

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO VENENO E ECOLOGIA ALIMENTAR
de *Rhinella henseli* (LUTZ, 1934) (ANURA:BUFONIDAE):

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Douglas da Silva Huning

Passo Fundo

2020

Douglas da Silva Huning

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO VENENO E ECOLOGIA ALIMENTAR DE *Rhinella henseli* (LUTZ, 1934) (ANURA:BUFONIDAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção de título de **Mestre em Ciências Ambientais**.

Orientadora:
Dr^a Carla Denise Tedesco
Coorientadora:
Dr^a Fabiana Tonial

Passo Fundo

2020

CIP – Catalogação na Publicação

H937p Huning, Douglas da Silva
Potencial antimicrobiano do veneno e ecologia alimentar
de *Rhinella henseli* (Lutz, 1934) (Anura:Bufonidae) / Douglas
da Silva Huning. – 2020.
55 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Carla Denise Tedesco.
Coorientadora: Fabiana Tonial.
Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) –
Universidade de Passo Fundo, 2020.

1. Anfíbios. 2. Anuros. 3. Artrópode. 4. Sapos - Veneno.
5. Cadeias alimentares (Ecologia). I. Tedesco, Carla Denise,
orientadora. II. Tonial, Fabiana, coorientadora. III. Título.

CDU: 597.6

Catálogo: Bibliotecária Jucelei Rodrigues Domingues - CRB 10/1569

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação:

“Potencial antimicrobiano do veneno e ecologia alimentar de *Rhinella hensei* (Lutz, 1934) (Anura:Bufonidae)”

Elaborada por

DOUGLAS DA SILVA HUNING

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
“Mestre em Ciências Ambientais”

Aprovado em: 09/09/2020
Pela Banca Examinadora



Profa. Dra. Carla Denise Tedesco
Presidente da Comissão Examinadora – UPF/PPGciAmb



P/ **Profa. Dra. Sandra Maria Hartz**
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS



P/ **Profa. Dra. Andrea Michel Sobottka**
Universidade de Passo Fundo – UPF/PPGciAmb

DEDICATÓRIA

Para minha mãe, Meri, e meu filho, Moisés. Que os frutos de minha caminhada como pesquisador sejam usufruídos por minha família e por toda a humanidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe, que sempre lutou pelos sonhos dos filhos e me permitiu trilhar este caminho. Às minhas irmãs, que me forneceram estrutura emocional, financeira e logística durante minha pesquisa. Às minhas orientadoras, Carla D. Tedesco e Fabiana Tonial, que deram o máximo de apoio à pesquisa e me aconselharam com sabedoria. Agradeço a todos os membros dos laboratórios de Ecologia, Herpetologia, Microbiologia e Cromatografia. Agradecimentos especiais à Dr^a. Noeli Zanella pelo apoio logístico, aos meus companheiros e companheiras de laboratório Carlos Toffolo, Thaís Morrete, Humberto Gazola, Raissa Biondo, Laura Bonavigo, Jordana Machado, Júlia Brandalise, Vinicius Andrade, Lisiane Siqueira, Bruno Almeida e William Cunha pelo apoio nas campanhas de campo, à Júlia Brandalise e Caroline Ribeiro, pelo apoio na identificação da dieta, à Kielli Guerra, pelo apoio nos testes antimicrobianos, Nelson Bandeira, pelas análises cromatográficas, à Dr^a Michelle Nervo e Dr. Matheus Oliveira, pelo apoio nas análises estatísticas e ao Élinton Rezende do Muzar/UPF, pelo transporte a campo. Meus colegas de mestrado também estão presentes nesse trabalho, agradeço à todos pelo companheirismo e apoio, realizar essa caminhada ao lado de cada um tornou o trajeto mais agradável e melhor aproveitado. Igualmente, agradeço imensamente à Universidade de Passo Fundo pela estrutura fornecida aos alunos e pesquisadores e, finalmente, à Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa fornecida através de seus programas de fomento.

EPÍGRAFE

“Foram degraus para mim, subi por eles – para tanto, tive de superá-los. Mas eles acharam que eu queria descansar sobre eles...”

Friedrich Nietzsche

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais
Universidade de Passo Fundo

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO VENENO E ECOLOGIA ALIMENTAR DE *Rhinella henseli* (LUTZ, 1934) (ANURA:BUFONIDAE)

Autor: Douglas da Silva Huning

Orientadora: Dr^a Carla Denise Tedesco

Coorientadora: Dr^a Fabiana Tonial

Passo Fundo, agosto de 2020.

O declínio populacional dos anfíbios anuros em diversas regiões do planeta levou a uma série de esforços para compreender aspectos de sua ecologia e interações dentro da comunidade visando medidas de proteção das espécies, assim como chamar atenção para sua importância para o meio ambiente e a humanidade. Trabalhamos aqui com duas populações de *Rhinella henseli* (Lutz, 1934) (Anura:Bufonidae), uma espécie de sapo nativa do sul do Brasil, ambas amostradas na Mata de Pinheiros no sul da Mata Atlântica, sul do Brasil. Avaliamos o potencial antimicrobiano, composição química e variação espacial do veneno da espécie. Verificamos, pelo método de difusão em ágar, que o veneno inibiu a multiplicação da levedura *Candida albicans* e reduziu o crescimento da bactéria *Staphylococcus saprophyticus*. A composição do veneno da espécie foi baseada em bufadienolídeos esteroidais, que variaram entre as duas populações. O veneno de *Rhinella henseli* tem composição comum a outros anuros do grupo, e seu potencial antimicrobiano pode estar relacionado aos bufadienolídeos detectados na espécie. Para aprofundar o conhecimento sobre a espécie e buscar relações entre veneno dos sapos e seu ambiente, avaliamos a dieta de *R. henseli*, definindo sua amplitude de nicho, variação entre populações e entre estações climáticas. Descobrimos que ambas populações consomem predominantemente formigas do gênero *Pachycondyla* sp.. Detectamos também variação na dieta entre estação fria e quente. A composição de sua dieta, baseada em formigas, com pequena variação espacial, indica que *R. henseli* consome os itens mais abundantes no folheto da floresta, apesar de não analisarmos quimicamente, a espécie pode estar utilizando compostos sequestrados da dieta na síntese de seu veneno. Assim, o veneno de *Rhinella henseli* é composto por bufadienolídeos esteroidais cujos compostos variam entre as populações. O veneno da espécie possui bioatividade contra *Candida albicans* e *Staphylococcus saprophyticus*. Sua dieta é baseada *Pachycondyla* sp. e a composição de suas presas varia entre populações e períodos do ano.

Palavras-chave: Anfíbios anuros; bioatividade; subtropical úmido; artrópodes.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais
Universidade de Passo Fundo

ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF POISON AND FOOD ECOLOGY OF *Rhinella henseli* (LUTZ, 1934) (ANURA:BUFONIDAE)

Author: Douglas da Silva Huning

Advisor: Dr^a Carla Denise Tedesco

Co-supervisor: Dr^a Fabiana Tonial

Passo Fundo, august 2020.

The population decline of anuran amphibians in different regions of the planet has led to a series of efforts to understand aspects of their ecology and interactions within the community with a view to measures to protect species, as well as to draw attention to their importance for the environment and humanity. We work here with two populations of *Rhinella henseli* (Lutz, 1934) (Anura: Bufonidae), a species of frog native to southern Brazil, both sampled in the Mata de Pinheiros in southern Atlantic Forest, southern Brazil. We evaluated the antimicrobial potential, chemical composition and spatial variation of the species' venom. We verified, using the agar diffusion method, that the poison inhibited the multiplication of the yeast *Candida albicans* and reduced the growth of the *Staphyococcus saprophyticus* bacteria. The composition of the species venom was based on steroidal bufaloids, which varied between the two populations. The *R. henseli* venom has a composition common to other anurans in the group, and its antimicrobial potential may be related to the bufaloes detected in the species. To deepen the knowledge about the species and to search for relationships between frog poison and its environment, we evaluated the diet of *R. henseli*, defining its niche range, variation between populations and between climatic seasons. We found that both populations predominantly consume ants of the genus *Pachycondyla* sp. We also detected variation in the diet between the cold and hot seasons. The composition of its diet, based on ants, with little spatial variation, indicates that *R. henseli* consumes the most abundant items in the forest leaf, although we have not analyzed chemically, the species may be using compounds sequestered from the diet in the synthesis of its poison. Thus, the *R. henseli* venom is composed of steroidal bufaloids whose compounds vary between populations. The venom of the species has bioactivity against *C. albicans* and *S. saprophyticus*. Their diet is based on *Pachycondyla* sp. and the composition of its prey varies between populations and periods of the year.

Key-words: Anuran amphibians; bioactivity; humid subtropical; arthropods.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1: Áreas de amostragem de *Rhinella henseli* (Anura:Bufonidae). Parque Natural Municipal de Sertão e Floresta Nacional de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil 21

CAPÍTULO 2

Figura 1: Populações de *Rhinella henseli* (Anura:Bufonidae) amostradas. Parque Natural Municipal de Sertão e Floresta Nacional de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil 33

Figura 2: Composição da dieta de *Rhinella henseli* na estação seca/fria e úmida/quente. %IIR – Índice de importância relativa percentual; * Famílias de Coleoptera 38

Figura 3: Representação gráfica dos dois primeiros eixos do NMDS, mostrando que o consumo dos recursos alimentares da espécie *Rhinella henseli* mudou entre as estações seca e úmida de 2019..... 39

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1: Atividade antimicrobiana do veneno de *Rhinella henseli* contra diferentes microrganismos utilizando o método de microdiluição e difusão por poços. 24

Tabela 2: Compostos tentativamente identificados do veneno de duas populações de *Rhinella henseli* com base na comparação de dados espectrofotométricos obtidos de veneno de outros membros da família Bufonidae 25

CAPÍTULO 2

Tabela 1: Teste de eletividade de Jacobs, utilizado para determinar se *Rhinella henseli* seleciona suas presas ou as consome por disponibilidade. Dados de disponibilidade das classes de presas na área A, obtidos de Chincheleiro et al. (submetido) (Anexo 1)..... 36

Tabela 2: Índice de Importância Relativa (IIR) percentual das categorias de presas encontradas no conteúdo estomacal e Amplitude de Nicho Trófico Padronizado de Levins (Bsta) de *Rhinella henseli* em duas florestas da mata atlântica do sul do Brasil..... 37

Tabela 3: Índice de Importância Relativa (IIR) percentual das categorias de presas encontradas no conteúdo estomacal e Amplitude de Nicho Trófico Padronizado de Levins (Bsta) de *Rhinella henseli* em duas estações na Floresta Nacional de Passo Fundo (FLONA), na Mata Atlântica do Sul do Brasil 40

Tabela 4: Comparação entre níveis de identificação para determinar a amplitude de nicho de *Rhinella henseli*. Dados referentes à população A e B conjuntamente 42

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CRC – Comprimento rostro-cloacal.

LM – Largura da mandíbula.

FLONA – Floresta Nacional.

PNMS – Parque Natural Municipal de Sertão.

MO – Microrganismo.

CLAE – MS/MS – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas.

ESI – Ionização por Electrospray.

RSM - Metodologia de superfície de resposta.

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	12
1. INTRODUÇÃO	14
REFERÊNCIAS	17
2. CAPÍTULO 1	19
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO VENENO DO SAPO <i>Rhinella henseli</i> (ANURA:BUFONIDAE)	19
INTRODUÇÃO	19
METODOLOGIA	20
RESULTADOS.....	23
DISCUSSÃO.....	26
CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS	27
3. CAPÍTULO 2.....	31
ECOLOGIA ALIMENTAR DE <i>Rhinella henseli</i> (Lutz, 1934) (ANURA:BUFONIDAE): VARIAÇÃO NO ESPAÇO E TEMPO.....	31
RESUMO	31
INTRODUÇÃO	31
RESULTADOS.....	35
DISCUSSÃO.....	42
CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	45
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
ANEXO 1.....	50
ANEXO 2.....	51

1 INTRODUÇÃO

Os anfíbios anuros desenvolveram vários mecanismos de defesa ao longo de sua história evolutiva, dentre eles estão suas glândulas de veneno (WOODHAMS et al., 2016). As secreções venenosas dos bufinídeos, dendrobatídeos e outras famílias de sapos atuam tanto na defesa contra predação quanto na defesa contra agentes etiológicos favorecidos pela umidade característica da pele e do habitat dos anuros. (VARGA; BUI-MARINOS; KATZENBACK, 2018). Esta é de crucial importância para o grupo, pois como a maioria possui a pele úmida ou convive em ambientes com essa característica, estariam mais sujeitos a infecções por bactérias, fungos, protozoários e outros patógenos do ambiente (SALES et al., 2017). Do declínio de populações de anfíbios em todo o mundo está associado doenças emergentes, como a quitridiomiose, causada pelo fungo *Batrachochytrium dendrobatidis*, e ao ranavirus, causada por um vírus da família Iridoviridae (WOODHAMS et al., 2015).

O veneno dos anuros possui composição variável. Dentre os compostos mais estudados estão os alcaloides, estudados principalmente em dendrobatídeos e bufonídeos e conhecidos por sua ação cardiotoxica (DALY; SPANDE; GARRAFFO, 2005). O veneno desses grupos são utilizados por nativos das regiões tropicais para a caça a mamíferos e aves, usado em flechas envenenadas (TOLEDO; JARED, 1995). A presença de alcaloides no veneno dos anuros pode estar relacionada à sua dieta, principalmente de formigas, que fornecem compostos precursores para a biossíntese dos alcaloides (HOVEY et al., 2018). Temos também os bufadienolídeos esteroidais, descritos principalmente na família Bufonidae. Esses possuem origem genética e sua função na defesa contra predadores também envolve mecanismos de cardiotoxicidade (KERKHOFF et al., 2016). Os peptídeos, também de origem genética, vêm ganhando cada vez mais destaque na busca por novos antimicrobianos, sendo estudados em membros da família Hylidae (CONLON, 2011; CONLON et al., 2014).

A avaliação da atividade biológica do veneno dos anuros tem se mostrado uma opção na busca por moléculas capazes de inibir o crescimento de microrganismos patogênicos de importância para a saúde humana, como *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus* e outros (SCHMEDA-HIRSCHMANN et al., 2014; SOUSA-FILHO et al., 2016). Destes, destacamos principalmente os peptídeos antimicrobianos, cuja configuração em alfa-hélice facilita sua ação contra bactérias. Sua vantagem com relação aos antibióticos usuais se deve ao fato deles burlarem alguns mecanismos de resistência presentes na parede celular de bactérias

(CONLON, 2011). Os bufadienolídeos esteroidais também possuem ação confirmada contra bactérias e protozoários patogênicos (SALES et al., 2017).

A caracterização química de diferentes venenos de anfíbios nos permite detectar moléculas potencialmente bioativas, determinar as características dos componentes e avaliar a variação da composição conforme a espécie. Sabemos que os compostos químicos presentes no veneno dos sapos, além de diferir entre espécies, varia também entre populações (HAYES et al., 2009). Além disso, alguns grupos, como bufonídeos e dendrobatídeos, conseguem obter precursores de seus venenos através de sua dieta, composta principalmente por formigas e coleópteros (HANTAK et al., 2013; MCGUGAN et al., 2016). Assim, conforme a disponibilidade de diferentes alimentos, pode-se obter diferentes composições químicas do veneno (DALY, 1998).

Além da relação com o veneno de algumas espécies, a dieta dos anuros representa uma série de complexas relações tróficas, onde os sapos participam da transferência de energia dos níveis tróficos inferiores, representados, por exemplo, pelas formigas e besouros, para outros grupos na cadeia (ESTES et al., 2011). O gênero *Rhinella* compõe um grupo de bufonídeos que forrageiam sobre o solo, principalmente no folhiço de florestas, aproveitando poças momentâneas ou corpos d'água permanentes para sua reprodução. O estrato inferior das florestas tropicais e subtropicais tem sua biomassa animal composta predominantemente por formigas e coleópteros (HÖLLDOBLER, 1990). Os sapos de folhiço acabam consumindo tais presas em maior quantidade, seja por preferência ou por disponibilidade, sendo que, em algumas espécies, a variação espacial e temporal dos tipos de presas pode acarretar em mudanças na composição do veneno (MOSKOWITZ et al., 2017). Modificações no habitat podem interferir na estrutura trófica da comunidade como um todo, seja pelo declínio dos sapos ou pela modificação na comunidade de artrópodes.

Neste trabalho estudamos a espécie *Rhinella henseli* (Lutz, 1934), um bufonídeo do grupo *Rhinella* *cruficer* (JÚNIOR et al., 2004; LUTZ, 1933) que ocorre no sul do Brasil e que apresenta abundância relativa elevada. Essa espécie é encontrada principalmente no folhiço e próximo a corpos d'água, na presença de chuva é normal vê-los em abundância junto a poças d'água recém formadas.

Nosso objetivo foi avaliar a composição química e a atividade antimicrobiana do veneno da espécie, assim como a possível variação na composição química do veneno entre a população da FLONA de Passo Fundo e o PNM de Sertão. Sugerimos que a secreção cutânea dessa espécie pode inibir o crescimento de microrganismos patogênicos. Além disso, é provável que existam variações nos compostos químicos entre diferentes populações da espécie. Também estudamos a composição da dieta, sobreposição de nicho e amplitude de nicho nas duas populações. Em uma das populações

avaliamos também a variação da dieta entre período quente e frio, pois as diferenças de temperatura e umidade ao longo do ano podem estar modificando a abundância e composição de presas disponíveis para os sapos. Testamos se existe diferença na composição da dieta entre sapos capturados em buscas ativas e em armadilhas *pittfall*, assumindo como hipótese que a composição dos itens principais não se alteram com o método de captura dos sapos. Por fim, buscamos detectar se a amostragem dos indivíduos da espécie pode ser enviesada pela presença e ausência de chuvas nos dias de coleta.

Nosso estudo está dividido em dois capítulos, o primeiro capítulo é intitulado “Composição química e atividade antimicrobiana do veneno do sapo *Rhinella henseli* (Lutz, 1934) (Anura:Bufonidae)”, será submetido a *Current Bioactive Compounds*. O segundo capítulo trata dos estudos de ecologia alimentar e se intitula “Ecologia alimentar de *Rhinella henseli* (Lutz, 1934) (Anura:Bufonidae): Variação no espaço e tempo” e será submetido ao *Journal of Herpetology*.

REFERÊNCIAS

- CONLON, J. M. The contribution of skin antimicrobial peptides to the system of innate immunity in anurans. **Cell and Tissue Research**, v. 343, n. 1, p. 201–212, 2011.
- CONLON, J. M. et al. A family of antimicrobial and immunomodulatory peptides related to the frenatins from skin secretions of the Orinoco lime frog *Sphaenorhynchus lacteus* (Hylidae). **Peptides**, v. 56, p. 132–140, 2014.
- DALY, J. W. Thirty years of discovering arthropod alkaloids in amphibian skin. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 1, p. 162–172, 1998.
- DALY, J. W.; SPANDE, T. F.; GARRAFFO, H. M. Alkaloids from Amphibian Skin : A Tabulation of Over Eight-Hundred Compounds. p. 1556–1575, 2005.
- ESTES, J. A. et al. Trophic downgrading of planet earth. **Science**, v. 333, n. 6040, p. 301–306, 2011.
- HANTAK, M. M. et al. Dietary Alkaloid Sequestration in a Poison Frog: An Experimental Test of Alkaloid Uptake in *Melanophryniscus stelzneri* (Bufonidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 39, n. 11–12, p. 1400–1406, 2013.
- HAYES, R. A. et al. Ontogenetic variation in the chemical defenses of cane toads (*Bufo marinus*): Toxin profiles and effects on predators. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 4, p. 391–399, 2009.
- HÖLLDOBLER, B. & E.O. WILSON. 1990. The Ants. Cambridge, Belknap Press of Harvard University Press, 732p.
- HOVEY, K. J. et al. Sequestered Alkaloid Defenses in the Dendrobatid Poison Frog *Oophaga pumilio* Provide Variable Protection from Microbial Pathogens. p. 312–325, 2018.
- JÚNIOR, F.; CARAMASCHI, U.; HADDAD, C. Review of the *Bufo crucifer* species group, with descriptions of two new related species (Amphibia, Anura, Bufonidae). **Arquivos do Museu Nacional**, v. 62, n. 3, p. 255–282, 2004.
- KERKHOFF, J. et al. Quantification of bufadienolides in the poisons of *Rhinella marina* and *Rhaebo guttatus* by HPLC-UV. **Toxicon**, v. 119, p. 311–318, 2016.
- LUTZ, A. **Notas sobre espécies brasileiras do gênero Bufo**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, , 1933.
- MCGUGAN, J. R. et al. Ant and Mite Diversity Drives Toxin Variation in the Little Devil Poison Frog. **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, n. 6, p. 537–551, 2016.
- MOSKOWITZ, N. A. et al. Land use impacts poison frog chemical defenses through changes in leaf litter ant communities. **Biotechnology Class**, v. 2, 2017.

SALES, D. L. et al. Antibacterial, modulatory activity of antibiotics and toxicity from *Rhinella jimi* (Stevaux, 2002) (Anura: Bufonidae) glandular secretions. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 92, p. 554–561, 2017.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. et al. Antiproliferative activity and new argininyloxy bufadienolide esters from the “cururú” toad *Rhinella* (*Bufo*) *schneideri*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, n. 2, p. 1076–1085, 2014.

SOUSA-FILHO, L. M. et al. Biochemical Profile, Biological Activities, and Toxic Effects of Proteins in the *Rhinella schneideri* Parotoid Gland Secretion. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 325, n. 8, p. 511–523, 2016.

TOLEDO, R. C.; JARED, C. Cutaneous granular glands and amphibian venoms. **Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology**, v. 111, n. 1, p. 1–29, 1995.

VARGA, J. F. A.; BUI-MARINOS, M. P.; KATZENBACK, B. A. Frog Skin Innate Immune Defences: Sensing and Surviving Pathogens. **Frontiers in immunology**, v. 9, n. January, p. 3128, 2018.

WOODHAMS, D. C. et al. Antifungal isolates database of amphibian skin-associated bacteria and function against emerging fungal pathogens. **Ecology**, v. 96, n. 2, p. 595–595, 2015.

WOODHAMS, D. C. et al. Life history linked to immune investment in developing amphibians. **Conservation Physiology**, v. 4, n. 1, 2016.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A atividade antimicrobiana em *Rhinella henseli*, mesmo em extrato bruto, demonstra o potencial das moléculas sintetizadas por sapos no tratamento de doenças causadas por patógenos. A variação espacial na composição do veneno revela que diferentes populações podem apresentar diferentes compostos, seja por variação genética ou resposta ao ambiente. O fato de a espécie consumir predominantemente formigas mostra uma dieta generalista e oportunista, onde a disponibilidade e tamanho das presas no folheto do chão da floresta direcionam o consumo de formigas e besouros. Chama atenção o item predominante da dieta, formigas do gênero *Pachycondyla* sp., que podem estar associadas ao veneno da espécie através do sequestro de compostos químicos na alimentação. Apesar de não testado, outros sapos do grupo *Rhinella* consomem esse mesmo gênero de formiga e sequestram seus compostos para a síntese do veneno. Por fim, ressaltamos a importância do estudo de comunidades de anuros associando a ecologia alimentar, síntese de veneno e características ambientais, visando uma melhor compreensão de sua relação para futuros trabalhos, seja na conservação das espécies ou propriedades biológicas.

ANEXO 1

Dados de disponibilidade alimentar da área A (Floresta Nacional de Passo Fundo) para o ano de 2018. Dados de Chinczeiro et al. (submetido).

<u>Táxons</u>	<u>Abundância</u>
Arachnida	
Acari	69
Araneae	387
Opiliones	3
Insecta	
Blattodea	220
Coleoptera	4750
Collembola	6314
Dermaptera	10
Diptera	1881
Hemiptera	168
Hymenoptera	2171
Lepidoptera	52
Orthoptera	162
Siphonaptera	189
Crustacea	
Isoptera	1
Myriapoda	
Diplopoda	5
Mollusca	
Gastropoda	11
Não Identificado	43

ANEXO 2

Medidas de Comprimento Rostro-Cloacal (CRC) e Largura da Mandíbula (LM) dos indivíduos de *Rhinella henseli* capturados na Floresta Nacional de Passo Fundo e Parque Natural Municipal de Sertão. Dados incluem Abundância de presas, riqueza de grupos taxômicos e o volume da maior presa em cada estômago.

Amostra	CRC mm	LM mm	Abundância total	Gêneros/famílias	Riqueza ordens	Maior Volume
Sapo 1	56.55	19.75	2	0	1	0
Sapo 2	68.15	23.54	2	1	1	0
Sapo 3	56.55	20.81	25	5	1	0.83
Sapo 4	43.46	16.52	6	5	2	0.83
Sapo 5	61.82	21.04	10	5	2	0.44
Sapo 6	57.21	20.17	2	0	1	0
Sapo 7	57.15	21.32	1	1	1	0.76
Sapo 8	49.02	17.03	5	2	3	1.52
Sapo 9	62.23	21.01	87	7	4	1.66
Sapo 10	53.69	19.79	5	4	2	1.66
Sapo 11	59.07	20.44	7	1	2	1.66
Sapo 12	53.64	19.70	1	0	1	0
Sapo 13	57.84	20.65	1	1	1	0.43
Sapo 14	66.98	24.33	3	1	2	0.86
Sapo 15	55.04	20.47	3	1	2	0.76
Sapo 16	56.81	20.83	11	2	3	0.86
Sapo 17	58.10	21.8	6	0	1	0
Sapo 18	62.15	22.31	54	8	2	8.33
Sapo 19	47.06	16.42	3	0	2	0
Sapo 20	45.20	17.33	3	3	1	0.83
Sapo 21	60.34	20.30	5	2	3	0.43
Sapo 22	56.66	20.30	18	8	2	5
Sapo 23	50.89	19.16	9	3	3	1.66
Sapo 24	62.36	22.47	20	1	3	1.66
Sapo 25	51.65	18.22	6	1	3	0.52
Sapo 26	45.17	16.68	1	1	1	0.83
Sapo 27	46.49	17.92	4	2	2	2.5
Sapo 28	51.65	18.22	19	4	2	0.26
Sapo 29	49.94	18.06	9	4	3	1.66
Sapo 30	59.54	23.96	1	1	1	0.63
Sapo 31	45.41	16.87	10	4	3	1.66
Sapo 32	50.45	18.98	4	1	2	2.5
Sapo 33	50.62	19.24	6	5	1	0.83
Sapo 34	51.59	18.93	1	1	1	0.63
Sapo 35	47.16	16.81	3	2	1	1.66
Sapo 36	52.62	18.59	2	2	2	0.83
Sapo 37	55.40	20.20	6	3	3	0.63
Sapo 38	53.01	19.00	5	4	2	0.83
Sapo 39	64.83	23.56	3	3	1	0.45
Sapo 40	56.24	20.76	16	4	5	3.32

Continua...

Amostra	CRC mm	LM mm	Abundância total	Gêneros/famílias	Riqueza ordens	Maior Volume
Sapo 40	56.24	20.76	16	4	5	3.32
Sapo 41	53.82	20.16	3	1	1	0.78
Sapo 42	54.53	21.04	1	1	1	0.83
Sapo 43	59.96	20.95	8	4	4	1.66
Sapo 44	45.71	17.77	4	2	1	0.33
Sapo 45	55.40	20.20	2	1	1	0.26
Sapo 46	65.33	24.11	5	2	2	0.83
Sapo 47	61.61	23.55	12	4	2	2.5
Sapo 48	46.10	16.39	4	3	1	0.26
Sapo 49	47.99	19.36	8	3	2	1.66
Sapo 50	45.72	15.74	22	5	1	0.75
Sapo 51	48.62	18.30	8	1	2	0.76
Sapo 52	48.40	18.80	10	1	2	0.63
Sapo 53	66.00	21.49	14	6	3	1.66
Sapo 54	70.86	25.26	6	4	2	1.66
Sapo 55	60.20	21.22	2	1	2	0.83
Sapo 56	40.18	12.59	1	1	1	0.11
Sapo 57	54.15	18.15	18	5	3	4.16
Sapo 58	51.98	19.15	20	7	3	4.16
Sapo 59	67.91	23.56	5	2	3	0.76
Sapo 60	57.71	21.35	11	3	3	0.68
Sapo 61	53.61	20.22	16	7	2	2.5
Sapo 62	61.71	23	4	2	1	1.66
Sapo 63	55.05	20.77	14	2	2	7.2
Sapo 64	59.46	21.58	8	2	2	4.16
Sapo 65	53.68	21.86	1	0	1	0
Sapo 66	53	20	14	2	2	8.84
Sapo 67	48.59	16.94	3	1	2	1.35
Sapo 68	51.24	18.82	2	2	2	0.68
Sapo 69	43.59	15.97	1	0	1	0
Sapo 70	59.44	23.11	8	3	2	2.5
Sapo 71	70.78	24.96	38	3	2	8.56



PPGCiamb
 Programa de Pós-Graduação
 em Ciências Ambientais