

2ª EDIÇÃO

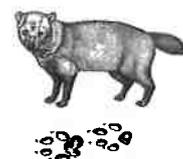
Técnicas de Estudos Aplicadas aos
**Mamíferos
Silvestres
Brasileiros**

Nelio Roberto dos Reis

Adriano Lúcio Peracchi

Bruna Karla Rossaneis

Maira Nunes Fregonezi



TECHNICAL BOOKS EDITORA

TÉCNICAS DE ESTUDO SOBRE CETÁCEOS

Marcos César de Oliveira Santos

Estudar mamíferos que passam todo o seu ciclo de vida em ambiente aquático é sem sombra de dúvidas um grande desafio a nós, mamíferos terrestres. Cerca de 87 espécies compõem a ordem dos cetáceos, táxon que engloba as baleias e os golfinhos (Jefferson *et al.*, 2008). São duas subordens de cetáceos viventes: os odontocetos, que apresentam dentes na boca para apreensão de alimento, e os misticetos, que apresentam barbatanas na boca para executar a mesma função citada para os odontocetos. As grandes baleias representam os misticetos e golfinhos, botos, toninhas, orcas, dentre outros representam os odontocetos. Os cetáceos são os mamíferos que melhor se adaptaram ao ambiente aquático ao longo da evolução. Conquistaram todos os mares do Planeta, incluindo os mares polares, e quatro bacias de água doce nos trópicos. Desenvolveram uma capacidade ímpar em mergulhar a grandes profundidades sem deixar pistas. Vêm à superfície da água para respirar, o que nos proporciona a possibilidade de observá-los. Entretanto, esse tempo que podemos observá-los de uma praia, morro, ou embarcação, é consideravelmente menor quando comparado ao tempo de suas vidas que passam abaixo da superfície da água. A longevidade dos cetáceos varia entre cerca de 20 até mais de 150 anos, dependendo da espécie. Repõem lentamente novos integrantes às populações, com intervalos de reposição de estoques variando entre um e sete anos. Então, como estudá-los? Como acompanhar seus ciclos de vida? Por onde começar?

IMPORTÂNCIA

Por que estudar cetáceos? Predadores de topo de cadeia em ecossistemas de alta produtividade biológica, os cetáceos têm sido apontados como indicadores de saúde de ambientes aquáticos (Katona e Whitehead, 1988). Por acumular poluentes químicos advindos do meio através da cadeia trófica, os cetáceos são considerados sentinelas dos oceanos. A caça indiscriminada e a sobrepesca têm afetado as populações de cetáceos pelo mundo há pelo menos um século, provocando um desequilíbrio ecológico

de grandes proporções. Por seu carisma, as baleias representaram uma das principais bandeiras da conservação do Planeta por mais de uma década. Uma história evolutiva de mais de 50 milhões de anos e a ocupação da maior parte das bacias aquáticas do Planeta Terra são também outros motivos que tornam relevante o melhor conhecimento desses incríveis mamíferos.

OBJETIVOS

Os objetivos deste capítulo residem em apresentar as principais metodologias de estudos sobre cetáceos. Serão abordados os estudos com animais mortos provenientes de encalhes e de capturas acidentais em operações de pesca, assim como aos estudos sobre animais vivos em seu hábitat. Nos dias atuais o Brasil não opera a caça aos cetáceos com vistas à pesquisa, tampouco os exhibe em cativeiro. Em função destes aspectos este capítulo fica restrito aos estudos mencionados.

METODOLOGIAS

Antes de iniciar a descrição das técnicas de estudo, convém apresentar duas definições importantes: encalhes e capturas acidentais. Encalhes são eventos que culminam na presença de cetáceos à costa, cujas causas podem ter sido de origem natural ou antropogênica, sendo que estes mamíferos podem surgir mortos, morrer em decorrência do encalhe, ou podem ser encontrados vivos e assim liberados com ou sem a ajuda de humanos. São pelo menos 12 os fatores que podem levar os cetáceos aos encalhes, como, por exemplo, a procura de presas ou a fuga de predadores em águas rasas, falhas no sistema de ecolocalização, enfermidades, capturas acidentais em operações de pesca, dentre outras. Capturas acidentais em operações de pesca são eventos que envolvem o apresamento de cetáceos em petrechos de pesca e que pode levá-los à morte por afogamento ou por debilitação. É importante ressaltar que há casos em que cetáceos acidentalmente capturados são liberados com vida. Entretanto, pelo estresse ocasionado pela captura em si, e pela impossibilidade de vir à superfície da água para respirar na maioria dos casos, a morte torna-se o resultado final a um cetáceo que se envolve com as atividades pesqueiras.

Apresentadas essas definições, esta seção será dividida em duas: estudos com cetáceos mortos (encalhe e capturas acidentais) e estudos com cetáceos vivos e encontrados em seus hábitats. Em todos os casos será imprescindível que o investigador tenha conhecimento adequado sobre os dados a serem coletados, assim como sobre a forma com a qual esses dados serão coletados.

ANIMAIS MORTOS

Ter acesso aos cetáceos mortos em praias ou provenientes de capturas acidentais requer um grande esforço em campo aliado a uma postura ética. O esforço de campo no caso dos estudos sobre encalhes pode incluir incursões sistematizadas por extensões de praias. Um veículo com espaço suficiente é necessário para o transporte da equipe, das amostras coletadas e das estruturas esqueléticas encontradas em campo. Um *kit* com material de dissecação adequado e reservatórios onde armazenar as amostras biológicas coletadas deve estar sempre às mãos dos investigadores no campo. É fundamental que os investigadores estejam prevenidos em relação a qualquer forma de contágio com doenças infecciosas. Portanto, o uso de luvas, máscaras cirúrgicas, botas e vestimentas adequadas é absolutamente necessário para os que estão envolvidos no manuseio dos animais e nas coletas de amostras biológicas. Quanto menor o período que separa as incursões em praias, maiores as chances em se recuperar materiais biológicos de cetáceos encalhados. Convém lembrar que quanto mais próximo da linha do equador, maior a influência da radiação solar na decomposição dos cadáveres, e menores as chances de aproveitamento do material biológico. Em paralelo, em grande parte da costa brasileira há a competição com necrófagos (p. ex.: urubus, cachorros) pelas carcaças dos cetáceos disponíveis nas praias. Outra forma de acessar cetáceos mortos ao longo do litoral é através do estabelecimento de uma rede de contatos que pode envolver escritórios de corporações de bombeiros e salva-vidas, polícia ambiental, aquários e museus. Contatos prévios são necessários para que se esclareçam as atividades que serão desenvolvidas e sua importância. É recomendável que sempre se atendam às ocorrências para que os pesquisadores continuem sendo uma referência local.

No caso das capturas acidentais, a questão é mais delicada. A interação com a comunidade pesqueira é a parte mais complexa deste trabalho. Embora seja desejável a presença de observadores de bordo treinados para registrar e coletar material biológico, isso ainda não é frequente no Brasil. Portanto, as tripulações de barcos de pesca é que estão em contato direto com as informações relacionadas com as capturas acidentais. Por isso este contato deve ser praticamente diário, pois não há dia e nem horário para as embarcações saírem e retornarem aos portos. Além disso, é importante que os investigadores se conscientizem que a anotação dos dados relacionados com as operações de pesca, aliado à coleta de exemplares mortos para entrega aos pesquisadores são trabalhos adicionais à tripulação embarcada. Portanto, há necessidade de bom senso em relação à forma com a qual será elaborada a estratégia de coleta de dados e de material biológico. As capturas acidentais de cetáceos representam um assunto delicado para toda e qualquer comunidade pesqueira. Nas décadas de 1970 e de 1980 houve um tratamento equivocado por parte de alguns órgãos do governo com relação a estes eventos. Muitas comunidades

pesqueiras sofreram repressões desnecessárias e, com o tempo, tornaram-se avessas a colaborar com pesquisadores ou agentes do governo. Com o surgimento da preocupação mundial pela conservação da natureza nos últimos 30 anos, a comunidade pesqueira passou a ser apontada como vilã com relação à morte de fauna carismática como tartarugas e golfinhos. A sobrepesca reduziu sensivelmente os estoques pesqueiros fazendo com que cada vez mais barcos e petrechos de pesca se distribuíssem pelos mares do mundo. Conseqüentemente, as chances do envolvimento dos cetáceos com esses petrechos também aumentaram. Com base neste histórico, fica claro que o desenvolvimento de esforços de observação de monitoramento de frotas pesqueiras com vistas à investigação das capturas acidentais de cetáceos é uma tarefa muitíssimo delicada. Esses esforços requerem tempo relativamente longo para se adquirir a confiança da comunidade pesqueira para que a mesma traga não somente informações confiáveis sobre as operações de pesca, mas também exemplares mortos para estudos sobre história natural. O tempo necessário para adquirir esta confiança e para somar pelo menos uma sequência de três anos de monitoramento para averiguar tendências geralmente não coaduna com o período máximo de tempo necessário ao desencadeamento de um estudo acadêmico como uma monografia, um mestrado ou um doutorado. Outro problema comum observado no país tem sido a troca de exemplares mortos ou de informações por "prêmios" como bonés, camisetas, chaveiros, dentre outros. Esta prática pode levar as comunidades pesqueiras a matar intencionalmente pequenos cetáceos para adquirir seus "prêmios". O embarque de investigadores para a coleta de dados e de material biológico pode ocorrer, porém espera-se que aqueles que embarcam tenham completa consciência dos riscos. Os embarques em frota pesqueira representam oportunidades ímpares para interagir com a dinâmica da pesca e os produtos por ela gerados. Entretanto, devem ser considerados o desconforto gerado pelo espaço reduzido na maioria das embarcações, assim como pelos mares revoltos, somado às intrigas que podem ser geradas a bordo tanto em discussões com a tripulação a respeito de discordâncias sobre o uso da informação coletada, tanto em discussões particulares da tripulação, e a possibilidade de acidentes que levem a embarcação a pique. Antes de embarcar é preciso estar consciente sobre os riscos e as responsabilidades. Por exemplo, de quem será a responsabilidade em caso de óbito de um estudante de graduação embarcado em caso de naufrágio?

Tanto para os estudos sobre encalhes, como para as capturas acidentais, os investigadores deverão obrigatoriamente ter em mãos uma licença de coleta e de transporte de material biológico. Isso não somente legaliza as atividades que são desenvolvidas, mas também dá respaldo aos investigadores se questionados pela comunidade pesqueira, profissionais de órgãos de fiscalização e por pessoas que se aproximem no momento dos estudos nas praias. Para ambas as formas de coleta de dados é fundamental que se tenha

a priori um local adequado onde o material biológico passará por um processo de limpeza para posterior armazenamento. Noções sobre curadoria do material biológico coletado seriam bem-vindas. Por fim, uma postura ética daqueles interessados em iniciar seus trabalhos seria o principal ponto de partida. Seria conveniente que os investigadores interessados procurassem informações sobre a existência estudos em andamento nas áreas escolhidas para seus estudos antes de iniciar as incursões em praias, ou de iniciar os contatos com a comunidade pesqueira, ou mesmo com escritórios locais para retornarem os contatos quando encalhes forem detectados. Essa postura evitaria desperdício de recursos humanos e financeiros, evitando sobreposição de esforços de observação, desgastes desnecessários entre investigadores, e o comprometimento de um trabalho delicado com comunidades pesqueiras que passam a não contribuir mais com os complexos investigadores. Feita esta apresentação geral sobre os encalhes e as capturas acidentais, passemos então às técnicas de estudos com cetáceos mortos.

Morfometria externa e interna

A comparação de padrões de coloração, assim como de medidas corpóreas (externas) e do esqueleto (internas) são aspectos que podem servir de base para os estudos sobre as avaliações referentes à existência de variações geográficas ou estoques populacionais de uma espécie, ou para distinção entre espécies. A morfologia externa pode ser efetuada com o uso de fita ou trena métrica e devem ser efetuadas paralelamente ao corpo dos animais. Consulte Norris (1961) para conhecer as principais medidas morfológicas externas utilizadas em estudos sobre cetáceos. Depois do processo de limpeza do material osteológico, os crânios tendem a representar uma das principais estruturas nos estudos comparativos envolvendo anatomia interna. Consulte Perrin (1975) para conhecer as principais medidas morfológicas internas utilizadas em estudos sobre cetáceos. As medidas cranianas são efetuadas com o uso de paquímetros adaptados ao porte dos exemplares estudados. No caso dos estudos que tomam por base o uso de crânios de cetáceos, torna-se necessário uma familiarização com os nomes dos ossos que os compõem (Mead e Fordyce, 2009).

Ainda em relação à morfologia interna, caso os investigadores tenham acesso aos órgãos internos dos exemplares estudados, recomenda-se tomar dados referentes ao peso e medidas de comprimento e largura de rins, gônadas, pênis, pulmões, peso do coração e fígado, e comprimento do intestino. Quando possível, a retirada e tomada de dado do peso da capa de gordura que reveste internamente o corpo dos cetáceos estudados será relevante nos estudos sobre saúde das populações. Após a pesagem, órgãos como as gônadas, os rins, o fígado e amostras de gordura, de pele e de músculo deverão ser úteis para outros estudos a serem tratados adiante.

É importante destacar que os cetáceos odontocetos trazem em seus dentes uma fundamental fonte de informações: sua idade (ver item Determinação de idade). Com a informação proveniente da determinação da idade dos exemplares estudados com o uso dos dentes, um suporte imprescindível é adicionado aos estudos sobre taxonomia, que geralmente usa indivíduos maduros fisicamente, ontogenia e elaboração das curvas de crescimento, reprodução com determinação de idade de maturidade sexual, e alimentação com comparação de dieta entre classes etárias. O caso dos mysticetos será apresentado no próximo item.

É prudente conservar órgãos em 24 horas em solução de formalina a 10% com uso de máscara e luvas protetoras, e posterior acondicionamento em álcool 98°GL. Injetar formalina no interior dos órgãos é importante para que as estruturas internas sejam também preservadas. Nos casos a seguir encontram-se recomendações sobre a preservação de amostras para estudos específicos.

Determinação de idade

Após estudos realizados entre as décadas de 1950 e 1990, foi observado que há uma deposição anual de camadas de dentina no interior dos dentes de cetáceos odontocetos (Perrin e Myrick Jr, 1980). Aqueles estudos foram baseados em dentes obtidos de exemplares coletados mortos ou de indivíduos vivos tanto encontrados em cativeiro, quanto em seus habitats naturais. Isso propiciou o acompanhamento anual das mencionadas deposições. Portanto, até o presente momento sabe-se que um grupo de camadas de crescimento (GLG = *Growth Layer Group*, em inglês) representa um ano de idade (Figura 10.1). Em consequência, através de cortes histológicos de dentes é possível determinar a idade da maioria das espécies de cetáceos odontocetos. No caso de odontocetos de maior porte como os cachalotes, é possível avaliar os GLGs sem a necessidade da aplicação de técnicas histológicas.

Dentes são acondicionados a seco. Costuma-se coletá-los após o processo de descarte do esqueleto, que pode ser mecânico com aquecimento ou com uso de invertebrados necrófagos. Recomenda-se que seja coletada uma amostra de pelo menos 10 dentes no ato da necropsia, evitando-se perdas futuras de informação importante.

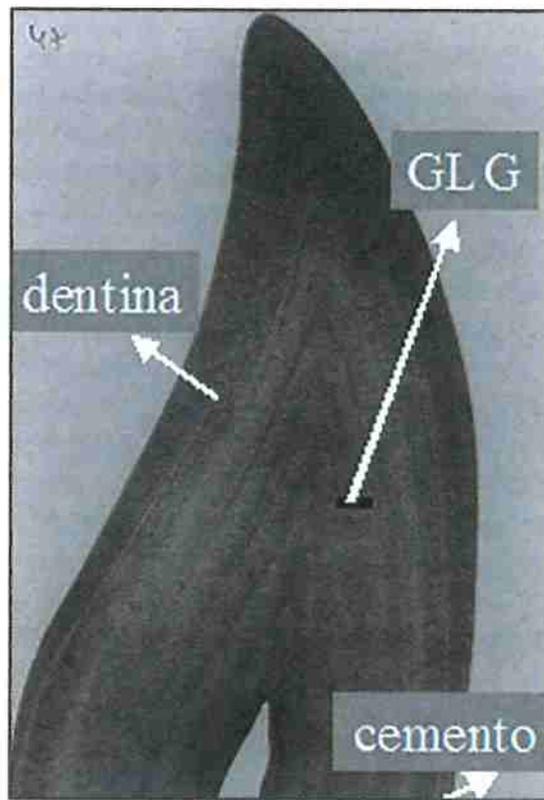


Figura 10.1. Corte histológico de um dente de um golfinho-pintado-do-Atlântico (*Stenella frontalis*) com 7 anos de idade. GLG = *Growth Layer Group*; Grupo de Camada de Crescimento (Foto: Marcos Santos).

Detalhes sobre as técnicas histológicas empregadas e materiais necessários podem ser encontrados em Perrin e Myrick Jr (1980) e Hohn (1990).

Os cetáceos misticetos não apresentam dentes na boca para apreender alimento, e sim barbatanas, que são estruturas queratinizadas que partem da maxila e formam uma cortina nos dois lados da boca das grandes baleias. Não há evidências de possibilidade de datação de idade em misticetos com o uso das barbatanas. Entretanto, através de avaliação minuciosa dos ossos que compõem a bula timpânica dos misticetos, percebeu-se que provavelmente o mesmo padrão de deposição anual de camadas ocorre. Pelas dificuldades logísticas inerentes aos estudos com as grandes baleias, a determinação de idade de baleias mortas ainda não é uma técnica de estudo usual, sendo o corpo de conhecimentos sobre este assunto ainda muito limitado. Novas técnicas surgiram nos anos mais recentes, porém ainda pouco usuais e apenas desenvolvidas por poucos grupos de pesquisa.

Reprodução

A idade de maturação sexual é uma informação relevante quando se pensa em manejo de populações de cetáceos. Para investigar os aspectos referentes à reprodução em cetáceos mortos, é necessário coletar exemplares relativamente frescos. Assim, tem-se acesso às gônadas (ovários e testículos) que serão utilizadas nos mencionados estudos. Análises macroscópicas e/ou microscópicas com o emprego da histologia fornecem informações sobre o estado de maturidade sexual do exemplar analisado (Perrin e Reilly, 1984). Os dados referentes ao comprimento total (morfometria) e à idade de cada exemplar avaliado são adicionados às informações individualizadas do estágio de maturação. Com um conjunto de dados provenientes de um número de exemplares representativo, tem-se uma estimativa das idades de maturação sexual de machos e de fêmeas. Geralmente essas idades não são as mesmas quando comparados os sexos, com fêmeas maturando mais cedo que os machos. E geralmente as informações de idade de maturação sexual envolvem mais de uma classe etária (p. ex.: entre 4 e 5 anos de idade), em função de conhecidas variações individuais em mamíferos. Aqui cabe um alerta: é necessário obter uma amostra representativa de indivíduos de ambos os sexos, assim como de cada classe etária até as idades de maturidade sexual da espécie estudada. Como não se conhece esta informação *a priori*, e não é possível escolher as idades dos exemplares que serão coletados mortos em praias ou que serão reportados em capturas acidentais, há uma tendência em se investir alguns anos em coleta de material biológico antes de se obter uma amostra de tamanho adequado.

Dieta

A análise de conteúdos estomacais e intestinais é uma prática comum quando se tem acesso a mamíferos encontrados mortos. Até os anos mais recentes essa era a principal ferramenta para melhor se conhecer os aspectos que permeiam os hábitos alimentares de cetáceos. No caso dos mysticetos há uma maior dificuldade em acessar o trato digestivo de baleias encontradas encalhadas. Além de possuírem um porte geralmente menor, os odontocetos têm um processamento lento de digestão, o que propicia aos investigadores acessar e identificar uma parte considerável desses itens alimentares. Outro aspecto importante é que cetáceos não mastigam alimento, tendendo a ingerir presas inteiras quando elas não são partidas pela disputa entre dois ou mais indivíduos. Paralelamente, as principais presas dos odontocetos (peixes e cefalópodes) possuem algumas estruturas mais resistentes à digestão e que servem de base para a identificação de diferentes espécies. Os otólitos, por exemplo, são estruturas formadas por carbonato de cálcio que se encontram no crânio de peixes ósseos e são responsáveis por proporcionar equilíbrio a

estes organismos em ambiente aquático. São dois pares formados por três pequenas peças: sagitta, lagenas e asterisco, que são espécie-específicos. No caso dos cefalópodes, um bico córneo subdividido em superior e inferior forma a principal estrutura utilizada para a apreensão de alimento. Otólitos de peixes e bicos de cefalópodes são geralmente as últimas estruturas a serem digeridas pelos cetáceos, permanecendo por algum tempo dispersas no interior do estômago. O momento da dissecação do estômago é crítico, já que esta é a primeira etapa em que há chances de perder material biológico e, conseqüentemente, informações preciosas. É recomendável realizar esta etapa sobre uma peneira espaçosa e de malha extremamente fina. Sugere-se separar os itens inteiros e os degradados dos otólitos, que serão conservados a seco, e dos bicos dos cefalópodes, que serão armazenados em uma solução 1:1 de álcool 98°GL e glicerina. A próxima etapa dependerá da identificação dos itens alimentares triados. Guias de identificação de espécies de peixes e cefalópodes são utilizados, assim como guias de identificação de otólitos de peixes e de bicos de cefalópodes. Na comparação da relevância de cada item alimentar amostrado, geralmente as frequências de ocorrência e os índices de importância relativa são empregados. É possível também efetuar uma avaliação a respeito do tamanho e do peso das presas. Para isso são necessárias equações de regressão envolvendo o comprimento e o peso dos itens alimentares, assim como o tamanho e/ou a largura do otólito, ou o comprimento do bico córneo. De posse dessas equações, são efetuadas as medidas das estruturas amostradas no estômago dos cetáceos, que são inseridas nas equações, e assim são obtidas as informações desejadas sobre os tamanhos das presas. São conhecidas equações de regressão para diversas espécies de peixes e de cefalópodes ao longo da costa brasileira. Elas podem ser utilizadas, porém recomenda-se que equações sejam elaboradas para regiões para as quais ainda não foram obtidas. Crustáceos inteiros ou peças das carapaças também podem ser encontrados nos estômagos de cetáceos, porém sem as mesmas características dos otólitos e bicos para futuras inferências em relação à identificação e obtenção de dados de peso e comprimento.

A técnica de análise de conteúdos estomacais tem alguns ruídos. Nem todas as presas têm estruturas resistentes à digestão. Portanto, podem existir espécies que não serão incluídas nos estudos mesmo se forem ingeridas. Os otólitos podem ser erodidos durante a digestão tornando a identificação difícil ou resultando em uma subestimativa do tamanho de presa. E há o risco de contaminação da amostra porque estruturas que estejam no estômago das presas ingeridas pelos cetáceos podem se difundir pelo trato digestivo dos últimos, levando o investigador a interpretar tais estruturas como parte da dieta dos cetáceos e não de suas presas.

Em função desses percalços, outras técnicas foram desenvolvidas para dar suporte ao considerável montante de estudos já efetuados com o uso de conteúdos estomacais. Das novas técnicas destacam-se o uso de isótopos

estáveis e de ácidos graxos, ambos avaliados na camada de gordura dos cetáceos. Essas amostras podem ser tanto coletadas de animais mortos, como de animais vivos (ver item Animais Vivos). É sabido que as razões de isótopos de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, denotado como d^{13}C), e de nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, denotado como d^{15}N) refletem o alimento assimilado pelo predador. A composição de d^{15}N é tipicamente 3-4% maior no predador do que na dieta. Como ocorre enriquecimento a cada nível trófico de uma cadeia alimentar, os valores de d^{15}N proporcionam um bom indicador do nível trófico que o predador está se alimentando. Os valores de d^{13}C não apresentam a mesma forma de previsibilidade na cadeia trófica, mas varia de maneira considerável geograficamente, capacitando o observador a deduzir o local de alimentação. Os ácidos graxos, que são os principais constituintes dos lipídeos, são diversos e apresentam cadeias longas em organismos marinhos. Dessa forma, existe um depósito de longas cadeias de C de maneira previsível em tecidos como a gordura dos cetáceos. Ácidos graxos raros podem ser usados como marcadores e comparados com assinaturas obtidas através de análises das composições das principais presas. Há um problema relacionado com o fato de que nem todas as presas possuem assinaturas distintas.

Contaminação química

Uma das formas de utilizar os cetáceos como sentinelas dos oceanos é através das análises dos graus de contaminação química (Reijnders, 1996). Compostos como pesticidas e metais pesados são acumulados através da cadeia trófica sem serem degradados, têm lipoafinidade e suas concentrações podem ser avaliadas em amostras de gordura de cetáceos, ou em análises de amostras de rins ou do fígado. Para os estudos sobre contaminação por pesticidas e outros organopersistentes as amostras devem ser acondicionadas em papel alumínio e em *freezer*. No caso dos metais, convém acondicionar as amostras em sacos plásticos e em *freezer*. Neste último caso, em função de seu papel no metabolismo, o fígado representa a melhor estrutura para análise. Para a condução das análises é necessário dispor de um laboratório devidamente equipado dentro de padrões recomendados internacionalmente. Como as fêmeas sexualmente maduras passam cerca de 50% de sua constituição de poluentes aos filhotes através do cordão umbilical e da amamentação, é necessário que as informações referentes à idade e ao estágio de maturação sexual acompanhem as informações obtidas com estas análises. A análise da contaminação química em cetáceos requer um trabalho exaustivo em laboratório. Tempo e paciência são itens primordiais para os interessados em seguir esta linha de pesquisas. Além disso, não somente os equipamentos, mas também os reagentes químicos utilizados costumam tornar tais análises onerosas do ponto de vista econômico.

Genética

Desde a década de 1990, as investigações no campo da genética molecular tornaram-se fundamentais para o avanço referente ao melhor conhecimento das diferentes espécies viventes de cetáceos e seus estoques populacionais. Houve um pequeno aumento do número de espécies conhecidas e, aparentemente, este número tende a continuar crescendo com base em novos estudos genéticos. As técnicas específicas desenvolvidas em laboratório no campo da genética podem ser encontradas em literatura específica. Para o desencadeamento desses estudos são geralmente utilizadas amostras de pele ou de músculo de cetáceos. Ambas devem ser coletadas quando conduzidas as dissecações, preferencialmente coletando-se diversas pequenas amostras para o desencadeamento de diversas frentes investigatórias. Costuma-se coletar pequenos fragmentos de algumas gramas de peso e acondicioná-los em solução diluída de Dimetilsulfóxido (DMSO), que é uma substância cancerígena. Há também pesquisadores que utilizam álcool 98°GL para armazenar tais pequenos fragmentos. Preferencialmente, um *freezer* deve ser utilizado no armazenamento das amostras para evitar as influências de variações de temperatura ambiente. Os estudos de genética também podem ser desenvolvidos com amostras coletadas de animais vivos (ver adiante).

Parasitas

Quando da dissecação de cetáceos mortos, uma devida atenção deve ser direcionada ao registro de parasitas. Componentes da fauna que são utilizados como itens alimentares de cetáceos geralmente trazem consigo uma carga parasitária que pode ser encontrada em alguns órgãos do referido predador de topo de cadeia. Sendo assim, os parasitas têm sido utilizados como importantes ferramentas para identificação de diferentes estoques populacionais em cetáceos e também são relevantes para estudos veterinários. Os principais parasitas podem ser encontrados no orifício respiratório, nos pulmões, no coração, no sistema digestório, na camada de gordura e no cérebro dos cetáceos. Portanto, a dissecação deve ser minuciosa e seguir protocolos básicos como os descritos em IBAMA (2005). Recomenda-se colocá-los em solução de formalina a 10% sem se esquecer de utilizar máscaras e luvas protetoras no manejo.

ANIMAIS VIVOS

As pesquisas realizadas com cetáceos vivos podem ser conduzidas a partir de terra firme, de embarcações, de aeronaves, e sob a superfície da água em locais onde a transparência assim permite. A escolha da forma a partir da

qual as informações serão obtidas dependerá das perguntas elaboradas, assim como de um balanço entre as características das águas onde os cetáceos são encontrados e, sem sombra de dúvidas, do capital disponível para o desenvolvimento do estudo pretendido. Com exceção das observações efetuadas sob a superfície da água, as demais sempre estarão vinculadas à obtenção de informações relativamente limitadas pela menor parcela de tempo que os cetáceos permanecem à vista dos investigadores.

No caso das observações efetuadas a partir de terra firme, o ponto de observação deve capacitar o investigador a ter uma ampla visão da área onde os cetáceos podem ser observados. As embarcações podem variar em seu porte desde pequenos botes de quatro a 6 m, a navios oceanográficos com dezenas de metros de comprimento. As aeronaves podem variar entre pequenos aviões a helicópteros, a depender dos objetivos dos observadores. Para a escolha da plataforma de observação é importante considerar os objetivos do trabalho, o grau de impacto gerado aos cetáceos observados, assim como de qual dimensão será a interferência causada às observações.

Os estudos mais comumente desenvolvidos com cetáceos vivos envolvem as investigações sobre: os padrões de distribuição das espécies ao longo do tempo e do espaço; as estimativas de tamanhos populacionais e de tamanhos de áreas de vida; as características relacionadas com a forma com que diferentes indivíduos usam seus habitats e suas rotas migratórias; os aspectos comportamentais; as características das emissões sonoras e seus significados; as associações entre indivíduos de uma população; e os graus de parentesco entre eles. Os métodos que estão por trás desses estudos são tradicionalmente conhecidos e serão resumidamente apresentados. Para desenvolver esses estudos, o emprego de equipamentos básicos e geralmente de custo econômico elevado é fundamental. Vejamos cada caso separadamente.

Padrões de distribuição de espécies ao longo do tempo e do espaço

Basicamente a forma mais comum de desenvolver esses estudos seria através de incursões sistematizadas em uma área relativamente grande para registrar as espécies de cetáceos lá ocorrentes. Essas incursões podem ser realizadas com uso de embarcações ou de aeronaves. As incursões efetuadas com uso de embarcação permitem aos investigadores coletar dados oceanográficos ao mesmo tempo em que são registrados os animais. Resumidamente, desenha-se um grid de transectas que serão cobertas sazonalmente na procura dos cetáceos que ocorrem na área de estudo. Os meios de transporte devem oferecer aos observadores locais confortáveis para a procura e registro dos animais. No caso das embarcações, o uso de câmeras fotográficas é recomendável para o registro das espécies observadas. É um trabalho cansativo e, em algumas ocasiões, tedioso. Permanecer parado por algum

tempo, ouvindo o som constante do meio de transporte em movimento, e aguardando o surgimento de uma baleia ou golfinho na imensidão do mar leva os observadores a uma fadiga natural. Portanto, para desenvolver esses estudos seria interessante que a equipe fosse numerosa para que um rodízio nas plataformas de observação fosse realizado. Dados oceanográficos como temperatura e profundidade da água, produção primária, correntes, dentre outros são importantes para melhor compreender os fatores que influenciam os padrões a serem observados. Tradicionalmente ainda são poucos os esforços de observações com este enfoque no Brasil.

Estimativas de tamanhos populacionais

Saber quantos indivíduos de cada espécie existe em uma dada área ou em toda a extensão de sua distribuição é de fundamental importância no que se refere aos aspectos de conservação. Entretanto, culturalmente temos nos preocupado mais com os números finais do que com o processo através do qual esses números são obtidos. E essa tem sido a grande falha de parte dos estudos de estimativas de abundância realizados com cetáceos.

Há duas formas básicas de obter as informações sobre estimativas de abundância (número total de indivíduos em uma dada área investigada) e densidade (número de indivíduos por km²): estimativa por amostragem de distância (*Distance Sampling*) (Buckland *et al.*, 2003) e modelos de captura-recaptura (Armstrup *et al.*, 2005). Em ambos os casos a tendência é o uso de embarcações ou aeronaves, mas para espécies que migram próximo à costa, estimativas podem ser obtidas de ponto fixo. No caso da aplicação da técnica de amostragem de distâncias, cobre-se uma determinada área através de transectas predefinidas e registra-se não somente a ocorrência e tamanho de grupo dos cetáceos, mas também a distância em que eles se encontram da transecta. Essa informação é extremamente importante para estimar a probabilidade de detecção para cada uma das espécies amostradas em função da distância que elas se encontram da plataforma de observação, de características inerentes às espécies reportadas, e da capacidade da equipe de investigadores em detectar os cetáceos.

No caso do uso de modelos de captura-recaptura é comum utilizar a ferramenta da fotoidentificação (Würsig e Würsig, 1977) que permite ao observador registrar diferentes indivíduos em uma população ao longo do tempo e do espaço. Para isso, marcas naturais distinguíveis e pouco mutáveis dos cetáceos são utilizadas. Com exemplos, destacam-se os entalhes na nadadeira dorsal de odontocetos em geral (Figura 10.2) e o formato e o padrão de coloração da porção ventral da nadadeira caudal de baleias-jubarte. Quando da aplicação dos modelos de captura-recaptura, a captura seria a primeira identificação de um determinado indivíduo, e as recapturas seriam as identificações posteriores. Portanto, percebe-se que a aquisição de

um equipamento fotográfico de qualidade, dotado da mais alta tecnologia, e acoplado a ele uma lente zoom de grande capacidade para aproximação irão fazer a diferença na qualidade do estudo. Esse equipamento também será útil para todas as demais investigações que envolvem a aplicação da técnica de fotoidentificação (Würsig e Jefferson, 1990).

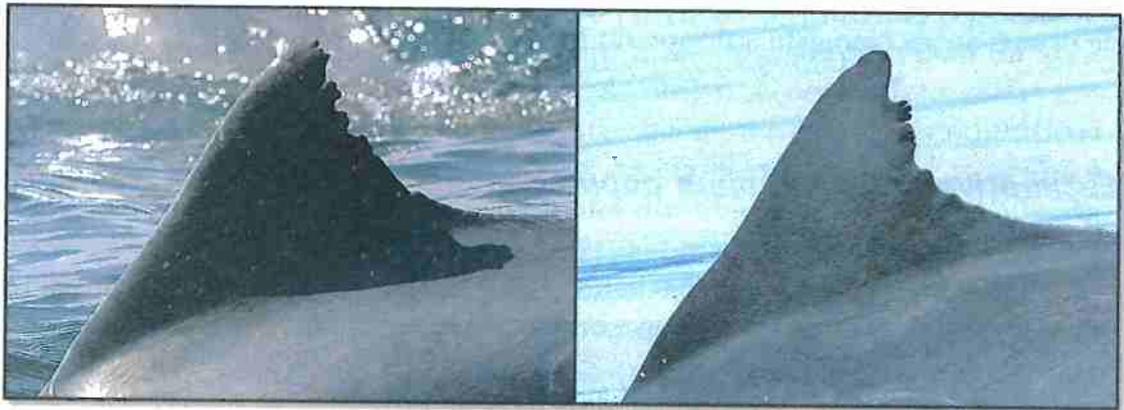


Figura 10.2. Entalhes nas nadadeiras dorsais de boto-cinza (*Sotalia guianensis*) identificando diferentes indivíduos na população (Fotos: Marcos Santos).

Para ambos os casos, é importante que seja dada a devida atenção às premissas dos usos de cada técnica. É importante diferenciar que os estudos de transectos lineares e de marca-recaptura podem resultar em números distintos para uma mesma população. Isso porque os primeiros correspondem ao número de indivíduos na área de estudo durante o período de amostragem que geralmente é mais curto. Antes de sair ao campo em coletas desenfreadas de dados, sugere-se que o delineamento do experimento seja discutido *a priori* com profissionais que tenham experiência no assunto. Esse representará o momento mais importante dessas investigações.

Estimativas de tamanhos de área de vida

A realização desses estudos depende da identificação individual de cetáceos em uma população ao longo do tempo e do espaço. Como é sabido que existem variações em classes de idade ou maturidade, sexo e também individuais na forma com que cetáceos utilizam seus habitats, é importante que se aplique os métodos de estimativas de tamanhos de área de vida com o uso de técnicas de identificação individual. Investiga-se uma área ao longo de um período com uso de embarcação fotografando-se os indivíduos lá encontrados. Somam-se, portanto, pontos de avistamentos distintos desses indivíduos monitorados.

A densidade de pontos de localização de um indivíduo representa uma estimativa do tempo gasto naqueles setores. Para trazer maior robustez à estimativa a ser efetuada, recomenda-se a obtenção de um número de pontos relativamente alto (50+) obtidos em dias distintos. Com os pontos obtidos sugere-se aplicar o estimador de densidade kernel (Worton, 1989; Powell, 2000) para determinar a área domiciliar. O uso de transmissores acoplados aos cetáceos também representa uma importante ferramenta para a investigação relacionada com as áreas de vida de cetáceos (ver próximo item).

Cabe aqui incluir a adição de um comentário sobre o uso de uma importante ferramenta para estudos ecológicos aplicados aos cetáceos. A determinação do sexo dos indivíduos observados nem sempre é possível de ser efetuada a olho nu em campo. A maioria das espécies de cetáceos não apresenta dimorfismo sexual, ou seja, não é possível distinguir machos e fêmeas em campo pelo porte, padrão de coloração ou comportamento. Portanto, seria prudente a determinação do sexo de indivíduos fotoidentificados para a condução de estudos comparativos entre os sexos. A coleta de pequenos fragmentos de pele (biópsias) tem sido empregada nos estudos sobre cetáceos desde a década de 1990. Para executar essa tarefa em campo costuma-se utilizar uma balestra ou um rifle especialmente confeccionado para esta finalidade. Aproxima-se dos indivíduos a serem sexados com a embarcação e dispara-se um dardo que atinge o exemplar amostrado. Logo após o choque, o dardo cai na água onde flutua. Um dispositivo na ponta do dardo faz com que o mesmo não fique preso aos cetáceos. Coleta-se o dardo na água e separa-se a amostra em alguma solução conservante (DMSO diluído ou álcool 98°GL) para posterior análise em laboratório (Berubé e Palsboll, 1996). Há diversos coletores por meio dos quais é possível obter um pequeno fragmento de gordura juntamente com a pele. Sendo assim, a gordura também pode ser utilizada para outros estudos como avaliação de poluentes, dieta – ácidos graxos, reprodução, dentre outros. Convém aqui lembrar ao leitor de que a obtenção de uma licença de coleta de amostras em cetáceos vivos é obrigatória.

Uso de hábitat e rotas migratórias

Este tópico foi adicionado para incluir o uso de transmissores de sinais de rádio ou GPS acoplado aos cetáceos. Em anos recentes, a tecnologia tem propiciado aos investigadores o uso de pequenos transmissores que são acoplados fisicamente nos cetáceos e que emitem sinais de rádio que podem ser captados *in situ* (antenas de rádio), ou sinais captados por receptores satelitais. Dependendo da espécie estudada e do transmissor utilizado, pode haver ou não a contenção do indivíduo amostrado. Com o transmissor acoplado ao cetáceo, é possível obter informações de extrema relevância sobre seus deslocamentos, incluindo rotas migratórias, seus mergulhos (com uso de TDR = *Time and*

Depth Recorders = “Amostradores de Tempo e Profundidade de Mergulhos”), e também é possível amostrar as características físicas (oceanográficas) do habitat utilizado pelos animais. Com o tempo, obteve-se uma tecnologia eficaz para que as baterias utilizadas tivessem a maior durabilidade possível e que o estresse e possíveis danos físicos aos quais os animais são submetidos seja o menor possível. Alguns transmissores permanecem ao longo de toda a vida acoplados ao corpo dos cetáceos, mesmo após o esgotamento das baterias. Outros mais modernos se soltam com o tempo em função das características do material utilizado na fabricação dos mesmos.

Tanto para este item, como para o anterior, é prudente que o investigador conheça as diversas características oceanográficas que descrevem sua área de estudo ao longo do tempo e do espaço, como: as características da água (salinidade, transparência, temperatura), da topografia (profundidade, sedimentos de fundo), as correntes e variações de marés, as espécies de presas e de predadores presentes, dentre outros. Como consequência, são unidas as peças que formam o quebra-cabeça descritor dos aspectos ecológicos relacionados com o predador de topo de cadeia e alvo principal do estudo.

Aspectos comportamentais

As ciências do comportamento são fascinantes e atraem um número significativo de estudantes. Apesar de muito atraentes, os estudos sobre comportamento de cetáceos são complexos e extremamente trabalhosos. São poucos os grupos de pesquisa pelo mundo que utilizam os métodos adequados para esse tipo de estudo. Uma revisão dos estudos sobre comportamento e cetáceos realizada ao final da década de 1990 mostrou que cerca de 70% dos trabalhos amostrados apresentavam graves falhas metodológicas (Mann, 1999). Além da revisão citada, recomenda-se a leitura de Lehner (1996).

Os estudos sobre comportamento de cetáceos podem ser desenvolvidos sob a superfície da água (quando a transparência da mesma permite), a partir de terra firme ou de uma embarcação. Em todos os casos os observadores devem estimar e reportar o grau de interferência dos mesmos nas observações a serem efetuadas. Antes de iniciar qualquer estudo, é importante que se conheça algumas características da espécie a ser estudada. Esse conhecimento surge após um tempo de observações investido antes de se executar um estudo que vise responder a uma desejada pergunta. Esta última geralmente se origina a partir das observações preliminares efetuadas, aliadas ao conhecimento da literatura sobre aquele determinado assunto. Diversos equipamentos podem auxiliar os investigadores nesses estudos como binóculos, máquinas fotográficas, filmadoras, equipamentos de bioacústica (ver adiante), *scooter* para observações subaquáticas, dentre outros. São pelo menos dez métodos a serem utilizados (Mann, 1999) e sugere-se uma familiarização com os mesmos.

Características das emissões sonoras e seus significados

A bioacústica, ciência multidisciplinar que combina a biologia à acústica, foi primeiramente aplicada aos cetáceos mantidos em cativeiros. Com o tempo os investigadores passaram a realizar tais investigações em ambiente natural. Em geral, os cetáceos emitem sons que têm por finalidade a interação social (incluindo reprodução), a percepção do espaço e a localização e captura de presas. A comunicação social é beneficiada no ambiente aquático, pois o som se propaga cinco vezes mais rápido na água do que no ar. Portanto, as emissões podem ser captadas a centenas de metros de distância. Por exemplo, machos de baleia-jubarte costumam emitir sons por tempos prolongados nas áreas de reprodução para atrair as fêmeas. Os sons empregados para a percepção do espaço e a localização e captura de presas foram estudados apenas em odontocetos. Esses sons emitidos fazem parte do sistema de eco-localização, o mesmo sistema utilizado pelos morcegos.

A bioacústica propicia aos pesquisadores a investigação de aspectos comportamentais relacionados com a alimentação, a reprodução, a execução de estudos sobre identificação de diferentes estruturas sociais, assim como a identificação de indivíduos. Para isso, o investigador deve estar equipado de um hidrofone (microfone adaptado ao ambiente aquático), de um bom gravador das emissões sonoras, de um programa computacional de qualidade para as análises das emissões sonoras, e uma boa noção sobre a física que rege os princípios da acústica. É preciso atentar às interferências locais quando executar o trabalho no campo, assim como na interpretação dos dados em laboratório. Neste último caso, a coleta de dados em campo deve ter um componente visual que venha detalhado nas anotações de campo e, quando preciso, que se identifiquem indivíduos por fotoidentificação.

Associações entre indivíduos de uma população e os graus de parentesco

A averiguação da forma de organização social é baseada em estudos sobre as associações entre pares de indivíduos que compõem uma população. São aplicados índices de associação entre pares de indivíduos e averiguadas todas as associações em conjunto. Para isso, será necessário identificar indivíduos em uma população. Descrições detalhadas sobre os métodos e as análises são encontradas em Whitehead (2008).

Para melhor descrever as sociedades em cetáceos, estudos baseados na coleta de amostras de pele (ver item Estimativas de tamanhos de área de vida) para investigações de graus de parentesco entre os diferentes indivíduos têm sido recomendados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Resumidamente foram apresentadas as principais linhas de estudos sobre cetáceos com suas respectivas técnicas de estudos. Maiores detalhes podem ser encontrados na vasta bibliografia disponível. Ficou claro na apresentação descrita que para os padrões nacionais a pesquisa com cetáceos é onerosa do ponto de vista econômico. Além disso, por lidar com espécies de longevidade alta, a maioria dos estudos só se faz relevante se realizada em médio e longo prazo. E em países com instabilidades econômicas como o Brasil este se torna um grande desafio. Finalmente, antes de iniciar o esboço de um projeto de pesquisa aplicado aos cetáceos, é importante que dois aspectos sejam muito bem conhecidos: a literatura existente sobre o assunto de interesse e as prioridades de pesquisa voltadas à conservação das espécies viventes (Reeves *et al.*, 2003).