



# Influência da temperatura da água sobre a distribuição de girinos de *Rhinella ornata* (Amphibia: Bufonidae)

Sheina Koffler, Paula Ramos Sicsu, Tiago Henrique Chaves Santos Evangelista & Simone Ximenez

**RESUMO:** Para animais ectotérmicos, um dos principais mecanismos para a termorregulação é o comportamento. Neste trabalho, testamos se, em um gradiente de temperaturas toleráveis para a espécie, girinos de *Rhinella ornata* selecionam ambientes com temperaturas mais elevadas. Para isso, registramos as frequências de ocorrência de girinos em parcelas ao longo de um gradiente termal natural em um riacho. No laboratório, avaliamos a preferência dos girinos dentro de um gradiente estabelecido em condições controladas. Observamos preferência por temperaturas mais baixas em campo, sugerindo que outras variáveis, como risco de predação e disponibilidade de alimento, podem influenciar a distribuição de girinos em ambientes naturais. No experimento, não detectamos nenhum padrão de preferência, sugerindo que, dentro de um intervalo de temperaturas entre 19,4 °C e 28,7 °C, girinos de *R. ornata* não apresentam seleção térmica.

**PALAVRAS-CHAVE:** comportamento, ectotermia, seleção térmica, temperatura corporal, termorregulação

## INTRODUÇÃO

A termorregulação é o mecanismo pelo qual os organismos mantêm a temperatura corporal relativamente constante, ainda que a temperatura do ambiente varie (Zug *et al.*, 2001). Visto que as variações de temperatura corpórea influenciam direta e indiretamente os processos fisiológicos dos organismos, a termorregulação é fundamental para manutenção da homeostase (Hillman *et al.*, 2009; Zug *et al.*, 2001). Dentro de um espectro de temperaturas corpóreas a que um organismo pode estar sujeito, existem as temperaturas ótimas, nas quais o desempenho é máximo, as temperaturas toleráveis, nas quais o desempenho é reduzido, as temperaturas críticas, em que o organismo não possui atividade e, por fim, as temperaturas consideradas letais, nas quais o organismo não sobrevive (Zug *et al.*, 2001; Simon, 2010). A termorregulação deve manter a temperatura corporal dentro do intervalo de temperaturas ótimas para o organismo de forma a manter constantes processos fisiológicos e comportamentais (Zug *et al.*, 2001).

Diferentemente dos organismos endotérmicos, que produzem calor por seu metabolismo, organismos ectotérmicos dependem do ambiente para a aquisição de calor. No caso dos animais ectotérmicos, a termorregulação é realizada, em alguns casos, por mecanismos fisiológicos e, na maioria das vezes, por

mecanismos comportamentais (McDiarmid & Altig, 1999). Os mecanismos comportamentais envolvem a mudança na postura do indivíduo ou busca ativa de locais com temperaturas favoráveis, o que tem conseqüências diretas sobre a seleção de habitat (Zug *et al.*, 2001). Como a temperatura corpórea dos organismos ectotérmicos depende diretamente da temperatura ambiental, esses organismos têm sua fase de vida restrita a um intervalo de temperaturas ambientais toleráveis, permanecendo inativos quando a temperatura do ambiente está além desse intervalo. Visto que a temperatura é o fator que mais influencia o desempenho dos organismos ectotérmicos (Hillman *et al.*, 2003) devido a sua interferência em taxas enzimáticas, bioquímicas e nos padrões de atividade dos organismos (Simon, 2010), anfíbios anuros são um grupo potencialmente interessante para estudar o efeito de variações nas temperaturas ambientais sobre a fisiologia e o comportamento.

Diversos estudos investigaram os limites críticos de temperatura para espécies de anuros (e.g. Lillywhite *et al.*, 2003), porém ainda há lacunas quanto à termorregulação na fase larval. Sabe-se que, em relação à temperatura, girinos são mais sensíveis do que adultos e que o ambiente aquático, onde existe menor variação de temperaturas acessíveis aos organismos, é mais restritivo que o ambiente

terrestre (Hillman *et al.*, 2003). Ademais, a temperatura ambiental influencia o tempo necessário para finalizar a metamorfose, o que pode ser crítico para sobrevivência do organismo (McDiarmid & Altig, 1999). No caso das larvas de anuros, a temperatura ambiental é o parâmetro físico de maior influência na fisiologia, ecologia e comportamento, pois afeta as taxas de diferenciação, metabólicas e de crescimento, o tamanho do corpo na metamorfose e as trocas gasosas (McDiarmid & Altig, 1999).

O gênero *Rhinella* (Bufonidae) possui ampla distribuição geográfica, desde o sul do Texas até o sul da América do Sul (Frost, 2011), ocorrendo em diferentes ambientes com características abióticas bastante distintas, como em poças temporárias que passam por ampla variação térmica, até poças permanentes com pequena variação térmica (McDiarmid & Altig, 1999; Simon 2010). Supõe-se que girinos de *R. ornata* termoregulem comportamentalmente de acordo com a escolha de microhabitats no ambiente aquático. Neste trabalho, testamos a hipótese de que girinos de *R. ornata* selecionam ambientes com temperaturas mais altas dentro de um gradiente de temperaturas toleráveis. Prevemos que os girinos ocorrerão com maior frequência em áreas com maior temperatura. Prevemos também que, em condições controladas, os girinos escolherão ambientes com maiores temperaturas quando submetidos a um gradiente termal estabelecido dentro de limites toleráveis.

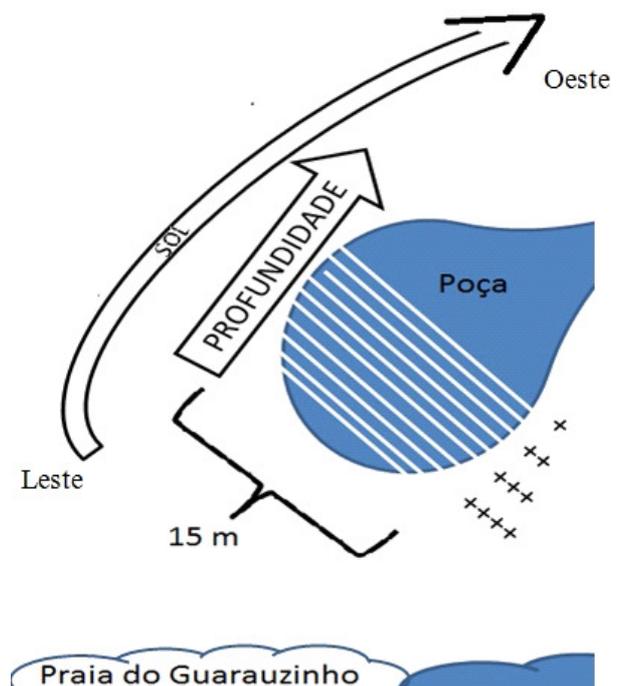
## MATERIAL & MÉTODOS

### Área de estudo

A primeira parte do estudo foi realizada na praia do Guarauzinho (24°38'71"S; 47°01'73"O), localizada na Estação Ecológica Juréia-Itatins, localizada no município de Peruíbe, litoral sul do estado de São Paulo. A região possui clima regional subtropical úmido sem estação seca definida. A amplitude térmica anual na baixada litorânea é de 7,7°C, sendo julho o mês mais frio, com temperatura média de 14 °C (Tarifas, 2004). Várias espécies de anuros são associadas às margens úmidas e poças semi-isoladas dos rios de águas claras dessa região, como os gerados pelo rio Guarauzinho quando deságua na praia (Por, 2004). As coletas e observações foram realizadas em uma dessas poças do rio Guarauzinho, no meio do mês de julho.

Dada a orientação da praia do Guarauzinho, a incidência do sol ao longo da manhã na poça estudada dá-se no sentido da parte mais rasa e mais próxima ao mar, até a parte mais funda da poça, que está

situada na região mais interna da encosta (Figura 1). As características físico-químicas do meio aquático e da absorção da radiação solar fazem com que a temperatura nos corpos de água sofra uma queda brusca após os primeiros metros de profundidade (Esteves, 1988). Devido à variação na profundidade e na incidência solar ao longo do dia na poça estudada, presumimos existir um gradiente termal em sua massa de água, que é acentuado nos momentos de maior incidência solar. Portanto, esperávamos que as temperaturas na região mais rasa da poça fossem maiores do que as temperaturas na parte mais funda (Figura 1).



**Figura 1.** Representação das parcelas dispostas na poça ilustrando o sentido da incidência solar, o sentido do aumento da profundidade (0,5 a 6 cm) e a variação na temperatura, indicada pelo símbolo +.

### Observações em campo

Para avaliar como a ocorrência de girinos de *R. ornata* varia ao longo de um gradiente termal, delimitamos faixas orientadas de forma transversal à profundidade da poça (Figura 1). Para tanto, dispusemos 10 parcelas na superfície da água, paralelas e equidistantes 1 m cada. Estimamos a largura das parcelas de forma que verificássemos diferença de temperaturas entre parcelas, mas não dentro da mesma parcela.

Registramos a presença dos girinos a partir da borda da poça, evitando qualquer contato com a água, de forma que o efeito da presença do observador na distribuição dos girinos fosse minimizado. Realizamos três eventos de observação ao longo da manhã: 8h 30min, 10h 30min e 12h 30min. Para as

análises, consideramos os três eventos como sendo independentes entre si devido à alta mobilidade dos girinos e o intervalo de 160 min entre as coletas de dados. Em cada evento de observação, registramos a presença de girinos e medimos a temperatura de cada uma das 10 faixas utilizando um termômetro digital. Por causa do comportamento de agregação dos girinos de *R. ornata* (Cavalheri, 2010) e devido à limitação do observador de conseguir observar a partir da borda a presença dos girinos em todas as faixas, consideramos a presença dos girinos somente quando observamos manchas com mais de 10 indivíduos na faixa.

### **Experimentos em laboratório**

Para a segunda parte do estudo, na noite anterior às observações em campo, coletamos girinos de *R. ornata* na mesma poça descrita anteriormente. Realizamos os experimentos em três bandejas de 30 x 24 cm, preenchidas com água proveniente do local de coleta dos girinos, até a altura de 2 cm. Dividimos cada bandeja em dois lados com áreas iguais, dividindo seu comprimento pela metade. Em cada vértice da bandeja, dispusemos um recipiente, que foi preenchido de acordo com o tipo de tratamento.

Para o grupo experimental sob a influência de um gradiente de temperatura, preenchemos dois recipientes com gelo em uma das extremidades da bandeja e dois recipientes com água fervente na outra extremidade. Feito isso, esperamos 15 min até que um gradiente de temperatura na água ao longo do comprimento da bandeja fosse estabelecido. Assumimos as temperaturas observadas em campo como toleráveis para os girinos de *R. ornata*. Trocamos a água dos recipientes a cada 10 repetições para manter o gradiente termal com uma variação de temperatura de, no mínimo, 2 °C. Como forma de aleatorizar a ordem em que os girinos receberiam o tratamento, utilizamos duas bandejas para o grupo experimental sob influência de um gradiente de temperatura, em que os recipientes com gelo e água fervente estavam dispostos em sentido contrário em cada bandeja. As réplicas foram realizadas de forma alternada, ora em uma bandeja, ora em outra. Utilizamos um grupo experimental controle para avaliar se a escolha pelo lado da bandeja no grupo tratamento não decorriam de outros fatores como, por exemplo, intensidade de luz ou apenas a presença dos recipientes na bandeja. Para tanto, colocamos água na mesma temperatura que a água da bandeja nos quatro recipientes nas bandejas do grupo controle. Dessa forma, não houve variação na temperatura da água ao longo do comprimento da bandeja.

Estabelecido o gradiente de temperatura, medimos a temperatura da água na bandeja ao lado dos recipientes com gelo e água fervente. Em seguida, colocamos um girino no centro de cada bandeja e, após 2 min, registramos o lado da bandeja em que se encontrava o girino. Estipulamos o tempo de espera para registrarmos a presença do girino em um dos lados da bandeja a partir de um experimento piloto em que observamos que o tempo de 2 min era suficiente para o girino se acostumar com o ambiente, explorá-lo e poder perceber a variação de temperatura ao longo da bandeja. Realizamos 50 repetições para todos os experimentos dos grupos controle e do grupo tratamento. Para o experimento com o grupo tratamento, esperávamos que a ocorrência de girinos na metade com temperatura mais elevada fosse maior. Para o experimento com o grupo controle, esperávamos que não houvesse diferença na escolha entre um lado e outro.

### **Análise de dados**

Para os dados coletados em campo, calculamos a mediana de temperatura das parcelas e consideramos quentes as parcelas cujas temperaturas eram maiores à mediana e frias as parcelas cujas temperaturas eram inferiores à mediana. Usamos um teste de permutação para testar se a ocorrência de girinos de *R. ornata* nas parcelas quentes era maior do que nas parcelas frias. Comparamos a probabilidade do valor obtido ocorrer em um cenário nulo (10.000 aleatorizações) em que os girinos ocorressem ao acaso.

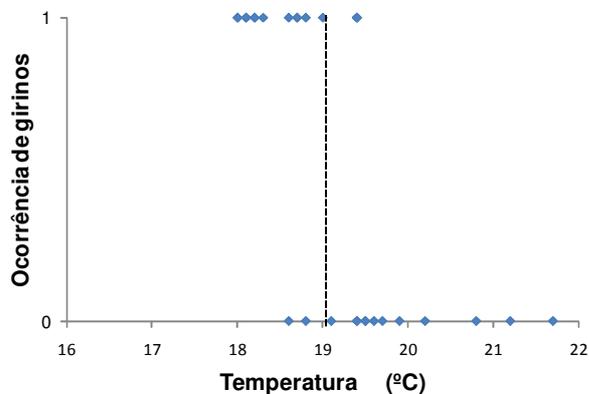
Para testar a preferência dos girinos pelo lado mais quente da bandeja, utilizamos a frequência de girinos em cada metade da bandeja como variável operacional da preferência por temperaturas mais quentes ou frias em um gradiente termal. Para avaliar a diferença na preferência dos girinos por temperaturas mais quentes dentro de um gradiente termal, utilizamos a diferença entre a ocorrência total de girinos no lado mais quente em relação ao mais frio. Comparamos os valores observados com a probabilidade de ocorrerem em um cenário nulo (10.000 aleatorizações), em que ambos os lados poderiam ser escolhidos ao acaso.

## **RESULTADOS**

### **Observações em campo**

Os girinos estiveram presentes em apenas 13 das 30 faixas térmicas consideradas (10 faixas em cada evento de observação). Apenas três dessas ocorrências foram em faixas com temperatura maior do que a

temperatura mediana (Figura 2). Na verdade, houve uma probabilidade maior de encontrar girinos nas faixas de temperatura menores do que a mediana ( $p < 0,001$ ). Portanto, a hipótese de que a presença dos girinos seria maior nas faixas mais quentes foi refutada.



**Figura 2.** Ocorrência de girinos em função da temperatura da água nas faixas da poça. 0 = ausência, 1 = presença de girinos nas parcelas e a linha tracejada = mediana da temperatura nas parcelas. Alguns pontos apresentam sobreposição, pois algumas temperaturas foram iguais para diferentes faixas.

### Experimentos em laboratório

A menor temperatura observada na água das bandejas ao longo do experimento foi de 19,4 °C e a maior foi de 28,7 °C. No grupo controle, 28 girinos foram observados em um lado da bandeja e 22 no outro. Não detectamos uma diferença da presença de girinos entre os lados da bandeja ( $p = 0,762$ ). Portanto, a presença dos recipientes na bandeja não influenciou o comportamento dos girinos. Para o grupo tratamento, observamos 26 girinos na metade com temperaturas mais elevadas e 24 no outro. Não houve diferença entre a presença de girinos no lado com temperatura mais alta e no lado com temperatura mais baixa ( $p = 0,442$ ). Portanto, rejeitamos a hipótese de que girinos de *R. ornata* exibem uma preferência por temperaturas mais elevadas, dentro do intervalo de temperaturas testadas.

## DISCUSSÃO

Verificamos que tanto no campo quanto no experimento em laboratório os girinos de *R. ornata* não selecionaram as faixas de temperaturas mais altas dos gradientes termais. Na verdade, ao contrário do esperado, verificamos em campo a preferência dos girinos por faixas mais frias do gradiente termal. Uma possível explicação para isso é que outras variáveis, além da temperatura, poderiam atuar sobre a distribuição de girinos em ambientes naturais. Nas porções mais rasas, que

corresponderam às parcelas com maiores temperaturas, haveria menor chance de fuga frente ao ataque de predadores, como aves. Isso resultaria em uma pressão a favor da ocupação das parcelas mais profundas. Uma vez que os girinos dessa espécie são bentônicos e se alimentam raspando o substrato e capturando material particulado (Wells, 2007), outro possível fator que pode explicar a distribuição dos indivíduos é a disponibilidade de alimento. Observamos no local de estudo que, de fato, os girinos estavam mais próximos da vegetação. Essa possível preferência pode ser relacionada com proteção contra predadores, maior quantidade de alimento ou mesmo com fototaxia negativa, como verificada para girinos de *Ascaphus truei* (Ascaphidae) (Vlaming & Source, 1970). Somando a esses fatores, a coloração escura dos girinos poderia atuar diretamente sobre sua termorregulação, devido ao aumento da absorção da radiação, como sugerido para *Bufo marinus* (Bufonidae) (Heatwolf *et al.*, 1968; Hillman *et al.*, 2009). Dessa forma, poderia haver um aquecimento excessivo do indivíduo caso ocupasse porções de temperatura mais elevada, o que poderia acelerar seu crescimento (Heatwolf *et al.*, 1968) e resultar na antecipação da metamorfose, gerando adultos pequenos.

Embora o intervalo de temperaturas que testamos em laboratório tenha sido amplo (diferença de 9,3 °C), a ausência de escolha de temperatura pelos girinos de *R. ornata* indica que o intervalo de temperaturas ótimas para os indivíduos da espécie seja amplo também. Para espécies do gênero *Bufo*, estudos verificaram que os indivíduos toleram um amplo intervalo de temperaturas (15 °C a 40 °C) e que suas temperaturas ótimas variam entre espécies, principalmente de acordo com o ambiente (Beiswenger, 1978; McDiarmid & Altig, 1999; Simon, 2010). A tolerância a temperaturas elevadas é uma característica de espécies que habitam poças temporárias. Indivíduos dessas espécies estão sujeitas à rápida elevação da temperatura da água, de forma que é vantajoso ter um amplo intervalo de tolerância, permitindo que o organismo resista caso seu habitat seja alterado rapidamente (Heatwolf *et al.*, 1968). O mesmo padrão pode ocorrer em *R. ornata*, espécie que também é encontrada em poças (C.A. Navas, *com. pess.*) e pode possuir um amplo intervalo de temperaturas preferidas e toleráveis. Caso o intervalo de preferência da espécie seja amplo, o gradiente termal testado experimentalmente não foi suficiente para levar os girinos a escolherem uma porção do gradiente. Assim, seria necessário que fosse testado um intervalo mais amplo no gradiente termal.

Verificamos neste trabalho que, em um gradiente termal com temperaturas entre 19,4 °C e 28,7 °C,

girinos de *R. ornata* não apresentam escolha direcionada à determinada temperatura. Isso pode estar relacionado a um amplo intervalo de temperaturas preferidas, além do intervalo testado e verificado em campo. A fim de detectar mecanismos comportamentais de termorregulação nos girinos, seria necessário que o gradiente termal estivesse dentro do intervalo de tolerância, mas com temperaturas abaixo ou acima das temperaturas ótimas. Para que as temperaturas escolhidas fossem as mais altas, seria necessário que o gradiente termal possuísse em um extremo temperaturas próximas do mínimo termal de tolerância e no outro extremo, temperaturas ótimas. Nesse caso, esperaríamos que os indivíduos escolhessem a porção do gradiente com temperaturas ótimas, que seriam as mais altas.

## REFERÊNCIAS

- Beiswenger, R.E. 1978. Responses of *Bufo* tadpoles (Amphibia, Anura, Bufonidae) to laboratory gradients of temperature. *Journal of Herpetology*, 12:499-504.
- Cavalheri, H.B. 2010. Quanto mais melhor? Efeito da densidade no comportamento de agregação de girinos de *Rhinella ornata* (Amphibia: Bufonidae). Em: Livro do curso de campo "Ecologia da Mata Atlântica" (G. Machado, A.A. Oliveira & P.I.K.L. Prado, eds.). Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Esteves, F.A. 1988. *Fundamentos em limnologia*. Interciência, Rio de Janeiro.
- Frost, D.R. 2011. *Amphibian species of the world: an online reference*. Version 5.5. Disponível em: <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia>. American Museum of Natural History, Nova Iorque, EUA. Acessado em 15 de Julho de 2011.
- Heatwolf, H.; S.B. de Austin & R. Herrero. 1968. Heat tolerances of tadpoles of two species of tropical anurans. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 27:807-881.
- Hillman, S.S.; P.C. Withers; R.C. Drewes & Hillyard, S.D. 2009. *Ecological and environmental physiology of amphibians*. Oxford University Press, New York.
- Lillywhite, H.B; P. Licht & P. Chelgren. 2003. The role of behavioral thermoregulation in the growth energetics of the toad *Bufo boreas*. *Ecology*, 54:375-383.
- McDiarmid, R.W. & R. Altig. 1999. *Tadpoles: the biology of anuran larvae*. University of Chicago Press, Chicago.
- Por, F.D. 2004. Hidrobiologia da Juréia e da baixada do Ribeira-rios e manguezais, pp. 51-57. Em: *Estação Ecológica Juréia-Itatins, Ambiente Físico, Flora e Fauna*. (O.A.V. Marques & W. Duleba, eds.). Holos Editora, Ribeirão Preto.
- Simon, M.N. 2010. Plasticidade fenotípica em relação à temperatura de larvas de *Rhinella* (Anura: Bufonidae) da caatinga e da floresta Atlântica. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Tarifas, J.R. 2004. Unidades climáticas dos maciços litorâneos da Juréia-Itatins, pp. 42-50. Em: *Estação Ecológica Juréia-Itatins, Ambiente Físico, Flora e Fauna* (O.A.V. Marques & W. Duleba, eds.). Holos Editora, Ribeirão Preto.
- Vlaming, V. L. & R.B.B. Source. 1970 Thermal selection in tadpoles of the tailed-frog, *Ascaphus truei*. *Journal of Herpetology*, 4:179-189.
- Wells, K.D. 2007. *The ecology and behavior of amphibians*. The University of Chicago Press Chicago and London.
- Zug, G.R.; L.J. Vitt & J.P. Caldwell. 2001. *Herpetology an introductory biology of amphibians and reptiles*. Academic Press, San Diego.

**Orientação:** Carlos Arturo Navas & Bárbara Henning