

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA
BIODIVERSIDADE**

Ecologia trófica, estrutura populacional e status de conservação de baleias do gênero *Balaenoptera* no Atlântico Sul Ocidental a partir de isótopos estáveis, análise genética e revisão de capturas.

Orientador/e-mail: Julio Baumgarten, baumgarten.julio@gmail.com



Nome do Candidato/e-mail: Lucas Milmann de Carvalho, lcilmann@gmail.com

Nível/Ano de ingresso: Doutorado, 2016

Ilhéus 22/12/2015

1. RESUMO

Os balaenopterídeos (Família Balaenopteridae) foram intensamente exploradas comercialmente nos últimos séculos, com espécies ainda em recuperação populacional. Inferências a respeito da ecologia de diversas espécies do grupo são baseadas em números limitados de observações em campo, dados de caça, indivíduos encalhados. Mesmo para as espécies mais abundantes faltam ainda parâmetros para acesso do seu *status* de conservação, como é o caso da baleia-minke-antártica e baleia-minke-anã, consideradas deficientes em dados (DD) no Brasil. Para melhor compreensão sobre uso de habitat e estrutura populacional são necessárias diversas ferramentas, número significativo de indivíduos amostrados e uma revisão de diversas informações fragmentadas. Para isso, o presente estudo pretende revelar uma série de aspectos relacionados às espécies do gênero, utilizando diversas metodologias sequencialmente, começando com a caracterização genética de balaenopterídeos encalhados ao longo de um período de 24 anos no Rio Grande do Sul e verificando possíveis relações com condições climáticas locais e continentais. Além disso, os indivíduos encalhados no Rio Grande do Sul tiveram a análise de isótopos de ossos e cerdas realizada recentemente, sendo uma meta a busca por mais de outras localidades do Atlântico Sul Ocidental, buscando elucidar diversos aspectos sobre a ecologia das baleias de cerda.

2. INTRODUÇÃO

Existem diversos aspectos ecológicos relativos à família Balaenopteridae a serem conhecidos no Atlântico Sul Ocidental (Andriolo *et al.* 2007, Salvatore *et al.* sd, Miloslavich *et al.* 2011). Para isso, técnicas como a genética e isótopos estáveis possibilitam que se elucide série de questões relacionadas a mamíferos marinhos (Aurioles *et al.* 2006, Oliveira *et al.* 2012), demonstrando a existência de diversos aspectos ecológicos ainda ignorados a respeito dos cetáceos. A partir das duas, sabe-se que embora indivíduos de baleia-franca (*Eubalaena australis*) possuam haplótipos parecidos, seus valores de Nitrogênio e Carbono foram diferentes, evidenciando existência de múltiplas áreas de alimentação da espécie (Vighi *et al.* 2014). Vale destacar que esta espécie pertence à família Balaenidae.

A avaliação do status de uma população, seu crescimento ou redução, assim como sua trajetória ao longo do tempo, é primordial para o estabelecimento de medidas em prol da conservação de uma espécie (Burgman *et al.* 1993, Read, 2010). Neste sentido, o registro de capturas dos baleeiros, mesmo que de forma geral fragmentados, é fundamental para avaliações populacionais das baleias, sendo recentemente utilizada para reavaliar a caça da baleia-jubarte no Brasil (Morais, 2014).

Atualmente, existem 88 espécies de cetáceos no mundo, com registros confirmados de 43 em águas brasileiras (Ott *et al.* 2013). Dentre eles estão os misticetos (Misticety) ou baleias de barbatanas, representados por quatro famílias. A família Balaenopteridae inclui atualmente oito espécies reconhecidas (Committee of Taxonomy, 2015), das quais sete possuem registros confirmados em águas brasileiras. Dentre os balaenopterídeos está a baleia-minke (*Balaenoptera bonariensis*) e a baleia-minke-anã (*B. acutorostrata*).

Até recentemente apenas *B. acutorostrata* era reconhecida como espécie válida de

baleia-minke. No entanto, revisões morfológicas (e.g. Omura 1975, Best 1985) e genéticas (e.g. Wada *et al.* 1991, Pastene *et al.* 1994) evidenciaram a existência de uma segunda espécie, *B. bonariensis* com distribuição restrita ao hemisfério sul. Esta separação relativamente recente, aliada a dificuldade para diferenciação entre as duas formas, torna difícil o acesso ao status de conservação delas no Brasil, sendo recomendados novos estudos genéticos (Zerbini *et al.* 1997).

Dada a falta de conhecimento relacionado ao status de conservação destas duas espécies, pouco se sabe sobre a estrutura populacional e resposta das populações a pressões como a colisão com grandes embarcações e capturas acidentais por apetrechos de pesca (ICMBIO, 2011). Neste sentido, o Plano de Conservação dos Mamíferos Aquáticos estipula como meta principal a implantação de um programa de pesquisa com foco no status de conservação tanto das duas espécies de minke assim como de outras espécies da família Balaenopteridae: sua estrutura populacional, padrão de distribuição e influência de parâmetros ambientais em relação à suas distribuições (ICMBIO, 2011).

3. OBJETIVOS

A presente projeto visa investigar as espécies de baleias do genero *Balaenoptera* que utilizam o Atlântico Sul Ocidental, a partir da aplicação de técnicas tradicionais e inovadoras. Em adição à caracterização das populações da comunidade, especial atenção será dada à ecologia trófica e estruturação populacional destas espécies, ainda consideradas como insuficientemente conhecidas (ICMBIO, 2011).

O desenvolvimento do projeto, contudo, visa também a revisão de dados de capturas comerciais, visando tanto reunir como gerar novas informações para o estabelecimento de medidas efetivas de proteção destas espécies, assim como o conhecimento a respeito da saúde dos ecossistemas costeiros e oceânicos brasileiros.

Dentro deste contexto, a atual proposta apresenta os seguintes objetivos específicos:

- Elaborar uma revisão sobre os dados de encalhes das espécies de *Balaenoptera* no Rio Grande do Sul ao longo de 24 anos, buscando identificar aqueles indivíduos ainda não identificados a nível específico através de análise genética;
- Identificar elos entre anomalias climáticas e picos de encalhes, definindo quais fatores contribuem de forma mais significativa em anos de maior mortalidade das baleias de cerda;
- Caracterizar geneticamente as populações de balenopterídeos encalhados no Rio Grande do Sul e costa brasileira, visando contribuir para a definição de sua estrutura populacional das espécies no Atlântico Sul Ocidental;
- Contribuir para o conhecimento das relações ecológicas de *Balaenoptera* a partir da análise de isótopos estáveis;
- Revisar os dados de caça pré-moderna e moderna da baleia-minke e baleia-minke-anã em regiões que possam ter sido ou são ocupadas por estes animais através da revisão de séries de capturas da *International Whaling Commission*;
- Incorporar resultados obtidos com esta investigação a parâmetros populacionais, a fim de acessar do *status* de conservação ao menos da

baleia-minke e baleia-minke-anã, ainda deficiente em dados no Brasil.

4. METODOLOGIA

4.1. Área de Coleta:

O litoral norte médio do estado do Rio Grande do Sul se situa entre as localidades de Torres (29°19'S, 49°43'W) e o Parque Nacional da Lagoa do Peixe, em Tavares (31°15'S, 50°54'W), compreendendo uma área de aproximadamente 250 km de extensão (Figura 1). Esta parte da costa sul brasileira se encontra na Zona de Convergência Subtropical, estando sob influência tanto da Corrente do Brasil e como da Corrente das Malvinas (Silveira *et al.* 2000).

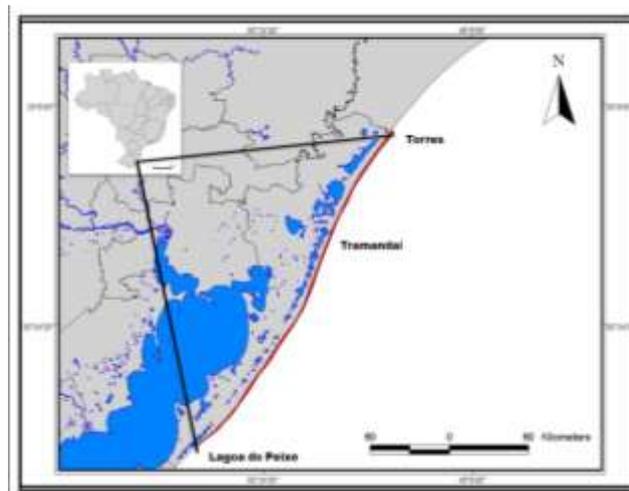


Figura 1. Mapa demonstrando a área de estudo (em vermelho), no litoral norte e médio do Rio Grande do Sul. Fonte: Autor.

A Corrente do Brasil (CB) é uma corrente de contorno oeste associada ao Giro Subtropical do Atlântico Sul. Segundo Silveira *et al.*, 2000, esta corrente se origina ao sul de 10°S, na região onde o ramo mais ao sul da Corrente Sul Equatorial (CSE) se bifurca, formando também a Corrente do Norte do Brasil. A CB então flui para o sul, bordejando o continente sul-americano até a região da Convergência Subtropical (33-38°S), onde conflui com a Corrente das Malvinas e se separa da costa. Essas massas de água são resultantes do empilhamento das massas de águas características do Atlântico Sul, onde se pode encontrar Água Tropical, Água Central do Atlântico Sul, Água Intermediária Antártica, Água Circumpolar Superior e Água Profunda do Atlântico Norte (Silveira *et al.* 2000).

No extremo sul do continente americano, a Corrente Circumpolar Antártica se move em sentido oeste para leste, se dividindo em dois grandes braços: Corrente de Humboldt, no Pacífico, e Corrente das Malvinas, no Atlântico. Esta última pertencente ao sistema Atlântico Sul possui águas frias e temperadas, atingindo a latitude de até 40°S (Crespo, 2009). Esta área representa um ambiente de elevada produtividade (Castello *et al.* 1998).

4.2. Coleta de Dados:

4.2.1. Exemplos de Balaenopteridae

A fonte inicial de informações será um banco de dados históricos sobre encalhes de mamíferos marinhos na costa do Rio Grande do Sul, no sul do Brasil. Os exemplares foram coletados entre agosto de 1990 e dezembro de 2015 (Tabela 1), com a utilização de um veículo durante diferentes projetos (e.g. Mamíferos e Aves Marinhas da Costa do Rio Grande do Sul: Conservação e Monitoramento Ambiental), desenvolvido pelo Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul (GEMARS).

Os espécimes encontrados mortos foram identificados e fotografados e, de acordo com suas condições, sexados e medidos externamente, sendo o comprimento total tomado paralelamente conforme protocolo padrão de coleta de pequenos cetáceos (Norris, 1961). Além disso, foi coletado material testemunho e tombado em uma coleção osteológica do Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul (GEMARS). Para indivíduos em estágios precoces de decomposição (Geraci 1, 2 ou 3), outras coletas foram realizadas (e.g. coleta de conteúdo estomacal, gônadas, material genético, *swabs* e órgãos para análise histopatológica).

Nome científico	Nome comum	N	Esqueleto	Cerdas bucais
<i>Balaenoptera acutorostrata</i>	Baleia-minke-anã	21	20	15
<i>Balaenoptera edeni</i>	Baleia-de-Bryde	8	5	1
<i>Balaenoptera musculus</i>	Baleia-azul	1	0	1
<i>Balaenoptera physalus</i>	Baleia-fin	1	1	0
<i>Balaenoptera sp.</i>	-	10	9	1

TABELA 1. Número amostral de balaenopterídeos coletados no litoral norte e médio Rio Grande do Sul desde 1990 até o presente momento, pelo Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos (GEMARS), indicando o número de cerdas bucais e quantidade de material osteológico.

Além destes exemplares, outras coleções serão consultadas para obtenção de mais amostras de ossos, tecido e cerdas bucais de indivíduos do gênero *Balaenoptera*. É importante destacar a importância de elucidar qualquer aspecto em relação aos padrões de migração e ocorrência do gênero, de forma geral ainda pouco conhecida em águas brasileiras (Zerbini *et al.* 1997, Andriolo *et al.* 2007, Siciliano *et al.*, 2011).

Dada essa lacuna no conhecimento, estão sendo estudadas diferentes espécies do grupo nesta investigação, mesmo podendo haver em determinados momentos um maior foco devido a uma quantidade maior de indivíduos coletados e informações mais refinadas em relação as capturas, como é o caso para as baleias minke-anã e minke-antártica, respectivamente. Ainda justificando a motivação pela investigação deste grupo em geral, vale mencionar o número de baleias não identificadas já coletadas (n=10), podendo se revelar tanto de espécies mais frequentes na plataforma como a *B. acutorostrata* como espécies oceânicas pouco frequentes no local, como a baleia-azul.

4.2.2. Dados climáticos:

Mudanças climáticas estão ocorrendo em todo mundo, no entanto é difícil detectar sua influência direta nos cetáceos, tanto devido a variação heterogênea entre locais como a grande quantidade de interações dos cetáceos (Truchon *et al.* 2013). Para detecção de anos diferenciados em relação ao número de encalhes irá se caracterizar as espécies do genero *Balaenoptera* encalhados: espécies presentes, variação interanual da comunidade e picos de encalhe.

Partindo desta caracterização, irá se verificar a influência de parâmetros climáticos como variação da temperatura da água superficial (*surface sea temperature*) em suas áreas de alimentação no Atlântico Sudoeste e pelo Índice de Oscilação Sul (*Southern Oscillation Index*, SOI) no oceano Pacífico (Neves, 2014), determinantes na distribuição e biomassa do krill (Leaper *et al.* 2006), principal alimento das baleias de cerda. Recentemente, uma investigação utilizando estes parâmetros se mostrou eficiente para a verificação de relação entre variações climáticas e sucesso reprodutivo da Baleia-jubarte no banco de Abrolhos (Neves, 2014), revelando um período de aproximadamente três anos entre anomalias climáticas e efeitos negativos nos índices reprodutivos da espécie.

Além desses, fatores climáticos locais como índice de precipitação, direção e intensidade dos ventos e influência das correntes serão levados em consideração e incorporados nos modelos, uma vez que indivíduos podem permanecer nestas latitudes durante o ano todo, sendo potencialmente influenciados. Além disso, estes fatores locais são responsáveis por grande deriva das carcaças (Prado *et al.* 2013), possibilitando ou não no depósito da carcaça na beira da praia e seu registro de ocorrência (Peltier *et al.* 2012).

4.3. Análises Genéticas

Coleta das Amostras e Extração de DNA

Amostras de pele e gordura dos indivíduos mencionados na tabela 1 serão utilizados. As amostras de tecido armazenadas em álcool 90oGL, a -20°C. A extração do DNA genômico será feita com o auxílio do kit de extração Qiagen DNA Investigator (QIAGEN®) ou pelo método fenol-clorofórmio (Sambrook *et al.*, 1989), com algumas modificações (Shaw *et al.*, 2003).

Determinação do Sexo dos Indivíduos

A determinação do sexo dos indivíduos amostrados será realizada geneticamente, com a utilização de iniciadores que amplificam uma região específica dos genes *Zfx* e *Zfy*, conforme descrito por Shaw *et al.* (2003).

Estruturação Populacional

Para a análise da estrutura populacional de balaenopterideos, serão analisados tanto marcadores mitocôndrias quanto nucleares (microssatélites). Nesse sentido, um fragmento de interesse será amplificado via reação em cadeia da polimerase (PCR) (do inglês *Polymerase Chain Reaction* - Saiki *et al.*, 1985), utilizando dois pares de iniciadores (*primers*) específicos para a região controladora do DNA mitocondrial (fragmento esperado de 500pb) usando os iniciadores: THR e TDKD (Kocher *et al.*

1989) e Dlp-5 e Dlp-10 (Baker et al. 1993). As reações de amplificação serão realizadas de acordo com as condições estabelecidas por Baker et al. (1993).

Parte do produto de PCR será analisada em gel de agarose 1,5%, utilizando-se um marcador de tamanho molecular como referência, para a verificação da amplificação do DNA. Nas amplificações de boa qualidade, o volume restante do PCR será purificado para a retirada de iniciadores remanescentes e nucleotídeos não incorporados, através de incubação com as enzimas fosfatase alcalina e exonuclease I. A partir destes produtos de PCR purificados serão realizadas as reações de sequenciamento, de ambas as fitas, utilizando o kit de terminadores marcados da Amersham Biosciences. As reações da região controladora do DNA mitocondrial serão lidas no sequenciador automático na empresa coreana MacroGen© que se responsabilizará pelo sequenciamento.

Para a genotipagem dos microssatélites, serão amplificados via PCR 20 *loci* de microssatélites altamente polimórficos e desenvolvidos para cetáceos em geral: EV1, EV5, EV30, EV37, EV94, EV104 (Valsecchi & Amos 1996); SW2, SW10, SW13, SW15, SW19 (Richard et al. 1996) desenvolvidos para *P. macrocephalus*; GATA28, GATA417, GATA53 (Palsbøll et al. 1997) desenvolvidos para mysticetos em geral; TEXTVET5 (Rooney et al. 1999), DO8, DO22 (Shinohara et al. 1997) desenvolvidos para *T. truncatus*; FCB1, FCB14, FCB17 (Buchanan et al. 1996) desenvolvidos para *Delphinapterus leucas*.

As fluorescências serão aplicadas nos *loci* de microssatélites individualmente usando uma cauda de 19pb conhecida como M13 e as reações de PCR serão separadas em duas reações de multiplex utilizando Type It Kit (Qiagen) seguindo os protocolos recomendados. Condições específicas de termociclagem para cada taxa serão utilizadas. Os tamanhos dos alelos serão automaticamente avaliados utilizando o programa GeneMarker v1.95. Para garantir uma alta qualidade de genotipagem, todas as amostras serão individualmente inspecionadas no GeneMarker e os resultados incorretos serão corrigidos.

Os desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) (Guo & Thompson 1992), desequilíbrio de ligação (DL), estimativas de diversidade genética (heterozigosidade esperada (He) e heterozigosidade observada (Ho)), estruturação populacional (Fst e ϕ st) serão testados usando o software Arlequin v3.5.1.2. As frequências alélicas serão determinadas com o programa Arlequin v3.5.1.

Para a análise da estrutura populacional avaliada através dos *loci* microssatélites será utilizado o método bayesiano do software STRUCTURE v. 2.3.4 (Pritchard et al. 2000) para definir o número de populações geneticamente diferenciadas na amostra total. Será testada a possibilidade de existência de até 10 populações (K=1 até K=10), de onde serão realizadas 10 corridas independentes em 1.000.000 de interações MCMC (Markov Chain Monte Carlo), precedidas de *burn-in* de 1.000.000 de interações. De maneira complementar ao STRUCTURE será utilizado o programa STRUCTURAMA (Huelsenbeck & Andolfatto, 2007 - que compreenderá uma corrida de 1.000.000 de ciclos MCMC com populações definidas como uma variável randômica. Desta maneira também será avaliada a consistência no número de populações (K) propostas inicialmente pelo STRUCTURE.

Com os programas LAMARC (Kuhner, 2006) e Migrate-n v3.5.1 (Beerli & Felsenstein 2001) será verificado o fluxo gênico e diversidade genética entre os indivíduos e provavelmente diferentes populações de balaenopterídeos ao longo da costa do Rio Grande do Sul e, se possível, do Brasil. Neste sentido, é importante destacar que o proponente deste projeto já conta com amostras de baleias coletadas previamente (Tabela 1). A totalidade das análises genéticas será realizada no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade do Vale dos Rios dos Sinos

(UNISINOS).

4.4. Isótopos Estáveis

Para a análise de isótopos estáveis ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$), uma amostra de pele, osso ou cerda bucal dos mamíferos marinhos foi utilizada. O tecido foi liofilizado e homogeneizado (almofariz e pistilo). As análises foram realizadas em um espectrômetro de massa Finnigan ThermoQuest Delta Plus® (Finnigan MAT) acoplado a um analisador elementar. Os valores padrões para análises de carbono e nitrogênio foram determinados em *Pee Dee Belemnite* (PDB ‰) de carbonato e nitrogênio atmosférico, respectivamente:

$${}^j/i\text{X} = \frac{({}^j\text{X}/{}^i\text{X})_{\text{amostra}}}{({}^j\text{X}/{}^i\text{X})_{\text{padrao}}} - 1 \quad (\text{Eq 1})$$

onde ${}^j\text{X}$ é a resposta dos isótopos pesados (^{15}N ou ^{13}C), e ${}^i\text{X}$ dos isótopos leves (^{14}N ou ^{12}C). O método foi otimizado conforme apresentado por Post et al. (2007) sendo que a precisão analítica não foi maior que $\pm 0,5$ ‰.

Vale destacar que já foram realizadas as análises isotópicas de dois indivíduos de *B. acutorostrata* enalhados no Rio Grande do Sul, garantindo resultados para o presente projeto sem custos iniciais. De qualquer forma, é importante destacar que novos recursos financeiros serão buscados, para realização das outras análises e, se possível, o material biológico de outras coleções também será analisado.

4.5. Revisão dos dados de caça

Dados públicos disponibilizados pela *International Whaling Commission* (IWC) de capturas de Balaenopteridae no Atlântico Sul serão requisitados. Em geral estes dados são acessados em Seattle, no National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). Estes dados foram acessados recentemente por Morais (2014) para revisão da caça da Baleia-jubarte (*M. novaengliae*). Estas informações permitem uma série de inferências relacionadas ao período e locais de maior ocorrência das espécies, características biológicas como tamanho, condição corporal e maturidade dos indivíduos e principalmente períodos de picos de mortalidade (Lucena, 2006), importantes para que se conheça a trajetória populacional das espécies e respostas a diferentes pressões (Boyd et al. 2010)

A caça as baleias atuou sobre diversas espécies, entre elas: fin, sei, bryde e minke. Vale salientar que a baleia-minke foi uma das últimas espécies a serem exploradas comercialmente e, por isso, é a espécie de baleia com registros de captura mais detalhados (Zerbini et al. 1997, Lucena, 2006). Existe grande variação no número de capturas entre espécies, sendo que 14,600 minkes foram caçadas na costinha entre 1965 e 1985 (Zerbini et al. 1997), 4,700 sei em cinco décadas e, durante todo período de caça, apenas 3 indivíduos da baleia-azul (Salvatore et al. IWC).

Além destes dados, existem informações provenientes de Tags Discovery, desenvolvidos pelos britânicos das expedições Discovery pra tentar entender o deslocamento das baleias. Era simples, um baleeiro disparava um tag Discovery por uma espingarda e deixava a baleia ir. Depois, quando a baleia fosse capturada em outro local, o baleeiro que a pegou veria o tag e a numeração e entraria em contato com o

British Survey. Estas informações a respeito de áreas utilizadas historicamente são importantes, servindo como indicadores em caso de recuperação das populações e indicativos de áreas preferencias. Estes dados em conjunto possivelmente serão incorporados para caracterizar rotas migratórias ainda pouco conhecidas, utilizando sistema de informação georeferenciada (GIS).

4.6. Status e tendências populacionais

Detectar crescimento ou declínio populacional é fundamental para o manejo das espécies, no entanto, é um dos componentes mais difíceis a serem determinados (Barlow & Reeves, 2009; Read, 2010). Para estas estimativas é importante que sejam incorporados o máximo de informações e parâmetros biológicos da espécie a ser avaliada no modelo (Read, 2010). Neste sentido, dados obtidos ao longo do presente estudo relacionados a estrutura populacional das espécies de balaenopterídeos, suas relações tróficas, taxas e períodos de mortalidade assim como outros parâmetros biológicos e informações ecológicas em geral serão utilizados, para tentar acessar o status de conservação das espécies investigadas.

5. ANÁLISE DOS DADOS

Existe grande dificuldade inerente ao trabalho com grandes cetáceos devido ao baixo número de encalhes e ao grande tamanho dos indivíduos (Zerbini *et al* 1997). Neste sentido, o grande número de baleias coletados (Tabela 1) é um resultado direto do esforço mútuo de diferentes pesquisadores do GEMARS, integrando diferentes instituições, pesquisadores e estudantes ao longo de aproximadamente 25 anos. Os indivíduos já foram coletados graças a chamadas e monitoramentos de praia. A publicação de informações relacionadas aos indivíduos encalhados no Rio Grande do Sul, como presença de conteúdo estomacal, condições corporais e estágio de desenvolvimento revelarão aspectos ecológicos destas baleias em águas brasileiras.

A relação entre a taxa de encalhe de diferentes espécies com variáveis ambientais será explorada a partir de Modelos Lineares Generalizados (GLMs). O Melhor modelo para cada espécie será selecionado utilizando Critério de Informação de Akaike (AICc), que mede a distância relativa do modelo apto e o mecanismo desconhecido que gerou a data observada penalizando o modelo por sua complexibilidade (número de parâmetros), e utilizando também o princípio da parcimônia (Burnham and Anderson 2002). Estas análises serão realizadas na UESC e, se possível, junto a especialista em mudanças climáticas, Dr. Jaume Forcada, da British Antarctic Survey.

A totalidade das análises genéticas será realizada no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS). Neste sentido existe uma parceria com a Dra. Larissa Rosa de Oliveira, também pesquisadora do Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul (GEMARS). Vale salientar que parte das amostras biológicas dos indivíduos coletados já estão depositados na UNISINOS.

As análises de isótopos estáveis e esqueleto de alguns indivíduos foi realizada recentemente, restando agora a aquisição do conhecimento para a discussão dos resultados e novas verbas para a análise do resto do material. Vale salientar a importância destes resultados inéditos sobre a ecologia de balaenopterídeos, com uma metodologia bastante atual, garantido resultados para publicação e hipóteses a serem discutidas. Além disso, existe ainda a intenção de obtenção de verba através de editais,

para análise de um maior número de amostras, doados por outros grupos de estudo. Neste caso, as análises serão realizadas na Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF).

As análises dos dados de caça serão interpretadas de forma descritiva e incorporadas a modelos populacionais. Os dados de captura das baleias no Atlântico Sul Ocidental é disponibilizado pelo NOAA e geralmente é consultado na sua biblioteca, em Seattle. Existe a intenção de se estabelecer uma colaboração com o pesquisador e funcionário da instituição, Dr. Alexandre Zerbini, especialista neste tipo de análise grande pesquisador da família Balaenopteridae.

6. CRONOGRAMA

O projeto foi planejado para um período de quatro anos, com informações sobre o cronograma na tabela abaixo. Vale lembrar que para a revisão do status, a ser realizada entre o segundo semestre de 2018 e o primeiro de 2019, está inclusa a organização e realização de um workshop, reunindo diversos profissionais da área.

Atividades	2016		2017		2018		2019	
	Sem. 1	Sem. 2						
Levantamento Bibliográfico	X	X	X	X	X	X	X	
Curso dos créditos	X	X	X	X				
Caracterização genética dos indivíduos	X	X	X					
Levantamento e análise de dados climáticos	X	X	X	X				
Revisão das capturas				X	X	X		
Análises isotópicas			X	X	X	X		X
Apresentação em eventos		X		X				
Revisão do Status das duas espécies						X	X	
Publicações					1			2 3
Defesa								X

Sem. = semestre.

TABELA 2. Cronograma de atividades do presente projeto de pesquisa destacando que a maioria das análises isotópicas já foram realizadas, havendo um período caso sejam inclusas novas amostras.

Durante a vigência do doutorado se prevê a submissão de ao menos três artigos científicos relacionados aos temas gerais, mencionados abaixo. No entanto, vale destacar que devido ao grau de informação adquirido de cada espécie permitirá a publicação de artigos sobre questões específicas referentes as diferentes espécies, como a questão da baleia-minke-anã, com dados que corroboram sua permanência em águas brasileiras ao longo de todo ano, por exemplo.

Publicação 1: Sazonalidade de ocorrência de balaenopterideos no Rio Grande do Sul durante 25 anos de monitoramento e sua relação com variações climáticas continentais e locais;

Publicação 2: Caracterização genética e isotópica de balaenopterideos no Rio Grande do Sul;

Publicação 3: Utilizando múltiplas abordagens para acessar o status de conservação das baleias-de-cerda no Brasil, com ênfase para a baleia-minke e baleia-minke-anã.

7. IMPACTOS DO ESTUDO PARA A CONSERVAÇÃO

Existem poucos registros de encalhes das grandes baleias no Brasil (Zerbini *et al.* 1997), mesmo incluindo registros mais recentes na região norte (Siciliano *et al.* 2011). Para exemplificar esta falta de dados podemos citar a baleia-azul (*Balaenoptera musculus*), com apenas três encalhes confirmados e material biológico coletado (Zerbini *et al.* 1997, Siciliano *et al.* 2008, Siciliano *et al.* sd). Destes, um dos exemplares já teve seu material isotópico analisado e possivelmente os outros dois esqueletos serão analisados. A informação obtida através desta ferramenta neste caso pode indicar semelhanças ou diferenças em áreas de alimentação, completamente desconhecida no Brasil.

De forma geral, respostas obtidas com a análise de isótopos estáveis permitem a inferência sobre diversos fatores associados ao uso do ambiente pelos animais, detectando variações de estratégias alimentares e locais de forrageio entre indivíduos da mesma espécie (Aurioles *et al.* 2006) e, neste caso, comparando entre as diferentes espécies da família. Conhecer aspectos relacionados ao uso de habitat e interações tróficas é importante para a biologia da conservação, subsidiando informações para medidas de conservação, como o design eficaz de áreas marinhas eficazes (Boyd *et al.* 2010).

Diferentes hipóteses serão testadas e aspectos ecológicos inéditos relacionados a cada espécie do genero (*Balaenoptera*) serão revelados, sendo difícil descrever o valor intrínseco desta investigação para a conservação da biodiversidade. Por exemplo, análises genéticas de 8 indivíduos coletados no Rio Grande do Sul e possivelmente em outras localidades auxiliarão na compreensão da estrutura populacional da Baleia-de-bryde (*Balaenoptera brydei*), uma espécie recentemente revelada por estudos genéticos na costa brasileira (Pastene *et al.* 2015). Neste caso, a compreensão da taxonomia e estrutura populacional desta espécie pode ser importante ferramenta para sua conservação, auxiliando na tomada de decisões de manejo. Além disso, espécies pertencentes a este grupo possuem grande valor inerente e econômico, sendo sua conservação bastante importante (Read *et al.* 2011).

Sabe-se que a baleia-minke é mais comum do que a baleia minke-anã na quebra do talude, estando a segunda mais relacionada a ambientes produtivos na plataforma continental (Andriolo *et al.* 2010). Embora estas duas espécies sejam relativamente abundantes em águas brasileiras, o conhecimento a respeito delas ainda é limitado a poucos estudos (*i.e.* Zerbini *et al.* 1997, Andriolo *et al.* 2010). Até o presente momento, dois exemplares da baleia-minke-anã (*B. acutorostrata*) tiveram seus estômagos triados.

Um dos indivíduos (G.1257) não possuía conteúdo presente, somente algumas conchas e areia, indicando que o animal encalhou de com estômago vazio ou mesmo regurgitou antes de morrer. Por outro lado, o espécime (GEMARS 1309), de 4,53 m de comprimento total, foi encontrado em 25 de setembro de 2008. Considerando-se apenas o número total de bicos inferiores, foi quantificado pelo autor deste projeto um mínimo de 7819 espécimes de calamar argentino (*Illex argentinus*) ao longo do estômago (n = 3183) e intestino (n = 4636).

O calamar argentino é endêmico do Atlântico Sul Ocidental, ocorrendo desde a plataforma interna até águas oceânicas, do Rio de Janeiro (22°S) ao extremo sul da América do Sul (54°S). No entanto, com base no conhecimento sobre o padrão de distribuição das diferentes classes de tamanho de *I. argentinus*, é possível inferir que estes espécimes foram predados na região do talude do sul do Brasil, onde existe uma

concentração reprodutiva da espécie durante o período da primavera (Silva, 2003), confirmando a presença da espécie ao longo do ano em águas brasileiras e evidenciando relações tróficas desconhecidas até o presente momento.

Atualmente existe uma nova preocupação relacionada a origem das baleias encalhadas e a complexidade de seus padrões migratórios no Atlântico Sul Ocidental, uma vez que acredita-se que se alimentam em geral nas águas adjacentes às Geórgias do Sul, na Antártica (Salvatore *et al.* 2011). No entanto, existe uma hipótese de que indivíduos se alimentem em águas caribenhas (Romero *et al.* 2001). A utilização de isótopos e análises genéticas lançará nova luz sobre esta questão, com importantes implicações para conservação e manejo destas espécies.

O presente estudo visa também avaliar a possível influência de anomalias climáticas no encalhe de balaenopterídeos. Conhecer o impacto de fatores climáticos locais e globais é importante para indicação de épocas de maior ocorrência e necessidade de mais esforço das redes de encalhe, possivelmente mitigando algumas situações de encalhe ou prevenindo épocas com possíveis picos (Neves, 2014).

O Brasil possui um grande território marinho compondo sua Zona Econômica Exclusiva, com condições oceanográficas favoráveis a manutenção da rica comunidade presente (Miloslavich *et al.* 2011). No entanto, a falta de conhecimento relacionado à biodiversidade oceânica, pressão desenfreada da pesca, a grande ineficiência de fiscalização governamental configuram um cenário extremamente desfavorável a preservação dos recursos naturais. Neste sentido, vale salientar que a Bacia de Pelotas (abrangendo a plataforma continental do Rio Grande do Sul e Santa Catarina) vem sendo estudada para início de extração de recursos minerais, sendo necessários estudos relacionados à sua biodiversidade para escolhas de áreas preferenciais dos animais ou comparações em casos de eventos antrópicos.

Por fim, outra importante contribuição ecológica e talvez a principal para a biologia da conservação seja o exercício de reavaliar o status populacional de todas as espécies com novas informações relevantes, com ênfase para *B. acutorostrata* e *B. bonariensis*, ainda deficientes em dados (ICMBIO, 2010) porém com informações mais quantidade de informações. Compreender a trajetória populacional das grandes baleias na época pós-caça é importante para saber como estão reagindo as atuais pressões assim como auxiliar na tomada de decisões relacionadas ao manejo (Boyd *et al.* 2011).

8. ORÇAMENTO

Os custos deste projeto são referentes as análises genéticas (Tabela 3). Além disso, os gastos incluem possível visita a dois locais: Seattle para a revisão dos dados de caça na biblioteca do *National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA) e uma viagem para análise de dados climáticos. Além disso, não se descarta a possível visita a coleções e estações baleeiras para coleta de informações e materiais biológicos. Vale lembrar que os as análises de isótopos foram realizadas, não sendo necessário seu orçamento, apenas em caso de novas análises.

Item	Valor (R\$)	Justificativa
Análises laboratoriais	15.000,00	Análises genéticas e de Isótopos estáveis
Passagens aéreas *	10.000,00	Visita a outras coleções e estações baleeiras
Total	25.000,00	

TABELA 3. Orçamento do presente projeto.

9. REFERÊNCIAS

Andriolo, A., J. N. da Rocha, A. N. Zerbini, P. C. Simões-Lopes, I. B. Moreno, A. Lucena, D. Danilewicz, and Bassoi, M. 2010. Distribution and relative abundance of large whales in a former whaling ground off eastern South America. *Zoologia* 27(5): 741-750.

Aurioles, D., P. L. Koch, and Le Boeuf, P. J. 2006. Differences in foraging location of mexican and california elephant seals: evidence from stable isotopes in pups. *Marine Mammal Science*. 33:326-338.

Baker C. S., D. A. Gilbert, M. T. Weinrich, R. Lambertsen, J. Calambokidis, B. Mc Ardle, G. K. Chambers & S. J. O'Brien. (1993) Population characteristics of DNA fingerprints in humpback whales (*Megaptera novaeangliae*). *The Journal of Heredity* 84(4): 281-290.

Barlow, J. and Reves, R. 2009. Population Status and Trends. Em *Encyclopedia of Marine Mammals*. Second Edition. Editors: Perrin, W. F., Würsig, B., Thewissen, J. G. M. 1316p.

Best, P. B. 1985. External characters of southern minke whales and the existence of a diminutive form. *Sci Rep Whal Res Inst Tokyo* 36:1-33

Boyd, I. L., W. D. Bowen., and Iverson, S. J. 2010. *Marine Mammal Ecology and Conservation, A handbook of techniques*. Oxford University Press, New York. 450p

Burgman, M.A.; Ferson, S.; Akçakaya, H.R. *Risk assessment in Conservation Biology*. Chapman & Hall, London, 1993.

Burnham, P. K., and Anderson, D. R. 2002. *Model Selection and Multimodel Inference. A Practical Information-Theoretic Approach*. Second Edition. 515p.

Castello, J. P. *et. al.* 2009. A Plataforma E O Talude Continental. *In: Seeliger, U., Odebrecht, C., Castello, J. P. (Ed). O ecossistema costeiro e marinho do extremo sul do Brasil*. Rio Grande: Ecoscientia, p. 189-197,

Committee on Taxonomy. 2015. List of marine mammal species and subspecies. Society for Marine Mammalogy, www.marinemammalscience.org, consulted on 21.12.2015.

Crespo, E. A. 2009. South American Aquatic Mammals. p 1071-176. Em: *Encyclopedia of Marine Mammals*. Second Edition. Editors: Perrin, W. F., Würsig, B., Thewissen, J. G. M. 1316p.

Guo S. W. & Thompson, E. A. 1992. Performing the exact test for Hardy-Weimberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48: 361-372.

ICMBIO. 2011. Plano de ação nacional para conservação dos mamíferos aquáticos: grandes cetáceos e pinípedes: versão III. Claudia C. Rocha-Campos ... *et al*; organizadores Claudia Cavalcante Rocha-Campos, Ibsen de Gusmão CÇamara. Brasília. 156p.

Kocher T. D., W. K. Thomas, A. Meyer, S. V. Edwards, S. Pääbo, F. X. Villablanca and A. C. Wilson. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *PNAS* 86:6196-6200.

Leaper, R., J. Cooke, P. Trathan, K. Reid, V. Riwontree, and Payne, R. 2006. Global climate drives southern right whale (*Eubalaena australis*) population dynamics. *Biology Letters* 2:289-292.

Lucena, Alineide. 2006. Estrutura populacional de *Balaenoptera bonariensis* (Cetacea, Balaenopteridae) nas áreas de reprodução do Oceano Atlântico Sul. *Revista Brasileira de Zoologia*, 23:176-185.

Miloslavich, P., E. Klein, J. M. Díaz, C. E. Hernández, G. Bigatti, L. Campos, F. Artigas, J. Castillo, P.E. Penchaszadeh, P.E. Neill, A. Carranza, M.V. Retana, J.M. Díaz De Astarloa, M. Lewis, P. Yorio, M.L. Piriz, D. Rodríguez, Y. Yoneshigue-Valentin, L. Gamboa and Martín, A. 2011. Marine Biodiversity in the Atlantic and Pacific Coasts of South America: Knowledge and Gaps. *PLoS ONE* 6(1): e14631. doi:10.1371/journal.pone.0014631

Morais, I. O. B. 2014. Incorporando incertezas: as variações nas series de capturas e seus efeitos nas estimativas do *status* populacional da baleia-jubarte no Atlântico Sul Ocidental. Universidade Estadual de Santa Cruz, Dissertação no Programa de Pós-Graduação em Zoologia. 92p.

Neves, M. C. 2014. Taxas Reprodutivas da Baleia-jubarte (*Megaptera novaengliae*) no Atlântico Ocidental e sua relação com variações climáticas. Universidade Estadual de Santa Cruz, Dissertação no Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade. 41p.

Norris, K. S. 1961. Standardized methods for measuring and recording data on the smaller cetaceans. In: *Journal of Mammalogy*, v.42. p. 471-476.

Oliveira, L. R., R. L. Castro, S. Cárdenas-Alaysa, and Bonato, S. L. 2011. Conservation genetics of South American aquatic mammals: an overview of gene diversity, population structure, phylogeography, non-invasive methods and forensics. *Mammal Review*. 29p.

Omura, H. 1975. Osteological study of the minke whale from the Antarctic. *Sci Rep Whal Res Inst Tokyo* 21:1-78

Ott, P. H., M. Tavares, E. R. Secchi and J. C. Di Tullio. 2013. Cetacea. In (M. M. Weber, C. Roman and N. C. Cáceres, org.) *Mamíferos do Rio Grande do Sul*. 1ed. Ed. da UFSM, Santa Maria, RS. pp. 457-550.

Palsbøll P. J., M. Berub, T A. H. Larsen and H. Jørgensen. (1997) Primers for the amplification of tri- and tetraner microsatellite loci in baleen whales. *Molecular Ecology* 6: 893-895.

Pastene LA, Fujise Y, Numachi K (1994) Differentiation of mitochondrial DNA between ordinary and dwarf forms of Southern minke whale. *Rep Int Whal Commn* 44:277-281.

Pastene, L. A., Acevedo, J., Siciliano, S., Sholl, T. G. C., Moura, J. F., Ott. P. H. and Aguayo-Lobo, A. 2015. Population genetic structure of the South American Bryde's whale. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 50(3): 453-464.

Peltier, H., W. Dabin., P. Daniel., O. Van Canneyt., G. Doremus., M. Huon, and Ridoux, V. 2012. The significance of stranding data as indicators of cetacean populations at sea: Modelling the drift of cetacean carcasses. *Ecological Indicators* 18: 278-290.

Post D. M.; Layman C. A.; Arrington D. A.; Takimoto G.; Quattrochi J. and Montaña C. G. 2007. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia* 152, 179-189.

Prado, J. H. F., E. R. Secchi and Kinas, P. G. 2013. Mark-recapture of the endangered franciscana dolphin (*Pontoporia blainvillei*) killed in gillnet fisheries to

estimate past bycatch from time series of stranded carcasses in southern Brazil. *Ecological Indicators* 32: 35–41.

Pritchard J. K., M. Stephens and Donnelly, P. 2000. Inference of a population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945-959.

Read, A. D. 2010. Conservation Biology. In: *Marine Mammal Ecology and Conservation*, Eds: Boyd, I. L., W. D. Bowen, Iverson, S. J. Oxford University Press. 449p.

Romero, A., Agudo, A. I., Green, S. M., Notarbartolo di Sciara, G. 2001. Cetaceans of Venezuela: their distribution and conservation status. NOAA Technical Report NMFS 151: A Technical Report of the Fishery Bulletin. 1-60

Rooney A. P., D. B. Merritt and Derr, J. N. Derr. 1999. Microsatellite diversity in captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Journal of Heredity* 90:228–231.

Sambrook J., E. F. Fritsch and Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York.

Shaw, C., Wilson, P. and White, B. N. 2003. A reliable molecular method of gender determination for mammals. *Journal of Mammal* 84: 123-128.

Siciliano, S., J. F. Moura., R. Emin-Lima., D. L. Arcoverde., M. E. M. Souza., B. M. L. Martins., J. S. Silva-Jr., M. Tavares., M. C. O. Santos., and Ott, P. H. 2011. Large baleen whales on the coast of Brazil: a review of post-1997 data on strandings and sightings. *Rep. Int. Whal. Commn.* 12p.

Silva T. N. 2003. Estrutura populacional e biologia reprodutiva do calamar, *Illex argentinus* (Castellanos,1960) (Cephalopoda: Ommastrephidae), capturado pela frota de arrasto no Sudeste e Sul do Brasil. Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Oceanografia, para obtenção do grau de Oceanógrafo. Universidade do Vale do Itajaí. Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar. Itajaí, SC. 60p.

Silveira, I. C. A. *et al.* 2000. A Corrente do Brasil ao Largo da Costa Leste Brasileira. *Revista Brasileira Oceanográfica*. 48(2):171-183.

Truchon, M. H., Measures, L., L'Hérault, V., Brêthes, J. C., Galbraith, P. S., Harvey, M., Lessard, S., Starr, M., Lecomte, N. 2013. Marine Mammal Strandings and Environmental Changes: A 15-Year Study in the St. Lawrence Ecosystem. *Plos One*. Vol 8(3): 10p.

Wada S., T. Kobayashi, and Numachi, K. 1991. Genetic variability and differentiation of mitochondrial DNA in minke whales. *Rep Int Whal Comm (Special Issue)* 13:203–215

Zerbini, A. N., E. R. Secchi., S. Siciliano, and Simões-Lopes, P. C. 1997. A review of the occurrence and distribution of whales of the genus *Balenoptera* along the Brazilian coast. *Rep. Int. Whal. Commn.* 47, 407-417.