



Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Ciências Biológicas
Pós-graduação em Biologia de
Ambientes Aquáticos Continentais



Efeitos da iluminação artificial no comportamento reprodutivo de anuros

Karina Soares Dias

Orientador: Alexandro Marques Tozetti

Rio Grande

2018



Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Ciências Biológicas
Pós-graduação em Biologia de Ambientes
Aquáticos Continentais



Efeitos da iluminação artificial no comportamento reprodutivo de anuros

Aluna: Karina Soares Dias
Orientador: Alexandro Marques Tozetti

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

Rio Grande

2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, que sempre estiveram ao meu lado apoiando todas as minhas escolhas, com muito amor e compreensão, nunca medindo esforços para a minha educação. À minha irmã e minha sobrinha, que sempre estão ao meu lado. E ao restante da minha família.

Agradeço também ao meu namorado, que acompanhou todos os momentos ao longo da minha jornada no mestrado, com muita paciência e carinho. E também às minhas amigas de Bagé, que mesmo distantes me deram apoio sempre que precisei.

Agradeço a todos meus colegas de mestrado, em especial aos meus amigos Camila (companheira desde a graduação), Cassia e Nathan, que fizeram o mestrado e a estadia no Cassino muito mais agradáveis. E principalmente à minha colega e amiga Elisa, que foi parceira para todas as horas, desde campos no frio e na chuva a mates e boas conversas.

Agradeço muito ao meu orientador Alexandro Tozetti, que mesmo me orientando à distância sempre foi presente e solícito quando precisei de sua ajuda. Agradeço também aos colegas do Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres da Unisinos, que auxiliaram na melhoria do projeto. E também ao Cássio do laboratório de física, que me auxiliou com as lâmpadas.

Agradeço também ao professor André Schuch e aos integrantes de seu laboratório, que me deram toda atenção no início do projeto, antes de eu modificá-lo.

E por último, agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de ambientes aquáticos continentais pela oportunidade, aos professores pelos ensinamentos, ao pessoal da Estação Ecológica do Taim pelo acolhimento e a CAPES pelo auxílio financeiro.

Muito obrigada!

RESUMO

A poluição luminosa cresce constantemente com o avanço da urbanização. Ela traz mudanças nos padrões de claro e escuro dos ambientes, alterando o fotoperíodo. Anuros modificam o padrão de vocalização ao longo das fases da lua, o que indica que são sensíveis a mudanças de iluminação. Dessa forma, nosso objetivo foi avaliar a influência da iluminação pública em aspectos sazonais e temporais (horas da noite) da atividade de vocalização de espécies de anuros, além de avaliar o efeito de um pulso de luz no comportamento de vocalização. Para isso, gravamos as vocalizações de anuros uma vez por mês, das 19h às 07h, ao longo de um ano, em três sítios reprodutivos (unidades amostrais) com influência de iluminação pública e três sem influência no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. Além disso, geramos um pulso de luz de dois minutos sobre as comunidades de anuros nos dois tipos de unidades amostrais. Algumas espécies de anuros modificaram o mês de pico de atividade de vocalização na presença de iluminação artificial e diminuíram a extensão da temporada de vocalização. A iluminação artificial não alterou o período de início de atividade de vocalização nem o tempo dedicado à vocalização ao longo da noite das espécies analisadas, mas o período de encerramento da atividade foi mais cedo nas unidades com iluminação para *Pseudis minuta*. Além disso, ocorreu alteração na distribuição da atividade de vocalização ao longo da noite para algumas espécies na presença de iluminação artificial. O pulso de luz inibiu a atividade de vocalização somente de indivíduos das unidades amostrais sem iluminação, indicando adaptação à luz pelos anuros. A iluminação pública próxima a sítios reprodutivos alterou aspectos sazonais e temporais da atividade de vocalização de algumas espécies, fato que pode diminuir o sucesso reprodutivo, devido a menores chances de atração de fêmeas e investimento de energia em período inadequado. A inibição de vocalização por pulso de luz pode ser gerada por luzes de veículos, dessa forma, em locais com grande tráfego, muitas inibições podem prejudicar a reprodução. Indicamos que áreas úmidas sejam iluminadas somente quando necessário, preferencialmente com lâmpadas de curto espectro, e que a iluminação seja feita com luminárias adequadas.

Palavras-chave: iluminação pública; poluição luminosa; Amphibia, vocalização, reprodução.

ABSTRACT

Light pollution is constantly increasing as urbanization progresses. It brings changes in the light and dark patterns of the surroundings by changing the photoperiod. Anurans modify the vocalization pattern throughout the phases of the moon, which indicates that they are sensitive to changes in lighting. Thus, our objective was to evaluate the influence of public lighting in seasonal and temporal aspects (night hours) of the activity of vocalization of species of anurans, in addition to evaluating the effect of a pulse of light on the behavior of vocalization. For this, we recorded anurans vocalizations once a month, from 7:00 p.m. to 07:00 a.m., over a year, in three reproductive sites (sample units) with influence of public lighting and three without influence in the south of Rio Grande do Sul, Brazil. In addition, we generated a two-minute light pulse over the anuran communities in both sample units. Some species of anurans modified the peak month of vocalization activity in the presence of artificial lighting and decreased the extension of the vocalization season. Artificial lighting did not alter the period of initiation of vocalization activity or the time dedicated to vocalization during the night of the analyzed species, but the period of activity closure was earlier in the units with lighting for *Pseudis minuta*. In addition, there was a change in the distribution of vocalization activity during the night for some species in the presence of artificial lighting. The pulse of light inhibited the activity of vocalization only of individuals of the sample units without illumination, indicating adaptation to light by the anurans. Public lighting near reproductive sites altered seasonal and temporal aspects of the vocalization activity of some species, a fact that may decrease reproductive success, due to the lower chances of attraction of females and energy investment in an inadequate period. Inhibition of light pulse vocalization can be generated by vehicle lights, so, in places with high traffic, many inhibitions can impair reproduction. We advise that wet areas are only illuminated when necessary, preferably with short-range lamps, and that lighting is made with suitable luminaires.

Key-words: street lighting; light pollution; Amphibia, vocalization, reproduction.

Apresentação

Esta dissertação está dividida em três partes. A primeira consiste em uma introdução geral que aborda os conhecimentos existentes sobre os efeitos da iluminação artificial, usada em larga escala nos ambientes naturais, em diversos grupos de animais, principalmente em anuros, que são o foco do trabalho. A segunda parte do trabalho contém um manuscrito, que será submetido à revista *Canadian Journal of Zoology*, e que está organizado em: introdução, material e métodos, resultados, discussão, referências, tabelas e figuras. Na terceira e última parte desta dissertação constam as considerações finais, que abordam o que o trabalho trouxe de novo para o conhecimento dos efeitos da iluminação artificial em anuros e o que ainda precisa ser feito para elucidar este assunto. Esta dissertação segue o modelo sugerido pelo Programa de Pós Graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais e segue as normas de formatação da revista *Canadian Journal of Zoology*, que estão resumidas nos anexos desta dissertação.

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	v
APRESENTAÇÃO	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
INTRODUÇÃO GERAL	11
Objetivo geral	18
Objetivos específicos	19
Hipóteses	19
Referências	20
CAPÍTULO ÚNICO	24
Resumo	26
Introdução	27
Material e Métodos	30
Área de estudo	30
Delineamento amostral	31
Procedimentos no campo	33
Protocolo 1	34
Protocolo 2	35
Análise dos dados	37
Análise sazonal da atividade de vocalização	37
Análise do ciclo noturno de atividade de vocalização	38
Análise do pulso de luz no comportamento de vocalização	40
Resultados	40
Influência da iluminação artificial no ciclo sazonal de vocalização	40
Influência da iluminação artificial no ciclo noturno de vocalização	41
Influência do pulso de luz no comportamento de vocalização	43
Discussão	43
Referências	51
Tabelas	56
Lista de figuras	60
Material suplementar	64
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	68
ANEXOS	70

LISTA DE FIGURAS

Capítulo Único

Figura 1. Localização geográfica dos banhados amostrados. A imagem 1 contempla as unidades amostrais com iluminação (A), localizadas nos arredores do núcleo urbano da cidade de Rio Grande, e as unidades amostrais sem iluminação (B), localizadas na Estação Ecológica do Taim, ambas no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. A imagem 2 é uma representação dos mesmos locais da imagem 1, durante a noite, evidenciando a poluição luminosa nas unidades amostrais do ponto “A” e a ausência de poluição luminosa no ponto “B”.

Figura 2A. Diagramas circulares representando a abundância média mensal de machos de *Physalaemus sp.* (A), *Pseudis minuta* (B), *Boana pulchella* (C) e *Dendropsophus sanborni* (D) em atividade de vocalização entre os meses de janeiro (0°) e dezembro (330°) (intervalos de 30° entre os meses) em banhados com e sem influência de iluminação pública no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. A seta preta corresponde ao vetor r e aponta para o ângulo (mês) com maior concentração de abundância de indivíduos. Escalas vão de 0 (zero) a 100. Fotos: “A” (Alexandro Tozetti; “B” e “C” (Mateus de Oliveira); “D” (Márcio Borges-Martins).

Figura 2B. Diagramas circulares representando a abundância média mensal de machos de *Scinax squalirostris* (E), *Leptodactylus gracilis* (F) e *Pseudopaludicola falcipes* (G) em atividade de vocalização entre os meses de janeiro (0°) e dezembro (330°) (intervalos de 30° entre os meses) em banhados com e sem influência de iluminação pública no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. A seta preta corresponde ao o vetor r e aponta para o ângulo (mês) com maior concentração de abundância de indivíduos. Escalas vão de 0 (zero) a 100. Fotos: Márcio Borges-Martins.

Material suplementar

Figura S1. Representação das unidades amostrais com iluminação (1), localizadas nos arredores do núcleo urbano da cidade de Rio Grande, e sem iluminação (2), localizadas na Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil. Imagens capturadas em períodos diferentes do ano, na primeira, período seco, e na segunda, alagado.

Figura S2. Equipamento utilizado para geração do pulso de luz de dois minutos nas unidades amostrais com e sem iluminação sendo testado.

Figura S3. Espectros das lâmpadas analisadas no laboratório de física da Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Rio Grande do Sul. “A”: lâmpada LED; “B”: lâmpada fluorescente; “C”: lâmpada halógena; “D”: lâmpada de vapor de sódio de alta pressão.

LISTA DE TABELAS

Capítulo Único

Tabela 1. Resultados da estatística circular para verificação de ocorrência de sazonalidade na abundância de machos de anuros de diferentes espécies em atividade de vocalização ao longo de um ano em banhados com e sem interferência de iluminação pública no sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

Tabela 2. Extensão da temporada de vocalização de espécies de anuros em banhados com influência de iluminação pública e banhados sem influência de iluminação pública, localizados nos arredores da zona urbana da cidade de Rio Grande (RS) e na Estação Ecológica do Taim (RS), respectivamente, entre setembro de 2016 e agosto de 2017.

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão do horário mínimo, horário máximo e duração (número de horas) da atividade de vocalização de machos de anuros em banhados com e sem influência de iluminação pública no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. Intervalo de horas analisado das 19h às 07h. O “N” é referente ao número de amostragens em que as espécies estavam presentes.

Tabela 4. Resultados da estatística circular para análise da distribuição da abundância de machos em atividade de vocalização ao longo da noite (19h às 07h) em banhados com e sem interferência de iluminação pública no sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

Material suplementar

Tabela S1. Abundância média, desvio padrão e presença (>zero) ou ausência (zero) de espécies de anuros em banhados com influência de iluminação pública e banhados sem influência de iluminação pública, localizados nos arredores da zona urbana da cidade de Rio Grande (RS) e na Estação Ecológica do Taim (RS), respectivamente, ao longo de um ano (setembro de 2016 a agosto de 2017).

Tabela S2. Frequências (número de indivíduos no horário/número de registros da espécie no horário) de espécies de anuros das 19h às 07h em banhados com e sem influência de iluminação artificial, no sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

INTRODUÇÃO GERAL

A poluição luminosa está presente em quase todos os países do mundo. Aproximadamente dois terços da população mundial e até 99% da população dos países mais industrializados convivem com um alto nível de poluição luminosa (Cinzano et al. 2001). Do ponto de vista ecológico, esse tipo de poluição é definida pela alteração dos padrões naturais dos ciclos de luz e escuro nos ecossistemas, e é gerada por intervenções antrópicas, como instalação de postes de luz, iluminação de edificações e luzes de veículos (Longcore e Rich 2004).

A interferência da luz artificial no ambiente teve início com a criação e comercialização da lâmpada incandescente, no século XIX. Desde lá, diversos tipos de lâmpadas foram desenvolvidas, como as de vapor de mercúrio, vapor de sódio e as de LED, na busca de uma maior eficiência luminosa (quantidade de lúmen emitido por watts). Uma eficiência luminosa alta consiste em uma lâmpada emitir um maior fluxo luminoso (lumens) o qual esteja associado a uma menor potência elétrica (watts), e assim consumindo o mínimo possível de energia/lúmen (Dambisk 2007). Em projetos de urbanização, a escolha do tipo de lâmpada a ser usada é feita com base em sua eficiência luminosa e de seu tempo de duração. Além disso, o espectro das lâmpadas também deve ser adequado ao tipo de local a ser iluminado. Em locais em que é necessária uma boa visibilidade, como em escritórios e lojas, buscam-se lâmpadas com uma composição espectral ampla, que permitam uma maior reprodução de cores para visão humana (Freitas 2006). Enquanto que em locais que permitem uma menor reprodução de cores, como em parques e vias públicas, podem-se utilizar lâmpadas com menor composição de espectro, como as de vapor de sódio de baixa pressão, que emitem uma luz amarelada (Freitas 2006). Porém, utilizam-se também lâmpadas de amplo espectro na iluminação pública, como as lâmpadas de vapor de mercúrio e de sódio de

alta pressão (Rodrigues et al. 2010). Todavia, apenas recentemente a possibilidade de impacto dessa introdução de iluminação nos ambientes sobre a fauna vem sendo considerada importante para os processos de planejamento da iluminação pública.

Para minimizar impactos da iluminação artificial sobre a fauna, indica-se evitar a iluminação excessiva de ambientes naturais. Além disso, é importante a utilização de luminárias que direcionem a luz somente para o local que precisa ser iluminado, evitando dissipação da luz no ambiente (Barghini 2008). Também é indicado que se evite o uso de lâmpadas de amplo espectro, devido ao fato de que as diferentes espécies de animais respondem de forma distinta a diferentes comprimentos de onda, então a utilização de lâmpadas de amplo espectro atingiria um maior número de espécies (Gaston et al. 2012). E por fim, é indicado que a duração da iluminação seja limitada somente por um tempo necessário e que a intensidade da iluminação seja diminuída, quando possível (Gaston et al. 2012).

Diversos estudos têm sido realizados para se observar os efeitos da iluminação artificial e da conseqüente alteração nos ciclos naturais de luz e escuro em diferentes grupos de animais. Alguns dos estudos avaliaram esses efeitos sobre tartarugas marinhas, aves e insetos. Em praias iluminadas artificialmente, os filhotes de tartarugas ficam desorientados após saírem dos ovos, caminhando em direção às luzes artificiais ao invés de irem em direção ao mar (Peters e Koen 1994). Isso pode aumentar a mortalidade dos filhotes por desidratação e/ou exaustão além de aumentar seu risco de predação (Perry et al. 2008) e conseqüentemente diminuir o recrutamento populacional (Dimitriadis et al. 2018). As aves por sua vez, podem ser atraídas para as luzes artificiais da iluminação pública, o que pode fazer com que as espécies migratórias saiam de suas rotas durante a migração ou até mesmo ocorrer mortalidade por colisão com postes (Gauthreaux e Belser 2006). A iluminação artificial também pode alterar as relações interespecíficas naturais das comunidades (Longcore e Rich

2004). A luz atrai grande quantidade de insetos (Eisenbeis e Hanel 2009), que têm mortalidade aumentada devido ao favorecimento do forrageio de espécies insetívoras, que são atraídas por essa maior disponibilidade de alimento. Esse efeito foi relatado para alguns morcegos (Blake et al. 1994) e anfíbios (Buchanan 2006). A atração de animais insetívoros aos locais iluminados artificialmente pode deixá-los mais suscetíveis à ação de predadores (Buchanan 2006) e mais próximos a locais antropizados, como rodovias, aumentando o risco de morte por atropelamento (Baker 1990). Outro exemplo de alteração nas interações das comunidades é que a presença de iluminação artificial pode interromper o processo de polinização noturna realizado por lepidópteros (Macgregor et al. 2015).

Alguns dos impactos negativos da iluminação pública (a qual chamaremos adiante simplesmente de iluminação artificial) sobre a fauna vão além do simples fato de ela alterar o ciclo de claro/escuro no ambiente. Luzes com diferentes comprimentos de onda, por exemplo, podem afetar de forma variada muitas espécies. Por exemplo, os insetos são atraídos pelos comprimentos de onda na faixa do ultravioleta, o que leva ao adensamento desses organismos ao redor das lâmpadas que emitem luz nessa faixa, como as de vapor de mercúrio (Eisenbeis e Hanel 2009). A atração de insetos pela luz artificial pode diminuir a abundância de suas populações, devido a impactos nas luminárias, exaustão e maior risco de predação (Eisenbeis e Hanel 2009). Algumas espécies de tartarugas marinhas nidificam em menor quantidade em praias iluminadas com lâmpadas de amplo espectro (como a de vapor de mercúrio), enquanto que lâmpadas de curto espectro (como a de sódio de baixa pressão) não interferem no comportamento de nidificação (Whiterington 1992).

As lâmpadas de vapor de sódio de alta pressão são lâmpadas de amplo espectro (Davies et al. 2013), que emitem uma luz alaranjada (Elvidje et al. 2010), e são as mais utilizadas atualmente para iluminação pública no Brasil, por possuírem alta eficácia luminosa e longa duração (Rodrigues 2010). Todavia, seus impactos locais sobre a biota nunca foram

avaliados. A avaliação do impacto de iluminação artificial sobre espécies noturnas é altamente recomendável (Buchanan 2006). Os anfíbios são alguns dos vertebrados terrestres mais abundantes na maior parte dos ecossistemas úmidos do Brasil. Em especial, os anuros são bons modelos para esse tipo de estudo. Pois além de abundantes, são em maioria noturnos e relativamente fáceis de serem encontrados, além de apresentarem um repertório de comportamentos reprodutivos que favorece estudos etológicos. Além disso, já há indícios que eles sejam sensíveis à exposição à iluminação artificial.

Em relação ao comportamento frente a composições espectrais, os anuros respondem de forma espécie-específica a diferentes comprimentos de onda, dessa forma, modificar a composição espectral das lâmpadas utilizadas em vias públicas pode favorecer diferentes espécies, e não evitar os efeitos da poluição luminosa em larga escala (Buchanan 2006). Para algumas espécies de anuros foi relatada atração por luz no comprimento de onda azul (Buchanan 2006), e recentemente Van Grunsven et al. (2016) observaram que durante a migração de primavera para reprodução, *Bufo bufo* evita atravessar estradas iluminadas com luz verde e branca, sendo repelidos por elas, enquanto que atravessam as estradas não iluminadas ou iluminadas com luz vermelha. Estes dados indicam que lâmpadas que emitem mais luz nos comprimentos de onda azul, verde e branca (emissão em amplo espectro) têm efeitos sobre algumas espécies de anuros. Não se sabe como as lâmpadas de vapor de sódio de alta pressão, amplamente utilizadas para iluminação pública, as quais têm picos de emissão de luz nos comprimentos de onda do amarelo ao laranja e no infravermelho (Elvidje et al. 2010), influenciam no comportamento e fisiologia de anuros.

Ao longo do tempo os animais evoluíram sob condições naturais de iluminação, com maiores níveis de luz gerada pelo sol durante o dia e menores durante a noite, quando ocorre reflexão da luz solar pela lua. Com o crescente aumento do uso de iluminação artificial, os organismos estão sujeitos a diferentes padrões de iluminação ao longo de sua vida (Baker e

Richardson 2006). As mudanças naturais de fotoperíodo são os gatilhos que controlam ciclos reprodutivos sazonais, por exemplo, e também a atividade dos animais ao longo do dia, e as alterações no fotoperíodo causadas pela iluminação artificial podem alterar esses comportamentos. Quando expostas à iluminação artificial, algumas espécies de aves podem sofrer alterações no seu ritmo diário da atividade de canto, começando a cantar mais cedo (Kempnaers et al. 2010). Em anfíbios, as mudanças no fotoperíodo definem o período adequado para reprodução (Canavero e Arim 2009). Em mamíferos, as alterações de fotoperíodo interferem no período de cio (Letallec et al. 2015) e de nascimento de filhotes (Robert et al. 2015). Além disso, a alteração do ciclo natural de luz e escuro nos ecossistemas pode causar alterações a nível hormonal em algumas espécies. Um hormônio bastante afetado por essa alteração é a melatonina, que é produzida durante a noite, e importante na fisiologia e comportamento de algumas espécies (Vanecek 1998). Salamandras expostas 12 horas à luz e 12h ao escuro apresentam maiores níveis de melatonina no período escuro, e quando mantidas 24h na luz não apresentam variação nos níveis de melatonina ao longo do dia, mas produzem o hormônio em menor quantidade (Gern et al. 1983). Em peixes (Brüning et al. 2015) e em mamíferos (Robert et al. 2015) também já foi observada redução nos níveis de melatonina devido à presença de iluminação artificial, que deixa as noites iluminadas, diminuindo a produção desse hormônio. Em anuros, as variações naturais no comprimento do fotoperíodo também regulam a produção de melatonina (D'istria et al. 1994), e esse hormônio em altas concentrações pode inibir o desenvolvimento de gônadas (Delgado et al. 1983).

Alguns estudos realizados sobre comportamento de anuros mostram que eles são sensíveis ao nível de iluminação noturna. Isso vale até mesmo para a luz natural gerada pelas mudanças das fases da lua. Machos de algumas espécies anuros, por exemplo, diminuem a emissão de vocalização durante noites de lua cheia, quando a incidência da luz da lua é maior no ambiente, vocalizando mais nas noites sem lua (Granda et al. 2008; Grant et al. 2012). Isso

indica que um aumento na iluminação noturna pode levar a alterações comportamentais nos anuros, porém, pouco se sabe sobre os efeitos da iluminação artificial nesse grupo de animais (Buchanan 2006), e sobre os efeitos em escala de comunidades de espécies e ecossistemas (Gaston et al. 2013).

Os anuros presenciam mudanças leves de iluminação quando se deslocam de locais fechados, como abaixo de vegetação, a locais abertos, onde ocorre exposição à luz do luar. Dessa forma, eles possuem capacidade de adaptação à mudanças de iluminação (Buchanan 2006). Os anuros possuem olhos sensíveis, com visão a cores (Chapman 1966), adaptados para visão noturna e um rápido aumento na iluminação pode afetar a visão desses animais, podendo demorar algum tempo até a visão adaptar-se à nova iluminação (Cornell e Hailman 1984). O bloqueio da visão gerado pelo aumento rápido na iluminação pode diminuir a capacidade de forrageio dos indivíduos (Buchanan 1993) e torná-los presas fáceis aos predadores. Além disso, a iluminação artificial pode afetar a fisiologia dos organismos, no crescimento e metabolismo (Wise 2007). Como exemplos, larvas de anuros podem sofrer alterações no tempo da metamorfose, com longos fotoperíodos atrasando o desenvolvimento de *Discoglossus pictus* (Gutierrez et al. 1984) e de *Xenopus laevis* (Edwards e Pivorun 1991).

A vocalização é fundamental na biologia reprodutiva de anuros, sendo o canto de anúncio emitido pelos machos durante o período reprodutivo para atração de fêmeas (Ryan 1991; Wells 2007). Durante a estação reprodutiva, que geralmente ocorre nos períodos quentes e/ou chuvosos do ano, indivíduos machos de diferentes espécies se reúnem e formam um coro para atração de fêmeas. Nesse coro, a vocalização de anúncio é a mais emitida por ser importante para o reconhecimento específico (Wells 2007). A modificação nos padrões naturais de iluminação pode afetar o comportamento de vocalização e conseqüentemente a eficiência em obter parceira(s) na temporada reprodutiva. A exposição à iluminação artificial afetou machos de *Rana clamitans melanota*, que sob essa interferência passaram a reduzir a

emissão de canto de anúncio e aumentaram sua atividade de deslocamento no ambiente (Baker e Richardson 2006). Fato que também foi observado por Hall (2016), que introduziu um pulso de luz nos sítios reprodutivos de anuros e observou diminuição na abundância de indivíduos em atividade de vocalização. Tais interferências são potencialmente prejudiciais à efetivação da reprodução, podendo gerar problemas na dinâmica de população das espécies por diminuição nos índices de eficiência reprodutiva dos organismos afetados. Buchanan (2006) observou que o aumento no nível de iluminação artificial levava a interrupção na atividade de vocalização de *Hyla squirellae* e que quando ocorria interferência luminosa os indivíduos escondiam-se sob a vegetação. Rand et al. (1997), observaram que fêmeas de *Physalaemus pustulosus* modificam o padrão de escolha do macho para reprodução em iluminações mais elevadas que o natural, tornando-se menos seletivas devido ao maior risco de predação.

Em regiões com estações do ano bem definidas, como temperadas e subtropicais, grande parte das espécies de anuros apresentam sazonalidade na reprodução. Essa sazonalidade é controlada por variações na temperatura, precipitação e fotoperíodo (Hsu et al. 2006; Both et al. 2008; Ximenes e Tozetti 2015). A introdução de iluminação artificial próxima a sítios reprodutivos de anuros pode gerar alteração no ciclo natural de luz e escuro do ambiente, prolongando o fotoperíodo. Essa alteração no fotoperíodo tem a capacidade de modificar os ciclos reprodutivos das espécies, como citamos anteriormente, já que as mudanças no comprimento do dia ao longo do ano servem de indicação do melhor momento para reprodução (Canavero e Arim 2009).

Nos últimos anos cada vez mais áreas naturais vêm sendo expostas à iluminação artificial, em um ritmo de aproximadamente 6% ao ano (Hölker et al. 2010). Dentre essas áreas, estão as áreas úmidas, como as áreas de banhados. Banhados são áreas permanente ou temporariamente alagadas, conhecidas também como brejos, pântanos, pantanal, charcos,

varjões, alagados, dentre outras denominações (Burguer e Ramos 2006). Em áreas úmidas ocorrem uma grande biodiversidade de espécies animais e vegetais e uma alta produtividade (Ramsar 2013). Na Planície Costeira do Rio Grande do Sul (RS), Brasil, ocorre uma grande extensão de áreas de banhados. Nos últimos tempos estas áreas vêm sendo invadidas por ações humanas, como loteamentos residenciais, pecuária, e pela agricultura, sendo o principal cultivo o arroz irrigado (Burguer e Ramos 2006; Carvalho e Ozório 2007). Através dessa invasão de ações humanas em áreas de banhados, a iluminação artificial é introduzida nos ambientes, principalmente no caso de loteamentos residenciais, que são construídos acompanhando a crescente expansão urbana. A introdução de iluminação artificial em áreas de banhados do sul do Brasil é um fato preocupante, pois são regiões com grande diversidade de espécies, dentre elas muitas aves de importante preservação (Burguer e Ramos 2006) e também anfíbios (Maneyro et al. 2017). Outro fator que aumenta a problemática da introdução de iluminação artificial em banhados da Planície Costeira do RS é o fato de que essa região apresenta um relevo plano, e devido a essa configuração, a luz se dissipa mais facilmente no ambiente, aumentando a poluição luminosa.

As populações de anfíbios estão diminuindo nos últimos tempos por variados fatores (Wise 2007), o que colocou o grupo entre os vertebrados com maior número de espécies ameaçadas de extinção (Stuart et al. 2004). O aumento nos índices de utilização de iluminação artificial pode estar contribuindo para esse declínio. Dessa forma, estudos que avaliem o impacto e a forma com que a poluição luminosa interfere em populações e comunidades de anfíbios são essenciais para a conservação desse grupo de animais.

Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar se a iluminação pública (iluminação artificial) tem efeitos sobre o comportamento reprodutivo de anuros por meio de alterações no seu comportamento de vocalização.

Objetivos específicos

- 1 - Avaliar se há variação na existência de sazonalidade, no pico de atividade de vocalização e na extensão da temporada de vocalização de anuros ao longo de um ano entre banhados com e sem iluminação pública;
- 2 - Avaliar se há variação no ciclo noturno da atividade de vocalização das espécies entre banhados com e sem iluminação pública;
- 3 - Avaliar se a exposição a uma fonte de luz de curta duração (pulso de luz) altera o número de machos em atividade de vocalização em banhados com e sem iluminação pública;
- 4 - Avaliar se a resposta de machos ao pulso de luz varia entre banhados com e sem iluminação pública;
- 5 - Caso o pulso de luz iniba a vocalização, verificar se há diferença no tempo em que os indivíduos levam para retomar essa atividade entre banhados com e sem iluminação pública.

Hipóteses

- 1- Considerando que a iluminação pública representa uma interferência no ciclo de claro e escuro natural, espera-se que ela gere mudanças nos ritmos biológicos das espécies, e conseqüentemente, a temporada de vocalização das espécies deverá ser diferente entre as populações de banhados com e sem iluminação pública;
- 2 - Considerando que a luz artificial iniba a atividade de vocalização, esperamos que o ciclo noturno da atividade de vocalização das espécies inicie mais tarde e seja mais curto nas populações de banhados com iluminação pública;
- 3- Considerando que uma fonte de luz noturna seja um distúrbio, a introdução de um pulso de luz deverá gerar uma redução no número de indivíduos vocalizando nos banhados com e sem iluminação;

5 - Considerando que haja aclimatação à luz artificial, tanto a inibição quanto o tempo em que os indivíduos levarão para retomar sua atividade de vocalização serão menores em banhados expostos à iluminação pública.

Referências

- Baker, J. 1990. Toad aggregations under streetlamps. *British Herpetological Society Bulletin*. **31**: 26-27.
- Baker, B.J. e Richardson, J.M.L. 2006. The effect of artificial light on male breeding season behaviour in green frogs, *Rana clamitans melanota*. *Canadian Journal of Zoology*. **84**: 1528-1532.
- Barguini, A. 2008. Influência da iluminação artificial sobre a Vida Silvestre: técnicas para minimizar os impactos, com especial enfoque sobre os insetos. Tese, Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- Blake, D., Hutson, A.M., Racey, P.A., Rydell, J. e Speakman, J.R. 1994. Use of lamplit roads by foraging bats in southern England. *Journal of Zoology*. **234**: 453-462.
- Both, C., Kaefer, I.L., Santos, T.G. e Cechin, S.T.Z. 2008. An austral anuran assemblage in the Neotropics: seasonal occurrence correlated with photoperiod. *J Nat Hist*. **42**: 205-222.
- Buchanan, B.W. 1993. Effects of enhanced lighting of the behaviour of nocturnal frogs. *Animal Behaviour*. **45**: 893-899.
- Buchanan, B.W. 2006. Observed and potential effects of artificial night lighting on anuran amphibians. *In Ecological consequences of artificial night lighting. Edited by C. Rich e T. Longcore*. Island Press, Washington, D.C. pp. 192-220.
- Burguer, M., Ramos, R. 2006. Áreas importantes para conservação na Planície Costeira do Rio Grande do Sul. *In Biodiversidade: Regiões da Lagoa do Casamento e dos Butiazais de Tapes, planície costeira do Rio Grande do Sul*. Becker, F.G. Série Biodiversidade, 25. Ministério do Meio Ambiente. Brasília.
- Brüning, A., Hölker, F., Franke, S., Preuer, T. e Kloas, W. 2015. Spotlight on fish: light pollution affects circadian rhythms of European perch but does not cause stress. *Sci. Total Environ*. **511**: 516-522.
- Canavero, A. e Arim, M. 2009. Clues supporting photoperiod as the main determinant of seasonal variation in amphibian activity. *Journal of Natural History*. **43**: 2975-2984.
- Carvalho, A.B.P e Ozorio, C.P. 2007. Avaliação sobre os banhados do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista de Ciências Ambientais*. **1**: 83-95.

- Cinzano, P., Falchi, F. e Elvidge, C.D. 2001. The first world atlas of the artificial night sky brightness. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. **328**: 689-707.
- Chapman, R.M. 1966. Light wavelength and energy preferences of the bullfrog: evidence for color vision. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. **61**: 429–435.
- Cornell, E.A. e Hailman, J.P. 1984. Pupillary responses of two *Rana pipiens* complex anuran species. *Herpetologica*. **40**: 356-366.
- Davies, T.W., Bennie, J., Inger, R., de Ibarra, N.H. e Gaston, K.J. 2013. Artificial light pollution: are shifting spectral signatures changing the balance of species interactions? *Global Change Biology*. **19**: 1417–1423.
- Dambisk, L.P. 2007. Aplicação do programa nacional de iluminação pública eficiente (PROCEL-RELUZ). Trabalho de conclusão de curso, Departamento de Engenharia Elétrica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
- Dimitriadis, C., Fournari-Konstantinidou, I., Sourbèsa, L., Koutsoubas, D. e Mazaris, A.D. 2018. Reduction of sea turtle population recruitment caused by nightlight: Evidence from the Mediterranean region. *Ocean and Coastal Management*. **153**: 108–115.
- Delgado, M.J., Gutierrez, P. e Alonso-Bedate, M. 1983. Effects of daily melatonin injections on the photoperiodic gonadal response of the female frog *Rana ridibunda*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. **76A**: 389–392.
- D'Istria, M., Monteleone, P., Serino, I. e Chieffi, G. 1994. Seasonal variations in the daily rhythm of melatonin and NAT activity in the Harderian gland, retina, pineal gland, and serum of the green frog, *Rana esculenta*. *General and Comparative Endocrinology*. **96**: 6–11.
- Edwards, M.L.O. e Pivorun, E.B. 1991. The effects of photoperiod and different dosages of melatonin on metamorphic rate and weight gain in *Xenopus laevis* tadpoles. *General and comparative endocrinology*. **81**: 28-38.
- Eisenbeis, G. e Hanel, A. 2009. Light pollution and the impact of artificial night lighting on insects. *In Ecology of Cities and Towns: A Comparative Approach*. Edited by M. McDonnell, A. Hahs e J. Breuste. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 243-263.
- Elvidge, C.D., Keith, D.M., Tuttle, B.T. e Baugh, K.E. 2010. Spectral identification of lighting type and character. *Sensors*. **10**: 3961–3988.
- Freitas, P.C.F. 2006. Luminotécnica e lâmpadas elétricas. Disponível em <http://www.ceap.br/material/MAT1511201005209.pdf> [acessado em 13 de maio de 2018].
- Gaston, K.J, Bennie, J., Davies, T.W. e Hopikns, J. 2013. The ecological impacts of nighttime light pollution: a mechanistic appraisal. *Biological Reviews*. **88**: 912-927.

- Gaston, K.J., Davies, T.W., Bennie, J. e Hopkins, J. 2012. Reducing the ecological consequences of night-time light pollution: Options and developments. *J. Appl. Ecol.* **49**: 1256–1266.
- Gauthreaux, S.A. e Belser, C.G. 2006. Effects of artificial night lighting on migrating birds. *In* Ecological Consequences of Artificial Night Lighting. *Edited by* C. Rich e T. Longcore. pp. 67-93.
- Gern, W.A., Norris, D.O., e Duvall, D. 1983. The effect of light and temperature on plasma melatonin in neotenic tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum*). *J. Herpet.* **17**: 228-234.
- Granda, J.R., Pena, R.M. e Pierce, B.A. 2008. Effects of disturbance position of observer and moonlight on efficiency of anuran call surveys. *Appl Herpetol.* **5**: 253–263.
- Grant, R., Halliday, T. e Chadwick, E. 2012. Amphibians’ response to the lunar synodic cycle—a review of current knowledge, recommendations, and implications for conservation. *Behav Ecol.* **24**: 53–62.
- Gutierrez, P., Delgado, M.J. e Alonso-Bedate, M. 1984. Influence of photoperiod and melatonin administration on growth and metamorphosis in *Discoglossus pictus* larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology.* **79**: 255-260.
- Hall, A.S. 2016. Acute Artificial Light Diminishes Central Texas Anuran Calling Behavior. *American Midland Naturalist.* **175**: 183-193.
- Hsu, M.Y., Kam, Y.C., Fellers, G.M. 2006. Temporal organization of an anuran acoustic community in a Taiwanese subtropical forest. *J. Zool.* **269**: 331–339.
- Hölker, F., Moss, T., Griefahn, B., Kloas, W., Voigt, C.C., Henckel, D., Hänel, A., Kappeler, P.M., Völker, S., Schwöpe, A., Franke, S., Uhrlandt, D., Fischer, J., Klenke, R., Wolter, C., e K. Tockner. 2010. The dark side of light: a transdisciplinary research agenda for light pollution policy. *Ecology and Society* **15**(4): 13.
- Kempnaers, B., Borgström, P., Loës, P., Schlicht, E., e Valcu, M. 2010. Artificial night lighting affects dawn song, extra-pair siring success, and lay date in songbirds. *Current Biology*, **20**: 1735–1739.
- LeTallec, T., Théry, M. e Perret, M. 2015. Effects of light pollution on seasonal estrus and daily rhythms in a nocturnal primate. *J. Mammal.* **96**: 438–445.
- Longcore, T. e Rich, C. 2004. Ecological light pollution. *Frontiers in Ecology and the Environment.* **4**: 191-198.
- Macgregor, C.J., Pocock, M.J.O., Fox, R. e Evans, D.M. 2015. Pollination by nocturnal lepidoptera, and the effects of light pollution: a review. *Ecological Entomology.* **40**: 187–198.
- Maneyro, R., Loebmann, D., Tozetti, A. M. e Fonte. 2017. Anfíbios das planícies costeiras do extremo sul do Brasil e Uruguai. Anolis Books Editora.

- Perry, G., Buchanan, B.W., Fisher, R.N., Salmon, M. e Wise, S.E. 2008. Effects of artificial night lighting on amphibians and reptiles in urban environments. *In* Urban herpetology. *Edited by* J.C. Mitchell, R.E. Jung Brown e B. Bartholomew. Herpetological Conservation. pp. 239–256.
- Peters, A. e Koen, J.F. 1994. Impact of artificial lighting on the seaward orientation of hatchling loggerhead turtles. *Journal of Herpetology*. **28**: 112-114.
- Ramsar, 2013. The Ramsar Convention Manual: a guide to the Convention on Wetlands (Ramsar, Iran, 1971). Ramsar Convention Secretariat.
- Rand, A.S., Bridarolli, M.E., Dries, L., e Ryan, M.J. 1997. Light levels influence female choice in Túngara Frogs: predation risk assessment. *Copeia*. **2**: 447-450.
- Ryan, M.J. 1991. Sexual selection and communication in frogs. *Trends in Ecology & Evolution*. **6**: 351-355.
- Robert, K.A., Lesku, J.A., Partecke, J. e Chambers, B. 2015. Artificial light at night desynchronizes strictly seasonal reproduction in a wild mammal. *Proc. R. Soc. B* **282**: 20151745.
- Rodrigues, C.R.B., Almeida, P.S, Soares, G.M., Jorge, J.M., Pinto, D.P. e Braga, H.A. 2010. Um estudo comparativo de sistemas de iluminação pública: Estado sólido e lâmpadas de vapor de sódio em alta pressão. In: 9th International Conference on Industry Applications (INDUSCON). DOI: 10.1109/INDUSCON.2010.5739987.
- Stuart, S.N., Chanson, J.S., Cox, N.A., Young, B.E., Rodrigues, A.S.L., Fischman, D.L. e Waller, R.W. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*. **306**: 1783–1786.
- Vanecek, J. 1998. Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiological Reviews*. **78**: 687–721.
- Van Grunsven, R.H.A., Creemers, R., Joosten, K., Donners, M. e Veenendaal, E.M. 2017. Behaviour of migrating toads under artificial lights differs from other phases of their life cycle. *Amphibia-Reptilia*. **38**: 49-55.
- Wise, S. 2007. Studying the ecological impacts of light pollution on wildlife: amphibians as models. *In* Starlight: a common heritage. *Edited by* C. Marín e J. Jafari. pp. 209-218.
- Witherington, B.E. 1992. Behavioral responses of nesting sea turtles to artificial lighting. *Herpetologica*. **48**: 31–39.
- Wells, K.D. 2007. The Ecology and Behavior of Amphibians. The University of Chicago Press, Chicago.
- Ximenez, S.S. e Tozetti, A.M. 2015. Seasonality in anuran activity and calling season in a Brazilian subtemperate wetland. *Zoological Studies*. **54**: 1-9.

CAPÍTULO ÚNICO

Efeitos da iluminação artificial na atividade de vocalização de anuros

Manuscrito a ser submetido para a revista *Canadian Journal of Zoology*.

Efeitos da iluminação artificial na atividade de vocalização de anuros

Autores: K. S. Dias¹, E. S. Dosso², A. P. Schuch³ e A. M. Tozetti⁴

1 Autor correspondente: Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil;

email: karinasdias_@hotmail.com

2 Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil;

email: elisadosso@yahoo.com

3 Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

email: schuchap@gmail.com

4 Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres, Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil.

email: alexandro.tozetti@gmail.com

1 **Efeitos da iluminação artificial na atividade de vocalização de anuros**

2 - K.S. Dias, E.S. Dosso, A.P. Schuch e A.M. Tozetti

3

4 **Resumo**

5 Investigamos a influência da iluminação pública sobre o comportamento de vocalização de
6 anuros. Avaliamos ciclos sazonais e diários de vocalização, e a resposta à introdução
7 experimental de um pulso de luz. Comparamos comunidades de anfíbios de banhados com e
8 sem influência da iluminação pública no extremo sul do Brasil. Detectamos alterações no mês
9 de pico da temporada de vocalização de espécies em áreas com iluminação pública, ocorrendo
10 tanto antecipação quanto atraso. As espécies *B. pulchella*, *P. minuta* e *P. falcipes*
11 apresentaram picos de vocalização noturna nas áreas sem iluminação, enquanto que nas áreas
12 iluminadas a atividade foi contínua ao longo da noite. Nas áreas iluminadas, *Pseudis minuta*
13 cessou a atividade de vocalização mais cedo. O pulso de luz gerou inibição da vocalização
14 apenas nas comunidades de áreas sem iluminação. Após o pulso, os indivíduos voltaram a
15 vocalizar rapidamente, sugerindo aclimatação à luz artificial. Nossos resultados mostram que
16 a iluminação artificial afeta o ciclo sazonal e diário de vocalização de algumas espécies e a
17 existência de aclimatação à iluminação. Essas interferências sobre o comportamento de
18 vocalização podem afetar o sucesso reprodutivo das populações. Este trabalho traz resultados
19 inéditos que reforçam o potencial negativo da iluminação artificial às populações de anuros.

20

21 **Palavras chave:** anfíbios, banhados, poluição luminosa, vocalização, Ramsar, Anura

22

23 **Introdução**

24

25 A introdução de luz artificial nos ambientes possui uma ampla gama de definições. O
26 termo “poluição luminosa” geralmente é relacionado ao ofuscamento do céu noturno gerado
27 pela iluminação artificial. Dessa forma, um novo termo foi criado para relacionar a poluição
28 luminosa aos efeitos dela nos ecossistemas: o termo “poluição luminosa ecológica” (Longcore
29 e Rich 2004). Uma das principais mudanças que esse tipo de poluição pode gerar se refere a
30 alterações nos ciclos naturais de luz e escuro nos ecossistemas (Wise 2007), sendo causada
31 principalmente por iluminação pública artificial de vias, praças, edificações e por luzes de
32 veículos (Longcore e Rich 2004).

33 Dentre os efeitos conhecidos da poluição luminosa ecológica, podemos citar
34 alterações na dinâmica das populações por modificação de aspectos demográficos, como
35 aumento das taxas de mortalidade devido a colisões com lâmpadas, maior risco de predação e
36 atropelamento causados pela atração à luz (Gaston e Bennie 2014). Ocorre também
37 desorientação em filhotes de tartarugas (Peters e Koen 1994) e em aves migratórias
38 (Gauthreaux e Belser 2006), que são atraídos pelas luzes, e mudanças nas interações entre
39 presas e predadores (Eisenbeis e Hanel 2009).

40 Além dos efeitos diretos da luz, há também efeitos sobre os ritmos biológicos.
41 Alterações nos ciclos naturais de luz e escuro nos ecossistemas causadas pela iluminação
42 artificial podem mascarar as mudanças naturais do fotoperíodo ao longo das estações do ano e
43 gerar um desajuste nos ciclos biológicos de algumas espécies (Gaston et al. 2013). Os
44 anfíbios, por exemplo, utilizam as variações de fotoperíodo como sinais das mudanças das
45 estações do ano, e assim sincronizam seu ciclo reprodutivo, utilizando o fotoperíodo como
46 gatilho para reprodução (Canavero e Arim 2009). Por essa razão, muitas espécies apresentam
47 sazonalidade reprodutiva (Hsu et al. 2006; Both et al. 2008), a qual é representada pela

48 temporada de vocalização (Wells 2007). A temporada de vocalização é o período do início ao
49 fim da atividade de vocalização dos machos para atração das fêmeas para reprodução (Wells
50 2007).

51 Os impactos da luz sobre os ciclos reprodutivos já foram observados em outros táxons,
52 como os mamíferos, cujas alterações de fotoperíodo interferem no período da cópula (Letaliec
53 et al. 2015) e de nascimento de filhotes (Robert et al. 2015). A exposição à luz afeta os níveis
54 de secreção da melatonina, importante hormônio regulador da reprodução em diversos
55 vertebrados (Delgado et al. 1983; Alonso-Bedate et al. 1988; Robert et al. 2015, Ouyang et al.
56 2018). A existência de fontes artificiais de luz leva a um incremento no número de horas de
57 exposição à luz, podendo inibir a secreção de melatonina, já que esse hormônio é produzido
58 durante a noite (Bruning et al. 2015; Robert et al. 2015). A produção de outros hormônios
59 relacionados com a regulação dos ciclos reprodutivos dos animais também é afetada pelo
60 aumento de fotoperíodo gerado pela iluminação artificial, como os hormônios do eixo
61 hipotalâmico-pituitário-gonadal (Ouyang et al. 2018) o que pode gerar alterações no processo
62 reprodutivo dos animais expostos à luz artificial. Além de mudanças em processos cujos
63 ciclos são anuais, como a reprodução, o aumento no número de horas do dia com iluminação
64 e a provável alteração na produção de melatonina também pode gerar alterações nos ciclos
65 diários de algumas espécies, alterando o ritmo circadiano (Ouyang et al. 2018), como já foi
66 observado em aves, que adiantam o início da atividade de canto ao amanhecer em locais com
67 presença de iluminação artificial (Kempnaers et al. 2010).

68 Além do potencial efeito no ciclo reprodutivo (efeito sobre a fisiologia), a luz também
69 pode ter uma ação imediata sobre os anfíbios (efeito sobre o comportamento). Em alguns
70 experimentos realizados em campo, foi introduzido um pulso de luz durante a noite em locais
71 onde havia concentração de machos vocalizando. O pulso gerou uma diminuição na
72 frequência de emissão de canto de anúncio (Baker e Richardson 2006) bem como no número

73 de machos de anuros em atividade de vocalização (Hall 2016). Esses experimentos reforçam a
74 alta sensibilidade dos anfíbios anuros à luminosidade. Há registros de que até mesmo o
75 aumento natural da luminosidade noturna, gerada pela mudança nas fases da lua, são
76 suficientes para inibir sua atividade de vocalização. A atividade de vocalização tende a
77 diminuir em noites de lua cheia (noites mais claras), e aumentar nas noites sem lua (noites
78 mais escuras) (Granda et al. 2008; Grant et al. 2012).

79 Os anuros possuem olhos adaptados à visão noturna, que demoram a se adaptar a um
80 aumento rápido de iluminação (Cornell e Hailman 1984), ficando ofuscados (Buchanan
81 1993). Desse modo, a iluminação não natural durante a noite pode ser considerada como um
82 distúrbio direto, afetando sua capacidade de enxergar e ao mesmo tempo aumentando sua
83 exposição a predadores. Além disso, os anuros são animais noturnos, em grande maioria
84 (Buchanan 2006), aumentando o potencial de que muitas de suas espécies sejam afetadas
85 negativamente pela iluminação artificial (poluição luminosa ecológica).

86 Apesar de haver uma ampla preocupação com as ameaças às quais as populações de
87 anfíbios estão sendo submetidas, pouca atenção tem sido dada ao papel da iluminação
88 artificial nesse declínio (Wise 2007). A produção de dados sobre esse assunto ainda é tímida,
89 apesar do conhecimento de que os níveis de poluição luminosa venham aumentando em um
90 ritmo preocupante de aproximadamente 6% ao ano (Hölker et al. 2010). Os estudos
91 disponíveis até o momento revisam no geral os efeitos da iluminação artificial em anfíbios e
92 frisam a importância da realização de novos estudos sobre o assunto (Buchanan 2006; Wise
93 2007), além de estudos que apresentam resultados sobre mudanças comportamentais na
94 atividade de vocalização de anuros geradas logo após a introdução de um distúrbio luminoso
95 de curta duração (Baker e Richardson 2006; Hall 2016). A resposta positiva de anuros a
96 distúrbios luminosos gera a necessidade da realização de novas abordagens experimentais em
97 campo, que gerem conhecimentos sobre o comportamento dos anuros frente à iluminação

98 artificial e que auxiliem no planejamento de políticas públicas, como no planejamento de
99 iluminação urbana de cidades, visando a proteção de espécies. Dentre as novas abordagens
100 experimentais, destacamos os efeitos da iluminação pública sobre os ciclos sazonais e diários
101 da atividade de vocalização. Como componentes dessa atividade podemos avaliar os efeitos
102 da iluminação sobre o período do ano em que ocorre o maior número de machos em atividade
103 de vocalização (pico de vocalização), sobre a temporada de vocalização (período do ano em
104 que os machos iniciam e encerram a atividade de vocalização), ritmo noturno da atividade de
105 vocalização da população e o potencial de aclimatação à exposição à luz. Na tentativa de
106 abordar essas questões, nós realizamos amostragens e experimentos em campo para testar as
107 seguintes hipóteses:

108 1- Considerando que a iluminação pública representa uma interferência no ciclo de claro e
109 escuro natural, espera-se que ela gere mudanças nos ritmos biológicos das espécies, e
110 conseqüentemente, a temporada de vocalização das espécies deverá ser diferente entre as
111 populações de banhados com e sem iluminação pública;

112 2 - Considerando que a luz artificial iniba a atividade de vocalização, esperamos que o
113 período noturno da atividade de vocalização das espécies inicie mais tarde e seja mais curto
114 nas populações de banhados com iluminação pública;

115 3- Considerando que uma fonte de luz noturna seja um distúrbio, a introdução de um pulso de
116 luz deverá gerar uma redução no número de indivíduos vocalizando nos banhados com e sem
117 iluminação.

118

119 **Material e Métodos**

120 **Área de estudo**

121 O estudo foi desenvolvido na planície costeira do extremo sul do Brasil, no município
122 de Rio Grande, que pertence ao domínio do bioma Pampa (IBGE 2004). A paisagem

123 dominante na região amostrada é a de campos alagáveis (banhados) situados
124 aproximadamente ao mesmo nível do mar, com relevo predominantemente plano (Waechter
125 1985). A vegetação é majoritariamente herbácea (campestre) e aquática (macrófitas
126 emergentes e flutuantes) (Burguer e Ramos 2006). O clima é subtemperado úmido, com duas
127 estações bem definidas: quente (setembro a março) e fria (abril a agosto). A temperatura
128 média anual é de 18,1°C e precipitação média anual de 1162mm distribuída de modo
129 homogêneo ao longo do ano (Maluf 2000).

130 A área amostrada não sofre influência direta da iluminação de centros urbanos.
131 Quando presente, a iluminação artificial noturna é gerada pelos postes de iluminação de vias
132 públicas. Essas vias fazem parte de uma malha viária pouco ramificada e composta, na sua
133 maioria, por estradas não pavimentadas e de baixo fluxo de veículos. Em algumas dessas vias,
134 existem postes com cerca de 6m de altura com lâmpadas de vapor de sódio de alta pressão que
135 representam a iluminação pública (PMDRG 2011) (Fig. S1). As localidades amostradas
136 apresentam espaçamento geográfico suficiente para minimizar sua autocorrelação espacial,
137 todavia estão submetidas ao mesmo regime de temperatura e pluviosidade. Desse modo, as
138 principais variáveis ambientais consideradas como gatilhos da atividade de vocalização são
139 idênticas entre os pontos amostrais, com exceção do fotoperíodo.

140

141 **Delineamento amostral**

142 A área selecionada para as amostragens é formada por banhados bem preservados,
143 próximos ou inseridos em uma Unidade de Conservação (Fig. S1). As unidades amostrais
144 selecionadas, bem como seu entorno, possuem baixo nível de urbanização e o tráfego de
145 veículos é baixo, sendo os postes de iluminação pública, equipados com lâmpadas de vapor de
146 sódio de alta pressão, a única fonte de luz artificial contínua.

147 A definição das unidades amostrais foi feita com base na distância em relação aos
148 postes de iluminação pública. Inicialmente, realizamos medições da incidência da luz gerada
149 pelos postes no ambiente de seu entorno. As medições foram realizadas com luxímetro
150 (Instrutemp modelo ITLD270) em diferentes distâncias dos postes. A dissipação da luz faz
151 com que sua detectabilidade varie de modo não linear a medida em que nos afastamos de sua
152 fonte, havendo uma queda abrupta em sua incidência a partir de 100m. Para padronizar as
153 amostragens, coletamos dados dentro de um raio entre 50 e 100m da base dos postes, onde a
154 incidência luminosa era a mais homogênea possível. Com base nessa avaliação prévia,
155 classificamos as unidades amostrais da seguinte maneira: a) “unidades amostrais com
156 iluminação”: unidades amostrais cujos corpos d’água estavam a uma distância entre 50 e
157 100m de postes de iluminação pública; b) “unidades amostrais sem iluminação”: unidades
158 amostrais cujos corpos d’água estavam a pelo menos 2 km de qualquer poste de iluminação
159 pública.

160 Realizamos as amostragens entre setembro de 2016 a agosto de 2017 em seis unidades
161 amostrais, três com presença de iluminação pública e três sem iluminação (Fig. 1). Cada
162 unidade amostral possuía uma área de aproximadamente 1 ha e abrigava corpos d’água
163 temporários usados como sítio reprodutivo pelos anfíbios. Para minimizar a dependência
164 espacial entre as unidades amostrais, selecionamos pontos com uma distância mínima de 1 km
165 uns dos outros.

166 As unidades amostrais com iluminação pertenciam a localidades regionalmente
167 conhecidas como Corredor Senandes (32°09’38.4” S e 052°11’52.9” W), Arroio Bolaxa
168 (32°10’28.2” S e 052°11’33.4” W) e Banhado do Campus (32°4’38.94”S e 52°9’53.20° W)
169 (Fig.1). As três unidades amostrais sem iluminação estavam situadas no interior de uma
170 unidade de conservação, a Estação Ecológica do Taim (ESEC Taim). A ESEC Taim é uma
171 área de relevante importância ecossistêmica, sendo reconhecida em 2017 como um sítio

172 RAMSAR (RAMSAR Wetland of International Importance; RAMSAR 2018). Essas unidades
173 estavam associadas a corpos d'água conhecidos como Nicola (32°32'37.94"S e
174 52°31'7.08"W) e dois ao longo da estrada do Tigre (32°31'45.96"S e 52°32'57.41"W) e
175 (32°31'47.16"S e 52°33'36.75"W) (Fig.1).

176 Todas as unidades amostrais possuem a mesma configuração quanto à cobertura
177 vegetal, relevo e composição de espécies de anuros, e estavam alagadas de setembro a
178 dezembro de 2016, seguidos de períodos secos de janeiro a maio e alagados novamente de
179 junho a agosto de 2017. Nelas, ocorrem um total de 12 espécies de anuros distribuídas em três
180 famílias (Leptodactylidae, Hylidae e Odontophrynidae). A composição de espécies é
181 semelhante entre as unidades amostrais com e sem iluminação, com aproximadamente 75%
182 das espécies compartilhadas. Apenas duas espécies (*Scinax granulatus* e *Dendropsophus*
183 *minutus*) ocorrem somente nas unidades amostrais com iluminação, e somente *Leptodactylus*
184 *latinasus* é exclusiva das unidades amostrais sem iluminação pública. Essa semelhança
185 favorece a comparação da atividade de vocalização entre as comunidades, uma vez que a
186 composição de espécies poderia afetar o padrão de atividade de vocalização.

187

188 **Procedimentos no campo**

189 Para padronizar o nível de luminosidade natural, realizamos as amostragens apenas em
190 noites de lua nova (Grant et al. 2012). Durante todas as amostragens medimos a luminosidade
191 do ambiente (com luxímetro Instrutemp modelo ITLD270), a temperatura e a umidade
192 relativa do ar em cada uma das unidades amostrais.

193 Aplicamos dois protocolos para a coleta de dados, realizada mensalmente ao longo de
194 duas noites consecutivas em cada unidade amostral. Na primeira noite era aplicado o
195 protocolo 1 e na segunda o protocolo 2. O protocolo 1 visou avaliar a existência de
196 sazonalidade na atividade de vocalização, o efeito da iluminação artificial no período de pico

197 da atividade de vocalização e na extensão da temporada de vocalização ao longo do ano, bem
198 como no ciclo noturno (número de horas em atividade, horário mínimo e máximo e
199 distribuição ao longo da noite) da atividade de vocalização das espécies de anuros
200 compartilhadas entre as comunidades das unidades amostrais com e sem iluminação. O
201 protocolo 2 visou avaliar o efeito de um pulso de luz sobre o comportamento de vocalização
202 das espécies. Os detalhes desses protocolos são descritos a seguir.

203 ***Protocolo 1***

204 Avaliamos a atividade sazonal e noturna (horas da noite) de vocalização dos anfíbios
205 por meio de registro do áudio ambiente por um sistema automatizado de gravação (*automated*
206 *recording systems*, Bridges e Dorcas 2000) equipado com um gravador modelo Sony ICD-
207 PX312/PX312F. Nós instalamos os gravadores a uma altura de um metro do solo em cada
208 uma das seis unidades amostrais.

209 Programamos os gravadores para registrarem o áudio ambiente entre as 19:00h e as
210 07:00h do dia seguinte (13 horas de gravação ininterruptas). Esse período compreende o
211 horário com pico de atividade das espécies de anuros da região (Ximenez e Tozetti 2015).
212 Desse modo, para cada unidade amostral foi gerado um arquivo de áudio para cada noite
213 amostrada. Nós usamos os arquivos com os registros da gravação de cada noite para
214 selecionar, de forma sistematizada, amostras de áudio com duração de três minutos. Para
215 tanto, nós extraímos trechos de áudio com duração de três minutos contados a partir do início
216 das gravações e com intervalos de uma hora (exemplo: amostra 1: das 19:00h as 19:03;
217 amostra 2: das 20:00h as 20:03; amostra 3: das 21:00h as 21:03, etc). Assim, foram geradas
218 13 amostras de áudio para cada uma das 12 noites de gravação em cada unidade amostral. As
219 espécies registradas nas gravações foram identificadas com auxílio de bancos de dados de
220 gravações feitas na área de estudo bem como guias sonoros das espécies (Haddad et al. 2005;
221 Kwet e Márquez 2010). Estimamos a abundância de indivíduos em atividade de vocalização

222 em cada amostra em quatro categorias: A) 1 – 4 indivíduos em atividade de vocalização; B) 5
223 – 9 indivíduos em atividade de vocalização; C) 10 – 20 indivíduos em atividade de
224 vocalização; D) >20 indivíduos em atividade de vocalização (Bertoluci e Rodrigues 2002;
225 Ximenez e Tozetti 2015).

226 *Protocolo 2*

227 Esse protocolo consistiu na introdução de um pulso de luz nas unidades amostrais com
228 e sem iluminação, e foi realizado nas mesmas unidades amostrais onde aplicamos o protocolo
229 “1”. Porém, por se tratar de uma intervenção nas condições de iluminação local, esse
230 protocolo foi realizado na noite posterior àquela amostragem, para que não houvesse
231 interferência sobre os parâmetros analisados pelo protocolo “1”. Ao total, o experimento de
232 introdução do pulso de luz foi realizado 13 vezes nas unidades com iluminação e 16 vezes nas
233 sem iluminação.

234 Para gerar o pulso de luz usamos um dispositivo portátil composto por quatro
235 lâmpadas halógenas (OSRAM) de 70 Watts (Fig. S2). A escolha do modelo de lâmpada foi de
236 modo a recriar as condições espectrais mais próximas possíveis daquelas geradas pelos postes
237 de iluminação pública da região. Não foi possível utilizar o mesmo modelo de lâmpadas dos
238 postes de iluminação pública (lâmpadas de vapor de sódio de alta pressão, de 150 a 250 W),
239 pois após serem ligadas, elas demoram cerca de 10 minutos para atingirem sua luminosidade e
240 para a estabilização de sua coloração. Isso impossibilitaria a padronização da iluminação
241 durante o experimento. Realizamos testes em laboratório de Física da Universidade do Vale
242 do Rio dos Sinos em um equipamento que possibilitou a comparação entre alguns tipos de
243 lâmpadas e concluímos que dentre elas a lâmpada halógena era a que tinha as propriedades
244 espectrais mais similares com a lâmpada de vapor de sódio, pelo fato de que as duas emitem
245 luz em quase toda extensão de comprimento de onda analisada (344 nm a 2398 nm), mesmo

246 que em intensidades diferentes, e também por ambas apresentarem o pico de emissão de luz
247 próximo a 1000 nm (Fig. S3).

248 O dispositivo portátil composto pelas quatro lâmpadas era suspenso por uma haste que
249 permitia a elevação das lâmpadas de modo que a luz incidisse sobre os animais com
250 aproximadamente 60 lux, uma intensidade similar a que era registrada na base dos postes de
251 iluminação pública. A quantidade de lux era aferida a cada experimento e a altura média das
252 lâmpadas foi de 2 m em relação ao solo. Nós posicionávamos o dispositivo na unidade
253 amostral de modo preferencial, sendo selecionado um ponto onde havia maior concentração
254 de indivíduos vocalizando. O mecanismo que gerava o pulso de luz era acionado de modo a
255 emitir um único pulso com duração de dois minutos, e direcionado para o local onde estavam
256 os anuros. Depois de instalado o dispositivo, esperávamos um tempo para aclimatação até que
257 os machos retomassem sua atividade de vocalização em níveis próximos ao anterior à
258 instalação do dispositivo. O experimento com o pulso de luz foi dividido em três fases de
259 avaliação da atividade de vocalização: três minutos anteriores ao pulso, durante a exposição
260 ao pulso de luz, e três minutos após a emissão do pulso de luz. Registramos o número de
261 indivíduos vocalizando de cada espécie presente durante cada uma dessas fases. O número de
262 indivíduos foi registrado seguindo as mesmas classes de abundância do protocolo “1”. A área
263 de interferência luminosa do pulso foi definida em ensaios piloto nos quais medimos a
264 incidência luminosa junto ao chão. Verificamos que a iluminação se distribui de um modo
265 uniforme em uma área de aproximadamente 100 m² ao redor do dispositivo. Desse modo,
266 apenas os anuros vocalizando no interior dessa área foram contabilizados. O registro dos
267 anfíbios vocalizando foi feito de modo presencial, o que permitiu que o registro de indivíduos
268 situados exclusivamente na área exposta à luz tenha sido feito de modo eficiente.

269

270

271 **Análises dos dados**

272 ***Análise sazonal da atividade de vocalização***

273 Nós aplicamos estatística circular para avaliar a existência bem como a variação na
274 sazonalidade da atividade de vocalização dos anuros. Para realização desta análise, os dados
275 médios de abundância de cada espécie em cada mês foram transformados em porcentagem.
276 Para tanto, o valor máximo de abundância encontrado (10) foi considerado 100% a partir do
277 qual foram definidas as respectivas porcentagens com base na abundância média das espécies
278 em cada mês em cada tipo de unidade amostral. Além disso, os meses foram transformados
279 em ângulos com intervalos de 30°, onde janeiro correspondeu a 0°, fevereiro 30° e assim
280 consecutivamente até dezembro, correspondendo ao ângulo 330. Nessa análise, cada ângulo
281 (mês) foi associado ao número de machos vocalizando (abundância média) relativo ao mês.

282 Testamos a uniformidade dos dados para verificar se a abundância de machos em
283 atividade de vocalização ao longo dos meses foi igualmente distribuída ou concentrada em
284 poucos meses do ano, o que indicaria sazonalidade. A uniformidade dos dados foi testada a
285 partir do teste de espaçamento Rao, que é um teste potente para este fim (Kovach 2011). Este
286 teste testou a hipótese nula de que os dados eram distribuídos uniformemente em torno do
287 ciclo analisado ($p > 0,05$). Se o resultado do teste de Rao for significativo ($p < 0,05$), conclui-se
288 que os dados não são distribuídos de forma uniforme ao longo do tempo, havendo
289 sazonalidade na temporada reprodutiva dos anuros, com picos de atividade de vocalização
290 (período com maior número de machos vocalizando). Observamos que os dados não tinham
291 distribuição de Von Mises para nenhuma espécie através do teste de Watson U^2 . Dessa forma,
292 foram realizados testes de Watson Wheeler para comparar a distribuição da atividade de
293 vocalização de cada espécie ao longo do ano entre os dois tipos de unidades amostrais, com e
294 sem iluminação. Para esta análise, valores do vetor r diferentes significativamente, indicam
295 distribuições diferentes (Kovach 2011). Realizamos estas análises no programa Oriana

296 (versão 4.02), com dados das espécies compartilhadas entres os dois tipos de unidades
297 amostrais e que alcançaram número suficiente para realização das análises, que são as
298 seguintes: *Physalaemus* sp. (unimos *P. gracilis* e *P. biligonigerous* devido à difícil
299 diferenciação da vocalização das duas espécies), *Pseudis minuta*, *Scinax squalirostris*,
300 *Dendropsophus sanborni*, *Boana pulchella*, *Leptodactylus gracilis* e *Pseudopaludicola*
301 *falcipes*. A metodologia para estas análises foi baseada em Prado et al. (2005) e Caldart et al.
302 (2016).

303 A análise circular gerou informações sobre variações sazonais na atividade
304 reprodutiva, estimada pela atividade de vocalização. Os parâmetros comparativos gerados na
305 análise foram: (1) vetor médio (μ), que corresponde ao ângulo médio, período do ano na qual
306 a maioria dos machos estava em atividade de vocalização; (2) desvio circular padrão (SD); e
307 (3) o vetor r , um índice que mede a concentração dos dados em torno do círculo (ano), que
308 varia de 0 (dados dispersos) a 1 (dados concentrados na mesma direção). Quando os dados se
309 concentram próximos ao ângulo médio, o valor de r tende a ser maior do que quando os dados
310 estão dispersos.

311 A partir da escuta das 13 amostras de áudio de três minutos de cada noite de
312 amostragem, construímos uma tabela com os dados de abundância das espécies (nas classes
313 de abundância) por dia e por hora de amostragem. A partir dos dados registrados nessa tabela,
314 avaliamos o número de meses em que cada espécie esteve em atividade de vocalização
315 (extensão da temporada de vocalização). Realizamos esta avaliação com todas as nove
316 espécies compartilhadas entre os dois tipos de unidades amostrais.

317 ***Análise do ciclo noturno da atividade de vocalização***

318 Os dados referentes à variação ao longo da noite da vocalização dos anfíbios não
319 apresentaram distribuição normal (Shapiro Wilk, $p < 0,05$), desse modo foram analisados por
320 estatística não paramétrica. Para as comparações entre os parâmetros noturnos da vocalização

321 (número amostras em que cada espécie estava vocalizando e horário mínimo e máximo da
322 atividade) entre banhados com e sem iluminação utilizamos o teste de Mann Whitney,
323 realizado no programa SPSS (versão 22.0). O número de amostras (trecho de áudio de três
324 minutos) em que cada espécie estava vocalizando por noite de amostragem foi referente ao
325 tempo dedicado à vocalização por espécie por noite em cada tipo de banhado. Esse número
326 foi calculado a partir das amostras de três minutos de áudio obtidas das 13h de gravação por
327 noite, e o valor variou entre um (espécie registrada em apenas uma amostra) a 13 (espécie
328 registrada em todas as amostras).

329 Além das análises descritas acima, foram realizadas análises circulares com os dados
330 de abundância de machos em atividade de vocalização ao longo da noite. Para a realização
331 dessas análises, os horários das 19h às 07h (13 horas ao total) foram transformados em
332 ângulos, de zero a 360, com intervalo de aproximadamente 27,69 entre cada ângulo. Além
333 disso, foi calculada a frequência de machos em atividade de vocalização em cada horário nos
334 dois tipos de unidades amostrais, através da divisão da abundância de machos pelo número de
335 registros em cada hora, e essas frequências foram associadas aos seus ângulos (horários)
336 correspondentes. As análises realizadas foram as mesmas descritas na análise circular sazonal.
337 Utilizamos o teste de Rao para avaliação da uniformidade da distribuição da atividade de
338 vocalização de cada espécie ao longo das horas da noite nas unidades amostrais com e sem
339 iluminação, e o teste de Watson Wheeler para comparar as distribuições de cada espécie entre
340 os dois tipos de unidade amostral.

341 As análises descritas acima relacionadas à variação noturna da vocalização entre as
342 unidades amostrais com e sem iluminação foram realizadas com dados das espécies
343 compartilhadas entre os dois tipos de banhados e que alcançaram número suficiente para
344 realização das análises, que são as seguintes: *Physalaemus* sp., *Pseudis minuta*, *Scinax*

345 *squalirostris*, *Dendropsophus sanborni*, *Boana pulchella*, *Leptodactylus gracilis* e
346 *Pseudopaludicola falcipes*.

347 ***Análise da influência do pulso de luz no comportamento de vocalização***

348 Para verificar se o pulso de luz gerado modificou o número de indivíduos da
349 comunidade de anuros vocalizando, foram comparadas as abundâncias mínimas de indivíduos
350 dos tratamentos “antes do pulso de luz” e “durante o pulso de luz” para as unidades amostrais
351 com e sem iluminação. Além disso, para verificar o comportamento de vocalização após o
352 pulso de luz, foram comparadas as abundâncias mínimas de indivíduos dos tratamentos “antes
353 do pulso de luz” e “depois do pulso de luz” para os dois tipos de unidades amostrais.
354 Utilizamos para a realização das análises as espécies que estavam vocalizando nas
355 comunidades durante as realizações do experimento, que foram: *D. minutus*, *Scinax*
356 *squalirostris*, *Dendropsophus sanborni*, *Boana pulchella*, *Leptodactylus gracilis*,
357 *Leptodactylus latinasus* e *Pseudopaludicola falcipes*. Para essas comparações, foram realizados
358 testes de Wilcoxon, o equivalente não paramétrico do teste T pareado, já que os dados não
359 possuíram distribuição normal (Shapiro Wilk, $p > 0,05$; SPSS versão 22.0).

360

361 **Resultados**

362 ***Influência da iluminação artificial no ciclo sazonal de vocalização***

363 A aplicação da estatística circular mostrou que a atividade de vocalização é um evento
364 sazonal para todas as espécies nas unidades amostrais com e sem iluminação ($p < 0,01$;
365 valores de $r > 0,5$; Tabela 1). Isso significa que as espécies possuem temporada de
366 vocalização limitada a um período específico do ano (Tabela 2, Fig. 2A e 2B). O pico de
367 atividade (maior número de machos vocalizando) da temporada de vocalização ocorreu em
368 períodos diferentes do ano nas unidades amostrais com e sem iluminação para *B. pulchella*
369 ($W=10,541$; $p < 0,01$), *D. sanborni* ($W=49,961$; $p < 0,01$), *Physalaemus* sp. ($W=20,154$; $p < 0,01$)

370 e *P. minuta* ($W=10,11$; $p<0,01$). O pico na atividade de vocalização das espécies *Physalaemus*
371 sp., *D. sanborni* e *B. pulchella* ocorreu antecipadamente nas unidades amostrais com
372 iluminação (aproximadamente em 10 de agosto, 23 de setembro e 23 de maio,
373 respectivamente) em relação aquelas sem iluminação (aproximadamente 15 de setembro, 15
374 de outubro e 9 de junho, respectivamente) (Tabela 1). A espécie *P. minuta* apresentou pico de
375 vocalização mais cedo nas unidades amostrais sem iluminação (aproximadamente 23 de
376 setembro nas unidades amostrais com iluminação e 18 de setembro nos sem iluminação)
377 (Tabela 1). Na Tabela S1 do material suplementar é possível observar a abundância média das
378 espécies em todos os meses amostrados.

379 Houve variação na extensão da temporada de vocalização (quantidade de meses) entre
380 unidades amostrais com e sem iluminação (Tabela 2). Aproximadamente 56% das espécies
381 compartilhadas entre os dois tipos de unidades amostrais exibiram temporadas de vocalização
382 mais longas nas unidades amostrais sem iluminação (*L. gracilis*, *Odontophrynus* sp.,
383 *Physalaemus* sp., *P. minuta* e *S. squalirostris*). Todavia, as espécies *D. sanborni* e *P. falcipes*
384 (22%) apresentaram temporadas de vocalização mais longas nas unidades amostrais com
385 iluminação. As outras duas espécies (22%) apresentaram comportamento igual ao longo do
386 ano (Tabela 2).

387 ***Influência da iluminação artificial no ciclo noturno de vocalização***

388 As espécies apresentaram um ciclo noturno de atividade de vocalização com duração
389 de 6 horas em média. Não houve diferença significativa quanto ao número de horas em que os
390 machos se mantiveram em atividade de vocalização entre as unidades amostrais com e sem
391 iluminação ($p>0,05$) (Tabela 3). O horário de início (horário mínimo) e de término da
392 atividade de vocalização (horário máximo) foi semelhante entre as unidades amostrais com e
393 sem iluminação para maioria das espécies (Tabela 3). Todavia, *P. minuta* cessou a atividade

394 de vocalização mais cedo nas unidades amostrais com iluminação (até as 03h) em relação às
395 unidades sem iluminação (até as 06h) ($U= 132,5$; $p<0,05$) (Tabela 3).

396 Já em relação à distribuição da abundância de machos em atividade de vocalização ao
397 longo da noite (existência ou não de horário de pico de atividade), observamos a partir dos
398 resultados da análise circular que essa distribuição variou entre as espécies bem como entre as
399 unidades amostrais com e sem iluminação. Houve diferença na distribuição da atividade de
400 vocalização ao longo da noite entre unidades com e sem iluminação em quatro das sete
401 espécies, sendo elas: *B. pulchella*, *P. minuta*, *P. falcipes* e *Physalaemus* sp. Para as três
402 primeiras espécies citadas, a atividade se concentrou em um período específico da noite
403 (distribuição não uniforme da atividade) apenas nas unidades amostrais sem iluminação (Rao
404 $<0,05$; Tabela 4). Nas unidades com iluminação essas espécies passam a ter uma atividade
405 distribuída de forma uniforme ao longo da noite (Tabela 4). A atividade de vocalização de
406 *Physalaemus* sp. apresentou uma tendência inversa, sendo concentrada em determinado
407 período da noite nas unidades amostrais com iluminação (Rao $<0,05$), enquanto que nas
408 unidades sem iluminação teve uma distribuição uniforme (Tabela 4). O pico de atividade
409 dessas espécies (horário com maior número de machos vocalizando) não variou entre as
410 unidades com e sem iluminação (Watson Wheeler $>0,05$). Para *B. pulchella* o pico ocorreu
411 aproximadamente às 22h nos dois tipos de unidades amostrais. Apesar de não significativa,
412 houve uma tendência de antecipação do pico de atividade de vocalização de *P. minuta* e *P.*
413 *falcipes* nas unidades amostrais sem iluminação (aproximadamente 22h e 21h
414 respectivamente) em relação às unidades com iluminação (aproximadamente 23:30h para as
415 duas espécies) (Tabela 4). Enquanto que *Physalaemus* sp. teve o pico de vocalização com
416 uma tendência a ocorrer mais cedo nas unidades com iluminação (aproximadamente às 22h)
417 em relação às unidades sem iluminação (aproximadamente às 23h) (Tabela 4). As outras três
418 espécies analisadas (*D. sanborni*, *L. gracilis* e *S. squalirostris*) apresentaram distribuição da

419 atividade de vocalização uniforme ao longo da noite nos dois tipos de unidade amostral
420 (Tabela 4). Na tabela S2 estão as frequências utilizadas para realização da análise circular.

421 *Influência do pulso de luz no comportamento de vocalização*

422 Apenas as espécies de unidades sem iluminação pública exibiram mudança em seu
423 comportamento durante a interferência luminosa. Nessas unidades, a introdução do pulso de
424 luz levou a uma redução imediata no número de machos vocalizando. Antes do pulso, havia
425 em média 2,19 ($\pm 2,4$) indivíduos em atividade de vocalização. Esse valor foi reduzido, em
426 média, a 1,26 ($\pm 1,6$) indivíduos durante o pulso ($Z=-2,871$; $p<0,05$; $N=21$). Em geral, o
427 número de machos vocalizando foi reestabelecido imediatamente após o pulso, não havendo
428 variação significativa entre o número de indivíduos vocalizando antes e após o pulso ($Z=-$
429 $1,604$; $P>0,05$; $N=21$). Nas unidades amostrais expostas à iluminação, o pulso de luz não
430 gerou alteração no número de machos em atividade de vocalização nas comunidades ($Z=-$
431 $1,342$; $p>0,05$; $N=23$). Nessas unidades também não houve diferença na abundância de
432 indivíduos nas comunidades antes e depois do pulso de luz ($Z=0$; $p>0,05$; $N=23$), onde o
433 número médio de indivíduos em atividade de vocalização foi de 1,87 ($\pm 1,7$) antes e manteve-
434 se o mesmo depois do pulso.

435

436 **Discussão**

437

438 Nossos resultados mostraram que a presença de iluminação artificial próxima a
439 banhados gera, ao menos para algumas espécies de anuros, modificação em sua distribuição
440 da atividade de vocalização ao longo do ano e ao longo da noite. Esses resultados reforçam o
441 fato de que a iluminação artificial representa uma interferência no ciclo de claro e escuro
442 natural, com consequências para a atividade reprodutiva (vocalização) dos anuros.

443 As respostas das espécies foram variadas, havendo tanto antecipação quanto atraso no
444 pico da temporada de vocalização nas unidades amostrais com iluminação. Detectamos uma
445 antecipação em algumas semanas nos picos das temporadas de vocalização de *Physalaemus*
446 sp., *D. sanborni* e *B. pulchella*. A antecipação do pico na temporada foi a mudança mais
447 comum nas unidades amostrais iluminadas, sendo que apenas para *P. minuta* registramos um
448 atraso nesse pico. O atraso no pico da temporada de *P. minuta* foi discreto e limitado a apenas
449 alguns dias de diferença entre as unidades amostrais com e sem iluminação. As alterações
450 observadas no período de pico da temporada de vocalização podem gerar graves
451 consequências ecológicas para as populações que estudamos. Se o “adiantamento” ou o
452 “atraso” do pico não for acompanhado por ajustes no ciclo fisiológico das fêmeas, pode haver
453 menor taxa de amplexos, menos desovas ou até mesmo menor taxa de óvulos fertilizados.
454 Outra possibilidade é a de que a mudança no período de recrutamento dos jovens os exponha
455 a condições climáticas ou de oferta de recurso menos favoráveis. Apesar de especulativo, esse
456 tipo de impacto já foi registrado em aves, que antecipam a postura dos ovos na presença de
457 iluminação artificial, os quais não eclodem no período mais favorável (Kempnaers et al.
458 2010).

459 A extensão da temporada reprodutiva de algumas espécies expostas à iluminação
460 artificial também foi alterada, sendo que a resposta mais comum foi a diminuição da extensão
461 da temporada de vocalização. Esse padrão foi observado em *Physalaemus* sp., *P. minuta*, *S.*
462 *squalirostris*, *L. gracilis* e *Odontophrynus* sp, (56% das espécies das comunidades). Essas
463 espécies passam a ter uma menor quantidade de meses em atividade de vocalização, o que
464 pode levar à redução de suas oportunidades de atração de fêmeas, e consequente redução de
465 seu sucesso reprodutivo nesses habitats. Espécies como *D. sanborni* e *P. falcipes*
466 apresentaram respostas opostas, com temporadas de vocalização mais longas nas unidades
467 amostrais com iluminação. Ao menos para *P. falcipes*, essa diferença na resposta em relação à

468 maioria das espécies pode ser pelo fato de que essa espécie vocaliza frequentemente durante o
469 dia (Witt 2013), apresentando um comportamento diferenciado à presença de iluminação
470 artificial noturna.

471 Considerando que todas as unidades amostrais estão submetidas às mesmas condições
472 de temperatura, umidade e pluviosidade, é factível imaginar que as diferenças na temporada
473 de vocalização das espécies (alteração do período do pico e da extensão da temporada)
474 tenham relação com mudanças no ciclo natural de iluminação. A luz artificial pode alterar o
475 fotoperíodo original nos banhados (Buchanan 2006), aumentando o período iluminado, e
476 afetar o ritmo circadiano dos anfíbios. O fotoperíodo é um dos principais marcadores
477 cronobiológicos que regula a atividade reprodutiva dos anfíbios, que o utilizam para
478 identificarem as estações do ano e o período adequado para reprodução (Canavero e Arim
479 2009). Dessa forma, as alterações observadas no período de pico de atividade de vocalização
480 e de extensão da temporada reprodutiva de algumas espécies de anuros entre os dois tipos de
481 unidades amostrais podem estar relacionadas à interferência na percepção do período do ano
482 gerada pela alteração de fotoperíodo. Do ponto de vista fisiológico, o comprimento do dia
483 regula a concentração da melatonina no organismo (D'istria 1994; Vanecek 1998), hormônio
484 relacionado a diversos processos fisiológicos nos anfíbios, inclusive no ciclo reprodutivo. A
485 produção desse hormônio é inibida pela luz (D'istria 1994; Ouyang et al. 2018), e em alta
486 concentração está ligado à inibição do desenvolvimento das gônadas em anfíbios (Delgado et
487 al. 1983; Alonso-Bedate 1988; Udaykumar e Joshi 1997). A presença de iluminação artificial
488 nas unidades com iluminação pode ter levado a uma menor produção de melatonina nos
489 anuros em relação aos indivíduos das unidades sem iluminação, gerando alterações nos
490 períodos da reprodução. A presença de iluminação artificial nos habitats também pode
491 interferir em outros eixos hormonais, como no eixo hipotalâmico-pituitário-gonadal, que está
492 diretamente relacionado aos processos reprodutivos dos animais (Ouyang et al. 2018).

493 Desse modo sugerimos fortemente o desenvolvimento de estudos de cunho
494 cronobiológico relacionados aos efeitos da iluminação pública sobre a reprodução dos
495 anfíbios. Trata-se de um grupo de vertebrados cujos estudos relacionados ao papel da
496 iluminação sobre a reprodução são escassos. Dentre a literatura disponível, em geral, é dado
497 enfoque para a iluminação natural, nos quais são testados os efeitos da iluminação lunar sobre
498 a reprodução (Granda et al. 2008; Grant et al. 2012). Por outro lado, os efeitos da iluminação
499 artificial sobre a reprodução é relativamente bem conhecida para mamíferos e aves. Estudos
500 mostram, por exemplo, que em aves, a maturidade reprodutiva e a postura de ovos podem ser
501 antecipadas devido à presença de iluminação artificial (Dominoni e Partecke 2015 e
502 Kempnaers et al. 2010, respectivamente), do mesmo modo em que nós observamos
503 antecipação no pico da temporada de vocalização de algumas espécies de anuros. Com
504 relação aos mamíferos, há registros de que a iluminação artificial gera um atraso no
505 nascimento dos filhotes em alguns marsupiais, relacionado a uma menor produção de
506 melatonina (Robert et al. 2015), e, ao mesmo tempo, há registro de antecipação do ciclo
507 reprodutivo em alguns primatas (Letallec et al. 2015). Isso reforça a variedade de resposta
508 dos organismos aos efeitos da iluminação mesmo dentro de um mesmo táxon (mamíferos).

509 Em relação à influência da iluminação artificial no ciclo de vocalização das espécies
510 ao longo da noite, a similaridade no tempo dedicado à vocalização e no horário de início e
511 término da atividade de vocalização entre os banhados não era esperada. Já que a presença de
512 iluminação artificial e a consequente alteração no ciclo natural de luz e escuro gerada por ela
513 nas unidades amostrais com iluminação deveria alterar o ritmo circadiano das espécies
514 (Gaston et al. 2013), diminuindo o tempo dedicado à vocalização e fazendo com que
515 começassem a vocalizar mais tarde. Uma diminuição no tempo dedicado à vocalização por
516 noite era esperada devido a um possível efeito inibitório gerado pela presença de iluminação
517 artificial nas unidades amostrais com iluminação, como foi relatado para machos de *Rana*

518 *clamitans*, que vocalizam menos quando expostos a um pulso de luz artificial de 15 minutos
519 (indivíduos aclimatados por cinco minutos) (Baker e Richardson 2006), e também pelo fato
520 de que em noites de lua cheia (mais iluminadas) algumas espécies podem vocalizar menos
521 para proteção contra predadores guiados visualmente (Granda et al. 2008; Grant et al. 2012).
522 Além disso, era esperado que as espécies iniciassem a atividade de vocalização mais tarde e
523 cessassem mais cedo nas unidades amostrais com iluminação, já que a maioria das espécies
524 analisadas vocalizam a maior parte do tempo durante a noite (com exceção de *P. falcipes* que
525 vocaliza frequentemente durante o dia) (Witt 2013), e a presença de luz artificial poderia
526 alterar a percepção do anoitecer. Em algumas aves ocorre a antecipação do início da atividade
527 de vocalização em locais com iluminação artificial, em espécies que começam a vocalizar ao
528 amanhecer (Kempnaers et al. 2010; Dominoni et al. 2014). A espécie *P. minuta* foi a única
529 que se comportou conforme o esperado de que na presença de iluminação as espécies
530 cessassem a atividade de vocalização mais cedo. Isto indica a sensibilidade de uma espécie
531 aquática, que vocaliza predominantemente durante a noite e ocasionalmente durante o dia
532 (Witt 2013) à presença de iluminação artificial e um risco de diminuição nas chances de
533 machos de *P. minuta* em atrair fêmeas, podendo levar a um menor número de indivíduos
534 adicionados à população.

535 Ainda em relação ao comportamento de vocalização ao longo da noite, o fato de
536 termos registrado um pico noturno de machos em atividade de vocalização (atividade
537 concentrada em um período da noite) para a maioria das espécies que alteraram seu
538 comportamento na presença de iluminação (*B. pulchella*, *P. minuta* e *P. falcipes*) somente nas
539 unidades sem iluminação reforça a nossa hipótese de que a luz altera a atividade de
540 vocalização dos anuros. Enquanto que nas unidades com iluminação a atividade de
541 vocalização dessas espécies foi distribuída uniformemente ao longo da noite. Em ambientes
542 com iluminação natural, os anuros presenciam mudanças naturais de iluminação ao longo do

543 dia, que podem sinalizar os melhores momentos para concentração de vocalização, onde é
544 investida maior energia para reprodução, da mesma forma que o fotoperíodo sinaliza
545 mudanças sazonais na reprodução (Canavero e Arim 2009). Já em ambientes iluminados
546 artificialmente, a luz pode gerar uma redução na capacidade de percepção de mudanças sutis
547 na luminosidade ambiental natural. Esse fato pode explicar a ausência de pico de atividade de
548 vocalização nesses ambientes, nos quais os machos não percebem o melhor momento para
549 vocalização e assim vocalizam igualmente ao longo da noite. Além disso, a tendência
550 observada de atraso no horário do pico de atividade de vocalização de *P. minuta* e *P. falcipes*
551 nas unidades com iluminação (estatisticamente não tem pico, mas os dados brutos indicam um
552 pico discreto) pode estar relacionada ao maior comprimento do fotoperíodo nessas unidades,
553 que atrasa a chegada da noite e conseqüentemente atrasa o pico de atividade de vocalização.
554 Apenas *Physalaemus* sp. apresentou comportamento inverso aos das demais espécies que
555 responderam à presença de iluminação, enquanto que as outras espécies analisadas não
556 alteraram seu ciclo noturno de atividade de vocalização na presença de luz artificial. Tais
557 resultados reforçam o fato de que a iluminação artificial afeta de forma distinta as diferentes
558 espécies. Se as modificações geradas pela iluminação artificial nos padrões de distribuição de
559 machos em atividade de vocalização ao longo da noite não forem acompanhadas pelo período
560 de atividade das fêmeas das espécies afetadas, o sucesso reprodutivo novamente pode ser
561 afetado.

562 É possível que o modo de vida e o micro-habitat selecionado como sítio de
563 vocalização para cada espécie influencie seu nível de suscetibilidade aos impactos da
564 iluminação artificial. Dentre as espécies as quais registramos maior quantidade de mudanças
565 no comportamento de vocalização devido à iluminação artificial, algumas vocalizam sobre a
566 lâmina d'água (*P. minuta* e *Physalaemus* sp.) enquanto que outras vocalizam empoleiradas na
567 vegetação (*B. pulchella* e *D. sanborni*) (Witt 2013). Já a espécie *L. gracilis*, que

568 aparentemente foi uma das menos afetadas pela iluminação artificial, vocaliza no interior de
569 tocas construídas no solo (Witt 2013), o que pode protegê-los da luz artificial noturna. Este
570 fato indica que a iluminação artificial pode influenciar o comportamento de vocalização de
571 espécies que ocupam diferentes estratos no ambiente.

572 O pulso de luz gerado nas comunidades gerou uma inibição da atividade de
573 vocalização das espécies das unidades amostrais sem iluminação. Esse comportamento já foi
574 registrado por Hall (2016), que observou uma diminuição no número de machos em atividade
575 de vocalização em ambientes naturais quando é introduzido um pulso de iluminação artificial
576 no ambiente. Em situações reais, esses pulsos podem ser gerados pelos faróis de automóveis
577 que trafeguem próximos a sítios reprodutivos, por lanternas de pessoas que passem próximo
578 aos sítios, dentre outros exemplos (Baker e Richardson 2006).

579 É importante reforçar que apenas as populações das unidades amostrais sem iluminação
580 artificial tiveram sua atividade de vocalização inibida pelo pulso de luz. Isso sugere que haja
581 aclimatação à luz gerada pela presença iluminação pública. Além disso, foi observado que
582 após cessarem a vocalização com a introdução do pulso de luz nas unidades amostrais sem
583 iluminação, os machos voltam a vocalizar rapidamente. Isso sugere que a iluminação breve e
584 intercalada como a gerada por faróis de carros poderia gerar impacto sobre a atividade
585 reprodutiva em locais onde os pulsos ocorram com grande frequência, como em sítios
586 reprodutivos próximos a rodovias movimentadas. Sabe-se que em ambientes escuros ocorre
587 dilatação das pupilas dos anuros assim como para outros vertebrados. Quando ocorre um
588 rápido aumento na iluminação do ambiente, como um pulso de luz, os indivíduos têm sua
589 visão ofuscada como se estivessem “cegos” por um tempo (Buchanan 2006). É possível que
590 nas unidades amostrais com iluminação a visão dos anuros já estivesse aclimatada, e por isso,
591 o pulso de luz não foi suficiente para ofuscá-los e não houve alteração no comportamento de

592 vocalização. Além disso, é provável que a adaptação à luz nas comunidades de anuros
593 analisadas seja rápida, já que após o pulso de luz nas unidades amostrais sem iluminação os
594 machos voltaram a vocalizar rapidamente após pausarem com o pulso. Houve casos em que
595 os indivíduos voltavam a vocalizar mesmo durante o pulso de luz.

596 Os banhados com e sem iluminação que analisamos neste trabalho eram similares em
597 relação à vegetação, à riqueza de anuros, e estavam submetidos às mesmas condições
598 climáticas. Além disso, as coletas de dados foram realizadas em dias seguidos nos dois tipos
599 de banhados, para evitar grandes diferenças de temperatura e umidade. A paisagem local era
600 extremamente homogênea, com relevo plano e predomínio de gramíneas (Cordazzo e Seeliger
601 2003; Seeliger et al. 2004; Cordazzo et al. 2006). A paisagem era associada a corpos d'água
602 temporários semelhantes em sua configuração e tipo de biota vegetal associada (Cordazzo
603 2002; Pereira et al. 2012). No entorno dos sítios reprodutivos, os arbustos, quando presentes
604 eram baixos e esparsos. Dessa forma, a variável que mais diferia entre os dois tipos de
605 banhados era a presença de iluminação artificial. Por este motivo, os resultados foram
606 discutidos com ênfase na presença ou ausência de iluminação artificial e a consequente
607 alteração no ciclo de luz e escuro nos banhados.

608 A partir dos resultados deste estudo foi possível concluir que a presença de iluminação
609 artificial próxima a sítios reprodutivos de anuros pode comprometer o sucesso reprodutivo de
610 algumas espécies, através de alterações em aspectos sazonais e temporais (ao longo da noite)
611 da atividade de vocalização. Além disso, foi observado que pulsos rápidos de luz, como os
612 gerados pela passagem de automóveis próximos a sítios reprodutivos, podem inibir a
613 atividade de vocalização de anuros não adaptados à iluminação artificial, fato que também
614 pode afetar a reprodução das espécies em locais com muito tráfego. A possível diminuição do
615 sucesso reprodutivo das espécies de anuros gerada pela iluminação artificial é alarmante,

616 devido ao atual estado de declínio em que este grupo de animais se encontra. É importante a
617 realização de estudos futuros em laboratório com condições controladas de exposição à luz
618 que investiguem os efeitos deste tipo de poluição na atividade de vocalização e em outros
619 aspectos reprodutivos, sendo interessante também a inclusão de lâmpadas com diferentes
620 espectros na pesquisa. Além disso, estudos populacionais de longa duração que avaliem o
621 número de indivíduos que estão sendo adicionados nas populações que sofram incidência de
622 iluminação artificial e estudos que avaliem o comportamento de fêmeas e girinos expostos à
623 iluminação seriam importantes para um acompanhamento das consequências da iluminação
624 artificial para este grupo de animais. Por enquanto, a principal medida que deve ser tomada
625 para proteção de animais à iluminação artificial é a não iluminação e a preservação de áreas
626 importantes para a reprodução, como as áreas úmidas são para muitas espécies.

627

628 **Referências**

- 629 Alonso-Bedate, M., M. J. Delgado e R. Carballada. 1988. In vivo effect of melatonin and
630 gonadotropin-releasing hormone on testicular function in *Rana temporaria*. *J. Pineal Res.*
631 **5**: 323-332.
- 632
- 633 Baker, B.J. e Richardson, J.M.L. 2006. The effect of artificial light on male breeding season
634 behaviour in green frogs, *Rana clamitans melanota*. *Canadian Journal of Zoology.* **84**:
635 1528-1532.
- 636
- 637 Bertoluci, J. e Rodrigues, M.T. 2002. Seasonal patterns of breeding activity of atlantic
638 rainforest anurans at Boracéia, southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia.* **23**: 161–167.
- 639
- 640 Brüning, A., Hölker, F., Franke, S., Preuer, T. e Kloas, W. 2015. Spotlight on fish: light
641 pollution affects circadian rhythms of European perch but does not cause stress. *Sci.*
642 *Total Environ.* **511**: 516–522.
- 643
- 644 Buchanan, B.W. 1993. Effects of enhanced lighting of the behaviour of nocturnal frogs.
645 *Animal Behaviour.* **45**: 893–899.
- 646
- 647 Buchanan, B.W. 2006. Observed and potential effects of artificial night lighting on anuran
648 amphibians. *In Ecological consequences of artificial night lighting. Edited by C. Rich e T.*
649 *Longcore. Island Press, Washington, D.C. pp. 192–220.*
- 650

- 651 Burguer, M., Ramos, R. 2006. Áreas importantes para conservação na Planície Costeira do
652 Rio Grande do Sul. *In* Biodiversidade: Regiões da Lagoa do Casamento e dos Butiazais
653 de Tapes, planície costeira do Rio Grande do Sul. Becker, F.G. Série Biodiversidade, 25.
654 Ministério do Meio Ambiente. Brasília.
- 655
- 656 Bridges, A.S. e Dorcas, M.E. 2000. Temporal variation in anuran calling behavior:
657 implications for surveys and monitoring programs. *Copeia*. **2000**: 587-592.
- 658
- 659 Caldart, V.M.; Iop, S.; Lingnau, R. e Cechin, S.Z. 2016. Calling activity of a stream-breeding
660 frog from the austral Neotropics: temporal patterns of activity and the role of
661 environmental factors. *Herpetologica*. **72**: 90-97.
- 662
- 663 Canavero, A. e Arim, M. 2009. Clues supporting photoperiod as the main determinant of
664 seasonal variation in amphibian activity. *Journal of Natural History*. **43**: 2975-2984.
- 665
- 666 Cinzano, P., Falchi, F. e Elvidge, C.D. 2001. The first world atlas of the artificial night sky
667 brightness. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*. **328**: 689-707.
- 668
- 669 Cordazzo, C.V. 2002. Effect of seed mass on germination and growth in three dominant
670 species in southern Brazilian coastal dunes. *Brazilian Journal of Biology*. **62**: 427-435.
- 671
- 672 Cordazzo, C.V e Seeliger, U. 2003. Reproduction and vegetative regeneration in *Blutaparon*
673 *portulacoides* (Amaranthaceae) on backshores in southern Brazil. *Journal of Coastal*
674 *Research*. **35**: 481-485.
- 675
- 676 Cordazzo, C.V.; Paiva, J.B. e Seeliger, U. 2006. Guia ilustrado: plantas das dunas da costa
677 sudoeste Atlântica. USEB, Pelotas.
- 678
- 679 Cornell, E.A. e Hailman, J.P. 1984. Pupillary responses of two *Rana pipiens* complex anuran
680 species. *Herpetologica*. **40**: 356-366.
- 681
- 682 Delgado, M.J., Gutierrez, P. e Alonso-Bedate, M. 1983. Effects of daily melatonin injections
683 on the photoperiodic gonadal response of the female frog *Rana ridibunda*. *Comparative*
684 *Biochemistry and Physiology*. **76A**: 389-392.
- 685
- 686 D'Istria, M., Monteleone, P., Serino, I. e Chieffi, G. 1994. Seasonal variations in the daily
687 rhythm of melatonin and NAT activity in the Harderian gland, retina, pineal gland, and
688 serum of the green frog, *Rana esculenta*. *General and Comparative Endocrinology*. **96**: 6-
689 11.
- 690
- 691 Dominoni, D.M. e Partecke, J. 2015. Does light pollution alter daylength? A test using light
692 loggers on free-ranging European blackbirds (*Turdus merula*). *Phil. Trans. R. Soc. B*.
693 **370**: 20140118.
- 694
- 695 Eisenbeis, G. e Hanel, A. 2009. Light pollution and the impact of artificial night lighting on
696 insects. *In* Ecology of Cities and Towns: A Comparative Approach. Edited by M.
697 McDonnell, A. Hahs e J. Breuste. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 243-263.
- 698

- 699 Gauthreaux, S.A. e Belser, C.G. 2006. Effects of artificial night lighting on migrating birds. *In*
700 Ecological Consequences of Artificial Night Lighting. *Edited by* C. Rich e T. Longcore.
701 pp. 67-93.
702
- 703 Gaston, K.J., Bennie, J., Davies, T.W. e Hopkins, J. 2013. The ecological impacts of
704 nighttime light pollution: a mechanistic appraisal. *Bio. Rev.* **88**: 912-927.
705
- 706 Gaston, K.J. e Bennie, J. 2014. Demographic effects of artificial nighttime lighting on animal
707 populations. *Environ. Rev.* **22**: 1-8.
708
- 709 Granda, J.R., Pena, R.M. e Pierce, B.A. 2008. Effects of disturbance position of observer and
710 moonlight on efficiency of anuran call surveys. *Appl Herpetol.* **5**: 253–263.
711
- 712 Grant, R., Halliday, T. e Chadwick, E. 2012. Amphibians’ response to the lunar synodic
713 cycle—a review of current knowledge, recommendations, and implications for
714 conservation. *Behav Ecol.* **24**: 53–62.
715
- 716 Haddad, C.; Giovanelli, J.; Giasson, L. e Toledo, L. 2005. Guia Sonoro dos Anfíbios Anuros
717 da Mata Atlântica. São Paulo, SP, Brasil.
718
- 719 Hall, A.S. 2016. Acute Artificial Light Diminishes Central Texas Anuran Calling
720 Behavior. *American Midland Naturalist.* **175**: 183-193.
721
- 722 Hölker, F., Moss, T., Griefahn, B., Kloas, W., Voigt, C.C., Henckel, D., Hänel, A., Kappeler,
723 P.M., Völker, S., Schwoppe, A., Franke, S., Uhrlandt, D., Fischer, J., Klenke, R., Wolter,
724 C., e K. Tockner. 2010. The dark side of light: a transdisciplinary research agenda for
725 light pollution policy. *Ecology and Society* **15**(4): 13.
726
- 727 Hsu, M.Y., Kam, Y.C., Fellers, G.M. 2006. Temporal organization of an anuran acoustic
728 community in a Taiwanese subtropical forest. *J. Zool.* **269**: 331–339.
729
- 730 IBGE [Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística]. 2004. Mapa de biomas do Brasil.
731 Disponível em
732 <https://ww2.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm> [acessado
733 05 de junho de 2017].
734
- 735 Kempnaers, B., Borgström, P., Loës, P., Schlicht, E., e Valcu, M. 2010. Artificial night
736 lighting affects dawn song, extra-pair siring success, and lay date in songbirds. *Current*
737 *Biology*, **20**: 1735–1739.
738
- 739 Kovach, W.L. 2011. Oriana – Circular Statistics for Windows, ver. 4. Kovach Computing
740 Services, Pentraeth, Wales, U.K.
741
- 742 Kwet, A. e Márquez, R. 2010. Sound guide of the calls of frogs and toads from southern
743 Brazil and Uruguay. Alosa, sons de la natura, Fonoteca, Madrid, Spain. [áudio CD].
744
- 745 LeTallec, T., Théry, M. e Perret, M. 2015. Effects of light pollution on seasonal estrus and
746 daily rhythms in a nocturnal primate. *J. Mammal.* **96**: 438–445.
747

- 748 Longcore, T. e Rich, C. 2004. Ecological light pollution. *Frontiers in Ecology and the*
749 *Environment*. **4**: 191-198.
750
- 751 Maluf, J.R.T. 2000. Nova classificação climática do Estado do Rio Grande do Sul. *Revista*
752 *Brasileira de Agrometeorologia*. **8**: 141-150.
753
- 754 Ouyang, J.Q.; Davies, S. e Dominoni, D. 2018. Hormonally mediated effects of artificial light
755 at night on behavior and fitness: linking endocrine mechanisms with function. *J Exp Biol*.
756 221. doi:10.1242
757
- 758 Pereira, S.A.; Trindade, C.R.; Albertoni, E.F. e Palma-Silva C. 2012. Aquatic macrophytes as
759 indicators of water quality in subtropical shallow lakes, Southern Brazil. *Acta*
760 *Limnologica Brasiliensia*. **24**: 52–63.
761
- 762 Peters, A. e Koen, J.F. 1994. Impact of artificial lighting on the seaward orientation of
763 hatchling loggerhead turtles. *Journal of Herpetology*. **28**: 112-114.
764
- 765 PMDRG [Prefeitura Municipal do Rio Grande]. 2011. Disponível em
766 [http://www.riogrande.rs.gov.br/pagina/index.php/noticias/detalhes+a751,,em-breve-](http://www.riogrande.rs.gov.br/pagina/index.php/noticias/detalhes+a751,,em-breve-municipio-podera-dar-inicio-ao-projeto-reluz.html#.WqdEjyjwbiIU)
767 [municipio-podera-dar-inicio-ao-projeto-reluz.html#.WqdEjyjwbiIU](http://www.riogrande.rs.gov.br/pagina/index.php/noticias/detalhes+a751,,em-breve-municipio-podera-dar-inicio-ao-projeto-reluz.html#.WqdEjyjwbiIU) [acessado 10 de junho
768 de 2017].
769
- 770 Prado, C.P.A.; Uetanabaro, M. e Haddad, C.F.B. 2005. Breeding activity patterns,
771 reproductive modes, and habitat use by anurans (Amphibia) in a seasonal environment in
772 the Pantanal, Brazil. *Amphibia-Reptilia*. **26**: 211-221.
773
- 774 RAMSAR. 2018. Wetland of International Importance. Disponível em
775 <https://www.ramsar.org/> [acessado 15 de março de 2018].
776
- 777 Robert, K.A., Lesku, J.A., Partecke, J. e Chambers, B. 2015. Artificial light at night
778 desynchronizes strictly seasonal reproduction in a wild mammal. *Proc. R. Soc. B* **282**:
779 20151745.
780
- 781 Seeliger, U.; Cordazzo, C. e Barcellos, L. 2004. Areias do Albardão: um guia ecológico
782 ilustrado do litoral no extremo sul do Brasil. *Ecoscientia*, Rio Grande.
783
- 784 Udaykumar, K. e Joshi, B.N. 1997. Effect of exposure to continuous light and melatonin on
785 ovarian follicular kinetics in the skipper frog, *Rana cyanophlyctis*. *Biol. Signals*. **6**: 62-66.
786
- 787 Vanecek, J. 1998. Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiological Reviews*. **78**: 687-
788 721.
789
- 790 Waechter, J. L. 1985. Aspectos ecológicos da vegetação de restinga no Rio Grande do Sul,
791 Brasil. *Comunicações do Museu de Ciências da PUCRS, série Botânica*. **33**: 49-68.
792
- 793 Wise, S. 2007. Studying the ecological impacts of light pollution on wildlife: amphibians as
794 models. *In Starlight: a common heritage. Edited by C. Marín e J. Jafari*. pp. 209-218.
795
- 796 Witt, P.B.R. 2013. Fauna e Flora da Reserva Biológica Lami José Lutzenberger. Porto
797 Alegre: Secretaria Municipal do Meio Ambiente, Rio Grande do Sul, Brasil.

798

799 Wells, K.D. 2007. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago
800 Press, Chicago.

801 Ximenez, S.S. e Tozetti, A.M. 2015. Seasonality in anuran activity and calling season in a
802 Brazilian subtemperate wetland. *Zoological Studies*. **54**: 1-9.

803

Tabela 1. Resultados da estatística circular para verificação de ocorrência de sazonalidade na abundância de machos de anuros de diferentes espécies em atividade de vocalização ao longo de um ano em banhados com e sem interferência de iluminação pública no sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

Espécie	Unidade amostral	N	Vetor médio (μ)	Data aproximada correspondente ao vetor	Comprimento vetor médio (r)	Desvio padrão circular (SD)	Rao (p)	Watson Wheeler
<i>Physalaemus sp.</i>	com luz	140	220,5°	10 de agosto	0,941	20°	<0,01	W=20,2 p<0,05
	sem luz	60	254,6°	15 de setembro	0,762	42,2°	<0,01	
<i>P. minuta</i>	com luz	58	262,7°	23 de setembro	0,693	49°	<0,01	W=10 p<0,05
	sem luz	203	257,6°	18 de setembro	0,805	37,8°	<0,01	
<i>S. squalirostris</i>	com luz	178	180,3°	30 de junho	0,558	61,9°	<0,01	W=3 p>0,05
	sem luz	156	180,5°	30 de junho	0,548	62,9°	<0,01	
<i>D. sanborni</i>	com luz	60	263,4°	23 de setembro	0,616	56,4°	<0,01	W=49,9 p<0,05
	sem luz	113	285,3°	15 de outubro	0,889	27,7°	<0,01	
<i>B. pulchella</i>	com luz	200	142,7°	23 de maio	0,614	56,6°	<0,01	W=10,5 p<0,05
	sem luz	351	158,6°	9 de junho	0,744	44°	<0,01	
<i>L. gracilis</i>	com luz	37	348,9°	19 de dezembro	0,849	32,8°	<0,01	W=1,2 p>0,05
	sem luz	43	350°	20 de dezembro	0,763	42,1°	<0,01	
<i>P. falcipes</i>	com luz	13	309,7°	10 de novembro	0,91	24,9°	<0,01	W=0,3 p>0,05
	sem luz	100	311,1°	11 de novembro	0,883	28,6°	<0,01	

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão do horário mínimo, horário máximo e duração (número de horas) da atividade de vocalização de machos de anuros em banhados com e sem influência de iluminação pública no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. Intervalo de horas analisado das 19h às 07h. O “N” é referente ao número de amostragens em que as espécies estavam presentes.

		Espécies (Média±D.P.)						
		<i>Physalaemus sp.</i>	<i>P. minuta</i>	<i>S. squalirostris</i>	<i>D. sanborni</i>	<i>B. pulcella</i>	<i>L. gracilis</i>	<i>P. falcipes</i>
Com luz	Hora mínima	19h±0,5	20h±1,9	20h±1,2	20h±1,5	21h±3,3	20h±0,7	19h±0,6
	Hora máxima	03h±3,8	03h±2,7	04h±2,6	02h±2,3	03h±2,9	01h±2,5	01h±0
	Duração (horas)	9,2±3,9	7,5±3,6	8,6±3,8	6,2±3,8	6,7±3,4	5,7±2,9	4±1,1
	N	6	10	14	10	15	10	4
Sem luz	Hora mínima	20h±2	21h±3,5	20h±2,6	20h±1,9	20h±2,6	21h±2,8	19h±0,6
	Hora máxima	01h±3	06h±1,7	04h±2,2	02h±2,8	04h±2,6	01h±2,5	02h±6
	Duração (horas)	5,6±3,7	8,5±4,4	8,1±4,5	5±3,6	7,3±4,2	4,7±2,8	6,2±5,3
	N	11	17	18	10	16	8	5
Valores dos testes	Hora mínima	U= 13 p>0,05	U= 82,5 p>0,05	U= 128,5 p>0,05	U= 47,5 p>0,05	U= 97 p>0,05	U= 59 p>0,05	U= 5 p>0,05
	Hora máxima	U= 21 p>0,05	U=132,5 p<0,05	U= 135,5 p>0,05	U= 52,5 p>0,05	U= 127 p>0,05	U= 43,5 p>0,05	U= 12 p>0,05
	Duração (horas)	U= 16,5 p>0,05	U= 100 p>0,05	U= 122 p>0,05	U= 38,5 p>0,05	U=133,5 p>0,05	U= 33 p>0,05	U= 12 p>0,05

Tabela 4. Resultados da estatística circular para análise da distribuição da abundância de machos em atividade de vocalização ao longo da noite (19h às 07h) em banhados com e sem interferência de iluminação pública no sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

Espécie	Unidade amostral	N	Vetor médio (μ)	Hora aproximada correspondente ao vetor	Comprimento vetor médio (r)	Desvio padrão circular (SD)	Rao (p)	Watson Wheeler
<i>Physalaemus sp.</i>	com luz	44	77,8°	22h	0,083	127,8°	<0,01	W=0,09
	sem luz	12	107,9°	23h	0,154	110,9°	>0,01	p>0,05
<i>P. minuta</i>	com luz	21	126,8°	23:30h	0,142	113,2°	>0,01	W=0,869
	sem luz	34	85,9°	22h	0,213	100,7°	<0,01	p>0,05
<i>S. squalirostris</i>	com luz	18	83,1°	22h	0,046	142,1°	>0,01	W=0,56
	sem luz	18	106,8°	23h	0,266	93,2°	>0,01	p>0,05
<i>D. sanborni</i>	com luz	15	70,6°	21:30h	0,161	109,3°	>0,01	W=0,936
	sem luz	19	85,4°	22h	0,393	78,2°	>0,01	p>0,05
<i>B. pulchella</i>	com luz	15	75,9°	22h	0,189	104,6°	>0,01	W=0,885
	sem luz	35	78,8°	22h	0,446	72,7°	<0,01	p>0,05
<i>L. gracilis</i>	com luz	10	124,6°	23:30h	0,277	91,7°	>0,01	
	sem luz	8	121,8°	23:30h	0,433	74,1°	>0,01	-
<i>P. falcipes</i>	com luz	10	124,6°	23:30h	0,277	91,7°	>0,01	W=1,95
	sem luz	42	53,6°	21h	0,467	70,6°	<0,01	p>0,05

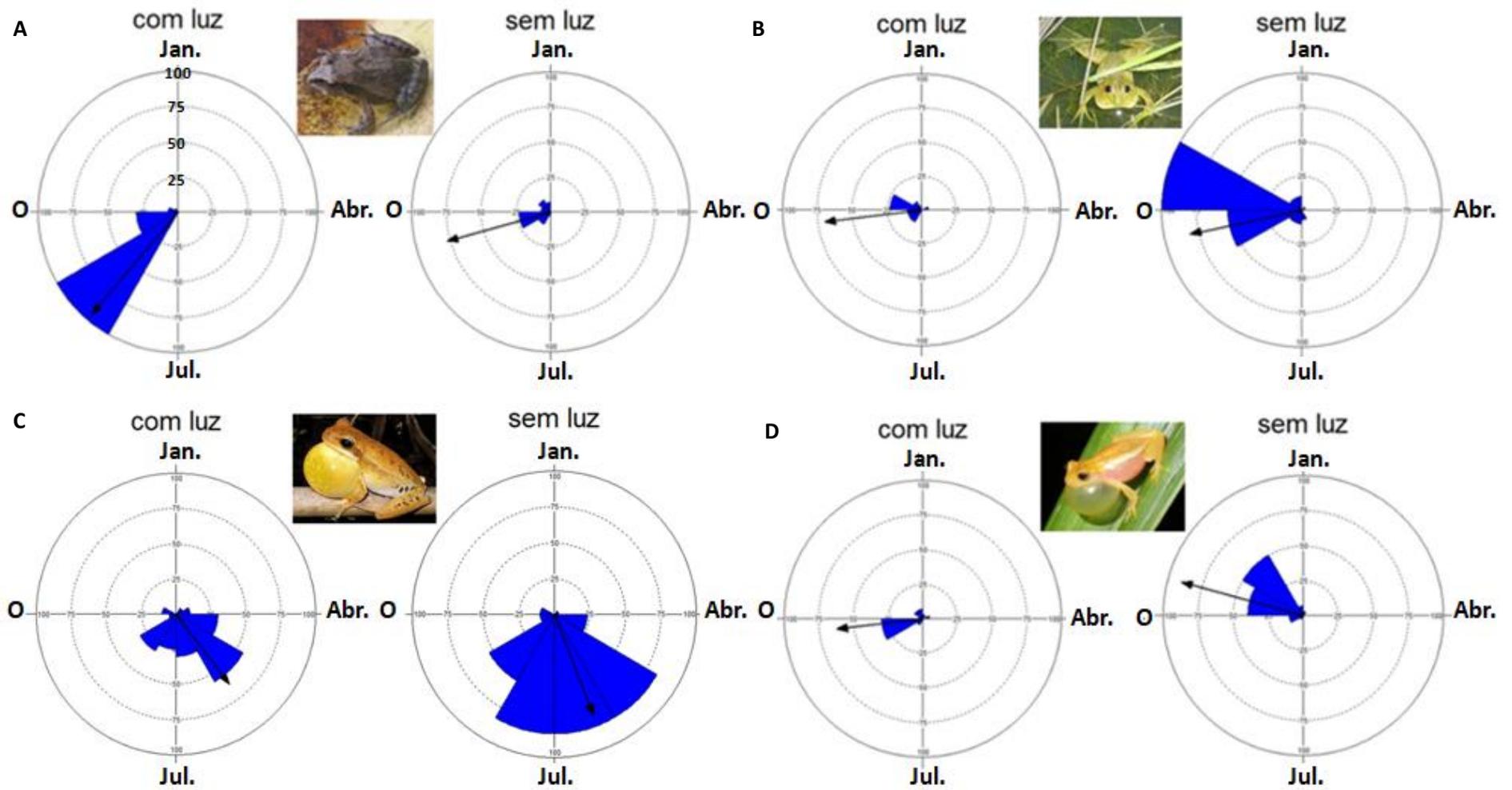
Lista de figuras

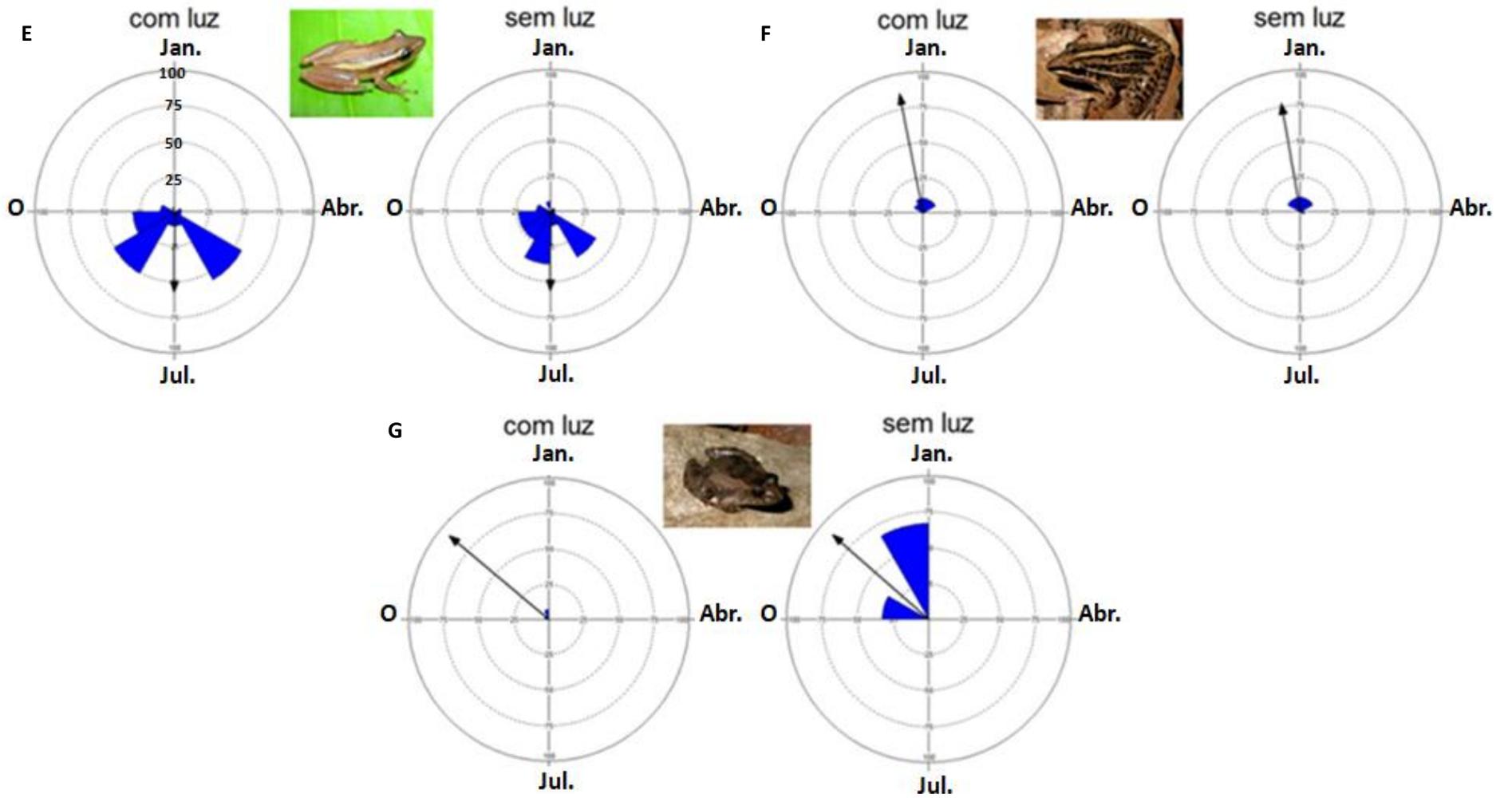
Figura 1. Localização geográfica dos banhados amostrados. A imagem 1 contempla as unidades amostrais com iluminação (A), localizadas nos arredores do núcleo urbano da cidade de Rio Grande, e as unidades amostrais sem iluminação (B), localizadas na Estação Ecológica do Taim, ambas no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. A imagem 2 é uma representação dos mesmos locais da imagem 1, durante a noite, evidenciando a poluição luminosa nas unidades amostrais do ponto “A” e a ausência de poluição luminosa no ponto “B”.

Figura 2A. Diagramas circulares representando a abundância média mensal de machos de *Physalaemus sp.* (A), *Pseudis minuta* (B), *Boana pulchella* (C) e *Dendropsophus sanborni* (D) em atividade de vocalização entre os meses de janeiro (0°) e dezembro (330°) (intervalos de 30° entre os meses) em banhados com e sem influência de iluminação pública no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. A seta preta corresponde ao vetor r e aponta para o ângulo (mês) com maior concentração de abundância de indivíduos. Escalas vão de 0 (zero) a 100. Fotos: “A” (Alexandro Tozetti; “B” e “C” (Mateus de Oliveira); “D” (Márcio Borges-Martins).

Figura 2B. Diagramas circulares representando a abundância média mensal de machos de *Scinax squalirostris* (E), *Leptodactylus gracilis* (F) e *Pseudopaludicola falcipes* (G) em atividade de vocalização entre os meses de janeiro (0°) e dezembro (330°) (intervalos de 30° entre os meses) em banhados com e sem influência de iluminação pública no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. A seta preta corresponde ao o vetor r e aponta para o ângulo (mês) com maior concentração de abundância de indivíduos. Escalas vão de 0 (zero) a 100. Fotos: Márcio Borges-Martins.







Material Suplementar

Tabela S1. Abundância média, desvio padrão e presença (>zero) ou ausência (zero) de espécies de anuros em banhados com influência de iluminação pública e banhados sem influência de iluminação pública, localizados nos arredores da zona urbana da cidade de Rio Grande (RS) e na Estação Ecológica do Taim (RS), respectivamente, ao longo de um ano (setembro de 2016 a agosto de 2017).

Espécies	Unidade amostral	Meses e ângulos correspondentes											
		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Mai	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
		0º	30º	60º	90º	120º	150º	180º	210º	240º	270º	300º	330º
Abundância (média±D.P.)													
<i>Physalaemus</i> sp.	com luz	0	0	0	0	0	0	0	10±0	3±2,8	0,7±0,6	0,3±0,6	0
	sem luz	0	0	0	0	0	0	0,3±0,6	1±0	2,3±2,3	0,7±0,6	1±0	0,7±0,6
<i>P. minuta</i>	com luz	0	0	0,5±0,7	0	0	0	0	1±0	1±0	2,3±2,3	0,7±0,6	0,3±0,6
	sem luz	0	0,3±0,6	0	0	0	0,7±0,6	1±0	1±0	5,3±4,5	10±0	1±0	1±0
<i>S. squalirostris</i>	com luz	0	0	0,5±0,7	0,5±0,7	5,5±6,4	1±0	1±0	5±0	3±2,8	1±0	0	0,3±0,6
	sem luz	0	0,3±0,6	0,3±0,6	0,3±0,6	3,7±2,3	1±0	3,7±2,3	2,3±2,3	2,3±2,3	1±0	0	0,7±0,6
<i>D. sanborni</i>	com luz	0,3±0,6	0	0,5±0,7	0	0	0	0	0,5±0,7	3±2,8	0,3±0,6	0,7±0,6	0,7±0,6
	sem luz	0,3±0,6	0	0	0	0	0	0	0,3±0,6	1±0	4±5,2	5±0	0,7±0,6
<i>B. pulchella</i>	com luz	0	0,5±0,7	1±0	3±2,8	5,5±6,4	3±2,8	2,5±3,5	3±2,8	0,5±0,7	1±0	0	0
	sem luz	0	0,3±0,6	0,3±0,6	2,3±2,3	8,3±2,9	8,3±2,9	8,3±2,9	5,3±4,5	1±0	1±0	0	0
<i>L. gracilis</i>	com luz	1±0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,7±0,6	1±0
	sem luz	1±0	0	0	0,3±0,6	0	0	0	0	0	0	1±0	1±0
<i>P. falcipes</i>	com luz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3±0,6	0,3±0,6	0,7±0,6
	sem luz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,3±5,8	0	6,7±2,9
<i>L. latrans</i>	com luz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,3±0,6
	sem luz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1±0	0	0
<i>Odontophrynus</i> sp.	com luz	0	0	0	0	0,5±0,7	0	0	0	0	0	0	0
	sem luz	0	0	0	0	2±2,6	0	0,3±0,6	0	0	0	0	0

Tabela S2. Frequências (número de indivíduos no horário/número de registros da espécie no horário) de espécies de anuros das 19h as 07h em banhados com e sem influência de iluminação artificial, no sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

Espécie	Frequência (abundância/ nº de registros)													
	<i>Physalaemus sp.</i>		<i>P. minuta</i>		<i>S. squalirostris</i>		<i>D. sanborni</i>		<i>B. pulchella</i>		<i>L. gracilis</i>		<i>P. falcipes</i>	
Hora	com luz	sem luz	com luz	sem luz	com luz	sem luz	com luz	sem luz	com luz	sem luz	com luz	sem luz	com luz	sem luz
19h	6,5	1	2	1,8	1	1,4	2	1	1	2,6	1	0	1	8
20h	3,2	1,7	1,6	4,4	1,3	1,9	1	3,2	2,1	5,8	1	1	1	8,3
21h	3,2	1	1	4	1,7	2,2	1,7	2,8	2	5,4	1	1	1	8,3
22h	3,6	1	1,5	4,2	1,6	2,1	1,6	3,2	1,7	5,1	1	1	1	3
23h	3,6	1	1,5	3,2	1,6	2,2	1	2	1,4	4,2	1	1	1	3
00h	3,6	1	1,5	2,9	1,3	2,3	1	1,6	1,4	3,5	1	1	1	3,7
01h	2,8	1	1,6	2,9	1,3	1,8	1	1	1	3	1	1	1	3
02h	2,8	1	1,7	2,1	1,4	1,3	1	1	1	1,3	1	1	1	1
03h	3,2	1	1,6	2	1,4	1	1	1	1	1	1	0	1	1
04h	4	1	1	2,1	1,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1
05h	2,3	1	1	2,1	1,6	1	1	1	1	1	0	0	0	1
06h	3	0	1	1,4	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1
07h	1	0	1	1,6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0



Figura S1: Representação das unidades amostrais com iluminação (1), localizadas nos arredores do núcleo urbano da cidade de Rio Grande, e sem iluminação (2), localizadas na Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil. Imagens capturadas em períodos diferentes do ano, na primeira, período seco, e na segunda, alagado.



Figura S2: Equipamento utilizado para geração do pulso de luz de dois minutos nas unidades amostrais com e sem iluminação sendo testado.

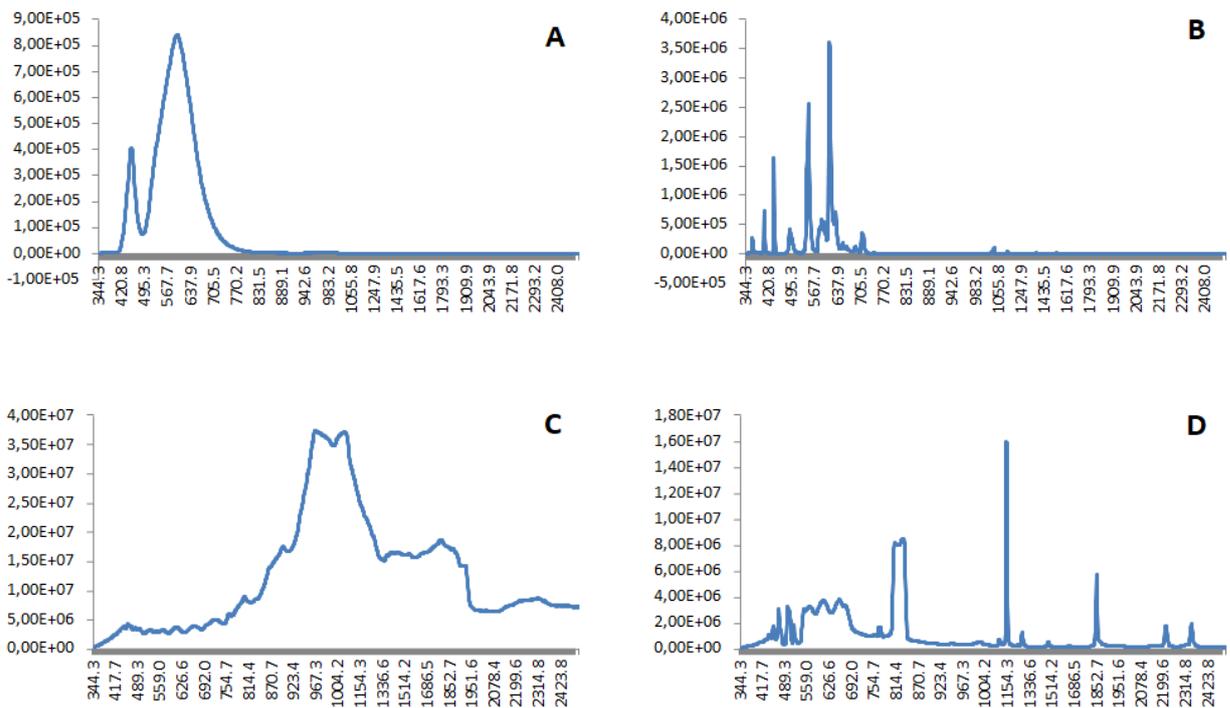


Figura S3: Espectros das lâmpadas analisadas no laboratório de física da Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Rio Grande do Sul. “A”: lâmpada LED; “B”: lâmpada fluorescente; “C”: lâmpada halógena; “D”: lâmpada de vapor de sódio de alta pressão.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Pela primeira vez foram avaliados em campo os efeitos da exposição crônica à iluminação artificial (iluminação pública todas as noites) em aspectos reprodutivos de anuros, o que atende às sugestões de Baker e Richardson (2006) nas conclusões de seu estudo, já que até então tinham sido realizados somente experimentos em ambientes naturais (sem iluminação artificial) onde eram inseridos pulsos de luz (Baker e Richardson 2006; Hall 2016). Além disso, o presente estudo também é o pioneiro em avaliar o efeito de um pulso de luz artificial em indivíduos de banhados expostos e não expostos à iluminação artificial, investigando a existência de aclimação à luz, já que antes este efeito tinha sido avaliado somente em banhados naturais (Baker e Richardson 2006; Hall 2016).

Este estudo concluiu que os anuros adaptam-se à presença de iluminação artificial, e vocalizam mesmo na sua presença. Porém, foi observado que a presença de iluminação artificial em sítios reprodutivos de anuros gera alterações sazonais e temporais (ao longo da noite) na atividade de vocalização de algumas espécies, principalmente devido a alterações nos ciclos naturais de luz e escuro geradas pela luz artificial. Além disso, foi observado que pulsos de luz gerados em banhados sem iluminação levam à inibição da atividade de vocalização dos machos. Essas alterações podem levar à diminuição do sucesso reprodutivo das espécies, por investirem energia para reprodução em um período desfavorável e também por uma diminuição das chances de atração de fêmeas pelos machos.

Além dos efeitos da iluminação artificial em aspectos reprodutivos relatados neste estudo, a iluminação artificial pode afetar de várias outras formas os anuros. Pode alterar a disponibilidade de alimento (para insetívoros), já que a abundância de insetos é afetada pela iluminação artificial (Eisenbeis e Hanel 2009); pode modificar o comportamento das fêmeas de anuros para escolha do macho (Rand et al. 1997); pode alterar o comportamento de

fORAGEAMENTO (Buchanan 1993) e também pode alterar diversas dimensões de nicho, modificando a abundância de alguma espécie de anuro e aumentando a de outra, modificando a disponibilidade de alimento e de espaço. Juntando todas essas informações é possível concluir que a poluição luminosa, que tende a crescer cada vez mais com o aumento da população humana, pode ser um dos fatores que está levando ao declínio os anfíbios.

Para aprimorar os resultados obtidos com este estudo, como perspectivas, seria interessante a quantificação de melatonina de indivíduos de anuros expostos e não expostos à iluminação pública, para confirmar a diminuição dos níveis desse hormônio de anuros em fotoperíodos prolongados. E também a quantificação de girinos em banhados expostos e não expostos, para verificar se a iluminação pública realmente diminui a taxa de indivíduos adicionados nas populações. Além disso, medidas mitigatórias são importantes. Como por exemplo, não iluminar áreas úmidas, se possível. Se for necessária a iluminação, que sejam utilizadas luminárias que direcionem o fluxo de luz, para não haver dissipação de luz no ambiente.

Referências

- Baker, B.J. e Richardson, J.M.L. 2006. The effect of artificial light on male breeding season behaviour in green frogs, *Rana clamitans melanota*. *Canadian Journal of Zoology*. **84**: 1528-1532.
- Buchanan, B.W. 1993. Effects of enhanced lighting of the behaviour of nocturnal frogs. *Animal Behaviour*. **45**: 893-899.
- Eisenbeis, G. e Hanel, A. 2009. Light pollution and the impact of artificial night lighting on insects. *In Ecology of Cities and Towns: A Comparative Approach*. Edited by M. McDonnell, A. Hahs e J. Breuste. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 243-263.
- Hall, A.S. 2016. Acute Artificial Light Diminishes Central Texas Anuran Calling Behavior. *American Midland Naturalist*. **175**: 183-193.
- Rand, A.S., Bridarolli, M.E., Dries, L., e Ryan, M.J. 1997. Light levels influence female choice in Túngara Frogs: predation risk assessment. *Copeia*. **2**: 447-450.

ANEXOS



UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS
Unidade de Administração de Infraestrutura e Serviços
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA

PARECER_FINAL_PPECEUA 06.2016

A Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS analisou o projeto abaixo descrito:

Código de protocolo: PPECEUA06.2016

Versão: 07.2018 (adendo)

Título: “Efeitos da iluminação pública e dos ruídos urbanos no comportamento reprodutivo de anuros”

Coordenador: Prof. Dr. Alexandro Marques Tozetti

Departamento: Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres – LEVERT - UNISINOS

DECISÃO da CEUA: o projeto após avaliação do adendo, das alterações encaminhadas e sugeridas em parecer 09.2016 e diligência, foi APROVADO, por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos – DBCA e com a Resolução UNISINOS 04/2013.

O proponente deverá encaminhar relatório anual sobre o andamento do projeto à CEUA – UNISINOS, comunicar à mesma qualquer alteração na equipe ou na metodologia prevista como também a ocorrência de acidentes com os animais utilizados, com vistas ao preenchimento do relatório anual da CEUA junto ao CONCEA.

São Leopoldo, 19 de julho de 2018.

A handwritten signature in cursive script, reading 'Daiana Castiglioni', positioned above a horizontal line.

Prof. Dra. Daiana Castiglioni
Coordenadora CEUA - UNISINOS

Normas resumidas da revista *Canadian Journal of Zoology*

O restante das normas está disponível no link:

<http://www.nrcresearchpress.com/page/cjz/authors>

Scope of the Journal and guidelines for papers

The *Canadian Journal of Zoology* publishes, in English or French, articles, notes, reviews, and comments in the general fields of behaviour, biochemistry and physiology, developmental biology, ecology, genetics, morphology and ultrastructure, parasitology and pathology, and systematics and evolution. Manuscripts must contain significant new findings of fundamental and general zoological interest and may not be considered if they do not meet these criteria. Surveys and descriptions of new species are published only where there is sufficient new biological information or taxonomic revision also involved to render the paper of general zoological interest. Low priority is given to confirmatory studies, work that is primarily descriptive in nature, investigations primarily of local or regional interest, techniques unless of broad application, and species range extensions. **Manuscripts should include a clear statement of purpose, providing the academic rationale for the work and (or) the hypothesis to be tested by the work. A manuscript may be rejected if this is lacking.**

Parts of the manuscript

Format and organization

The manuscript should be **double spaced**, on paper 21.5 cm × 28 cm (8.5 in. × 11 in. or ISO A4) **with continuous numbered lines**. Lines in the manuscript must be numbered, continuously, beginning with the title. Each page should be numbered, beginning with the title page. For material that is to be set in italics, use an italic font; do not underline. Use capital letters only when the letters or words should appear in capitals.

All articles must contain a title page (p. 1) and an abstract (p. 2), followed by Introduction (p. 3), Materials and methods, Results, Discussion, and Acknowledgements sections, plus references, tables, figure captions, and appendices. (See descriptions of each part of the manuscript, below.) Tables and captions for illustrations should be on separate pages. Supplementary material should be clearly denoted and uploaded as part of the electronic submission process. Note that Notes, Reviews, and Comments do not necessarily have Introductions, Material and methods, Results, and Discussions.

Presenting a manuscript to maximize its online discoverability

Authors can structure their manuscript to maximize its online discoverability by following a few simple guidelines. In particular, the wording of the title and abstract is especially important, because these are freely available to all readers and are used by a wide variety of systems to find and retrieve content, such as search engines, indexers, and digital catalogs. Consider the following suggestions:

— Include keywords in your abstract that are reflective of the paper. These should be included right in the text of the abstract, and can be repeated if it makes sense to do so. When choosing keywords, consider what words you yourself would enter into a search box if you were to search for your work online.

— Where possible and practical in the abstract, include synonyms for your keywords which laypersons would understand.

— Use your keywords in the body of the paper where appropriate.

— Ensure that abstracts are complete, such that they include a clear definition of the problem, methods, and results.

Title

Both titles and abstracts provide information for contemporary **alerting and information retrieval services**, and should therefore be informative but brief. Titles are also the **most heavily weighted element of a paper for online search engines** and should therefore contain important descriptive phrases that relate to the topic, stating information such as the experimental organism, specific behaviour, modifying agent, and key result. Titles should be brief and clear. Common names and correct taxonomic names should both be included in the title, as in the example “The cuticle of tephritid fruit flies (*Urophora* spp.)”. Do not include authorities in taxonomic names.

Title page

The title page should contain the following. (i) The full title of the paper. (ii) Authors’ names (with initials only) listed in the order in which they are to appear at the head of the printed article. (iii) Affiliation and address (including e-mail address) for each author. This should reflect the affiliation and address at the time of the study. Indicate current affiliations and addresses (including e-mail addresses) that differ from those in the by-line in a footnote. (iv) Name, address, telephone number, fax number, and e-mail address of the author responsible for correspondence.

Abstract

An abstract is required for every contribution. Its content is particularly important for alerting services, search engines, and for readers, who scan the abstract to decide whether to download and read the rest of the paper. The abstract should be well written and contain three to four descriptive keyword phrases that will draw the reader to the content. Because search engines look for duplication of terms, repeating keyword phrases in the title and abstract increases the chance that a paper will be found during an online search; care should be taken, however, because excessive repetition of a term can cause a search engine to reject a Web page.

The abstract should state the academic rationale (purpose) of the work, the design and methods used in the study, key results and trends, and lastly implications and conclusions of your work. It should **not be more than 200 words** and appear on a separate page. **All authors’ names and initials, as well as the complete title of the paper**, must be included at the top of the page (a copy of this page is sent separately to the translator). Abstracts

submitted in one language will be translated into the other official language by the Journal translator. References should not be cited in the abstract unless they are absolutely essential, in which case full bibliographic information must be provided.

Graphical Abstracts

Authors are encouraged to submit a graphical abstract with their manuscripts. The purpose of a graphical abstract is to visually describe a concept or finding from the paper to entice readers and encourage understanding of the main message of the paper. The graphical abstract may consist of an illustration, diagram, equation, or other informative visual that serves to explain the subject of the article. Graphical abstracts appear online only.

Authors should note that the maximum allowable size of the final reproduction is 40 mm (150 pixels) high by 85 mm (320 pixels) wide. The graphical abstract must be submitted electronically during the manuscript submission process.

Key words

Authors must provide a minimum of five key words below the Abstract, two of which must be the scientific name of the study species and the common name of the study species.

Introduction

Limit the Introduction largely to the scope and rationale of the study. Restrict the literature review and other background information to that needed in defining the problem or setting the work in perspective. The Introduction should finish with a clear statement of purpose for the work.

Materials and methods

The **degree of reproducibility of experiments** should be indicated either in general statements in Materials and methods and Results or, preferably, as statistical treatments of numerical data cited in tabular or graphic form.

The **experimental or computational** material must be sufficiently detailed to permit reproduction of the work, but must be concise and avoid lengthy descriptions of known procedures; the latter should be specified by appropriate references. **A reader's attention should be drawn to any new or unusual hazards encountered in the experimental work.**

Sources of biological materials, experimental methods, geographical locations, and statistical methods should be described. Precise locations of rare and endangered organisms should not be divulged. Sources of commercially available laboratory or field equipment and fine chemicals should be indicated in parentheses; list the company name, city, and country.

Results

The Results section should contain only enough explanation and interpretation to allow the reader to understand why experiments or observations were carried out and what they mean. State noteworthy findings to be noted in each table and figure, and avoid restating in the text what is clear from the captions. Authors should ensure that the number of significant digits used to describe their data does not exceed the accuracy with which the measurement can be made. For numbers from -1 to 0 and from 0 to +1, the decimal must be preceded by a zero in text, tables, and figures. Material supplementary to the text can be archived in the report

literature or a recognized data depository and referenced in the text (see Supplementary material section).

Discussion

The Discussion section should not rehash results and **contain no new findings that have not already been mentioned under Results**. Conclusions should be put under Discussion, not as a separate section.

Acknowledgements

Acknowledgements should be written in the third person and kept to a concise recognition of relevant contributions.

Footnotes

Footnotes to material in the text should not be used unless they are unavoidable, but their use is encouraged in tables. Where used in the text, footnotes should be cited in the manuscript by superscript Arabic numbers (except in the tables, see below) and should be numbered serially beginning with any that appear on the title page. Each footnote should be typed on the manuscript page upon which the reference is made; **footnotes should not be included in the list of references**.

Equations and list of symbols

Equations should be clearly typed; triple-spacing should be used if superscripts and (or) subscripts are involved. Superscripts and subscripts should be legible and carefully placed. Distinguish between lowercase l and the numeral one, and between capital O and the numeral zero. A letter or symbol should represent only one entity and be used consistently throughout the paper. Each variable must be defined in the text or in a **List of symbols** to appear after the reference list. Variables representing vectors, matrices, vector matrices, and tensors must be clearly identified. Numbers identifying equations must be in parentheses and placed flush with the **left margin**. In numbering, no distinction is made between mathematical and chemical equations.

References

The author is responsible for verifying each reference against the original article. Each reference must be cited in the text using the surnames of the authors and the year, for example, (Walpole 1985) or Green and Brown (1990). Depending on the sentence construction, the names may or may not be in parentheses, but the year always is. If there are three or more authors, the citation should give the name of the first author followed by et al. (e.g., Green et al. 1991). If references occur that are not uniquely identified by the authors' names and year, use *a*, *b*, *c*, etc., after the year (e.g., Green 1983*a*, 1983*b*; Green and Brown 1988*a*, 1988*b*) for the text citation and in the reference list.

Uniform reference locators (**URLs**) or digital object identifiers (**DOIs**) are useful in locating references on the Web, and authors are encouraged to include these; they should be added to the reference in the reference list (see example below).

Unpublished reports, private communications, and in-press references

References to unpublished reports, private communications, and papers submitted but not yet accepted are not included in the reference list but instead must be included as footnotes or in parentheses in the text, giving all authors' names with initials; for a private communication, year of communication should also be given (e.g., J.S. Jones (personal communication, 1999)). If an unpublished book or article has been **accepted for publication**, include it in the reference list followed by the notation "In press". Do not include volume or page number in an in-press reference, as these are subject to change before publication. Authors must confirm in their covering letter that papers cited as "In press" have been accepted for publication.

Presentation of the list

The **reference list** must be double-spaced and placed at the end of the text. References must be listed in alphabetical order according to the name of the first author and not numbered. References with the same first author are listed in the following order. (i) Papers with **one author only** are listed first in chronological order, beginning with the earliest paper. (ii) Papers with **dual authorship** follow and are listed in alphabetical order by the last name of the second author. (iii) Papers with **three or more authors** appear after the dual-authored papers and are arranged chronologically. For example,

Wilson 2000

Wilson and Andrews 1999

Wilson and James 1987

Wilson, James, and Andrews 1986

Wilson, Andrews, and James 1988

General guidelines on references

References should follow the form used in current issues of the Journal. The names of serials are abbreviated in the form given in Chemical Abstracts Service Source Index (CASSI) (Chemical Abstracts Service, 2540 Olentangy River Road, P.O. Box 3012, Columbus, OH 43210-0012, USA). In doubtful cases, authors should write the name of the serial in full. The Journal encourages the inclusion of issue numbers which should be placed in parentheses after the volume number. References to **nonrefereed documents** (e.g., environmental impact statements, contract reports) must include the address where they can be obtained. The following bibliographic citations illustrate the punctuation, style, and abbreviations for references.

Examples of types of references, including electronic references

Journal article with DOI:

Sterling, J.T., and Ream, R.R. 2004. At-sea behavior of juvenile male northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). *Can. J. Zool.* **82**(10): 1621–1637. doi:10.1139/Z04-136.

Journal article with URL:

Sterling, J.T., and Ream, R.R. 2004. At-sea behavior of juvenile male northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). *Can. J. Zool.* **82**(10): 1621–1637. Available

from <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139%2Fz04-136> [accessed 28 October 2005].

Journal article available online only (with DOI):

van der Sanden, J.J., and Hoekman, D.H. 2005. Review of relationships between grey-tone co-occurrence, semivariance, and autocorrelation based image texture analysis approaches [online]. *Can. J. Remote Sens.* **31**(3): 207–213. doi:10.1139/rs03-011.

Entire issue of journal:

Gordon, D.C., Jr., and Hourston, A.S. (*Editors*). 1983. Proceedings of the Symposium on the Dynamics of Turbid Coastal Environments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **40**(Suppl. 1).

Report:

Sanders, W.W., Jr., and Elleby, H.A. 1970. Distribution of wheel loads in highway bridges. National Cooperative Highway Research Program Rep. No. 83, Transportation Research Board, National Research Council, Washington, D.C.

Book:

Williams, R.A. 1987. Communication systems analysis and design. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.

Book in a series:

Scott, W.B., and Crossman, E.J. 1973. Freshwater fishes of Canada. *Bull. Fish. Res. Board Can.* No. 184.

Part of book:

Healey, M.C. 1980. The ecology of juvenile salmon in Georgia Strait, British Columbia. *In* Salmonid ecosystems of the North Pacific. *Edited by* W.J. McNeil and D.C. Himsworth. Oregon State University Press, Corvallis. pp. 203–229.

Paper in conference proceedings:

Kemp, A.L.W. 1969. Organic matter in the sediments of Lakes Ontario and Erie. *In* Proceedings of the 12th Conference on Great Lakes Research, Ann Arbor, Mich., 5–7 May 1969. International Association for Great Lakes Research, Ann Arbor, Mich. pp. 237–249.

Institutional publications and pamphlets:

Dzikowski, P.A., Kirby, G., Read, G., and Richards, W.G. 1984. The climate for agriculture in Atlantic Canada. Available from the Atlantic Advisory Committee on Agrometeorology, Halifax, N.S. Publ. ACA 84-2-500. Agdex No. 070.

Corporate author:

American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation. 1975. Standard methods for the examination of water and

wastewater. 14th ed. American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation, Washington, D.C.

Thesis:

Keller, C.P. 1987. The role of polysaccharidases in acid wall loosening of epidermal tissue from young *Phaseolus vulgaris* L. hypocotyls. M.Sc. thesis, Department of Botany, The University of British Columbia, Vancouver, B.C.

Web site citation:

Quinion, M.B. 1998. Citing online sources: advice on online citation formats. Available from <http://worldwidewords.org/articles/citation.htm> [accessed 20 October 2005].

Translation:

Koike, A., and Ogura, B. 1977. Selectivity of meshes and entrances of shrimp traps and crab traps. J. Tokyo Univ. Fish. **64**: 1–11. [Translated from Japanese by Can. Transl. Fish. Aquat. Sci. 4950, 1983.]

Tables

Tables must be typed on separate pages, placed after the list of references, and numbered with Arabic numerals in the order cited in the text. The title of the table should be a concise description of the content, no longer than one sentence, that allows the table to be understood without detailed reference to the text, and should include the common name and binomen of the focal organism. Column headings should be brief, but may be amplified by footnotes. Vertical rules should not be used. A copy of the Journal should be consulted to see how tables are set up and where the lines in them are placed. Footnotes in tables should be designated by symbols (in the order *, †, ‡, §, ||, ¶, #) or superscript lowercase italic letters. Descriptive material not designated by a footnote may be placed under a table as a **Note**. Numerous small tables should be avoided, and the number of tables should be kept to a minimum.

Figure captions

Figure captions should be listed on a **separate page** and placed after the tables. The caption should informatively describe the content of the figure, without need for detailed reference to the text, and should include the common name and binomen of the focal organism. Experimental conditions should not be included, but should be adequately covered in the Methods. For graphs, captions should not repeat axis labels, but should describe what the data show. A single caption can be provided for multipart (composite) figures, with necessary details on the separate parts, identified by their individual labels. If the separate parts require enough information to warrant separate captions, then the composite should be separated into individual figures.

Appendices

An appendix should be able to stand alone, as a separate, self-contained document. Figures and tables used in an appendix should be numbered sequentially but separately from those used in the main body of the paper, for example, Fig. A1, Table A1, etc. If references are cited in an appendix, they must be listed in an appendix reference list, separate from the reference list for the article. If there is more than one appendix, label as follows: Appendix A, Appendix B, etc.

Supplementary material

Supplementary material (or data) consists of extra tables, figures (maps), detailed calculations, and data sets produced by the authors as part of their research, but not essential for understanding or evaluating the paper, and not published with the article in the print edition of the journal. This material is never edited, converted, or scanned, and therefore will appear exactly as submitted. This is to prevent any errors from being inadvertently introduced during file manipulation or printing. Tables and figures should be numbered in sequence separate from those published with the paper (e.g., Fig. S1, Table S1), and all supplementary material should be referred to in the manuscript by footnotes.

Supplementary material must be submitted with the article, in electronic format. During Web submission (ScholarOne), relevant files should be attached under “Supplementary data”. The electronic copy will be made available in its native file format on the Journal Web site at no cost to readers.