UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

“Plasticidade fenotípica em representantes de dois gêneros de Anura: efeitos da temperatura durante o desenvolvimento larval”.

Renan Lopes Rodrigues

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências, obtido no Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada

Ribeirão Preto - SP

(2019)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

“Plasticidade fenotípica em representantes de dois gêneros de Anura: efeitos da temperatura durante o desenvolvimento larval”.

Renan Lopes Rodrigues

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências, obtido no Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada

Orientadora: Tiana Kohlsdorf

Ribeirão Preto - SP

(2019)

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Rodrigues, Renan Lopes

Plasticidade fenotípica em representantes de dois gêneros de Anura: efeitos da temperatura durante o desenvolvimento larval.

Ribeirão Preto, 2019.

76 p.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada.

Orientador: Kohlsdorf, Tiana.

1. Anura 2. Desenvolvimento larval. 3. Morfometria. 4. Ontogenia. 5. Sensibilidade térmica.

Dedico este trabalho em memória a todos os LGBTs que perderam suas vidas por conta de preconceito e discriminação.

Agracedimentos

Agradeço a minha orientadora, Prof. Dr. Tiana Kohlsdorf, pelo constante incentivo, dedicação e paciência ao longo de toda minha formação acadêmica. Sou grato pelos ensinamentos e pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional. Muito obrigado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo financiamento à minha pesquisa (Processo n. 2017/04777-0) e também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior.

Ao programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada e aos docentes do Departamento de Biologia, em especial ao Prof. Dr. Eduardo Andrade Botelho de Almeida e ao Prof. Dr. Fernando Luis Medina Mantelatto, pela disponibilização de espaço e equipamento para obtenção das fotografias dos girinos.

Aos colegas do Laboratório de Evolução e Biologia Integrativa (LEBI), pelos ensinamentos, apoio, amizade e contribuição para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos e familiares que me apoiaram durante os períodos de alegria e os períodos de dificuldade. Agradeço em especial aos eternos companheiros biólogos, Mara Elisama Januário, Yunan da Costa Januário e Igor Alves de Souza, a melhor companheira enfermeira Stephanie Ramos, e ao meu eterno companheiro Leonardo Schick.

Aos meus pais, irmãos e avós, pelo apoio e amor incondicional. Agradeço em especial a minha mãe, minha eterna fonte de inspiração.

Resumo

Parâmetros ambientais podem influenciar o estabelecimento de variáveis fenotípicas durante o desenvolvimento de um organismo. Em particular, a literatura vigente relata associações entre a temperatura do ambiente de desenvolvimento e a formação de diversas estruturas em vertebrados que apresentam uma fase larval aquática, como anuros. A sensibilidade térmica e os efeitos resultantes de variações na temperatura ambiental diferem entre espécies de Anura, e fatores ecológicos e filogenéticos podem explicar como o desenvolvimento larval é influenciado pelos regimes térmicos em girinos de determinadas espécies. O presente trabalho avaliou respostas morfológicas no desenvolvimento em diferentes regimes térmicos em 3 espécies de *Rhinella* (*Rhinella schneideri*, *Rhinella icterica* e *Rhinella ornata*) e 1 espécie de *Leptodactylus* (*Leptodactylus labyrinthicus*). Os girinos foram expostos a 5 ambientes térmicos de desenvolvimento diferentes, com o objetivo de avaliar a sensibilidade dos processos de desenvolvimento a temperatura nas espécies estudadas, inferindo acerca de possíveis relações com aspectos ecológicos e filogenéticos. Os resultados sugerem que espécies expostas a uma maior variação térmica sazonal em seu habitat natural (espécies exclusivas da mata atlântica - *Rhinella icterica* e *Rhinella ornata*) possuem maior sensibilidade, em relação ao desenvolvimento, crescimento e plasticidade morfológica, a variações térmicas no ambiente de desenvolvimento, enquanto espécies com ampla distribuição e que ocupam diferentes biomas (caatinga, cerrado e mata atlântica - *Rhinella schneideri* e *Leptodactylus labyrinthicus*) exibem respostas plásticas apenas nos regimes térmicos envolvendo diminuição gradual da temperatura. Este trabalho contribui para discussões acerca da sensibilidade dos processos de desenvolvimento a temperatura em espécies de *Rhinella* e *Leptodactylus*, disponibilizando informações que podem indicar a vulnerabilidade das espécies estudadas às mudanças climáticas relacionadas com o aquecimento global.

Palavras chave: Anura, desenvolvimento larval, morfometria, ontogenia, sensibilidade térmica

Abstract

Environmental parameters may influence the establishment of phenotypic traits during the development of a given organism. More specifically, current literature provides evidence for associations between the thermal environment and the development of several traits in vertebrate animals exhibiting aquatic larval stages, such as anurans. The thermal sensitivity and associated effects elicited by variations in the environmental temperature differ among species of anurans, and ecological and phylogenetic factors may explain how larval development is affected by the thermal regimes in tadpoles of a given species. The present study evaluated morphological developmental responses to the thermal environment in 3 *Rhinella* species (*Rhinella schneideri*, *Rhinella icterica* and *Rhinella ornata*) and 1 species of *Leptodactylus* (*Leptodactylus labyrinthicus*). We raised tadpoles in 5 different developmental environments in order to evaluate the sensitivity of developmental processes to temperature in the studied species, inferring likely associations with phylogenetic and ecological aspects. Results suggest that species from thermal environments of greater sazonal thermal variation (species exclusive to the atlantic forest - *Rhinella icterica* and *Rhinella ornata*) are more sensitive, in relation to development, growth and morphological plasticity, to temperature variation in the developmental environments, whereas species having a wide distribution, which occupy several biomes (caatinga, cerrado and atlantic forest - *Rhinella schneideri* and *Leptodactylus labyrinthicus*), only exhibit plastic morphological responses when raised in developmental environments comprising temperature decreases. This study contributes for discussions regarding the sensitivity of developmental processes to temperature in species of *Rhinella* and *Leptodactylus*, and provides information that may access the vulnerability of the studied species to climatic changes derived from global warming.

Keywords: Anura, larval development, morphometry, ontogeny, thermal sensitivity

Sumário

1. Introdução.....	8
2. Objetivos.....	10
2.1. Objetivo geral.....	10
2.2. Objetivos específicos.....	10
3. Material e métodos.....	11
3.1. Manutenção dos girinos em laboratório antes do desenvolvimento em diferentes regimes térmicos.....	12
3.2. Manutenção dos girinos durante o desenvolvimento em diferentes regimes térmicos.....	13
3.3. Desenvolvimento em diferentes regimes térmicos.....	14
3.4. Registros de mortalidade e diferenciação e preservação de espécimes.....	18
3.5. Morfologia.....	18
3.6. Análise de dados.....	19
3.6.1. Análise de componentes principais (PCA).....	20
3.6.2. Efeito dos regimes térmicos de desenvolvimento.....	20
3.6.3. Análise discriminante canônica.....	21
4. Resultados.....	22
4.1. Curvas de crescimento.....	22
4.2. Diferenciação.....	25
4.3. Taxa de mortalidade.....	28
4.4. Análises de componentes principais (PCA).....	28
4.5. Efeito dos regimes térmicos de desenvolvimento.....	32
4.6. Análise discriminante canônica.....	34
5. Discussão.....	41
6. Referências Bibliográficas.....	46
7. Apêndice I.....	51
8. Apêndice II.....	64

1. Introdução

Plasticidade fenotípica consiste na capacidade de determinado genótipo expressar diferentes fenótipos quando exposto a sinais ambientais distintos durante o desenvolvimento (West-Eberhard, 2005; West-Eberhard, 1989; Ghalambor et al., 2007; Forsman, 2014). O ambiente de desenvolvimento de um organismo é constituído por componentes bióticos e abióticos (Beaman et al., 2016), e variações em determinados sinais ambientais podem afetar variáveis fenotípicas relacionadas com a morfologia, a fisiologia e o comportamento, influenciando consequentemente o desempenho, as chances de sobrevivência e o sucesso reprodutivo do organismo (Gomez-Mestre et al., 2010; Blaustein et al., 1999; Denver, 2009, Beaman et al., 2016). Por exemplo, existem evidências de associações entre ambiente e morfologia em organismos que possuem uma fase larval aquática, como anuros (e.g. Blaustein et al., 1999, Gomez-mestre & Buchholz, 2006; Johnson et al., 2011; Morey & Reznick, 2000; Hayes, 1993), e nesses organismos o ambiente de desenvolvimento também influencia parâmetros fisiológicos, como hormônios (Boorse & Denver, 2004; Brown & Cai, 2007; Hayes, 1993).

A temperatura é um componente ambiental particularmente influente no desenvolvimento larval dos anuros (Vitt & Caldwell, 2014), com efeitos descritos em diferentes níveis de organização biológica. Por exemplo, o regime térmico durante o desenvolvimento de girinos pode influenciar processos celulares e moleculares, além da concentração de determinados hormônios relacionados a metamorfose, afetando as taxas de diferenciação e crescimento dos girinos (Blaustein et al., 1999; Vences et al., 2002; Denver, 2009). A temperatura também representa um fator determinante na distribuição e diversidade dos anuros (Blaustein et al., 1999; Vasconcelos et al., 2011; Cassemiro et al., 2012; Vitt & Caldwell, 2014), pois está relacionada com a regulação das atividades reprodutivas (e.g., Aichinger, 1987; Duellman & Trueb, 1994; Vasconcelos & Rossa-Feres, 2005), e sobrevivência dos organismos devido a restrições fisiológicas e tolerância térmica (Brow et al., 1996; Vitt & Caldwell, 2014). Seus efeitos podem variar temporalmente, afetando de forma distinta os estágios ontogenéticos, e diferir na magnitude e direção do efeito desencadeado, influenciando diferencialmente as estruturas em formação no organismo (Denver, 2013; Boorse & Denver, 2004; Brown & Cai, 2007; Laudet, 2011). Diversos estudos recentes abordaram os efeitos da temperatura sobre o desenvolvimento larval em Anura (Rose, 2005; Watkins & Vraspir,

2006; Arendt, 2010; Andrews et al., 2000; Gomez-Mestre et al., 2010), mas permanece obscuro se diferentes espécies, expostas a regimes térmicos específicos em seu habitat, diferem quanto à sensibilidade térmica de processos do desenvolvimento larval. Tal conhecimento é particularmente relevante no atual cenário de aceleração das mudanças climáticas em associação com o aquecimento global, e poderia contribuir especialmente para inferir a vulnerabilidade das espécies e seu risco de extinção.

Alguns fatores podem ser considerados restritivos, ou limitantes, ao estabelecimento canônico de determinados processos de desenvolvimento (Atkin et al., 2006; Godoy et al., 2011; Gomez-Mestre & Buchholz, 2006; Duarte et al., 2012; Saito et al., 2016; Simon et al., 2015; Deutsch et al., 2008; Beattie, 1987), como a temperatura experimentada em campo pelos indivíduos em formação e crescimento. Espécies que ocupam ambientes com regimes térmicos mais quentes podem estar mais próximas ao seu limiar térmico, e seria esperado que sua tolerância térmica seja menor do que a observada em espécies que se desenvolvem em regimes térmicos com temperaturas mais amenas (Duarte et al., 2012; Simon et al., 2015; Deutsch et al., 2008; Beattie, 1987). Consequentemente, espécies distribuídas em nichos que diferem quanto ao regime térmico podem exibir adaptações específicas associadas ao ambiente em questão (Saito et al., 2016; Beattie, 1987), as quais poderiam ser identificadas inclusive em janelas ontogenéticas específicas, como durante o desenvolvimento larval em girinos. O padrão de resposta plástica expressa diante de determinados sinais presentes no ambiente de desenvolvimento pode ser influenciado por um legado histórico, relacionado à trajetória evolutiva com ancestralidade compartilhada que eventualmente incrementa o sinal filogenético e restringe determinadas possibilidades nos processos de desenvolvimento (Atkin et al. 2006; Godoy et al., 2011; Gomez-Mestre & Buchholz, 2006). Embora estudos tenham avaliado a sensibilidade térmica nos processos de desenvolvimento (e.g. Saito et al., 2016; Beattie, 1987; Gomez-mestre & Buchholz, 2006; Hayes, 1993; Houde, 1989; Niehaus et al. 2016) e gerado informações acerca dos padrões de respostas de plasticidade fenotípica em contextos filogenéticos (Atkin et al., 2006; Godoy et al., 2011; Gomez-Mestre & Buchholz, 2006), a literatura ainda carece de informações acerca do tipo de resposta plástica estabelecida durante o desenvolvimento em diferentes regimes térmicos em espécies neotropicais de anuros.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

O presente trabalho objetivou comparar a sensibilidade dos processos de desenvolvimento a temperatura entre girinos de três espécies de *Rhinella* (*R. icterica* e *Rhinella ornata*, presentes exclusivamente na mata atlântica, e *Rhinella schneideri*, com ampla distribuição no cerrado, caatinga e mata atlântica; ver IUCN, 2008; Stevaux, 2002) e também girinos de uma espécie filogeneticamente mais distante, *Leptodactylus labyrinthicus*, também distribuída no cerrado, caatinga e mata atlântica (IUCN, 2008). A hipótese geral testada previa que o desenvolvimento de girinos das espécies *R. schneideri* e *L. labyrinthicus* seria mais sensível a diferenças na temperatura de desenvolvimento, estabelecendo respostas plásticas marcantes na morfologia dos girinos devido à maior área de distribuição dessas espécies, por estarem expostas a uma maior heterogeneidade térmica espacial.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar os efeitos dos ambientes de desenvolvimento nas taxas de diferenciação e crescimento das quatro espécies estudadas;
- Analisar a plasticidade morfológica aos ambientes de desenvolvimento das quatro espécies;
- Identificar possíveis fatores filogenéticos e ecológicos que poderiam explicar diferenças no tipo de resposta plástica entre as espécies estudadas;

5. Discussão

Nesse trabalho, girinos das espécies *Rhinella icterica*, *Rhinella ornata*, *Rhinella schneideri* e *Leptodactylus labyrinthicus* foram expostos a 5 ambientes de desenvolvimento com regimes térmicos distintos, com o objetivo de verificar o efeito da temperatura sobre o desenvolvimento larval nessas espécies. Amostras coletadas ao longo do período em que os girinos foram mantidos em diferentes regimes térmicos foram comparadas para inferir as taxas de diferenciação e crescimento corpóreo e identificar respostas plásticas na morfologia. Tal abordagem permitiu identificar diferenças na sensibilidade do desenvolvimento larval à temperatura em espécies de anuros de duas famílias com distribuição neotropical, as quais podem refletir relações com parâmetros ecológicos, mas também sinalizar a possível influência de dependência hierárquica decorrente de ancestralidade comum.

Nas espécies estudadas, as taxas de crescimento e diferenciação são associadas à temperatura do ambiente de desenvolvimento dos girinos. Temperaturas mais elevadas resultam em maiores taxas de diferenciação em detrimento do crescimento, enquanto em temperaturas amenas o crescimento é favorecido em relação à diferenciação. O modelo de Smith-Gill e Berven (1983) foi um dos primeiros a destacar a relação da temperatura com o crescimento e a diferenciação, utilizando três espécies de *Rana*. Esse modelo sugere que a sensibilidade térmica de crescimento é menor que a sensibilidade de diferenciação, e que em temperaturas mais altas a diferenciação é mais acelerada que o crescimento. Além das espécies de *Rana*, este modelo foi corroborado por outras espécies de anuros, como *Limnodynastes peronii* (Niehaus et al., 2006). No presente estudo, as espécies *Rhinella icterica* e *Rhinella ornata* apresentaram uma clara associação da temperatura com o crescimento corpóreo e a taxa de diferenciação. No entanto, o padrão de crescimento foi oposto ao descrito para *Rana*, e girinos que se desenvolveram em temperaturas mais elevadas apresentaram maior tamanho corpóreo e maior taxas de diferenciação. Em contraste, girinos de *Rhinella schneideri* e *Leptodactylus labyrinthicus* apresentaram taxas de crescimento inferiores nessas condições, e não foi possível identificar um padrão conspícuo de efeito da temperatura sobre o crescimento corpóreo. Nessas duas espécies, a diferenciação também foi baixa, sugerindo menor sensibilidade dessas espécies aos regimes térmicos estabelecidos.

É possível que a aceleração do desenvolvimento para *Rhinella icterica* e *Rhinella ornata* seja um reflexo do estresse térmico. De acordo com Ghalambor et al. (2007), um ambiente estressante é aquele nunca antes experimentado pela população, impondo um desafio à manutenção da homeostase. Sob uma perspectiva fisiológica, o estresse seria identificado quando fatores ambientais excedem o limiar de tolerância para a espécie, resultando na produção de hormônios que aceleram o desenvolvimento (Brown & Cai, 2007). Se utilizarmos estas definições, podemos sugerir que os regimes mais quentes sejam estressantes para os girinos de *Rhinella icterica* e *Rhinella ornata*, pois induziram a aceleração do desenvolvimento e representam valores acima da média mensal de temperatura experimentada pelas espécies para o local de coleta. A aceleração do desenvolvimento e redução das taxas de crescimento pode ser explicada por diversos fatores, incluindo a fisiologia, pois o metabolismo basal dos ectotermos em temperaturas mais altas é maior, e menos energia é canalizada para o crescimento (Hochachka e Somero, 2002), e a sobrevivência, relacionada com um maior risco de secagem de habitats efêmeros em temperaturas mais elevadas (Niehaus et al., 2006). Estes dois fatores, entretanto, não explicam efetivamente os resultados obtidos em *R. icterica* e *R. ornata*: embora adultos destas espécies ocasionalmente se reproduzam em poças efêmeras, este não é o preferencial para ambas as espécies (Vasconcelos et al., 2011, Prado et al., 2009). Adicionalmente, *R. icterica* e *R. ornata* aceleraram o desenvolvimento e cresceram principalmente quando são expostas a ambientes de desenvolvimento mais quentes, contrariando a explicação fisiológica de alocação de recursos (Hochachka e Somero, 2002).

A lei biológica que correlaciona a temperatura com o tamanho dos organismos ectotermos (Atkinson et al., 1994) sugere que o desenvolvimento animal em temperaturas mais elevadas resultaria em indivíduos com tamanho corpóreo menor. Segundo Atkinson (1995), os padrões em 90,2% dos ectotermos aquáticos parecem obedecem a esta predição, e apenas 9,8% possuem padrão oposto. Segundo o autor, existiriam quatro condições possíveis que explicariam as exceções à lei: (1) ambientes nos quais o aumento da temperatura não causa redução do oxigênio; (2) ambientes pouco propensos à dissecação; (3) espécies em que um maior tamanho corpóreo representaria menores chances de predação; (4) espécies que utilizam sinais sazonais como desencadeadores da maturação. Todos estes mecanismos poderiam explicar o padrão encontrado em *R. icterica* e *R. ornata*, embora ainda não expliquem porque *R.*

schneideri e *L. labyrinthicus* não exibem o mesmo padrão. É possível que diferenças na temperatura ótima da taxa de crescimento ao longo da ontogenia entre as espécies possam explicar esse resultado. Estudos realizados com o isópode *Idotea baltica* (Strong & Daborn, 1980) demonstraram que indivíduos que se desenvolveram em maior temperatura exibem inicialmente altas taxas de crescimento, com subsequente diminuição do crescimento, enquanto o oposto ocorre nos indivíduos que se desenvolveram em temperaturas mais amenas. Tendências similares também foram observadas em outras espécies de ectotermos aquáticos (e.g. Angilletta & Dunham, 2003), sugerindo que as predições apresentadas podem ser gerais.

Analisando os efeitos do ambiente de desenvolvimento sobre a plasticidade morfológica das espécies de anuros estudadas, notamos que a sensibilidade térmica corrobora a predição de que a plasticidade poderia ser guiada por uma heterogeneidade ambiental (e.g. Levins, 1962). A plasticidade morfológica pode ser explicada pela exposição à maior variação de temperatura, caracterizada pelo bioma ou por ampla distribuição geográfica da espécie. As espécies que ocupam ambientes de caatinga e cerrado (*Rhinella schneideri* e *Leptodactylus labyrinthicus*) estão teoricamente expostas a ambientes extremos com temperaturas sazonais altas e constantes, enquanto espécies exclusivas de mata atlântica (*Rhinella icterica* e *Rhinella ornata*) seriam expostas a uma variação mais sazonal na temperatura ambiental (Titon e Gomes, 2017). De acordo com nossos resultados, o desenvolvimento morfológico em espécies exclusivas da mata atlântica parece mais sensível ao regime térmico de desenvolvimento.

A temperatura crítica máxima (CTMax) de espécies que habitam ambientes de caatinga e cerrado está mais próxima da temperatura ambiente do que espécies que residem exclusivamente na mata atlântica (Simon et al. 2015), e CTMax de anuros generalistas é maior e mais variável do que espécies restritas a florestas (Nowakowski et al., 2017). Com base nessas informações, é possível sugerir que *Rhinella schneideri* e *Leptodactylus labyrinthicus* sejam mais vulneráveis ao aumento da temperatura global do que *Rhinella icterica* e *Rhinella ornata*, devido à menor diferença entre CTMax e temperatura máxima do ambiente nessas espécies (Simon et al., 2015). Embora os valores de CTMax e Tmax de espécies da caatinga e cerrado sejam mais próximos, essas espécies possuem pouca sensibilidade ao aquecimento ou aumento abrupto da temperatura. No contexto de mudanças climáticas, o panorama brasileiro sugere um aumento da temperatura média de 1 a 6 graus neste século (Nobre et al., 2007),

indicando maior vulnerabilidade dessas espécies devido à sua incapacidade de responder ao aumento da temperatura, ao menos nos estágios mais iniciais do desenvolvimento larval. Embora as espécies da caatinga e cerrado sejam particularmente vulneráveis ao aquecimento, é importante ressaltar que todas as espécies tropicais exibem valores de WT (tolerância de aquecimento) elevados quando comparadas às espécies de clima temperado (Simon et al., 2015; Duarte et al., 2012, Deutsch et al., 2008), evidenciando a vulnerabilidade das espécies tropicais não apenas em *Anura*, mas também de outras linhagens animais (Deutsch et. al., 2008, Huey et al., 2009, Duarte et al., 2012, Simon et al., 2015).

A hipótese de aclimação benéfica (Leroi, Bennet et al., 1994) postula que a aclimação a um ambiente particular promove uma vantagem de desempenho em comparação com um organismo que não consegue se aclimatar. Segundo essa ideia, espécies como *Rhinella icterica* e *Rhinella ornata* possuem a vantagem de uma maior sobrevivência quando comparadas a *Rhinella schneideri* e *Leptodactylus labyrinthicus*, devido à maior sensibilidade dos processos de desenvolvimento aos diferentes regimes térmicos testados. Cabe ressaltar que, apesar de não estar relacionado a um ambiente de desenvolvimento específico e ser em baixos níveis, *Rhinella schneideri* foi a única espécie que apresentou mortalidade ao longo de todo o período de manutenção em laboratório, o que seria coerente com a ideia de desvantagem pela incapacidade de aclimação.

Estudos comparativos de plasticidade em girinos permitem o entendimento da evolução das normas de reação relacionadas a determinado fator ambiental. Dentre os estudos existentes, os trabalhos de Morey e Reznick (2000, 2004) destacam-se ao discutir inércia filogenética no gênero *Scaphiopus*. Especificamente, os autores concluíram que as três espécies estudadas possuem normas de reação muito similares quando expostas a oito níveis diferentes de alimentação, o que poderia sugerir um efeito filogenético no potencial de respostas plásticas do gênero, mesmo existindo particularidades dentre as espécies. A inércia filogenética, contudo, não influencia todos os parâmetros igualmente. A plasticidade da temperatura crítica máxima (CTMax) para anuros (Simon et al., 2015) e moscas da fruta (Kellermann et al., 2012) exemplificam a evolução do parâmetro sendo provavelmente influenciada pela história evolutiva da própria espécie. Devido ao número relativamente baixo de espécies utilizado neste projeto, não foi possível calcular formalmente o sinal filogenético para *Rhinella*.

Entretanto, fatores ecológicos possivelmente se sobrepõem aos filogenéticos em *Rhinella*, pois existe discrepância na sensibilidade entre as espécies de *Rhinella* estudadas neste trabalho. O estudo de espécies adicionais desse gênero pode elucidar se a diferença de sensibilidade existente entre *R. schneideri* e as espécies *R. icterica* e *R. ornata* poderia indicar redução de sinal filogenético na resposta térmica de determinada espécie, ou indicar se fatores ecológicos podem se sobrepor aos filogenéticos na sensibilidade térmica do desenvolvimento.

O período reprodutivo é outro fator que pode influenciar a plasticidade fenotípica ao ambiente de desenvolvimento. Espécies de anuros que se reproduzem em diferentes épocas do ano consequentemente diferem quanto às temperaturas de desenvolvimento de seus girinos. As espécies *Rhinella icterica* e *Rhinella ornata* se reproduzem entre o final do inverno até o início do verão (Vasconcelos et al., 2011; Rossa-Feres & Jim, 1994) e, portanto, os girinos destas espécies estão expostos a um ambiente com aumento gradual da temperatura média. As espécies *Rhinella schneideri* e *Leptodactylus labyrinthicus* se reproduzem entre o final da primavera ao início do outono (Santos et al. 2007; Vasconcelos et al. 2011; Rossa-Feres & Jim, 1994) e, consequentemente, seus girinos estão expostos a uma diminuição gradual da temperatura. Como o desenvolvimento em *Rhinella icterica* e *Rhinella ornata* parece ser mais sensível às condições ambientais envolvendo aquecimento, e a diminuição da temperatura parece afetar mais *Rhinella schneideri* e *Leptodactylus labyrinthicus*, é possível que o período reprodutivo seja um dos fatores influenciando a sensibilidade térmica nessas espécies.

6. Referências bibliográficas

- Aichinger, M. (1987). Annual activity patterns of anurans in a seasonal neotropical environment. *Oecologia*, 71(4), 583–592.
- Andrews, R. M., Mathies, T., & Warner, D. A. (2000). Effect of Incubation Temperature on Morphology, Growth, and Survival of Juvenile *Sceloporus undulatus*. *Herpetological Monographs*, 14, 420–431.
- Angilletta, M. J., & Dunham, A. E. (2003). The Temperature-Size Rule in Ectotherms: Simple Evolutionary Explanations May Not Be General. *The American Naturalist*, 162(3), 332–342.
- Arendt, J. (2010). Morphological correlates of sprint swimming speed in five species of spadefoot toad tadpoles: Comparison of morphometric methods. *Journal of Morphology*, 271, 1044–1052.
- Atkin, O. K., Loveys, B. R., Atkinson, L. J., & Pons, T. L. (2006). Phenotypic plasticity and growth temperature: Understanding interspecific variability. *Journal of Experimental Botany*, 57, 267–281.
- Atkinson, D. (1994). Temperature and Organism Size-A Law for Ectotherms? *Advances in Ecological*, 25, 1–58.
- Atkinson, D. (1995). Effects of temperature on the size of aquatic ectotherms: Exceptions to the general rule. *Journal of Thermal Biology*, 20(1–2), 61–74.
- Beattie, R. C. (1987). The reproductive biology of common frog (*Rana temporaria*) populations from different altitudes in northern England. *The Zoological Society Of London*, 211, 387–398.
- Blaustein, L., Garb, J. E., Shebitz, D., & Nevo, E. (1999). Microclimate, developmental plasticity and community structure in artificial temporary pools. *Hydrobiologia*, 392, 187–196.
- Boorse, G. C., & Denven, R. J. (2004). Endocrine Mechanisms Underlying Plasticity in Metamorphic Timing in Spadefoot Toads. *Integrative and Comparative Biology*, 43, 646–657.
- Brown, D. D., & Cai, L. (2007). Amphibian metamorphosis. *Developmental Biology*, 306, 20–33.
- Brown, J. H., Stevens, G. C., & Kaufman, D. M. (1996). The geographic range Size, shape, boundaries, and internal structure. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27, 597–623.
- Casemiro, F. a. S., Gouveia, S. F., & Diniz-Filho, J. A. F. (2012). Distribuição de *Rhinella granulosa*: integrando envelopes bioclimáticos e respostas ecofisiológicas. *Revista Da Biologia*, 8, 38–44.

- Denver, R. J. (2009). Stress hormones mediate environment-genotype interactions during amphibian development. *General and Comparative Endocrinology*. Elsevier Inc.
- Denver, R. J. (2013). 'Neuroendocrinology of Amphibian Metamorphosis', *Current Topics in Developmental Biology*, 103, 195–227
- Deutsch, C. A., Tewksbury, J. J., Huey, R. B., Sheldon, K. S., Ghalambor, C. K., Haak, D. C., & Martin, P. R. (2008). Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(18), 6668–6672.
- Duarte, H., Tejedo, M., Katzenberger, M., Marangoni, F., Baldo, D., Beltrán, J. F., Gonzalez-Voyer, A. (2012). Can amphibians take the heat? Vulnerability to climate warming in subtropical and temperate larval amphibian communities. *Global Change Biology*, 18, 412–421.
- Duellman, W. E. & Trueb, L. (1994). *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill, Baltimore and London.
- Forsman, A. (2015). Rethinking phenotypic plasticity and its consequences for individuals, populations and species. *Heredity*, 115, 276–284.
- Ghalambor, C. K., McKay, J. K., Carroll, S. P., & Reznick, D. N. (2007). Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology*, 21, 394–407.
- Godoy, O., Valladares, F., & Castro-Díez, P. (2011). Multispecies comparison reveals that invasive and native plants differ in their traits but not in their plasticity. *Functional Ecology*, 25, 1248–1259.
- Gomez-mestre, I., & Buchholz, D. R. (2006). Developmental plasticity mirror differences among taxa in spadefoot toads linking plasticity and diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(50), 19021–19026.
- Gomez-Mestre, I., Saccoccio, V. L., Iijima, T., Collins, E. M., Rosenthal, G. G., & Warkentin, K. M. (2010). The shape of things to come: linking developmental plasticity to post-metamorphic morphology in anurans. *Journal of Evolutionary Biology*, 23(7), 1364–1373.
- Gosner, K. L. (1960). A simplified table for staging Anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16(3), 183–190.
- Hayes, T., Chan, R., & Licht, P. (1993). Interactions of temperature and steroids on larval growth, development, and metamorphosis in a toad (*Bufo boreas*). *Journal of Experimental Zoology*, 266(3), 206–215.
- Hochachka, P. W. & Somero, G. N. (2002). *Biochemical Adaptation*. Princeton, N. J. Princeton University Press.

- Houde, E. D. (1989). Comparative growth, mortality, and energetics of marine fish larvae: temperature and implied latitudinal effects. *Fishery Bulletin*, 87(3), 471–495.
- Huey, R. B., Deutsch, C. A., Tewksbury, J. J., Vitt, L. J., Hertz, P. E., Pérez, H. J. Á., & Garland, T. (2009). Why tropical forest lizards are vulnerable to climate warming. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276, 1939–1948.
- IUCN. IUCN red list of threatened species. (2008). Available at: <http://www.iucnredlist.org>
- Kellermann, V., Overgaard, J., Hoffmann, A. A., Svenning, J.-C., Flojgaard, C., & Loeschcke, V. (2012). Upper thermal limits of *Drosophila* are linked to species distributions and strongly constrained phylogenetically. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(40), 16228–16233.
- Kulkarni, S. S., Denver, R. J., Gomez-Mestre, I., & Buchholz, D. R. (2017). Genetic accommodation via modified endocrine signalling explains phenotypic divergence among spadefoot toad species. *Nature Communications*, 8(1), 1–6.
- Laudet, V. (2011). The origins and evolution of vertebrate metamorphosis. *Current Biology*. Elsevier Ltd.
- Leroi, A. M., Lenski, R. E., & Bennett, A. F. (1994). Evolutionary Adaptation to Temperature. III. Adaptation of *Escherichia coli* to a Temporally Varying Environment. *Evolution*, 48(4), 1222–1229.
- Levins, R. (1962). Theory of Fitness in a Heterogeneous Environment. I. The Fitness Set and Adaptive Function. *The American Naturalist*, 96(891), 361–373.
- Morey, S., & Reznick, D. (2000). A Comparative Analysis of Plasticity in Larval Development in Three Species of Spadefoot Toads. *Ecology*, 81(6), 1736–1749.
- Niehaus, A. C., Wilson, R. S., & Franklin, C. E. (2006). Short- and long-term consequences of thermal variation in the larval environment of anurans. *Journal of Animal Ecology*, 75(3), 686–692.
- Nobre, C. A., Salazar, L. F., Oyama, M., Cardoso, M., Sampaio, G., & Lapola, D. (2007). Mudanças climáticas e possíveis alterações nos biomas da América do Sul. Relatório n. 6.
- Nowakowski, A. J., Watling, J. I., Whitfield, S. M., Todd, B. D., Kurz, D. J., & Donnelly, M. A. (2016). Tropical amphibians in shifting thermal landscapes under land-use and climate change. *Conservation Biology*, 31(1), 96–105.
- Prado, V. H. M. do, Fonseca, M. G., Almeida, F. V. R. De, Junior, O. N., & Rossa-Feres, D. de C. (2009). Niche Occupancy and the Relative Role of Micro-Habitat and Diet in Resource Partitioning Among Pond Dwelling Tadpoles. *South American Journal of Herpetology*, 4(3), 275–285.

- Prado, V. H. M. do, Silva, F. R. da, Dias, N. Y. N., Pires, J. S. R., & Rossa-Feres, D. de C. (2009). Anura, Estação Ecológica de Jataí, São Paulo state, southeastern Brazil. *Check List*, 5(3), 495–502.
- Rose, C. S. (2005). Integrating ecology and developmental biology to explain the timing of frog metamorphosis. *Trends in Ecology and Evolution*, 20(3), 129–135.
- Rossa-Feres, D. de C., & Jim, J. (1994). Distribuição sazonal em comunidades de anfíbios anuros na região de Botucatu, São Paulo. *Revista Brasileira de Biologia*, 54(2), 323–334.
- Saito, S., Ohkita, M., Saito, C. T., Takahashi, K., Tominaga, M., & Ohta, T. (2016). Evolution of heat sensors drove shifts in thermosensation between *Xenopus* species adapted to different thermal niches. *Journal of Biological Chemistry*, 291(21), 11446–11459.
- Santos, T. G. dos, Rossa-Feres, D. de C., Casatti, L., Gomes, T., Rossa-Feres, D. D. C., Casatti, L. (2007). Diversidade e distribuição espaço-temporal de anuros em região com pronunciada estação seca no sudeste do Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 97(1), 37–49.
- Simon, M. N., Ribeiro, P. L., & Navas, C. A. (2015). Upper thermal tolerance plasticity in tropical amphibian species from contrasting habitats: Implications for warming impact prediction. *Journal of Thermal Biology*, 48, 36–44.
- Smith-Gill, S. J., & Benver, K. A. (1979). Prediction amphibian metamorphosis. *The American Naturalist*, 113(4), 563–585.
- Standen, E. M., Du, T. Y., & Larsson, H. C. E. (2014). Developmental plasticity and the origin of tetrapods. *Nature*, 513, 54–58.
- Stevaux, M. N. (2009). A new species of *Bufo* Laurenti (Anura, Bufonidae) from northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 19, 235–242.
- Strong, K. W., & Daborn, G. R. (1992). The influence of temperature on energy budget variables, body size, and seasonal occurrence of the isopod *Idotea baltica* (Pallas). *Canadian Journal of Zoology*, 58, 1992–1996.
- Titon, B., & Gomes, F. R. (2017). Associations of water balance and thermal sensitivity of toads with macroclimatic characteristics of geographical distribution. *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A*, 208, 54–60.
- Vasconcelos, T. da S., & Rossa-Feres, D. de C. (2005). Diversidade, distribuição espacial e temporal de anfíbios anuros (Amphibia, Anura) na região noroeste do estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica*, 5(2), 137–150.
- Vasconcelos, T. S., dos Santos, T. G., Rossa-Feres, D. de C., & Haddad, C. F. B. (2011). Spatial and temporal distribution of tadpole assemblages (Amphibia,

- Anura) in a seasonal dry tropical forest of southeastern Brazil. *Hydrobiologia*, 673, 93–104.
- Vitt, L. J. & Caldwell, J. P. (2014). Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles. 4 edition. Academic Press.
- Watkins, T. B., & Vraspir, J. (2006). Both Incubation Temperature and Posthatching Temperature Affect Swimming Performance and Morphology of Wood Frog Tadpoles (*Rana sylvatica*). *Physiological and Biochemical Zoology*, 79(1), 140–149.
- West-Eberhard, M. J. (1989). Phenotypic Plasticity and the Origins of Diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20(1), 249–278.