificação de coleções científicas e de desenvolvimento e aplicação de inventários estruturados implementadas até o momento pelo Núcleo Executor do PPBio – Amazônia Oriental.

Nesse sentido, os pesquisadores estarão sendo apoiados pelas iniciativas já estabelecidas pela coordenação da rede. Atuando como Projeto de Pesquisa Associado, o Núcleo da Amazônia Meridional aportará ao sistema de informação da Rede dados e metadados gerados pela aplicação da metodologia proposta no PARNA JURUENA.

III.5.5 Disponibilidade efetiva de infra-estrutura e de apoio técnico para o desenvolvimento do projeto:

O Núcleo da Amazônia Meridional conta atualmente com: computadores, lupa de triagem, nobreak's, desumidificador, barco de alumínio 6 m, motor 25 HP, fogão à gás, botijão de gás, lampião à gás, filtro de barro, GPS, oxímetro, pHmetro, dinamômetro, paquímetro digital, microfone, câmeras traps, adquiridos com recursos do PPBio. Foram investidos 64.796,85 reais em equipamentos, sendo 51.316,75 reais por meio de projeto CNPq aplicados ao PPBio pelo Museu Goeldi e o restante com os recursos do MCT específicos para o PPBio, Núcleo MT.

A Universidade Federal de Mato Grosso tem uma Coleção Zoológica de Vertebrados que contempla acervos dos seguintes grupos: Peixes, Anfíbios, Répteis, Aves e Mamíferos. Há cerca de 10.000 espécimes de anfíbios, 8.000 espécimes de répteis, 600 espécimes de aves e 800 espécimes de mamíferos tombados nesta Coleção. Há ainda cerca de 6.000 exemplares de anfíbios e répteis, pelo menos 1.000 exemplares de aves e 800 exemplares de mamíferos para serem tombados. A Coleção de Peixes encontra-se em processo inicial de organização, e estima-se que haja pelo menos 4.000 lotes a serem organizados e tombados. O único acervo com parte do material informatizado é a Coleção Herpetológica, com cerca de 5.000 exemplares registrados em planilha eletrônica.

A Coleção Zoológica de Vertebrados da UFMT teve início com o Projeto Pólo Noroeste na década de 1980 e desde então recebe e mantém exemplares coletados em todo o Estado de Mato Grosso. É interessante mencionar que recentemente a Coleção tem recebido centenas de exemplares coletados durante estudos de impactos ambientais e resgates faunísticos, procedentes principalmente da região amazônica matogrossense.

É importante salientar também que a referida Coleção tem apoiado diversos estudos em nível de pós-graduação, recebendo visitantes e enviando material como empréstimo a diferentes instituições brasileiras, tais como o Museu Paraense Emílio Goeldi, o Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, a Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, o Museu Nacional, entre outros.

Estes acervos estão acondicionados em três salas recém reformadas pela UFMT, da seguinte maneira: Ictiologia, com 46,2 m² para coleção e 15 m² para laboratório; Herpetologia, com 46,2 m² para coleção; Mastozologia e Ornitologia, com 38 m² para coleção; e sala de triagem comum para as três últimas áreas, com 17,9 m². Todas as salas são climatizadas e contam com bancada e pia, com exceção das coleções. Conta com quatro docentes doutores, um técnico de nível superior doutor e um técnico de nível auxiliar estão diretamente vinculados à Coleção Zoológica da UFMT. Além disso, 14 alunos de graduação realizam estágio e desenvolvem projetos de iniciação científica na Coleção, e três alunos já formados atuam voluntariamente na organização do acervo.

O Núcleo Regional da Amazônia Meridional possui parceiros como SEMA e ICMBIO que apresentaram como contrapartida apoio as ações do núcleo com a disponibilização dos meios necessários para realizar resgate de caráter emergencial de pesquisadores, apoio logístico as atividades do núcleo, captura de recursos e instalação de infra-estrutura para atender as pesquisas, além de

negociações com os proprietários das áreas próximas as regiões do Ximari e Rio Ronuro para a realização das pesquisas.

O convênio do PPBio / Museu Emílio Goeldi no Mato Grosso foi assinado pela SECITEC e a FAPEMAT juntamente com UNEMAT, sendo assim, a proposta enviada será apresentada a esses órgãos conveniados, visando buscar apoio financeiro para auxiliar nas ações do PPBio, de forma a ampliar as metas propostas.

III.6 Projeto de Pesquisa:

DIVERSIDADE DE HELMINTOS PARASITOS DE ANFÍBIOS E RÉPTEIS NA AMAZÔNIA ORIENTAL

III.6.1 Coordenador do projeto de pesquisa e demais participantes da equipe:

Integrante	Função	Atividades	Dedicação em horas/Mês
Jeannie Nascimento dos Santos (LBCH-ICB- UFPA)	Coordenadora jeannie@ufpa.br	Coordenação do subprojeto e responsável pelo estudo de interações parasito-hospedeiro em Helminologia e de Helmitos da Família Cosmocercidae em anfíbios e répteis.	15
Elane Guerreiro Giese (ISPA – UFRA)	Pesquisadora	Responsável pelos estudos Taxonômicos e histopatológicos de Acanthocephala e Nematoda em anfíbios e répteis	15
Francisco Tiago Vasconcelos Melo Santos (LBCH-ICB-UFPA)	Pesquisador	Responsável pelos estudos taxonômicos de Cestoda e Monogenea de anfíbios e répteis.	15
Adriano Penha Furtado Santos (LBCH-ICB-UFPA)	Pesquisador	Responsável pelos estudos taxonômicos e moleculares de Nematoda em anfíbios e répteis.	5
Evonnildo Costa Gonçalves Santos (LPDna - ICB- UFPA).	Pesquisador	Responsável pelos estudos taxonômicos e moleculares de Nematoda em anfíbios e répteis.	5
Lílian Cristina Macedo Santos (ICB- UFPA)	Pós-graduanda	estudos taxonômicos e de infracomunidades de Nematoda em répteis	20
Djane Clarys Baía da Silva Santos (ICB-UFPA)	Graduanda	Responsável pelos estudos taxonômicos e histopatológicos de Nematoda de anfíbios	20
Jefferson Pereira e Silva Santos (ICB- UFPA)	Graduando	Responsável pelos estudos taxonômicos e histopatológicos de Nematoda de anfíbios	20

*LBCH - ICB – UFPA – Laboratório de Biologia Celular e Helminologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará.

*LPDna- ICB – UFPA – Laboratório de Polimorfismo de DNA do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará.

*LPCA - ISPA – UFRA – Laboratório de Pesquisas Carlos Azevedo do Instituto de saúde e Produção Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia.

III.6.2 Objetivos e metas a serem alcançados:

O projeto tem como objetivo realizar estudos taxonômicos de helmintos parasitos de anfíbios e répteis coletados nas expedições realizadas pelos demais projetos da rede “Diversidade de anfíbios e répteis, e helmintos parasitos, na Região Amazônica”.

A sistemática parasitológica, na atualidade, possibilita tanto o conhecimento de novas espécies, descritas através da taxonomia clássica, quanto proporciona detalhes sobre as relações filogenéticas entre os táxons envolvidos, sob o ponto de vista da Sistemática Filogenética e/ou da Sistemática Molecular, podendo lhes ser atribuídas inferências ecológicas e biológicas e, por conseguinte, podendo elucidar detalhes de relações parasito-hospedeiros, estimulando pesquisas parasitológicas futuras (Monis, 1999; Brooks e Hoberg, 2001).

Os parasitos fornecem informações sobre a ecologia do hospedeiro, comportamento e suas interações tróficas. Como os complexos ciclos de vida estão integrados às teias alimentares, os parasitos podem ser valiosos indicadores das relações tróficas, da estrutura das teias alimentares e preferências alimentares do hospedeiro (Brooks e Hoberg 2000).

Mesmo o Brasil abrigando uma grande diversidade de anfíbios e répteis, os estudos ainda são escassos em relação à helmintofauna e análise da estrutura das comunidades de parasitos destes grupos. No entanto, existem alguns trabalhos referentes à caracterização da comunidade de helmintos de alguns anfíbios no país, por exemplo, Boquimpani-Freitas et al. (2001), Luque et al. (2005), Van Sluys et al. (2006), Lux et al. (2008), Campião et al. (2009), Goldberg et al. (2009) e Santos & Amato (2010).

Enfatiza-se, portanto, a extrema importância do desenvolvimento de novos estudos sobre helmintos parasitos de organismos amazônicos, uma vez que, quando uma espécie de vertebrado está sobre ameaça, sua infracomunidade também estará ameaçada de extinção. Assim, muitos dados que dariam suporte a novos conhecimentos podem ser perdidos.

Objetivo 1 - Identificar e descrever novas espécies de helmintos dos diversos Filos que parasitam anfíbios e répteis, contribuindo para o conhecimento da diversidade de helmintos parasitos no bioma Amazônia.

Metas relativas ao objetivo 1:

- Identificar as espécies de helmintos encontrados parasitando anfíbios e répteis, quando se tratar de espécies ainda não descritas, realizar a divulgação através da publicação em revistas indexadas.
- Realizar a caracterização morfológica, ultraestrutural e molecular dos espécimes encontrados.
- Iniciar a criação de uma coleção helmintológica com os espécimes coletados.

Objetivo 2 - Realizar estudo histopatológico das helmintíases que acometem os anfíbios e répteis e que podem ser responsáveis pelo declínio de populações destes animais.

Metas relativas ao objetivo 2:

- Caracterizar as alterações histopatológicas provocadas pelo parasitismo de helmintos em diferentes órgãos de seus hospedeiros.

Objetivo 3 – Contribuir com a formação de recursos humanos através do desenvolvimento de trabalhos de conclusão de curso, dissertações de mestrado e teses de doutorado.

Metas relativas ao objetivo 3:

- Contribuir para a o desenvolvimento de ao menos um trabalho de conclusão de curso referente ao tema.
- Desenvolver duas dissertações de mestrado com o material coletado.
- Desenvolver no mínimo uma tese de doutoramento com o material coletado nas regiões estudadas.

III.6.3 Metodologia a ser empregada:

Os helmintos serão coletados a partir dos anfíbios e répteis provenientes das expedições da presente rede, coordenada pela Dra. Teresa C. S. de Ávila Pires. Todos os órgãos e cavidades dos animais serão separados em placas de Petri contendo solução fixadora e analisados através de estereomicroscópio Carl Zeiss modelo 475032.

Parte dos helmintos será mantida em álcool absoluto ou AFA (2% de ácido acético glacial, 3% de formol a 37% e 95% de álcool etílico a 70%) e serão processados segundo Amato et al. (1991) para posterior análise e identificação taxonômica. e outros em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato 0,1M contendo 3,5% de sacarose, pH 7.2 para microscopia eletrônica de varredura e análise histológica.

Microscopia de Luz:

Para estudos morfológicos os Platyhelminthes e Acanthocephala serão corados pelo Carmalumem de Meyer ou pelo Tricrômico de Gomori e montados em bálsamo do Canadá entre lâmina e lamínula. Os Nematoda serão diafanizados em glicerina ou óleo de cravo e montados em lâminas temporárias (AMATO et al., 1991). A análise morfométrica dos helmintos será feita com auxílio de ocular micrométrica, sendo medidos pelo menos 10 espécimes de cada espécie estudada. Os desenhos serão realizados em câmara clara.

Para a identificação de helmintos serão utilizados catálogos, chaves de identificação, livros e artigos científicos. Quando necessário, espécies-tipo e parátipos depositados em coleções helmintológicas serão solicitados para análises comparativas.

Microscopia Eletrônica de Varredura:

Para auxiliar a determinação e identificação das espécies e elucidar novos dados ultraestruturais por microscopia eletrônica de varredura, os espécimes fixados em AFA ou em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato 0,1M contendo 3,5% de sacarose, pH 7.2, serão pós-fixados em OsO₄ a 1% em tampão cacodilato 0,1M contendo 3,5% de sacarose, pH 7.2, por 3h a 4°C segundo Santos & Moravec (2009) e serão analisados ao Microscópio eletrônico de Varredura JEOL JSM-679 1F em uma voltagem de aceleração de 15 kV.

Caracterização Molecular:

Amostras de espécies de helmintos serão submetidas à extração de DNA total pelo método Fenol-clorofórmio e à Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando metodologia e *primers* específicos para cada táxon. Os fragmentos amplificados serão analisados em sequenciador automático 3100 Automated DNA Sequencer (Applied Biosystems). As sequências serão submetidas a busca BLAST no GenBank para comparação das espécies já conhecidas e obtenção de sequências para posterior análise filogenética.

III.6.4 Descrição de como o projeto de pesquisa está inserido no Plano de Integração da Rede, ou seja, a integração com os outros projetos de pesquisa para atingir os objetivos da Rede:

O estudo da Diversidade de helmintos de anfíbios e répteis na Amazônia oriental em transversalidade com o projeto maior - Diversidade de anfíbios e répteis na Região Amazônica - proporcionará o amplo conhecimento da biodiversidade, expondo a estudos taxonômicos, ecológicos e evolutivos, incluindo filogenia clássica e molecular, as infracomunidades dos referidos vertebrados. Assim, a intenção de aprimorar os conhecimentos sobre anfíbios e répteis, ganha mais um véis que contempla a biodiversidade.

III.6.5 Disponibilidade efetiva de infra-estrutura e de apoio técnico para o desenvolvimento do projeto:

O Laboratório de Biologia Celular e Helminologia “Profa Dra. Reinalda Marisa Lanfredi” do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará (LBCH-ICB/UFGPA) é um laboratório novo em produção científica, que em seu espaço físico de 64 m² comporta uma equipe técnica envolvendo 34 pessoas entre alunos de ensino médio, de graduação, pós-graduação e pesquisadores colaboradores. Tendo sido recentemente reformado para adequar seu espaço físico às atividades de ensino-pesquisa-extensão, conta com uma infra-estrutura física dividida em sala de necropsia e processamento de amostras para microscopia, sala de microscopia de luz, sala de reunião e convivência dos alunos de pós-graduação e graduação, e um gabinete para professores. Sua infra-estrutura de equipamentos básicos, conta com: 01 (um) microscópio de luz equipado com câmara clara; 01 (um) microscópio de luz equipado com máquina fotográfica digital e máquina filmadora; 01 (um) estereomicroscópio equipado com câmara clara; 02 (dois) estereomicroscópios simples; balança digital capacidade 1-15 Kg, centrífuga para tubos

de 15mL, pHmetro de mesa, 2 geladeiras, 1 freezer, 1 microcomputador e mobiliários de laboratório e escritório.

Além disso, possui acesso a laboratórios multiusuários do ICB, como o Laboratório de Biologia Estrutural equipado com Microscópio confocal (ZEISS), microscópio eletrônico de transmissão (JEOL) e equipamentos periféricos como ultramicrotomo (LEICA) e knifemaker (LEICA) e o Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Geociências com um Microscópio Eletrônico de Varredura LEO 1459 VP. Assim como os laboratórios colaboradores como o Laboratório de Polimorfismo de DNA (ICB- Prof Dr. Evonnildo Gonçalves) e o Laboratório de Parasitologia de Organismos Aquáticos Carlos Azevedo (ISPA – UFRA- Profa. Dra. Elane Guerreiro Giese).

III.7. INTEGRAÇÃO DOS DADOS

Os resultados das expedições pontuais serão analisados em conjunto com os dos inventários de mais longo prazo obtidos nas parcelas permanentes do PPBIO, assim como serão realizadas análises filogeográficas a partir dos tecidos coletados, visando integra-los numa análise biogeográfica, com foco científico e de conservação. Algumas das espécies com ocorrência mais ampla e registro nas várias áreas de estudo serão selecionadas para análises filogeográficas, buscando conhecer a diversidade molecular dessas espécies; se apresentam uma estruturação geográfica; e se podem ser reconhecidos padrões geográficos ao nível molecular comparando-se populações de diferentes espécies. Para auxiliar nesses estudos está sendo prevista aqui uma bolsa DTI-2 para o último ano do projeto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- AMATO, J.F.R., A.B. WALTER, S.B. AMATO. 1991. **Protocolo para Laboratório. Coleta e Processamento de Parasitas do Pescado**, 1º ed. Imprensa Universitária, UFRRJ, Rio de Janeiro: 81.
- BLAUSTEIN, A. R. & D. B. WAKE. 1990. Declining amphibian populations - a global phenomenon. **Trends in Ecology & Evolution** 5: 203-204.
- BOQUIMPANI-FREITAS, L., D. VRCIBRADIC, J.J. VICENTE, C.R. BURSEY & C.F.C. ROCHA. 2001. Helminths of the horned leaf frog, *Proceratophrys appendiculata*, from southeastern Brazil. **Journal of Helminthology** 75: 233–236.
- CAMPBELL, H.W. & S.P. CHRISTMAN. 1982. Field techniques for herpetofaunal community analysis. In: Scott Jr, N.J. (ed.). **Herpetological Communities**. United States Department of the Interior, Wildlife Research Report 13, Washington.
- CAMPIÃO, K.M., R.J. SILVA & V.L. FERREIRA. 2009. Helminth parasites of *Leptodactylus podicipinus* (Anura: Leptodactylidae) from south-eastern Pantanal, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Journal of Helminthology** 83: 345–349.

- CECHIN, S.Z. & M. MARTINS, 2000. Eficiência de armadilhas de queda (pitfall traps) em anfíbios e répteis no Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** 117(3): 729-740.
- COLLINS, J.P. & A. STORFER. 2003. Global amphibian declines: Sorting the hypotheses. **Diversity & Distributions** 9: 89-98.
- CORN, P.S., 1994. Straight line drift fences and pitfall traps. In: W.R. Heyer, M.A. Donnelly, R.W. McDiarmid, L.C. Hayek and M.S. Foster (Eds). 1994. **Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians**: 109-117. Smithsonian Institution Press, Washington.
- COWELL, R. K. 1997. **EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples**. Version 5. User's Guide and application published at: <http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates>.
- CUNHA, O. R. & F. P. NASCIMENTO. 1978. Ofídios da Amazônia X - As cobras da região leste do Pará. **Publicações Avulsas do Museu Paraense Emílio Goeldi** 31: 1-218.
- GIBBONS, J.W. & R.D. SEMLITSCH, 1981a. Terrestrial drift fences with pitfall traps: an effective technique for quantitative sampling of animal populations. **Brimleyana** 7: 1-16.
- GIBBONS, J.W. & R.D. SEMLITSCH. 1981b. Terrestrial drift fences of American microhylid frogs. **Occasional Papers of the Museum of Zoology University of Michigan** 555: 1-19.
- GOMES, J.O. 2008. **Distribuição espacial de anuros e lagartos ao longo de gradientes ambientais em uma floresta de terra firme na Amazônia oriental, Pará, Brasil**. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Zoologia UFPA-MPEG.
- GOTELLI, N. J. 2001. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. **Ecology Letters** 4: 379-391.
- GOTELLI, N. J. & G. L. ENTSMINGER. 2001. **EcoSim: Null models software for ecology**. Version 7.0. Acquired Intelligence Inc. & Kesey-Bear. <http://homepages.together.net/~gentsmin/ecosim.htm>.
- GREENBERG, C.H., D.G. NEARY & L.D. HARRIS. 1994. A comparison of herpetofaunal sampling effectiveness of pitfall, single-ended, and double-ended funnel traps used with drift fences. **Journal of Herpetology** 28: 319-324.
- HOOGMOED, M.S., R.R. PINTO, W.A. ROCHAS & E.G. PEREIRA. 2009. A new species of *Mesobaena* Mertens, 1925 (Squamata: Amphisbaenidae) from Brazilian Guiana, with a key to the Amphisbaenidae of the Guianan Region. **Herpetologica** 65(4): 436-448.
- LUQUE, J.L., A.N. MARTINS, L.E.R. TAVARES. 2005. Community structure of metazoan parasites of the yellow Cururu toad, *Bufo ictericus* (Anura, Bufonidae) from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Parasitologica** 50: 215-220.
- LUX HOPPE, E.G., D. PEDRASSANI, A.C. HOFFMANN-INOCENTE, J.H. TEBALDI, L.F. STORTI, F.S. ZANUZZO, N. AVANCINI, A.A. NASCIMENTO. 2008. Estudos ecológicos em taxocenoses helmínticas de *Chaunus ictericus* (Spix, 1824) e *C. scheneideri* (Werner, 1894) (Anura: Bufonidae) simpátricos, capturados no Distrito de São Cristóvão, município de Três Barras, Santa Catarina. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 17: 166-169.

- KOVACH, W. L., 2005. **MVSP - A MultiVariate Statistical Package for Windows, ver. 3.13**. Kovach Computing Services, Pentraeth, Wales, U.K.
- LISBOA, P.L.B. (org.). 1998 (1997). **Caxiuanã**. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém: 1-446.
- LISBOA, P.L.B. (org.). 2002. **Caxiuanã. Populações tradicionais, meio físico e diversidade biológica**. Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém: 1-734.
- MANLY, B. F. J. 1994. **Multivariate Statistical Methods. A primer**. Chapman & Hall, London.
- MARTINS, M.; O. A.V. MARQUES & I. SAZIMA. 2008. How to be arboreal and diurnal and still stay alive: Microhabitat use, time of activity, and defense in Neotropical Forest snakes. **South American Journal of Herpetology** 3(1): 58-67.
- MARTINS, M. & M.E. OLIVEIRA. 1998. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. **Herpetological Natural History** 6(2): 78-150.
- MIRALLES, A. & S. CARRANZA. 2010. Systematics and biogeography of the Neotropical genus *Mabuya*, with special emphasis on the Amazonian skink *Mabuya nigropunctata* (Reptilia, Scincidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 54: 857-869.
- RIBEIRO-JUNIOR., M.A., T.A. GARDNER, & T.C.S. AVILA-PIRES. 2008. Evaluating the effectiveness of herpetofaunal sampling techniques across a gradient of habitat change in a tropical forest landscape. **Journal of Herpetology** 42(4): 733-749.
- SANDERS, H. 1968. Marine benthic diversity: a comparative study. **The American Naturalist** 102: 243-282.
- SAWAYA, R. J.; O. A.V. MARQUES & M. MARTINS. 2008. Composição e história natural das serpentes de Cerrado de Itirapina, São Paulo, sudeste do Brasil. **Biota Neotropica** 8(2): 127-149.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE HERPETOLOGIA 2010. **Anfíbio e Répteis do Brasil – Lista de Espécies**. Sociedade Brasileira de Herpetologia. Disponível em: <http://www.sbherpetologia.org.br>. Acesso em: Outubro de 2010.
- VAN SLUYS, M., M.G. SCHITTINI, R.V. MARRA, A.R.M. AZEVEDO, J.J. VICENTE, D. VRCIBRADIC. 2006. Body size, diet and endoparasites of the microhylid frog *Cliasmocleis capixaba* in an Atlantic Forest area of southern Bahia State, Brazil. **Brazilian Journal of Biology** 66: 167–173.