



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

THIAGO LIMA DE CARVALHO

**COMPARAÇÃO DE RESPOTAS FUNCIONAIS DE DUAS ESPÉCIE DE
PEIXES PÍSCIVORAS**

MOSSORÓ - RN

2016

THIAGO LIMA DE CARVALHO

**COMPARAÇÃO DE RESPOTAS FUNCIONAIS DE DUAS ESPÉCIE DE
PEIXES PÍSCIVORAS**

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: ECOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DO SEMIÁRIDO

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Fernandes

MOSSORÓ - RN

2016

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do(a) autor(a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data da defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu(a) respectivo(a) autor(a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
BIBLIOTECA ORLANDO TEIXEIRA - CAMPUS MOSSORÓ
Setor de Informação e Referência

C331a Carvalho, Thiago Lima de.

Avaliação de impactos ecológicos de *Cichla kelberi* através de experimentos de comparação de respostas funcionais / Thiago Lima de Carvalho. - Mossoró, 2016.
30f: il.

Orientador: Dr. Rodrigo Fernandes

Dissertação (MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

1. Ecossistema aquático. 2. Bioinvasão. 3. Impactos ecológicos. 4. *Cichla*. I. Título

RN/UFERSA//BOT/018

CDD 577.6

THIAGO LIMA DE CARVALHO

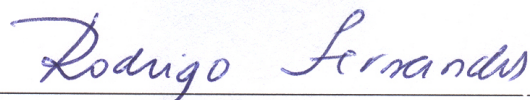
**COMPARAÇÃO DE RESPOSTAS FUNCIONAIS DE DUAS ESPÉCIES DE
PEIXES PÍSCIVORAS**

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

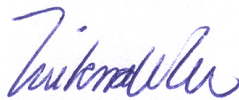
Linha de Pesquisa: ECOLOGIA E
CONSERVAÇÃO DO SEMIÁRIDO

Defendida em: 22 / 02 / 2016

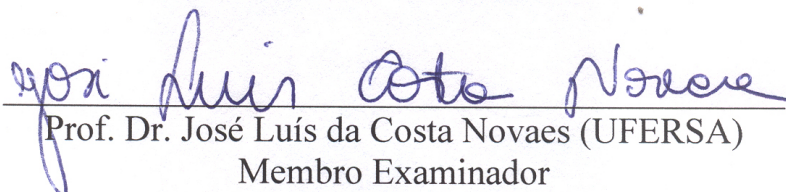
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Rodrigo Fernandes (UFERSA)
Presidente



Prof^a. Dra. Milena Wachlevski Machado (UFERSA)
Membro Examinador



Prof. Dr. José Luís da Costa Novaes (UFERSA)
Membro Examinador

Dedicatória

Ao meu irmão Kiko (*In Memoriam*).

Aos meus pais, José Cosme
e Zeneida Regina.

Agradecimentos

À CAPES pelo provimento da bolsa de estudos.

Ao setor de Aquicultura da UFERSA pelo espaço onde foi realizado o trabalho.

Ao programa de Pós Graduação em Ciência Animal.

Agradeço aos meus pais por me ajudado e acreditado na caminhada que decidi traçar.
Meus sentimentos de gratidão!

Agradeço ao orientador Rodrigo Fernandes pela oportunidade e por compartilhar dos seus conhecimentos e orientação durante esses dois anos de pesquisa, e incentivado a busca do conhecimento científico.

Aos amigos Alex e Luysa que estão presente desde o primeiro resultado até agora, e espero continuarmos nossas andanças pelos caminhos do conhecimento incessantemente, um forte abraço! À Laura Amélia por todos os 8 anos de amizade, incentivo e muitas gargalhadas e lágrimas.

Aos colegas do laboratório Aquabio, Maria Joana, Carlos Walker e Íris Helena por toda a ajuda durante os experimentos e pesquisa durante esses dois anos, muito obrigado!

Aos colegas do laboratório BeeLab, Aline, Noeide, Thorben e Vinícius, pelas gargalhadas e cafés tomados todas as tardes, almoços compartilhados e abraços!

Um abraço mais do que especial para Antônia por todos os abraços na chegada e na saída. Para Luzinete por todos os bons dias e sorrisos, para a querida Sueli, um enorme abraço. Obrigado a Chaguinha, por todas as gargalhadas e histórias compartilhadas, cafés e abraços!

Agradeço a todas as pessoas que por mim passaram, levaram e deixaram algo de significativo para nossas vidas!

Obrigado!

COMPARAÇÃO DE RESPOSTAS FUNCIONAIS DE DUAS ESPÉCIES DE PEIXES PÍSCIVORAS

Carvalho, Thiago lima de ¹ Rodrigo Fernandes¹

¹Mestrado em Ciência Animal - Programa de pós-graduação em ciência animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, (UFERSA), Mossoró – RN, Brasil, 2016.

RESUMO: Espécies do gênero *Cichla* têm sido introduzidas em vários ecossistemas aquáticos tropicais, resultando em uma redução na diversidade e tamanho populacional de assembleias de peixes nativos, devido a sua atuação predatória. Os mecanismos de predação pelos quais o tucunaré (*Cichla kelberi*) permanece pouco conhecido. Nesse estudo foram comparadas as respostas funcionais de um peixe predador alienígena *C. kelberi* e de um predador nativo *Hoplias aff. malabaricus*. Especificamente, foram testadas as hipóteses: 1) que ambas as espécies de predador apresentam respostas funcionais do Tipo II, na qual a espécie preda em baixa densidade, sobre diferentes espécies de presas, e que 2) as respostas funcionais do predador alienígena foram maiores para todas as presas, quando comparados com o predador nativo. Os predadores foram aclimatados nos tanques de 500 litros e alimentados duas vezes ao dia com alevinos de *Oreochromis niloticus* e *Litopenaeus vannamei* durante 3 dias, 4 presas pela manhã e 4 presas à tarde. Os níveis de fome foram padronizados depois de um jejum de 48 horas. Foi introduzido aleatoriamente um exemplar de *C. kelberi* em cada tanque de *O. niloticus* com densidades iniciais de presas de 2, 4, 8, 16, 25 e 40 e para *L. vannamei* 2, 4, 8, 16, 32 e 64 (n = 4 por densidade), e depois de 24 horas contabilizado o número de presas consumidas. Este método foi repetido para o predador nativo *H. aff. malabaricus*. Totalizando 48 unidades experimentais. A resposta funcional de *C. kelberi* foi maior ou equivalente a do predador nativo *H. aff. malabaricus*. Não houve diferença no consumo entre as duas espécies nas baixas densidades. A taxa de ataque não diferenciou entre os dois predadores e o tempo de manipulação foi impulsionado por *C. kelberi* para a espécie *O. niloticus*. As duas espécies apresentaram resposta funcional do tipo II corroborando com o método de resposta funcional comparativa de prever os impactos nas comunidades nativas. Respostas funcionais é um método rápido e confiável para previsão de impactos ecológicos de espécies invasoras.

Palavras-chave: tempo de manipulação, taxa de ataque, bioinvasão

COMPARISON OF FUNCTIONAL RESPONSES OF FISH SPECIES OF TWO PISCIVORES

Carvalho, Thiago lima de ¹ Rodrigo Fernandes¹

¹Programa de pós-graduação em ciência animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, (UFERSA), Mossoró – RN, Brasil, 2016.

ABSTRACT: Species of the *Cichla* genus have been introduced in a variety of tropical aquatic ecosystems, thus resulting in a marked reduction in diversity and population size of native fish assemblages due to their predatory behavior. Despite *Cichla* induced impact the mechanisms by which the species are still poorly known. In this study we compared the functional response of an alien predator fish *C. kelberi* and a native predator *H. aff. malabaricus*. More specifically, the tested hypotheses were: 1) both predator species have functional responses of type II on different prey species, and 2) the functional responses of the alien predator were higher for all preys when compared to the native predator. The predators were acclimated in tanks of 500 liters and fed twice daily with preys *O. niloticus* and *L.vannamei* for 3 days, 4 preys in the morning and 4 in the afternoon. Hunger levels were standardized after a fast of 48 hours. After the pre-experimental phase an exemplar of *C. kelberi* was randomly introduced in each tank of *O. niloticus* with initial prey densities of 2, 4, 8, 16, 25 and 40, and for *L. vannamei* 2, 4, 8, 16, 32 and 64 (n = 4 per density). After 24 hours the number of prey consumed was counted. This method was repeated for the native predator *H. aff. malabaricus*. Totaling 48 experimental units. The functional response *C. kelberi* was greater than or equivalent to the native predator *H. aff. malabaricus*. There was no difference in consumption between the two species at low densities. The attack rate did not differ between the two predators and handling time was driven by *C. kelberi* for the species *O. niloticus*. However, the two species showed functional response type II, thus corroborating with the comparative functional response method to predict the impact on native communities. Functional Comparative Response is a quick and reliable method to predict the ecological impacts of invasive species.

Key words: Handling time, attack rate, bioinvasion

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Exemplares de *Cichla kelberi* (A) e *Hoplias aff. malabaricus* (B) capturados em açudes dos rios Ererê e Piranhas-Açu, respectivamente.....20
- Figura 2:** Exemplares de *Oreochromis niloticus* (A) e *Litopenaeus vannamei* (B) adquiridos no Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) e na empresa COMPESCAL, respectivamente21
- Figura 3:** Respostas funcionais do predador alienígena *C. kelberi* e o predador nativo *H. aff. malabaricus* sobre as de presas *O. niloticus* e *L. vannamei*.....24
- Figura 4:** Valores observados calculado pela equação de Roger (1) mais intervalo de confiança de 95% calculado através de um Bootstraping (n = 1000) para *Cichla kelberi* e *Hoplias aff. malabaricus*.26

LISTA DE TABLEAS

Tabela 1: Parâmetros químicos e físicos da água durante os experimentos de resposta funcional22.

Tabela 2: Coeficiente linear (cl) e níveis de significância derivados de uma análise de regressão logística da proporção das presas *O. niloticus* e *L. vannamei* consumidos e a densidade de presas, com o predador alienígena *C. kelberi* e o predador nativo *H. aff. malabaricus*.....24.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO GERAL	15
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1 BIOLOGIA E ECOLOGIA DOS PREDADORES	16
3.1.1 <i>Cichla kelberi</i>	16
3.1.2 <i>Hoplias</i> aff. <i>malabaricus</i>	16
3.2 IMPACTOS ECOLÓGICOS INDUZIDOS POR <i>CICHLA</i> EM ECOSISTEMAS TROPICAIS.....	17
4.1 AQUISIÇÕES DE ANIMAIS	20
4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	21
5 RESULTADOS.....	23
6 DISCUSSÃO	27
7 REFERÊNCIAS	29

INTRODUÇÃO

Os processos de globalização e o desenvolvimento dos sistemas de transportes têm aumentado as taxas de introdução e invasão de espécies alienígenas, em níveis de magnitude sem precedentes na história do planeta (RICCIARDI, 2007). Como resultado, muitas espécies alienígenas têm causado diversos tipos de impactos negativos em diferentes níveis de organização ecológica. Por possuírem maior poder de predação, sua invasão acarreta no declínio das populações de espécies nativas, e consequentemente, ocasionam desequilíbrio no ecossistema (BARRIOS-O'NEILL et al., 2013; MACK et al., 2000; RICCIARDI, 2007; VITULE; FREIRE; SIMBERLOFF, 2009)

Recentemente, estudos comparativos de respostas funcionais (relação entre o consumo e a disponibilidade de recursos) têm sido utilizados como métodos para quantificar e prever os impactos de espécies alienígenas sobre diferentes espécies de presas (ALEXANDER et al., 2014a; BOLLACHE et al., 2008b; DICK et al., 2014). Os predadores alienígenas tendem a possuir uma relação mais alta entre o consumo e a disponibilidade do recurso do que a espécie nativa, causando mais impactos diretos sobre as presas, porque apresentam maior capacidade de suprimir recursos em um mesmo intervalo de tempo (ALTWEGG et al., 2006). Estudos de resposta funcional revelaram resultados de predadores alienígenas para curva do tipo II exibindo resultados maior ou equivalente ao de espécies nativas (ALEXANDER et al., 2014b; BOLLACHE et al., 2008a; DICK et al., 2012).

Conhecido vulgarmente como tucunaré tem sua distribuição natural na bacia do Rio Araguaia e na parte baixa do Rio Tocantins (KULLANDER; FERREIRA, 2006). A espécie é um predador visual com hábito diurno, perseguidora, com elevada voracidade alimentar e que habita preferencialmente ambientes lênticos e estruturados, como galhadas e macrófitas (PELICICE et al. 2009). Possui uma elevada adaptabilidade reprodutiva em ambientes modificados como barragens e reservatórios, particularmente devido à sua plasticidade reprodutiva e cuidado parental do tipo guardador (WINEMILLER, 2001).

A segunda espécie é *H. aff. malabaricus* (Bloch, 1794), vulgarmente conhecida como traíra, ocorre em toda América do Sul, com exceção da região transandina e a Patagônia, sendo comumente encontrada em planície de inundação (FOWLER 1950). A espécie é um predador bentônico com hábito crepuscular, sedentária, emboscadora, e que habita

preferencialmente ambientes estruturados, como banco de macrófitas. Apresenta adaptações morfológicas, como presença de órgãos respiratórios acessórios, que aumentam sua tolerância em condições de estresse de oxigênio (MILANI; MACHADO; SILVA, 2010; PETRY et al., 2007)

A curva esperada pelos predadores será do tipo II, caracterizada por desestabilizar as populações de presas, sendo a resposta funcional do predador alienígena *C. kelberi* maior ou equivalente à da espécie *H. malabaricus*, corroborando com o método de resposta funcional comparativa para a previsão da repercussão de predadores introduzidos. Os impactos causados pela espécie em ambientes onde foram introduzidos vêm sendo documentado ao longo dos anos (KOVALENKO et al., 2010b; PELICICE; AGOSTINHO, 2009a). O uso do método de resposta funcional comparativa pode prever parte do problema existente, quantificando a capacidade de consumo de presas pela espécie alienígena (DICK et al., 2012).

Espécie do gênero *Cichla* (tucunaré) tem sido introduzida em diversos ecossistemas tropicais, resultando em alterações drásticas na diversidade e funcionamento dos ecossistemas. Por exemplo, foi observado que após sua introdução no Reservatório de Rosana no Rio Paraná comunidades de peixes associados a bancos de macrófitas exibiram um declínio de 97,5%, atingindo principalmente peixes de pequeno porte (PELICICE; AGOSTINHO, 2009b). Na Ilha Barro Colorado, Gatun Lake, o efeito da predação por *Cichla* foi devastadora sobre as populações de peixes nativos, isso quando comparado a dados anteriores a sua introdução, observando eliminação de seis das oito espécies encontrada e reduzindo significativamente a população (PAINE & ZARET, 1973). No entanto a resposta numérica dos predadores contribui para a magnitude do impacto, isso é, a quantidade de predadores no ambiente. Alguns efeitos podem ser causados pelo o número de predadores como *C. kelberi*, efeitos indireto faz com que as populações de presas sofram redução da atividade e taxa de ingestão e reprodução (LIMA & DILL, 1990) e os efeitos diretos são a redução das populações de presas nativas no ecossistema. *C. kelberi* é eficiente na captura de presas mesmo em regiões protegidas por bancos de macrofitas, no qual a predação não foi afetada pelo o ambiente estruturado (KOVALENKO et al., 2010b).

O uso de métodos de análise de risco auxiliar à prever as consequências causadas por espécies exóticas. Desta maneira, visando contribuir na identificação do consumo per capto de *C. kelberi* sobre as populações de presas e colaborar para a previsão de impactos relacionados a espécie de predadores no ecossistema, esse estudo teve como objetivo

comparar o tipo de resposta funcional do predador alienígena *C. kelberi* e do predador nativo *H. aff. malabaricus* sobre diferentes espécies de presas, experimentalmente em mesocosmos.

Estudos com resposta funcional comparativa tem revelado um método eficiente em prever e identificar invasores potencialmente prejudiciais em novos ambientes onde foram introduzidos. Isso porque o método constitui em comparar os parâmetros (taxa de ataque a , tempo de manipulação h e taxa de alimentação máxima $1/hT$ da curva de resposta funcional de dois predadores, um nativo e um outro exótico (BOLLACHE et al., 2008b). Com isso é possível analisar o consumo per capita de cada espécie em relação a densidade de presas do ambiente onde estão presentes (PAINE, 1973)

Para tanto, foram testadas as hipóteses que: 1) os predadores apresentam respostas funcionais do Tipo II, uma vez que ambos são vorazes, e é esperado que tenham a capacidade de desestabilizar o tamanho populacional das presas; e 2) que *C. kelberi* apresenta maiores respostas funcionais para todas espécies de presas, quando comparados à *H. malabaricus*.

2 OBJETIVO GERAL

Comparar o tipo de resposta funcional do predador exótico *C. kelberi* e do predador nativo *H. aff. malabaricus* sobre duas espécies de presas, com o intuito de colaborar para a previsão de impactos ecológicos.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar o tipo de resposta funcional dos predadores *C. kelberi* e *H. aff. malabaricus* sobre as presas *Oreochromis niloticus* e *Litopenaes vannamei*.
2. Estimar os valores da taxa de ataque (a) para *C.kelberi* e *H. aff. malabaricus*.
3. Estimar os valores do tempo de manipulação de presas (h) de *C.kelberi* e *H. aff. malabaricus*
4. Estimar os valores da taxa máxima de alimentação ($1/hT$) de *C.kelberi* e *H. aff. malabaricus*
5. Comparar os parâmetros (a , h e $1/hT$) das respostas funcionais de *C. kelberi* e *H. aff. malabaricus*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 BIOLOGIA E ECOLOGIA DOS PREDADORES

3.1.1 *Cichla kelberi*

Conhecido vulgarmente como tucunaré tem sua distribuição natural na bacia do Rio Araguaia e na parte baixa do Rio Tocantins (KULLANDER; FERREIRA, 2006). O tucunaré é um predador visual com hábito diurno, perseguidora, com elevada voracidade alimentar e que habita preferencialmente ambientes lênticos e estruturados, como galhadas e macrófitas (Pelicice et al. 2009). Possui uma elevada adaptabilidade reprodutiva em ambientes modificados como barragens e reservatórios, particularmente devido à sua plasticidade reprodutiva e cuidado parental do tipo guardador (WINEMILLER 2001). O período de maturação e desova de *C. kelberi* ocorre entre os meses de novembro e abril, e a fase de desova ocorre entre os meses de maio e agosto. A fecundidade média de *C. kelberi* é de aproximadamente 7400 ovócitos por postura e o tamanho médio da primeira maturação é cerca de 27 cm (VILLARES; GOMIERO, 2010). A espécie é um predador generalista com uma elevada plasticidade alimentar, com a dieta consistindo principalmente de peixes, crustáceos e insetos (VILLARES; GOMIERO, 2010)

3.1.2 *Hoplias aff. malabaricus*

H. i malabaricus (Bloch, 1794), vulgarmente conhecida como traíra, ocorre em toda América do Sul, com exceção da região transandina e a Patagônia, sendo comumente encontrada em planície de inundação (FOWLER 1950). A traíra é um predador bentônico com hábito crepuscular, sedentária, emboscadora, e que habita preferencialmente ambientes estruturados, como banco de macrófitas. Apresenta adaptações morfológicas, como presença de órgãos respiratórios acessórios, que aumentam sua tolerância em condições de estresse de oxigênio (MILANI; MACHADO; SILVA, 2010; PETRY et al., 2007). *H. aff. malabaricus* possui período de reprodução variável, pode ocorrer durante os meses de elevada precipitação pluviométrica em regiões do Sul e Sudeste do país, mas também durante os períodos de estiagem e temperaturas mais elevadas em outras regiões como o Nordeste do Brasil (CARAMASCHI & GODINHO, 1982). A traíra possui cuidado parental no qual, observações

sugerem que o cuidado masculino é a forma normal de cuidados parentais em *H. aff. malabaricus*, mas cuidado biparental também pode ocorrer. *H. aff. malabaricus* pode ter sua alimentação influenciada pela temperatura do ambiente e pelo tamanho do seu corpo (PETRY et al., 2007). *H. aff. malabaricus* apresenta uma reprodução parcelada, fazendo várias pequenas desovas no período reprodutivo em pequenas depressões, no qual a fêmea deposita seus ovos, enquanto o macho os fertiliza, até que eclodam e nadem para a vegetação (FISHER, 2005). *H. aff. malabaricus* é considerada um predador voraz desde a fase larval até a fase adulta, sendo planctófaga na fase larval, na fase juvenil consome pequenos invertebrados como odonatas e camarões e na fase adulta possui preferência alimentar por pequenos peixes (AZEVEDO & GOMES, 1942).

3.2 IMPACTOS ECOLÓGICOS INDUZIDOS POR *CICHLA* EM ECOSISTEMAS TROPICAIS

Os impactos causados pela espécie *C. kelberi* estão ligados a sua introdução em um novo ambiente geralmente por meio da pesca esportiva, aquicultura, através do peixamento, método de soltura de peixes para colonização de reservatórios para o aumento da pesca por comunidades pesqueiras. As regiões no qual, espécies do gênero *Cichla* foram introduzidas, como o nordeste do Brasil, hoje representam um problema para as comunidades de peixes nativos por conta do risco de extinção decorrente da predação por espécies do gênero *Cichla*. Peixes do gênero *Cichla* são os principais recursos para a alimentação e a pesca desportiva em várias regiões do Brasil (KULLANDER; FERREIRA, 2006).

Em ambientes modificados, espécies do gênero *Cichla* mostram pouca diversidade de itens alimentares e uma elevada incidência de canibalismo, por outro lado, em ambientes não modificados, a diversidade de itens alimentares é superior consistindo principalmente de peixes, crustáceos (GODINHO, 1994; GOMIERO; BRAGA, 2004; NOVAES; CARAMASCHI; WINEMILLER, 2004). (GODINHO, 1994).

A colonização depois da introdução por *C. kelberi* pode ser rápida em ambientes com condições favoráveis, especialmente em ambientes aquáticos com transparência, uma vez que são altamente dependentes de pistas visuais (FUGI et al. 2008). A introdução de espécies piscívoras como *C. kelberi* pode causar alguns danos como a redução ou a extinção de populações nativas, degradação genética destas espécies, dispersão de doenças e parasitas e

com possíveis efeitos em cascata em toda a cadeia trófica (PAINE, 1973). Algumas espécies de peixes desapareceram depois da introdução de *Cichla* no Vale do Rio Doce em Minas Gerais (GODINHO, 1994). No reservatório de Rosana no Rio Paraná houve um declínio notável na diversidade de peixes associados a bancos de macrófitas aquáticas que mostrou uma perda quase total da assembleia de peixes em poucos anos após a introdução de *Cichla kelberi* (PELICICE; AGOSTINHO, 2009b). Lagos que possuem *C. kelberi* tendem a apresentar um número menor de espécies nativas do que lagos onde a espécie não está presente, nos lagos foram encontrados 3 espécies nativas e 4 espécies não nativas, e lagos que não continham a espécie do gênero *Cichla* possuíam um total de 11 espécies nativas (MENEZES et al., 2011).

3.3 RESPOSTAS FUNCIONAIS COMPARATIVAS COMO MÉTODO DE PREVISÃO DE IMPACTOS

Estudos com resposta funcional comparativa tem revelado um método eficiente em prever e identificar invasores potencialmente prejudiciais em novos ambientes onde foram introduzidos. Isso porque o método constitui em comparar os parâmetros (taxa de ataque a , tempo de manipulação h e taxa de alimentação máxima $1/hT$ da curva de resposta funcional de dois predadores, um nativo e um outro exótico (BOLLACHE et al., 2008b). Com isso é possível analisar o consumo per capita de cada espécie em relação a densidade de presas do ambiente onde estão presentes (PAINE, 1973). A diferença nesses parâmetros pode revelar uma maior eficiência entre os predadores durante o forrageio que pode ajudar a entender e prever novos impactos ecológicos causados por predadores exóticos (ANDERSEN et al., 2004; DICK et al., 2012). Estudos exibiram diversos resultados no qual, a presença de predadores exóticos afetaram os ecossistemas onde foram introduzidos, desde a competição entre os predadores nativos quanto a diminuição dos itens na cadeia alimentar através da predação (KOVALENKO et al., 2010a; PELICICE; AGOSTINHO, 2009b).

A resposta funcional pode ser por fatores como, temperatura, salinidade, densidade entre outros fatores que pode mudar a real característica da curva levando a uma conclusão incerta (IACARELLA et al., 2015). Foi observado um melhor desempenho na predação das espécies invasoras em regiões com características climáticas similares como da sua região de origem, demonstrando um contexto dependente em relação a fatores abióticos e bióticos (IACARELLA et al., 2015).

A eficiência do método está sendo documentada através da observação e estimativa dos parâmetros da curva de resposta funcional para a previsão de impacto de predadores exóticos, futuros ou existentes (ALEXANDER et al., 2012, 2014b; ALTWEGG et al., 2006; BOLLACHE et al., 2008b; DICK et al., 2014).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AQUISIÇÕES DE ANIMAIS

Para a realização dos experimentos de resposta funcional, foram capturados com anzol e linha 45 juvenis de *C. kelberi* (comprimento total médio = 17,6 cm; DP = $\pm$ 1,9 cm) açudes localizados no rio Ererê (4° 11' 37'' S, 38° 28' 26'' W) e com tarrafa 40 de *H. aff. malabaricus* (comprimento total médio = 16,8, DP = $\pm$ 1,14 cm), no açude Piranhas-Açu (6° 29' 27'' S, 37° 4' 16'' W), localizado no semiárido brasileiro, no período de Julho a Agosto de 2014 (Figura 1). Todos os predadores foram transportados e as espécies separadas em caixas circulares de 1000 l, com sistema de recirculação e aeração constante no Setor de Aquicultura da Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Todos os predadores foram submetidos a um tratamento com solução de permanganato de potássio (1mg/l), durante 10 minutos para remover fontes de patógenos externos. Como a captura com anzol pode causar injúrias e estresse nos indivíduos, os predadores foram monitorados e alimentados por um período de quarentena, para avaliar o restabelecimento das atividades de forrageamento e consumo.

Figura 1: Exemplos de *Cichla kelberi* (A) e *Hoplias aff. malabaricus* (B) capturados em açudes dos rios Ererê-CE e Piranhas-Açu-RN, respectivamente.



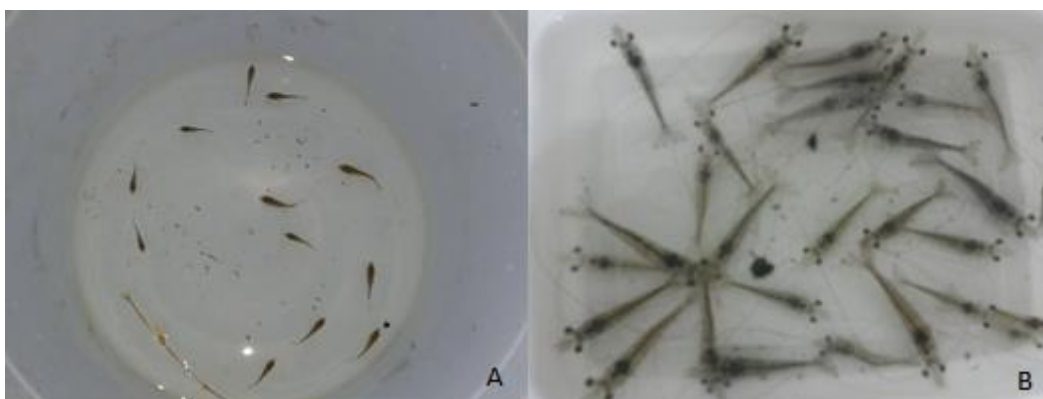
Foram utilizadas como presas para os predadores alevinos de *Oreochromis niloticus* (comprimento total médio = 3,0 cm; DP = $\pm$ 0,4 cm) e juvenis de *Litopenaeus vannamei* (comprimento total médio = 4,0; DP = $\pm$ 0,4 cm) (Figura 2). Os indivíduos de *O. niloticus* e *L. vannamei*, espécies exóticas, foram adquiridas no Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) e na empresa COMPESCAL, respectivamente. Ambas espécies de presas foram transportadas e aclimatadas em dois tanques circulares com capacidade de mil litros, nos quais passaram por um tratamento de desinfecção com solução de permanganato de

potássio (1mg/l), durante 10 min. As presas foram alimentadas com ração comercial durante toda fase experimental. As duas espécies de presas foram escolhidas pela facilidade e disponibilidade no mercado, e porque peixe e camarão são itens alimentares frequentes na dieta de ambas as espécies de predador (POMPEU; GODINHO, 2001)..

A variabilidade dos parâmetros físico e químicos da água foi baixa para as duas espécies de presas dentro de cada experimento (tabela 1). Assim, assumiu-se que a variabilidade da água não afetou o resultado do consumo dos predadores. A turbidez da água variou entre 2 e 5 NTU, e não ultrapassou 5 NTU durante o período experimental.

Durante o experimento a qualidade da água (temperatura foi monitorada através de uma sonda multi-parâmetros Horiba U-50 imediatamente antes de começar e imediatamente ao terminar o experimento). Evitando qualquer tipo de estresse aos predadores durante a fase experimental.

Figura 2:Exemplares de *Oreochromis niloticus* (A) e *Litopenaeus vannamei* (B) adquiridos no Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) e na empresa COMPESCAL, respectivamente.



4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os experimentos foram realizados no período entre novembro de 2014 e maio de 2015. Devido limitações logísticas, pela falta de tanques suficientes para rodar a quantidade de réplicas de uma única vez, os experimentos foram realizadas para cada predador e presas separadamente. Para a realização dos experimentos de resposta funcional, predadores foram aclimatados individualmente em tanques de 500 litros por um período de 120 horas. Durante a aclimação, os predadores foram alimentados duas vezes ao dia com as presas *O. niloticus* e *L.vannamei* por 72 horas, 4 presas pela manhã e 4 presas a tarde para padronização do

consumo individual. Em seguida, a alimentação foi removida para padronizar os níveis de fome por 48 horas. Os experimentos iniciaram às 8h com a adição aleatória de seis níveis de densidades de *O. niloticus* (2, 4, 8, 16, 25 e 40 indivíduos) e *L. vannamei* (2, 4, 8, 16, 32 e 64 indivíduos) ($n = 4$ por densidade). Os controles consistiram da replicação das seis densidades de presas, sem a adição de predadores. Após 24h, os predadores foram removidos das unidades experimentais, e o número de presas não consumidas foi contado..

Para testar os efeitos das espécies de predador e densidade de presas no consumo médio de presas depois de 24 horas, foi utilizada uma análise de variância..

Para testar o tipo de resposta funcional do tipo II exibida pelos predadores, foi feito uma análise de regressão logística para testar o coeficiente linear negativo em relação a proporção de presas consumidas e a densidade de presas. Quando o coeficiente linear de primeira ordem é significativo, isso sugere uma resposta funcional do tipo II, quando coeficiente linear de primeira ordem é positivo seguido de um coeficiente de segunda ordem negativo sugere uma resposta funcional do tipo III. Então foi ajustado os dados para a equação de Roger, no qual, as presas não são substituídas após o consumo (HOLLING, 1959).

$$\text{Equação de Roger: } Ne = N_0 (1 - \exp(a (Ne. (h-T)))) \quad (1)$$

Ne é o número de presas consumidas, N_0 é a densidade inicial de presa, a é a taxa de ataque, h é o tempo de manipulação de presa, e T é tempo total experimental. De acordo com à natureza implícita da equação aleatória para predador, a função W Lambert foi implementado para ajustar os dados ao modelo (BOLKER 2010). Para comparar os parâmetros das respostas funcionais da equação (1) foi utilizado um *bootstrapping* para gerar múltiplas estimativas ($n = 1000$) dos parâmetros das taxas de ataque (a), tempo de manipulação (h), e a taxa máxima de alimentação ($1/ht$) no qual, foram comparadas entre o predador introduzido *C. kelberi* e o predador nativo *H. malabaricus* por um teste t.

5 RESULTADOS

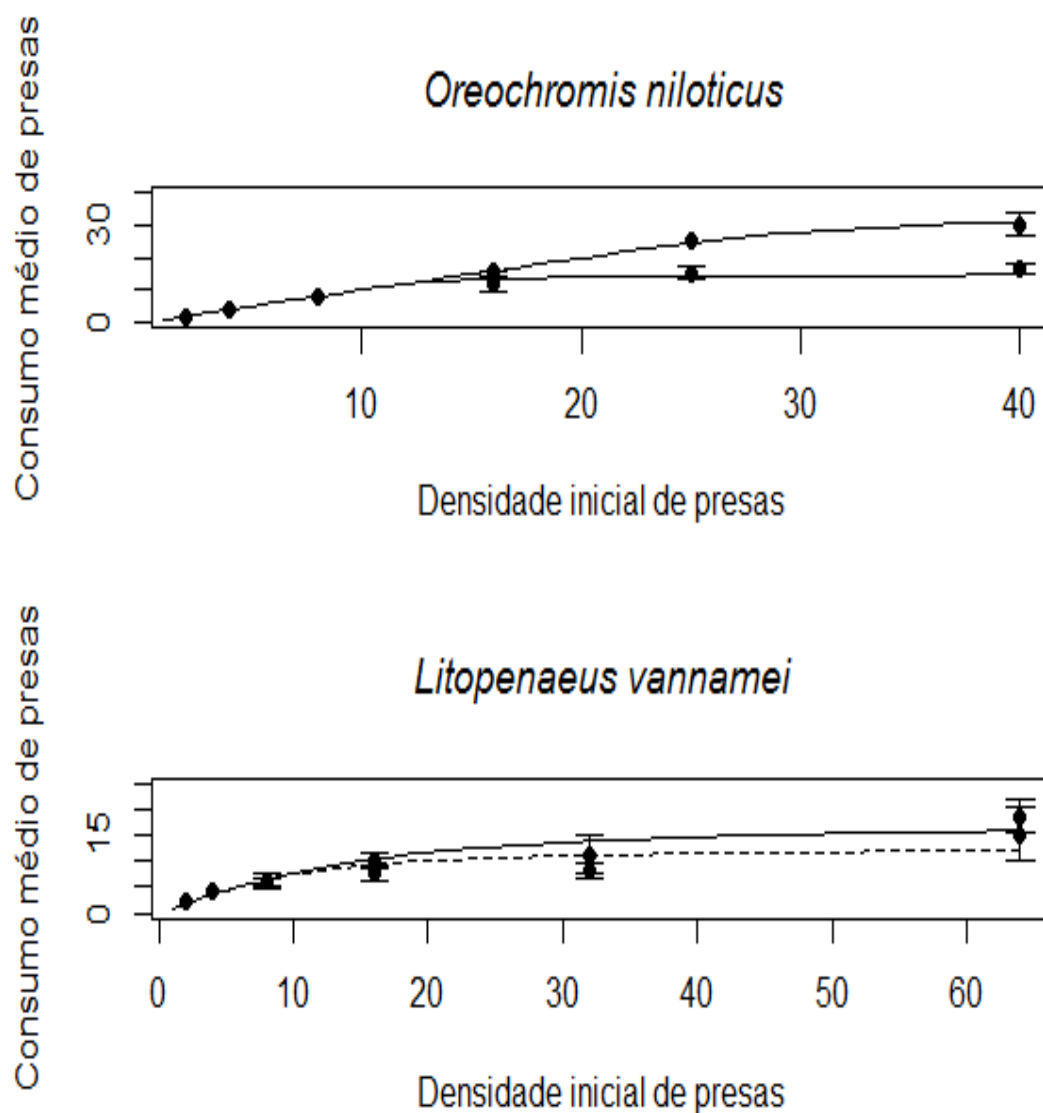
Tabela 1: Parâmetros químicos e físicos da água durante os experimentos de resposta funcional dos dois predadores.

Parâmetros físico-químicos <i>Cichla kelberi</i>						Parâmetros físico-químicos <i>H. aff. malabaricus</i>					
Exp. <i>Oreochromis niloticus</i>						Exp. <i>Oreochromis niloticus</i>					
	Média	Desv p.	Variância	Min	Max		Média	Desv p.	Variância	Min	Max
T	29,0	0,21	0,05	29,30	30,30	T	29,5	0,4	0,2	28,1	30,0
O2	7,77	0,68	0,47	6,65	8,65	O2	9,8	3,6	13,0	6,3	20,3
O2 sat	103,06	9,87	30,00	86,00	116,00	O2 sat	13,1	27,0	7,8	83,8	16,6
pH	8,24	0,04	0,00	8,16	8,30	pH	8,5	0,1	0,0	7,8	8,6
NTU	2,49	1,48	2,19	0,60	2,19	NTU	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Exp. <i>Litopenaeus vannamei</i>						Exp. <i>Litopenaeus vannamei</i>					
	Média	Desv p.	Variância	Min	Max		Média	Desv p.	Variância	Min	Max
T	26,89	0,33	0,11	26,23	27,82	T	26,13	0,78	0,61	25,62	29,58
O2	4,90	0,65	0,42	3,74	6,03	O2	7,06	0,67	0,45	5,48	8,40
O2 sat	62,12	7,86	28,30	48,00	76,70	O2 sat	87,16	7,77	30,30	70,20	100,30
pH	8,53	0,04	0,00	8,16	8,30	pH	8,68	0,20	0,04	8,57	9,60
NTU	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	NTU	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Durante o experimento controle sem predadores ($n = 3$ por densidade para as duas espécies de presas), a sobrevivência das presas foi de 100%, assim todas as mortes durante o experimento foram atribuídas a predação

Cichla kelberi consumiu em média mais presas da espécie *O. niloticus* do que *H. malabaricus* ($F_{1,88} = 77.606$, $P < 0,001$, Fig. 3). Para a presa *L. vannamei* o consumo médio das duas espécies de predadores não diferiu significativamente ($F_{2,35} = P > 0,05$, Fig. 3). A interação entre a espécie de predador e a densidade de presas não foi significativa ($F_{1,88} = 4.451$, $P < 0,05$). Refletindo em um maior consumo de presas por *C. kelberi* nas altas densidades de *O. niloticus* quando comparado ao predador nativo *H. aff. malabaricus*.

Figura 3: Respostas funcionais do predador exótico *Cichla. kelberi*(contínua) e o predador nativo *Hoplias. aff. Malabaricus*(pontilhada) sobre as de presas *O. niloticus* e *L. vannamei*.



Os resultados da regressão logística demonstraram que o coeficiente linear de primeira ordem foi negativo, indicando uma curva de resposta funcional do tipo II para os dois tipos de presas *O. niloticus* e *L. vannamei* (Fig. 3).

Tabela 2: Coeficientes lineares (cl) e níveis de significância derivados de uma análise de regressão logística da proporção das presas *O. niloticus* e *L. vannamei* consumidos e a densidade de presas, com o predador exótico *C. kelberi* e o predador nativo.

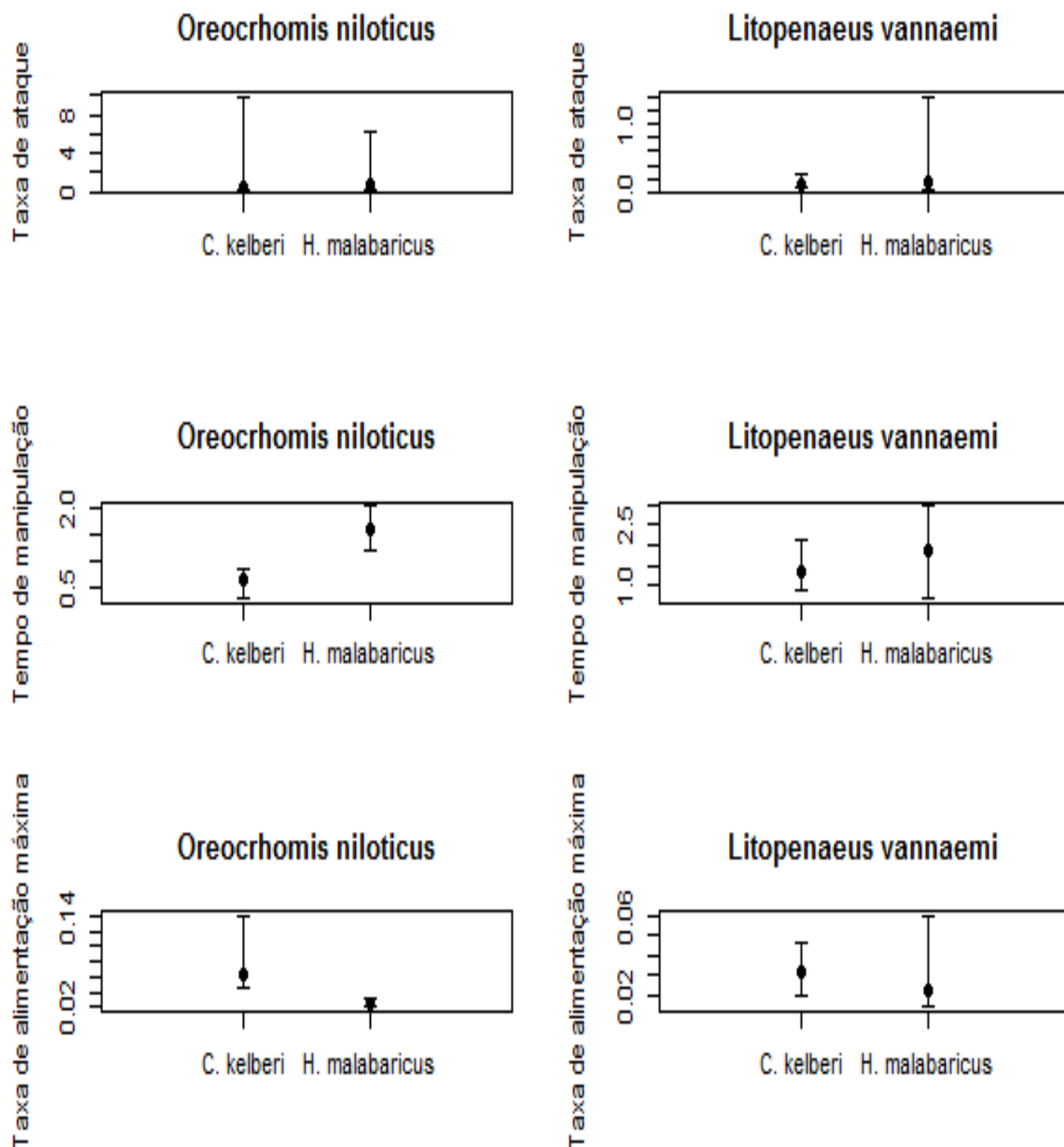
Predador	Presa	CI	P
<i>C. kelberi</i>	<i>O. Niloticus</i>	-0.209	<0,001
	<i>L. vannamei</i>	-0.032	<0,001
<i>H. aff. malabaricus</i>	<i>O. Niloticus</i>	0.090	<0,001
	<i>L. vannamei</i>	0.033	<0,001

As taxas de ataque do predador *C. kelberi* e *H. aff. malabaricus* foram convergentes, indicando que não houve diferença significativa em relação a presa *O. niloticus* e *L. vannamei* (Figura 4).

Os intervalos de confiança demonstraram diferença significativas em relação ao tempo de manipulação de presas foi menor para *C. kelberi* do que *H. aff. malabaricus* em relação a espécie de presa *O. niloticus* ($P < 0,05$). No entanto, para a presa *L. vannamei* os intervalos de confiança convergiram indicando que não houve diferença significativa no tempo de manipulação para os dois predadores (Figura 4).

Os resultados da taxa máxima de alimentação dos predadores *C. kelberi* e *H. aff. malabaricus* para a presa *O. niloticus* divergiram indicando um maior consumo do predador exótico *C. kelberi*. Enquanto para a presa *L. vannamei* as taxas de alimentação máxima dos predadores *C. kelberi* e *H. aff. malabaricus* convergiram indicando que não houve diferenças significativas no consumo entre os dois predadores (Figura 4)

Figura 4: Valores observados calculado pela equação de Roger (1) mais intervalo de confiança de 95% calculado através de um Bootstrapping (n = 1000) para *Cichla.kelberi* e *Hoplias aff.. malabaricus*.



6 DISCUSSÃO

O presente estudo testou as hipóteses que ambas espécies de predadores apresentaram respostas funcionais do Tipo II para as presas *O. niloticus* e *L. vannamei*, e que *C. kelberi* apresenta maiores respostas funcionais para todas as espécies de presas, quando comparados à *H. malabaricus*. Os resultados experimentais confirmaram a primeira hipótese, sugerindo que ambos predadores têm a capacidade de desestabilizar populações de presas de um ecossistema. Esses resultados suportam as observações de estudos empíricos que registraram a depleção de populações de presas nativas após a introdução de *C. kelberi* em ecossistemas tropicais (KOVALENKO et al., 2010a; PELICICE; AGOSTINHO, 2009b). Como , no reservatório de Rosana no Paraná, houve um declínio de mais de 80% na abundância e extinção local de populações de pequenos caracídeos (1 a 4,5 cm) em um intervalo de dois anos.(PELICICE; AGOSTINHO, 2009b).

A segunda hipótese foi parcialmente corroborada, porque a magnitude dos impactos de *C. kelberi* em relação ao predador nativo foi dependente da espécie de presa. No caso, *C. kelberi* apresentou resposta funcional maior do que a da espécie nativa *H. malabariucus* para a espécie de presa *O. niloticus* e equivalente para *L. vannamei*. Esses resultados indicam que os impactos de *C. kelberi* podem diferir entre presas. Diferenças nas respostas funcionais entre presas podem ocorrer devido ao tamanho da presa, pois quanto maior a presa maior será o tempo de manuseio gasto pelo predador. A diferença de 1 centímetro no comprimento entre as duas espécies de presas, durante o experimento pode ter influenciado o tempo de manipulação do predador exótico consequentemente influneciando a taxa máxima de alimentação, aumentando assim a inclinação da curva de resposta funcional. Já que o tempo de manipulação do predador é sempre o mesmo e não depende da densidade de presas (HOLLING, 1959).

. Os resultados dos experiemtnos demonstraram que a espécie *C. kelberi* exibiu tempos de manipulação, e taxa de alimentação máxima maiores em relação a espécie de presa *O. niloticus*, mas não diferempara as presas da esoécie *L*. Exibindo uma maior taxa de alimentação máxima para a espécie de presa *O. niloticus*, significando em um maior consumo se comparado com a espécie nativa *H. aff. malabaricus*. No entanto o consumo foi equivalente em todas as densidades de presas de *L. vannamei*, que por sua vez, possuía um comprimento total maior que o da presa *O. niloticus*, o que pode ter influenciado o tempo de

manipulação dos predadores. A taxa de alimentação máxima é inversamente proporcional ao tempo de manipulação gasto pelo predador durante seu forrageio (HOLLING, 1959; JESCHKE; KOPP; TOLLRIAN, 2002). Esse processo pode limitar o predador de duas formas, o primeiro é o tempo de manipulação propriamente dito, e o outro, é o tempo de digestão que influencia o nível de fome do predador, que por sua vez, aumenta a probabilidade do predador procurar por novas presas (JESCHKE; KOPP; TOLLRIAN, 2002). Os tempos de manipulação, baixos ou equivalentes, apresentados pelo predador *C. kelberi* em comparação ao predador *H. aff. malabaricus* pode estar relacionado também com a correspondência climática do predador exótico, que pode explicar o fato do predador exótico ter consumido mais presas da espécie *O. niloticus*. Os impactos de predadores exóticos são maiores nas condições ambientais para os quais são adaptados (por exemplo, temperatura do ambiente) no qual, a variação espacial e temporal do impacto de espécies exóticas invasoras pode ser gerada por condições abióticas locais, fazendo com que o desempenho em frente ao novo ambiente seja maior ou menor, exibindo um fator dependente como, temperatura influenciando o desempenho do predador exótico em relação ao nativo (BARRIOS-O'NEILL et al., 2013; IACARELLA et al., 2015; MÉDOC; ALBERT; SPATARO, 2015). Isto pode por sua vez, ter importantes consequências para comportamentos predatórios nos casos em que os predadores podem alterar as suas técnicas de caça em resposta às mudanças no seu ambiente circundante (SCHARF et al., 2006). Isto pode ser o caso de *C. kelberi*, pois o predador possui hábitos alimentares piscívoros, e de acordo com a disponibilidade de itens alimentares, geralmente reduzida em ambientes modificados, predando em todos os tipos de ambiente do mais simples ao mais complexo (PELICICE; AGOSTINHO, 2009a),

As diferenças nas respostas funcionais foram direcionadas pela menor tempo de manipulação, uma vez que as taxas de ataque não difeririam. Os resultados dos experimentos demonstraram que *C. kelberi* e *H. malabaricus* possuem resposta funcional do tipo II, e *C. kelberi* exibiu maior resposta funcional apenas para a presa *O. niloticus* e equivalente para a presa *L. vannamei*, o que pode resultar em um maior poder de predação por *C. kelberi* em área onde a espécie for introduzida.

7 REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, M. et al. Functional responses of the intertidal amphipod *Echinogammarus marinus*: effects of prey supply, model selection and habitat complexity. **Marine Ecology Progress Series**, v. 468, n. Hassell 1978, p. 191–202, 2012.
- ALEXANDER, M. E. et al. Habitat simplification increases the impact of a freshwater invasive fish. **Environmental Biology of Fishes**, 2014a.
- ALEXANDER, M. E. et al. Existing and emerging high impact invasive species are characterized by higher functional responses than natives. **Biology letters**, v. 10, p. 1 – 4, 2014b.
- ALTWEGG, R. et al. Functional response and prey defence level in an experimental predator-prey system. **Evolutionary Ecology Research**, v. 8, n. 1, p. 115–128, 2006.
- ANDERSEN, M. M. C. et al. Risk analysis for invasive species: general framework and research needs. **Risk analysis : an official publication of the Society for Risk Analysis**, v. 24, n. 4, p. 893–900, 2004.
- BARRIOS-O'NEILL, D. et al. Fortune favours the bold: a higher predator reduces the impact of a native but not an invasive intermediate predator. **The Journal of animal ecology**, p. 693–701, 1 out. 2013.
- BOLLACHE, L. et al. Comparison of the functional responses of invasive and native amphipods. **Biology letters**, v. 4, n. December 2007, p. 166–169, 2008a.
- BOLLACHE, L. et al. Comparison of the functional responses of invasive and native amphipods. **Biology letters**, v. 4, n. 2, p. 166–9, abr. 2008b.
- DICK, J. T. A et al. Advancing impact prediction and hypothesis testing in invasion ecology using a comparative functional response approach. **Biological Invasions**, v. 16, n. 4, p. 735–753, 2014.
- DICK, J. T. A. et al. Ecological impacts of an invasive predator explained and predicted by comparative functional responses. **Biological Invasions**, v. 15, n. 4, p. 837–846, 7 set. 2012.
- GODINHO, A. L. The ecology of predator fish introductions: the case of Rio Doce valley lakes. In: **Ecology and human impact on lakes and reservoirs in Minas Gerais with special reference to future development and management strategies**. [s.l: s.n.]. p. 77–83.
- GOMIERO, L. M.; BRAGA, F. M. DE S. Cannibalism as the main feeding behaviour of tucunares introduced in southeast Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, n. 3B, p. 625–632, 2004.
- HOLLING, C. S. The Components of Predation as Revealed by a Study of Small-Mammal Predation of the European Pine Sawfly. **The Canadian Entomologist**, v. 91, n. 5, p. 293–320, 1959.
- IACARELLA, J. C. et al. Ecological impacts of invasive alien species along temperature gradients: testing the role of environmental matching. **Ecological applications**, v. 25, n. 3, p. 706–716, 2015.

JESCHKE, J. M.; KOPP, M.; TOLLRIAN, R. Predator functional responses: discriminating between handling and digesting prey. **Ecological Monographs**, v. 72, n. 1, p. 95–112, 2002.

KOVALENKO, K. E. et al. Recognition of non-native peacock bass, *Cichla kelberi* by native prey: Testing the naivet?? hypothesis. **Biological Invasions**, v. 12, n. 9, p. 3071–3080, 2010a.

KOVALENKO, K. E. et al. Direct and indirect effects of an introduced piscivore, *Cichla kelberi* and their modification by aquatic plants. **Hydrobiologia**, v. 638, n. 1, p. 245–253, dez. 2010b.

KULLANDER, S. O.; FERREIRA, E. J. G. A review of the South American *cichlid* genus *Cichla*, with descriptions of nine new species (Teleostei: Cichlidae). **Ichthyological Exploration of Freshwaters**, v. 17, n. 4, p. 289–398, 2006.

MACK, R. N. et al. Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control. **Ecological Applications**, v. 10, n. 3, p. 689–710, 2000.

MÉDOC, V.; ALBERT, H.; SPATARO, T. Functional response comparisons among freshwater amphipods: ratio-dependence and higher predation for *Gammarus pulex* compared to the non-natives *Dikerogammarus villosus* and *Echinogammarus berilloni*. **Biological Invasions**, v. 17, n. 12, p. 3625–3637, 2015.

MENEZES, R. F. et al. Lower biodiversity of native fish but only marginally altered plankton biomass in tropical lakes hosting introduced piscivorous *Cichla cf. ocellaris*. **Biological Invasions**, v. 14, n. 7, p. 1353–1363, 24 dez. 2011.

MILANI, V.; MACHADO, F. D. A.; SILVA, V. C. F. E. Assembléias de peixes associados às macrófitas aquáticas em ambientes alagáveis do Pantanal de Poconé, MT, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 2, p. 0–0, 2010.

NOVAES, J. L. C.; CARAMASCHI, É. P.; WINEMILLER, K. O. Feeding of *Cichla monoculus* Spix, 1829 (Teleostei: Cichlidae) during and after reservoir formation in the Tocantins River, Central Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 16, n. 1, p. 41–49, 2004.

PAINE, T. M. Z. AND R. T.; BY. Species Introduction in a Tropical Lake A newly introduced piscivore can produce population. **Science**, v. 182, p. 449–455, 1973.

PELICICE, F. M.; AGOSTINHO, A. A. Fish fauna destruction after the introduction of a non-native predator (*Cichla kelberi*) in a Neotropical reservoir. **Biological Invasions**, v. 11, n. 8, p. 1789–1801, 2009a.

PELICICE, F. M.; AGOSTINHO, A. A. Fish fauna destruction after the introduction of a non-native predator (*Cichla kelberi*) in a Neotropical reservoir. **Biological Invasions**, v. 11, n. 8, p. 1789–1801, out. 2009b.

PETRY, A. C. et al. Effects of temperature on prey consumption and growth in mass of juvenile trahira *Hoplias aff. malabaricus* (Bloch, 1794). **Journal of Fish Biology**, v. 70, n. 6, p. 1855–1864, jun. 2007.

POMPEU, P. D. S.; GODINHO, A. L. Mudança na dieta da traíra *Hoplias malabaricus* (Bloch) (Erythrinidae, Characiformes) em lagoas da bacia do rio Doce devido à introdução de peixes piscívoros. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, n. 4, p. 1219–1225, 2001.

RICCIARDI, A. Are modern biological invasions an unprecedented form of global change? **Conservation biology : the journal of the Society for Conservation Biology**, v. 21, n. 2, p. 329–36, abr. 2007.

SCHARF, I. et al. Efficiency evaluation of two competing foraging modes under different conditions. **The American naturalist**, v. 168, n. 3, p. 350–357, 2006.

VILLARES, G. A.; GOMIERO, L. M. Feeding dynamics of *Cichla kelberi* Kullander & Ferreira, 2006 introduced into an artificial lake in southeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 8, n. 4, p. 819–824, 2010.

VITULE, J. R. S.; FREIRE, C. A.; SIMBERLOFF, D. Introduction of non-native freshwater fish can certainly be bad. **Fish and Fisheries**, v. 10, n. 1, p. 98–108, 2009.

