



Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC
Departamento de Ciências Biológicas - DCB
Programa de Pós-Graduação em Zoologia - PPGZOO



DAVID MINÁ HAFNER

EFEITOS DO AUMENTO DA TEMPERATURA NA TAXA DE ECLOSÃO, DESENVOLVIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DOS EMBRIÕES E LARVAS DE ANUROS QUE VIVEM EM UMA REGIÃO DE CABRUCO NO SUL DA BAHIA, BRASIL.

ILHÉUS – BAHIA
2019

DAVID MINÁ HAFNER

EFEITOS DO AUMENTO DA TEMPERATURA NA TAXA DE ECLOSÃO, DESENVOLVIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DOS EMBRIÕES E LARVAS DE ANUROS QUE VIVEM EM UMA REGIÃO DE CABRUCO NO SUL DA BAHIA, BRASIL.

Dissertação para obtenção do título de Mestre em Zoologia, à Universidade Estadual de Santa Cruz-UESC.

Orientador: Prof. Dr. Mirco Solé

Coorientador: Prof. Dr. Renan Nunes Costa

**ILHÉUS – BAHIA
2019**

DAVID MINÁ HAFNER

EFEITOS DO AUMENTO DA TEMPERATURA NA TAXA DE ECLOSÃO, DESENVOLVIMENTO E SOBREVIVÊNCIA DOS EMBRIÕES E LARVAS DE ANUROS QUE VIVEM EM UMA REGIÃO DE CABRUCO NO SUL DA BAHIA, BRASIL.

Ilhéus, Bahia, 29 de maio de 2019

Prof. Dr. Mirco Solé (Orientador)

Universidade Estadual de Santa Cruz

Prof. Dr. Renan Nunes Costa (Co-orientador)

Universidade Estadual de Santa Cruz

Prof. Dr. Danilo Silva Ruas (Examinador)

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Caio Vinícius de Mira Mendes (Examinador)

Universidade Estadual de Santa Cruz

AGRADECIMENTOS

Foram muitas as pessoas que me auxiliaram e tornaram possível a realização desse trabalho. Gostaria de deixar claro o quanto sou grato por cada um de vocês que de alguma forma esteve comigo durante essa jornada.

Agradeço primeiramente a Deus pela força para prosseguir quando as coisas não estavam dando certo.

A minha família que é a minha base, e que me deu muito apoio durante esses anos me incentivando a dar o meu melhor.

Aos meus orientadores Mirco Solé e Renan Nunes, pela dedicação e disposição em me ajudar durante todo esse período.

Aos meus amigos que sempre me motivaram e compartilharam comigo desde os momentos mais difíceis aos mais felizes, e a todos os colegas que me ajudaram nas coletas e nos experimentos.

A todos os meus professores que contribuíram com o meu conhecimento e formação até aqui.

Ao professor Argolo, por disponibilizar o espaço do laboratório de Vertebrados tornando possível a realização dos experimentos.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro.

À Universidade Estadual de Santa Cruz e ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia por toda infraestrutura.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sequência dos passos do momento A e momento B. A – Desova de <i>Rhinella crucifer</i> ; B - Unidade Experimental (EU): Copos de plástico de 1L com rede extrafina; C - Padronização da arena experimental controle x tratamento; D – Variável morfométrica do comprimento total do Girino de <i>R. crucifer</i>	29
Figura 2: Desova de <i>Dendropsophus haddadi</i> após 24h de experimento no controle (25°C) se desenvolvendo, e 100% de mortalidade no tratamento (38°C). O mesmo aconteceu com as demais espécies em todas as unidades de tratamento.	30
Figura 3: Diferenças entre controle e tratamento em relação ao número de girinos que apresentavam estágio de desenvolvimento maior ou igual ao estágio 22 após 9 horas de experimento. Os pontos representam a média e as barras o intervalo de confiança (95%).	32
Figura 4: Diferenças entre controle e tratamento em relação ao estágio de desenvolvimento dos girinos após 24 horas de experimento ($t_{(38)} = -44.565$, $p < 0.001$). Os pontos representam a média e as barras o intervalo de confiança (95%)......	33
Figura 5: Diferenças entre controle e tratamento em relação ao estágio de desenvolvimento dos girinos após 168 horas de experimento ($t_{(38)} = -23.556$, $p < 0.001$). Os pontos representam a média e as barras o intervalo de confiança (95%)......	34
Figura 6: Diferenças entre controle e tratamento em relação ao comprimento total dos girinos após 24 horas de experimento ($t_{(38)} = -26.123$, $p < 0.001$). Os pontos representam a média e as barras o intervalo de confiança (95%)......	34
Figura 7: Diferenças entre controle e tratamento em relação ao comprimento total dos girinos após 168h horas de experimento ($t_{(38)} = -2.244$, $p = 0.030$). Os pontos representam a média e as barras o intervalo de confiança (95%).	35
Figura 8: Diferenças entre controle e tratamento em relação ao comprimento total dos girinos ano estágio 27 ($T_{(198)} = 8.035$, $p < 0.001$). Os pontos representam a média e as barras o intervalo de confiança (95%)......	35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	7
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
2	OBJETIVOS.....	17
	2.1. Objetivo Geral	17
	2.2. Objetivos específicos.....	17
3	ARTIGO.....	18
4	INTRODUÇÃO.....	20
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
	5.1. Coleta de dados.....	24
	5.2. Preparação da arena experimental	26
	5.3. Desenvolvimento Experimental	27
	5.4. Análises dos dados	29
6	RESULTADOS.....	30
7	DISCUSSÃO.....	36
	REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO GERAL

No passado o clima variou naturalmente, onde os últimos máximos glaciais e períodos interglaciais sofreram oscilações de temperatura que ocasionaram na fragmentação ou formações de florestas (AB'SABER, 2000; KARL; TRENBERTH, 2003). À medida que avançamos para o futuro, as atividades antropogênicas atuais vêm crescendo de forma acelerada em comparação com as mudanças naturais (KARL; TRENBERTH, 2003).

Desde a Revolução Industrial, as concentrações dos gases de efeito estufa (dióxido de carbono, ozônio troposférico, metano e óxido nitroso) aumentaram a sua proporção, podendo se tornar ainda maior nos próximos 50 anos e conseqüentemente gerar aumentos nas médias da temperatura global (MITCHELL, 1989). Com o aumento abrupto das concentrações de dióxido de carbono na atmosfera, as médias da temperatura global vêm aumentando devido à retenção de calor, fazendo com que o resfriamento do globo se torne ainda mais dificultoso (MITCHELL, 1989, CHAPIN et al., 2000; WALLINGTON et al., 2009). No entanto, as flutuações da temperatura representam um fator seletivo com grande influência nos ecossistemas e nas relações fisiológicas dos organismos, os quais terão diferentes respostas a essas modificações (ANGILETTA JÚNIOR, 2009; SOMERO, 2002; VUILLEUMIER, 1971). Como consequência para o próximo século, sofreremos uma das mudanças climáticas mais rápidas que a terra já experimentou (CHAPIN et al., 2000).

Mudanças climáticas, poluentes atmosféricos e pragas agrícolas resultantes do aumento das atividades antropogênicas vêm trazendo modificações no habitat que são preocupantes para a biodiversidade global, e muitos especialistas esperam que o aumento dessas atividades acabe desencadeando o sexto e maior evento de extinção em massa da história da vida do planeta terra (CEBALLOS et al., 2015; CHAPIN et al., 2000; BARNOSKY et al., 2011). Desse modo, estudos conduzidos na década de 70 previram o aquecimento global e o esgotamento de ozônio também como mudanças ambientais antropogênicas, onde, todos esses fatores poderiam afetar a biologia de muitos microrganismos, plantas e animais (BLAUSTEIN et al., 2010).

Mudanças climáticas futuras relacionadas ao aquecimento, como o aumento na intensidade e duração dos períodos de seca, podem ter grandes impactos sobre os anfíbios (ARAÚJO et al., 2006; HOF et al., 2011). Os anfíbios têm histórias de vida complexas por suas particularidades morfofisiológicas, como a presença de um

tegumento permeável e a ectotermia, sendo fortemente influenciados por fatores ambientais (PINK; ABRAHAMS, 2015). Essas características fazem dos anfíbios o grupo de vertebrados mais ameaçados no mundo, apresentando altas taxas de declínio populacional (BEEBEE; GRIFFITHS, 2005; DUELLMAN; TRUEB, 1994; GARDNER, 2001; ROHR et al., 2008; STUART et al., 2004; WAKE; VREDENBURG et al., 2008; YOUNG et al., 2001). Essas ameaças são causadas em grande parte por doenças, introdução de espécies exóticas, perda e fragmentação de habitats e alterações climáticas (ALFORD; RICHARDS, 1999; BLAUSTEIN, 1994; GASCÓN et al., 2005). Nos anfíbios a temperatura tem grande influência em sua ecologia e biologia, incluindo equilíbrio hidrológico, oxigênio dissolvido, reprodução, metamorfose, reversão sexual, sobrevivência, dispersão e crescimento (BLAUSTEIN et al., 2010; FEDER; BURGGREN, 1992; HUEY; STEVENSON, 1979; MOORE; TOWNSEND, 1998; WIJETHUNGA; GREENLEES; SHINE, 2016).

Muitos estudos têm focado na distribuição dos anfíbios em resposta aos cenários de mudanças climáticas, prevendo uma redução da sua área de ocorrência causando conseqüente fragmentação dessas populações (DE POUS et al., 2016; OCHOA-OCHOA et al., 2012; TORANZA; MANEYRO, 2013). Como muitas espécies já sofrem com a perda e fragmentação do habitat, esses eventos combinados com recentes mudanças climáticas trazem ainda mais dificuldades para os anfíbios em todo o mundo (BLAUSTEIN et al., 2001; CORN, 2005; CUSHMAN, 2006; HOF et al., 2011).

A maior parte dos anfíbios anuros possuem dois estágios de vida (bifásico), no qual a fase larval geralmente é aquática e a fase adulta ou pós-metamórfica é geralmente terrestre (BLAUSTEIN, 1994; DUELLMAN; TRUEB, 1994; HADDAD, 2008). Segundo Haddad et al. (2013) e Vitt et al (1990), são encontrados 39 modos reprodutivos entre os anuros que variam desde o mais simples (e.g. deposição dos ovos diretamente na água), até aqueles com maior grau de complexidade (e.g. desenvolvimento direto e viviparidade) e, na maioria das vezes, com ovos aquáticos cobertos apenas por uma camada úmida de material gelatinoso, de modo que ficam diretamente expostos ao meio externo.

Os girinos são morfologicamente bem variados e ocupam uma diversidade de ambientes (e.g. riachos, lagoas e poças), podendo se estabelecer no fundo desses ambientes (bentônicos), na coluna d'água (nectônicos), ou até mesmo em águas acumuladas em bromélias, ocos de bambu e buracos nos troncos das árvores (HADDAD et al., 2013). O tempo de desenvolvimento dos girinos para a fase adulta

pode levar de dias a anos, assim, o período em que os animais estão em transição do ambiente larval para o adulto é crítico, e essa fase faz com que esses animais com ciclo de vida mais complexo se tornem mais vulneráveis durante o processo (ARNOLD; WASSERSUG, 1978; HADDAD et al., 2013; WILBUR, 1980).

Os efeitos da temperatura sobre os ovos dos anuros tem grande influência nos estágios posteriores, e dependendo da estação do ano ou condições do próprio ambiente em que os ovos são depositados, as espécies passam a tolerar temperaturas maiores, ou menores com base nas temperaturas vivenciadas impostas pelo meio (BROWN, 1967; MOORE, 1939). Dessa forma, os limites de tolerância de temperatura para uma espécie podem ser moldados a partir de diferentes mudanças das temperaturas do microambiente (BACHMANN, 1969; BERNAL; LYNCH, 2013). Em embriões de anuros que se desenvolvem em temperaturas próximas ao limite superior, o desenvolvimento prossegue muito mais rápido do que em temperaturas próximas ao limite inferior, e essa aceleração dependente da temperatura acaba sendo a mesma para todos os estágios embrionários (DUELLMAN; TRUEB, 1994).

Muitos estudos demonstraram que o aumento da temperatura pode acelerar os processos de desenvolvimento em embriões e larvas de anfíbios (ÁLVAREZ; NICIEZA, 2002; KUKITA et al., 2015; LOMAN, 2002; OROMI et al., 2015; SANUY; OROMÍ; GALOFÉ, 2008). Portanto, em poças temporárias, o tempo para a metamorfose é influenciado pelo aumento da temperatura da água, onde as larvas aceleram a metamorfose quando ocorre o dessecação das poças, e prolongam a metamorfose em poças permanentes que possuem baixo risco de dessecação (RICHTER-BOIX; TEJEDO; REZENDE, 2011; TEJEDO; REQUES, 1994).

Embora embriões e larvas de anfíbios possam acelerar o desenvolvimento em situações de estresse (e.g. dessecação, predação), a massa corporal e o tamanho do indivíduo na metamorfose, e na pós-metamorfose é reduzido (ÁLVAREZ; NICIEZA, 2002; CRUMP, 1989; ORIZAOLA; LAURILA, 2009; RICHTER-BOIX; TEJEDO; REZENDE, 2011). Sendo assim, uma metamorfose acelerada pode resultar em custos de condicionamento físico para quando o indivíduo se tornar adulto (ARENDDT, 1997; NYLIN; GOTTHARD, 1998; STOKS et al., 2006).

Anfíbios têm sido utilizados como organismos modelo para estudos ecofisiológicos e adaptação à temperatura devido à fácil manipulação em experimentos laboratoriais (FEBER; BURGGREN, 1992). Uma abordagem bem aceita e que vem sendo utilizada por muitos pesquisadores se baseia na estimativa da Temperatura Crítica

Máxima (CT_{max}) tolerável pelas espécies de anfíbios afim de investigar quais são os limites térmicos que esses organismos suportam (TEJEDO et al., 2012). O CT_{max} é definido quando a resposta de um indivíduo a uma determinada temperatura resulta em uma atividade locomotora confusa e/ou imobilidade, levando a um comprometimento da sua habilidade de fuga em situações que poderiam levar o indivíduo a óbito (COWLES; BOGERT, 1944). Entretanto, estudos com CT_{max} em anfíbios são limitados as fases larvais e adultos, uma vez que na fase de ovo não é possível mensurar atividade locomotora.

Como a grande parte dos estudos ecofisiológicos estão limitados aos estágios de vida larval e/ou adulto, uma enorme lacuna do conhecimento está associada à fase de ovo. Desse modo, este trabalho visa compreender, experimentalmente, como o aumento da temperatura afeta a sobrevivência, taxa de eclosão e o desenvolvimento de espécies de anuros neotropicais, sendo avaliado desde a fase do ovo até a fase de girino. Aumentar o conhecimento sobre os efeitos e interações ambientais no crescimento, desenvolvimento e sobrevivência dos anuros pode aprimorar o sucesso do manejo de espécies ameaçadas de anfíbios (CAREY, 2005; MUTHS ET AL., 2014).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AB'SABER, A. N. **Spaces occupied by the expansion of bry climates in south america during the quaternary ice ages.** Revista do Instituto Geológico, 21(1-2): p.71-78. 2000.
- ALFORD, R. A.; RICHARDS, S. J. **Global amphibian declines: a problem in applied ecology.** Annual Review of Ecology and Systematics, 30(1): p.133-165. 1999.
- ALTWEGG, R.; REYER, H-U. **Patterns of natural selection on size at metamorphosis in water frogs.** Evolution, 57(4): p.872-882. 2003.
- ALVAREZ, D.; NICIEZA, A. G. **Effects of temperature and food quality on anuran larval growth and metamorphosis.** Functional Ecology, 16(5): p.640-648. 2002.
- ANGILLETTA JÚNIOR, M. J. **Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis.** Oxford, University Press: 289pp. 2009.
- ARAÚJO, M. B.; THUILLER, W.; PEARSON, R. G. **Climate warming and the decline of amphibians and reptiles in Europe.** Journal of biogeography, 33(10): p.1712-1728. 2006.
- ARENDET, J. D. **Adaptive intrinsic growth rates: an integration across taxa.** The quarterly review of biology, 72(2): p.149-177. 1997.
- ARNOLD, S. J.; WASSERSUG, R. J. **Differential predation on metamorphic anurans by garter snakes (*Thamnophis*): social behavior as a possible defense.** Ecology, 59(5): p.1014-1022. 1978.
- BACHMANN, K. **Temperature adaptations of amphibian embryos.** The American Naturalist, 103(930): p.115-130. 1969.
- BARNOSKY, A. D.; MATZKE, N.; TOMIYA, S.; WOGAN, G. O. U.; SWARTZ, B.; QUENTAL, T. B.; MARSHALL, C.; McGUIRE, J. L.; LINDSEY, E. L.; MAGUIRE, K. C.; MERSEY, B.; FERRER, E. A. **Has the Earth's sixth mass extinction already arrived?** Nature, 471(7336): p.51-57. 2011.
- BEEBEE, T. J. C.; GRIFFITHS, R. A. **The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology?** Biological Conservation, 125(3): p.271-285. 2005.
- BERNAL, M. H.; LYNCH, J. D. **Thermal tolerance in anuran embryos with different reproductive modes: relationship to altitude.** The Scientific World Journal, 2013: p.1-7. 2013.

BLAUSTEIN, A. R. **Chicken Little or Nero's fiddle? A perspective on declining amphibian populations.** *Herpetologica*, 50(1): p.85-97. 1994.

BLAUSTEIN, A. R.; BELDEN, L. K.; OLSON, D. H.; GREEN, D. M.; ROOT, T. L.; KIESECKER, J. M. **Amphibian breeding and climate change.** *Conservation Biology*, 15(6): p.1804-1809. 2001.

BLAUSTEIN, A. R.; WALLS, S. C.; BANCROFT, B. A.; LAWLER, J. J.; SEARLE, C. L.; GERVASI, S. S. **Direct and indirect effects of climate change on amphibian populations.** *Diversity*, 2(2): p.281-313. 2010.

BROWN, H. A. **High temperature tolerance of the eggs of a desert anuran, *Scaphiopus hammondi*.** *Copeia*, 1967(2): p. 365-370. 1967.

CAREY, C. **How physiological methods and concepts can be useful in conservation biology.** *Integrative and Comparative Biology*, 45(1): p.4-11. 2005.

CEBALLOS, G.; EHRLICH, P. R.; BARNOSKY, A. D.; **Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction.** *Science Advances*, 1(5): p.1-6. 2015.

CHAPIN III, F. S.; ZAVALA, E. S.; EVINER, V. T.; NAYLOR, R. L.; VITOUSEK, P. M.; REYNOLDS, H. L.; HOOPER, D. U.; LAVOREL, S.; SALA, O. E.; HOBBI, S. E.; MACK, M. C.; DÍAZ, S. **Consequences of changing biodiversity.** *Nature*, 405(6783): p.234-242. 2000.

CORN, P. S. **Climate change and amphibians.** *Animal Biodiversity and Conservation*, 28(1): p.59-67. 2005.

COWLES, R. B.; BOGERT, C. M. **A preliminary study of the thermal requirements of desert reptiles.** In: IRCF [INTERNATIONAL REPTILE CONSERVATION FOUNDATION]. 2006. *Conservation, Natural History, and Husbandry of Reptiles. IGUANA*, 13(1): p.53-61. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 83: p. 261-296. 1944.

CRUMP, M. L. **Effect of habitat drying on developmental time and size at metamorphosis in *Hyla pseudopuma*.** *Copeia*, 1989(3): p.794-797. 1989.

CUSHMAN, S. A. **Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: a review and prospectus.** *Biological Conservation*, 128(2): p.231-240. 2006.

DE POUS, P.; MONTORI, A.; AMAT, F.; SANUY, D. **Range contraction and loss of genetic variation of the Pyrenean endemic newt *Calotriton asper* due to climate change.** *Regional Environmental Change*, 16(4): p.995-1009. 2016.

DEUTSCH, C. A.; TEWKSBURY, J. J.; HUEY, R. B.; SHELDON, K. S.; GHALAMBOR, C. K.; HAAK, D. C.; MARTIN, P. R. **Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude**. Proceedings of the National Academy of Sciences, 105(18): p.6668-6672. 2008.

DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. (Eds.). **Biology of amphibians**. The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London: 613pp. 1994.

FEDER, M. E.; BURGGREN, W. W. (Eds.). **Environmental physiology of the amphibians**. The University of Chicago Press, Chicago and London: 646pp. 1992.

GARDNER, T. **Declining amphibian populations: a global phenomenon in conservation biology**. Animal Biodiversity and Conservation, 24(2): p.25-44. 2001.

GASCON, C.; COLLINS, J. P.; MOORE, R. D.; CHURCH, D. R.; McKAY, J. E.; MENDELSON III, J. R. (Eds.). **Amphibian conservation action plan: proceedings IUCN/SSC Amphibian Conservation Summit 2005**. IUCN, The World Conservation Union: 62pp.2005.

HADDAD, C. F. B. **Uma análise da lista brasileira de anfíbios ameaçados de extinção**. In: MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção (Eds.). Ministério do Meio Ambiente e Fundação Biodiversitas, Brasília e Belo Horizonte: p.286-325. 2008

HADDAD, C. F. B.; TOLEDO, L. F.; PRADO, C. P. A.; LOEBMANN, D.; GASPARINI, J. L.; SAZIMA, I. **Guia dos anfíbios da Mata Atlântica: diversidade e biologia**. Anolis Books, Edição 1: 544pp. 2013.

HOF, C.; ARAÚJO, M. B.; JETZ, W.; RAHBEK, C. **Additive threats from pathogens, climate and land-use change for global amphibian diversity**. Nature, 480(7378): p.516. 2011.

KARL, T. R.; TRENBERTH, K. E. **Modern global climate change**. Science, 302(5651): p.1719-1723. 2003.

KUKITA, S.; GOUDA, M.; IKEDA, S.; ISHIBASHI, S.; FURUYA, T.; NAKAMURA, K. **Effects of photoperiod and temperature on growth and development in clouded salamander (*Hynobius nebulosus*) larvae**. Zoological Science, 32(3): p.266-271. 2015.

LOMAN, J. **Temperature, genetic and hydroperiod effects on metamorphosis of brown frogs *Rana arvalis* and *R. temporaria* in the field**. Journal of Zoology, 258(1): p.115-129. 2002.

MITCHELL, J. F. B. **The “greenhouse” effect and climate change.** *Reviews of Geophysics*, 27(1): p.115-139. 1989.

MOORE, J. A. **Temperature tolerance and rates of development in the eggs of Amphibia.** *Ecology*, 20(4): p.459-478. 1939.

MUTHS, E.; BAILEY, L. L.; WATRY, M. K. **Animal reintroductions: an innovative assessment of survival.** *Biological Conservation*, 172: p.200-208. 2014.

NYLIN, S.; GOTTHARD, K.; WIKLUND, C. **Reaction norms for age and size at maturity in *Lasiommata butterflies*: predictions and tests.** *Evolution*, 50(3): p.1351-1358. 1996.

OCHOA-OCHOA, L. M.; RODRÍGUEZ, P.; MORA, F.; FLORES-VILLELA, O.; WHITTAKER, R. J. **Climate change and amphibian diversity patterns in Mexico.** *Biological Conservation*, 150(1): p.94-102. 2012.

ORIZAOLA, G.; LAURILA, A. **Intraspecific variation of temperature-induced effects on metamorphosis in the pool frog (*Rana lessonae*).** *Canadian Journal of Zoology*, 87(7): p.581-588. 2009.

OROMI, N.; CAMARASA, S.; SANUY, I.; SANUY, D. **Variation of growth rate and survival in embryos and larvae of *Rana temporaria* populations from the Pyrenees.** *Acta Herpetologica*, 10(2): p.85-91. 2015.

PINK, M.; ABRAHAMS, M. V. **Temperature and its impact on predation risk within aquatic ecosystems.** *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 73(6): p.869-876. 2015.

REQUES, R.; TEJEDO, M. **Reaction norms for metamorphic traits in natterjack toads to larval density and pond duration.** *Journal of Evolutionary Biology*, 10(6): p.829-851. 1997.

RICHTER-BOIX, A.; TEJEDO, M.; REZENDE, E. L. **Evolution and plasticity of anuran larval development in response to desiccation.** *A Comparative Analysis, Ecology and Evolution*, 1(1): p.15-25. 2011.

ROHR, J R.; RAFFEL, T. R.; ROMANSIC, J. M.; McCALLUM, H.; HUDSON, P. J. **Evaluating the links between climate, disease spread, and amphibian declines.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(45): p.17436-17441. 2008

SANUY, D.; OROMÍ, N.; GALOFRÉ, A. **Effects of temperature on embryonic and larval development and growth in the natterjack toad (*Bufo calamita*) in a semi-arid zone.** *Animal Biodiversity and Conservation*, 31(1): p.41-46. 2008.

SOMERO, G. N. **Thermal physiology and vertical zonation of intertidal animals: optima, limits, and costs of living.** *Integrative and Comparative Biology*, 42(4): p.780-789. 2002.

STOKS, R.; BLOCK, M. D.; MCPEEK, M. A. **Physiological costs of compensatory growth in a damselfly.** *Ecology*, 87(6): p.1566-1574. 2006.

STUART, S. N.; CHANSON, J. S.; COX, N. A.; YOUNG, B. E.; RODRIGUES, A. S. L.; FISCHMAN, D. L.; WALLER, R. W. **Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide.** *Science*, 306(5702): p.1783-1786. 2004.

TEJEDO, M.; DUARTE, H.; GUIÉRREZ-PESQUERA, L. M.; BELTRAN, J. F.; KATZENBERGER, M.; MARANGONI, F.; NAVAS, C. A.; NICIEZA, A. G.; RELYEA, R. A.; REZENDE, E. L.; RICHTER BOIX, A.; SANTOS, M.; SIMON, M.; SOLÉ, M. **El estudio de las tolerancias térmicas para el examen de hipótesis biogeográficas y de la vulnerabilidad de los organismos ante el calentamiento global: ejemplos en anfibios.** *Boletín Asociación Herpetológica Española*, 32(2): p.2-27. 2012.

TEJEDO, M.; REQUES, R. **Plasticity in metamorphic traits of natterjack tadpoles: the interactive effects of density and pond duration.** *Oikos*, 71(2): p.295-304. 1994.

TORANZA, C.; MANEYRO, R. **Potential effects of climate change on the distribution of an endangered species: *Melanophryniscus montevidensis* (Anura: Bufonidae).** *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, 12(2): p.97-106. 2014.

VITT, L. J.; CALDWELL, J. P.; WILBUR, H. M.; SMITH, D. C. **Amphibians as harbingers of decay.** *BioScience*, 40(6): p.418-418. 1990.

VUILLEUMIER, B. S. **Pleistocene changes in the fauna and flora of South America.** *Science*, 173(3999): p.771-780. 1971.

WALLINGTON, T. J.; SRINIVASAN, J.; NIELSEN, O. J.; HIGHWOOD, E. J. **Greenhouse gases and global warming.** In: SABLJIC, A. (Ed.): *Environmental And Ecological Chemistry*. EOLSS, Encyclopedia of Life Support Systems, 1(6): p.36-63. 2009.

WAKE, D. B.; VREDENBURG, V. T. **Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(Supplement 1): p.11466-11473. 2008.

WILBUR, H. M. **Complex life cycles**. Annual Review of Ecology and Systematics, 11(1): p.67-93. 1980.

YOUNG, B. E.; LIPS, K. R.; REASER, J. K.; IBÁÑEZ, R.; SALAS, A. W.; CEDEÑO, J. R.; COLOMA, L. A.; RON, S.; LA MARCA, E.; MEYER, J. R.; MUÑOZ, A.; BOLAÑOS, F.; CHAVES, G.; ROMO, D. **Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America**. Conservation Biology, 15(5): p.1213-1223. 2001.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Analisar se o aumento da temperatura da água influencia na taxa de eclosão, sobrevivência e desenvolvimento de embriões e girinos de anuros neotropicais.

Hipótese: As taxas de eclosão dos ovos, a sobrevivência, e o desenvolvimento dos embriões e girinos serão afetados pelo aumento da temperatura da água.

Predição: Quando comparado ao controle, espera-se que no cenário de temperatura alta o tempo de eclosão dos ovos seja mais rápido, a taxa de eclosão seja reduzida, assim como a taxa de sobrevivência. Espera-se também que o desenvolvimento seja afetado pela temperatura alta, levando a larvas de menor tamanho e com estágio de desenvolvimento mais avançado.

2.2. Objetivos específicos

- Investigar se o aumento da temperatura influencia no sucesso de eclosão dos ovos e sobrevivência dos embriões e girinos.
- Analisar diferenças em 9, 24 e 168 horas de experimento nas taxas estudadas;
- Investigar possíveis diferenças nos estágios de desenvolvimento entre as taxas estudadas;
- Comparar comprimento total dos girinos entre as taxas estudadas após o final do experimento.

3 ARTIGO

Efeitos do aumento da temperatura na taxa de eclosão, desenvolvimento e sobrevivência dos embriões e larvas de anuros que vivem em uma região de Cabruca no Sul da Bahia, Brasil.

David Miná Hafner¹, Leildo M. Carilo Filho¹, Renan Nunes Costa^{2,3}, Mirco Solé³

¹ Programa de Pós-Graduação em Zoologia (PPGZOO), Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC).

² Programa de Pós-Graduação em Sistemas Aquáticos Tropicais (PPGSAT), Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC).

³ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC).

RESUMO

As mudanças climáticas globais vêm afetando bruscamente a distribuição, fenologia, fisiologia e sobrevivência de muitas espécies. Os anfíbios, por serem ectotérmicos são ainda mais suscetíveis às instabilidades do meio ambiente do que qualquer outro tetrápode, e a temperatura têm grande influência em sua ecologia e biologia. Ao contrário dos adultos, ovos e larvas são restritos ao seu micro-habitat natal e, portanto, ficam expostos por mais tempo aos estressores associados ao ambiente aquático. Essas exposições, alteram as taxas de crescimento e desenvolvimento dos anfíbios em estágios iniciais de vida e, até mesmo, a mortalidade larvária nesse micro-habitat. Analisamos se o aumento da temperatura da água influencia na taxa de eclosão, sobrevivência e desenvolvimento de ovos de anuros neotropicais. Foram realizados estudos com diferentes espécies alvos em dois momentos: momento A - *Dendropsophus haddadi*, *Sphaenorhynchus prasinus* e *Scinax juncae* - e momento B - *Rhinella crucifer*. As desovas foram alocadas separadamente em sacos plásticos e foram encaminhadas para o laboratório para triagem, aclimação e início do experimento. Obtivemos como variáveis resposta: (i) O número de girinos maior ou igual ao estágio 22 após 9 horas de experimento; (ii) Número de ovos não eclodidos após 24 horas; (iii) Taxa de sobrevivência dos girinos: contagem realizada após 168h; (iv) Estágio de desenvolvimento dos girinos: após 24h e 168h; (v) Comprimento total dos girinos: após 24h e 168h; (vi) Comprimento total dos girinos no estágio 27. No momento A em uma temperatura mais alta houve 100% de mortalidade das desovas, logo, somente na temperatura mais baixa (controle) os ovos eclodiram e prosseguiram com o desenvolvimento. No momento B observamos que a temperatura alta afetou o estágio de desenvolvimento e o comprimento dos girinos, resultando em indivíduos com estágios mais avançados e menores para comparações dentre os mesmos girinos dos mesmos estágios. No controle, os ovos eclodiram e prosseguiram com seu desenvolvimento normal. A temperatura alta não afetou a taxa de eclosão e a sobrevivência dos girinos. As tolerâncias térmicas de espécies tropicais são mais baixas, e os riscos para a manutenção da vida desses animais tendem a serem maiores, dessa forma, faz-se necessário elaborar estudos com base nas respostas fisiológicas da fase do ovo, embriões e girinos de espécies tropicais, para melhor compreendê-las.

Palavras chave: Ovos, Girino, Temperatura, Desenvolvimento, Crescimento.

ABSTRACT

Global climate change has sharply affected the distribution, phenology, physiology and survival of many species. Amphibians, being ectothermic, are even more susceptible to environmental instability than any other tetrapod, and temperature has a great influence on their ecology and biology. Unlike adults, eggs and larvae are restricted to their native microhabitat and therefore are exposed for a longer time to stressors associated with the aquatic environment. These exposures modify the growth and development rates of amphibians in early stages of life, and even larval mortality in this microhabitat. We analyzed whether the increase in water temperature influences the hatching rate, survival and egg development of neotropical anurans. Studies were carried out with different target species in two distinct moments: moment A - *Dendropsophus haddadi*, *Sphaenorhynchus prasinus* and *Scinax juncae* - and moment B - *Rhinella crucifer*. The clutches were allocated separately in plastic bags for acclimatation and beginning of the experiment. As dependent variables we obtained: (i) The number of tadpoles greater than or equal to stage 22 after 9 hours of experiment; (ii) Number of not hatched eggs after 24 hours; (iii) Tadpoles survival rate: counting after 168 h; (iv) Development stage of tadpoles: after 24h and 168h of experiment; (v); Tadpoles total length: after 24h and 168h of experiment; (vi); Tadpoles total length in stage 27. At moment A at a higher temperature there was 100% of clutch mortality, therefore, only at the lowest temperature (control) did the eggs hatch and proceed with development. In moment B we observed that the high temperature affected the developmental stage and the tadpoles length, resulting in individuals with more advanced stages, and smaller sizes for comparisons between the same tadpoles of the same stages. In control, the eggs hatched and continued their normal development. The high temperature did not affect the hatching rate and survival of tadpoles. The thermal tolerances of tropical species are lower, and the risks to the life of these animals tend to be higher. Therefore, studies based on the physiological responses of the egg phase, embryos and tadpoles of tropical species are necessary to better understand them.

Key words: Eggs, Tadpole, Temperature, Development, Growth.

4 INTRODUÇÃO

Atualmente, as mudanças climáticas globais vêm afetando bruscamente a distribuição, fenologia, fisiologia e sobrevivência de muitas espécies (CAREY; ALEXANDER, 2003; HICKLING et al., 2006; HILL et al., 2001; PARMESAN; YOHE, 2003), sendo considerada uma das principais ameaças que geram impactos sobre a biodiversidade (THOMAS et al., 2004). Segundo o Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC, 2014) a temperatura média global aumentou 0,6°C no último século e estimativas indicam que no século XXI o aumento pode chegar a 4°C. Sendo assim, essas mudanças futuras causarão ainda mais danos, trazendo outras preocupações para a biodiversidade em todo o mundo (SALA et al., 2000; THUILLER et al., 2005; WALTHER et al., 2002).

Os organismos têm uma resposta fisiológica à temperatura, e essas respostas têm grandes efeitos para níveis mais altos de organização ecológica, como populações, comunidades e ecossistemas (ANGILETTA JÚNIOR, 2009; BROWN et al., 2004; BUCKLEY; KINGSOLVER, 2012; HELMUTH; KINGSOLVER; CARRINGTON, 2005; KINGSOLVER; WOODS, 1997). Portanto, a temperatura age como um fator seletivo na vida dos organismos, influenciando na sobrevivência, crescimento e dispersão dos mesmos (ANGILETTA JÚNIOR, 2009).

Muitas pesquisas destacam a importância de considerar os mecanismos fisiológicos para prevenir efeitos das mudanças climáticas sob os organismos (KEARNEY et al., 2008; PÖRTNER, 2002; PÖRTNER; FARREL, 2008). Estas pesquisas colaboram de maneira robusta com o entendimento da variação das condições ambientais no espaço e no tempo, e também na resposta dos organismos a essas variáveis (HELMUTH, 2009; TEWKSBURY et al., 2008).

Segundo modelos que estudam a fisiologia dos organismos, impactos gerados pelo aquecimento global podem ser ainda mais rigorosos nos trópicos do que em regiões temperadas (TEWKSBURY et al., 2008). Muitas espécies de ectotérmicos que vivem nessas regiões já estão expostas a temperaturas próximas de seus limites térmicos superiores (DEUTSCH et al., 2008). Este cenário é crítico para os anfíbios, dos quais 72% vivem nas regiões tropicais (CHANSON et al., 2008). A maioria das espécies de regiões tropicais vive em ambientes sombreados (e.g. florestas), e não são adaptadas às altas temperaturas comumente encontradas nos habitats localizados em áreas abertas e quentes (DEUTSCH et al., 2008; RUIBAL, 1961).

Durante o desenvolvimento de muitos organismos, fatores como recursos alimentares, densidade larvária e mudanças climáticas, podem modificar o fenótipo e a sobrevivência das formas adultas, e tais efeitos ocorrem em diversos táxons, desde insetos e crustáceos até vertebrados (ENGELS; SAUER, 2007; GIMÉNEZ; TORRES, 2007; OLSSON; SHINE, 2002; SCOTT, 1994; SOLBERG et al., 2004). Em organismos com histórias de vida complexas, a variação em um estágio da vida pode transitar e afetar o fenótipo do próximo estágio (BENARD; McCAULEY, 2008; ENGELS; SAUER, 2007; GOATER, 1994; PECHENIK; WENDT; JARRET, 1998).

O tamanho corporal é uma particularidade biológica essencial que está relacionada com diversos atributos ecológicos (e.g. taxa de crescimento populacional, interações competitivas e fecundidade) (ARENDRT, 2007; MILLIEN et al., 2006). O aquecimento global é responsável por efeitos negativos nos tamanhos dos corpos dos ectotérmicos aquáticos, tanto em nível de indivíduo quanto em nível de comunidade (DAUFRESNE et al., 2009). Portanto, o aumento da temperatura tende a diminuir o tamanho corpóreo dos ectotérmicos (ATKINSON, 1994), fazendo com que muitos desses animais acelerem o seu desenvolvimento em função do aumento da temperatura (TEJEDO; REQUES, 1994), resultando na redução do seu tamanho e massa corpórea (ÁLVAREZ; NICIEZA, 2002; CRUMP, 1989; ORIZAOLA; LAURILA, 2009).

Os anfíbios, por serem ectotérmicos e possuírem um revestimento corporal permeável, costumam habitar regiões com altas taxas de umidade e temperaturas moderadas a quentes, sendo assim, são mais suscetíveis às instabilidades do meio ambiente do que qualquer outro tetrápode (DUELLMAN; TRUEB, 1994). Nos anfíbios a temperatura tem grande influência em sua ecologia e biologia, incluindo equilíbrio hidrológico, oxigênio dissolvido, reprodução, metamorfose, reversão sexual, sobrevivência, dispersão e crescimento (BLAUSTEIN et al., 2010; FEDER; BURGGREN, 1992; HUEY; STEVENSON, 1979; MOORE; TOWNSEND, 1998; WIJETHUNGA; GREENLEES; SHINE, 2016).

As ameaças enfrentadas pelos anfíbios são muitas, havendo espécies que já sofrem com perda de habitat, poluição, espécies invasoras, superexploração e doenças emergentes (STUART et al., 2004; WAKE; VREDENBURG, 2008). Muitas populações de anfíbios sofrem com o declínio acelerado por conta das mudanças climáticas, onde muitas dessas populações encontram-se à beira da extinção, ou até mesmo já desapareceram (BURROWERS et al., 2004; D'AMEN; BOMBI, 2009; RON et al., 2003; STUART et al., 2004). Portanto, o estado de conservação desse grupo é

alarmante, sendo os anfíbios o grupo que mais sofre ameaças no mundo (BEEBEE; GRIFFITHS, 2005; DUELLMAN; TRUEB, 1994; GARDNER, 2001; ROHR et al., 2008; STUART et al., 2004; WAKE; VREDENBURG et al., 2008; YOUNG et al., 2001), até mesmo mais do que as aves ou mamíferos (HOFFMANN et al., 2010).

A maioria dos anfíbios anuros tem um estilo de vida bifásico, sendo aquáticos no início de suas vidas e terrestres ou semi-terrestres depois que se metamorfoseiam. Embora os anfíbios tenham uma ampla gama de tolerâncias térmicas, quando aclimatados a diferentes regimes térmicos podem apresentar alterações de suas tolerâncias (DUELLMAN; TRUEB, 1994; TEJEDO, 2012). Sendo assim, os organismos tendem a se adaptar a temperaturas que eles experimentam com maior frequência em seus ambientes naturais (LEVINTON; MONAHAN, 1983; LONSDALE; LEVINTON, 1985). A implicação das mudanças na temperatura no hidroperíodo pode ter grandes efeitos sobre os anfíbios, fazendo com que muitas poças temporárias sequem precocemente resultando assim em um menor tempo para embriões e larvas de anfíbios se desenvolverem e completarem a sua metamorfose (PECHMANN et al., 1989; ROWE; DUNSON, 1995; SEMLITSCH, 1987).

Os ovos dos anuros possuem uma cápsula gelatinosa com capacidade de conservar a umidade, no entanto, o aumento da temperatura pode resultar na perda dessa proteção que, em seguida, serviria como reservatório para os embriões em desenvolvimento (DUELLMAN; TRUEB, 1994).

Em girinos, o aumento da temperatura da água pode influenciar em mudanças nas características que são importantes para a sua sustentação em determinado habitat (MARTIN et al., 2010), incluindo a diminuição da disponibilidade de oxigênio (BLAUSTEIN et al., 2010; O'CONNOR et al., 2007), devido ao aumento das taxas metabólicas (HULBERT et al., 2007), aumento na proliferação de fungos por conta da decomposição dos alimentos (McWILLIAMS, 2008), resíduos nitrogenados (MOREY; REZNICK, 2004), alterações na intensidade da competição (ÁLVAREZ; NICIEZA, 2002b; BLAUSTEIN et al., 2010; ENRIQUEZ URZELAI et al., 2013; McLEOD et al., 2013), e dessecação dos microambientes por alterações no hidroperíodo (REQUES; TEJEDO, 1997).

Ao contrário dos adultos, ovos e larvas são restritos ao seu micro-habitat natal e, portanto, se desenvolvem em condições estabelecidas pelos corpos d'água (WIJETHUNGA; GREENLEES; SHINE, 2016). Como resultado, os ovos e larvas ficam expostos por mais tempo aos estressores (e.g. predação, temperaturas

extremas/flutuantes, pH e salinidade) associados ao ambiente aquático (MUTHS et al., 2014; WIJETHUNGA; GREENLEES; SHINE, 2016). Muitos estudos demonstraram que esses estressores podem causar alterações nas taxas de crescimento, e desenvolvimento dos anfíbios nos estágios iniciais de sua vida (ÁLVAREZ; NICIEZA, 2002; KUKITA et al., 2015; OROMI et al., 2015; LOMAN, 2002; SANUY; OROMÍ; GALOFÉ, 2008) que, por sua vez, são consideradas importantes na determinação do desempenho durante fases posteriores (LINDSTRÖM, 1999; MOUSSEAU; FOX, 1998) ou, até mesmo, responsáveis por causar mortalidade larvária nos micro-habitats aquáticos (BROCKELMAN, 1969; CALEF, 1973; NEWMAN, 1987; SMITH, 1983).

Neste contexto, nosso objetivo foi analisar se o aumento da temperatura da água influencia na taxa de eclosão, sobrevivência e desenvolvimento de ovos de anuros neotropicais *Dendropsophus haddadi*, *Scinax juncae*, *Sphaenorhynchus prasinus* (Hylidae) e *Rhinella crucifer* (Bufonidae). Assim nossa hipótese é que as taxas de eclosão, sobrevivência e desenvolvimento dos ovos serão afetadas pelo aumento da temperatura da água. Esperamos que quando comparado ao controle, no cenário de temperatura alta o tempo de eclosão dos ovos seja mais rápido, a taxa de eclosão seja reduzida, assim como a taxa de sobrevivência. Espera-se também que o desenvolvimento seja afetado pela temperatura alta, levando a girinos de menor tamanho e com estágio de desenvolvimento mais avançado.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Coleta de dados

Os indivíduos foram coletados em uma cabruca (região da mata atlântica que foi substituída por um sistema agroflorestal de plantio de cacau, sombreado por plantas nativas) no campus da Universidade Estadual de Santa Cruz (14 ° 47'45 "S, 39 ° 10'20"W) no município de Ilhéus, Bahia, Brasil. Na cabruca, a vegetação de sub-bosque é removida e substituída pelo plantio de cacau, o qual permanece sombreado pelas árvores de grande porte (SAMBUICHI, 2002). Por isso, o sistema de Cabruca acaba favorecendo a conservação de muitas espécies de animais e plantas (e.g., THOMAS et al., 1998), permitindo dessa forma conservar taxas de umidade similares às áreas de mata menos impactadas (SOLÉ et al., 2009). A região Sul da Bahia apresenta um clima quente e úmido, com temperaturas que variam entre 22°C a 25°C e precipitação média variando entre 1.200 mm e 2000 mm distribuídas ao longo do ano (SAMBUICHI, 2012).

O estudo foi composto por diferentes espécies em momentos distintos: momento A e momento B. Em ambos, as coletas de desovas e casais em amplexos ocorreram por meio de busca ativa: no dia 15 de julho de 2018 para o momento A e 25 de julho de 2018 para o momento B, durante a noite (18:30h - 00:00h) em uma poça semi-permanente localizada no interior da cabruca no campus da Universidade. Como observado no estudo de Tejedo et al., (2012) a poça apresenta baixa variação de temperatura da água com médias de 22.95°C ± 1.24°C para o ano, e 23.8°C ± 0.16°C para os meses mais quentes (22 de dezembro a 20 de março).

5.2. Espécies alvo

Momento A: No total foram coletadas 12 desovas de *Dendropsophus haddadi* (BASTOS; POMBAL, 1996), quatro casais em amplexo de *Scinax juncae* (NUNES; POMBAL, 2010) e dois casais em amplexo de *Sphaenorhynchus prasinus* (BOKERMANN, 1973). As desovas e os casais encontrados foram acondicionados, separadamente, em sacos plásticos contendo um pouco de água e vegetação, e foram encaminhadas para o Laboratório de Herpetologia Tropical da UESC para aclimatação e preparação do experimento. As desovas de *D. haddadi* selecionadas durante a coleta

apresentavam estágio de desenvolvimento similar, as quais foram aparentemente depositadas no mesmo dia. Após a desova, os casais de *S. juncae* e *S. prasinus* foram liberados na poça de origem.

Dendropsophus haddadi é uma espécie que se distribui por todo o leste do estado do Espírito Santo, Pernambuco, Bahia, Sergipe e Alagoas, leste do Brasil e com localidade tipo em Conceição da Barra, estado do Espírito Santo (FROST, 2018). Os indivíduos dessa espécie são arborícolas vivendo em áreas abertas ou florestadas e se reproduzindo em poças ou lagos, possuindo modo reprodutivo tipo 24: onde os girinos exotróficos eclodem ainda na árvore e caem em água parada até completar o seu desenvolvimento (HADDAD et al., 2013). As desovas dessa espécie podem ser depositadas nas folhas, tronco ou ramos, com número médio de 29 ovos por desova onde todos os ovos são protegidos por uma única camada gelatinosa (SILVA et al., 2019).

Scinax juncae está distribuída pelo sul do estado da Bahia, nordeste do Brasil e uma localidade no nordeste do estado de Minas Gerais, sudeste do Brasil, com localidade tipo em Igrapiúna, Bahia, Brasil na reserva ecológica da Michelin (FROST, 2018) Nessa espécie os anuros possuem hábito arborícola, vivendo em áreas com cobertura vegetal abundante ou no interior das matas se reproduzindo em poças ou lagos, e possuem modo reprodutivo tipo 1: com ovos e girinos exotróficos que se desenvolvem em água parada (HADDAD et al., 2013).

Sphaenorhynchus prasinus se distribui pelo estado da Bahia, Minas Gerais, Pernambuco e Alagoas no Brasil, com localidade tipo na cidade de Ilhéus-BA (FROST, 2018). Os anuros dessa espécie possuem hábito arborícola vivendo em áreas abertas ou florestadas se reproduzindo em poças ou lagos, e possuem modo reprodutivo tipo 1: com ovos e girinos exotróficos que se desenvolvem em água parada (HADDAD et al., 2013).

Momento B: No total foram coletadas três desovas de *Rhinella crucifer* (WIED, 1821). Antes da coleta, os casais em amplexo foram observados e monitorados até a desova, momento em que foram coletadas. As desovas encontradas foram alocadas separadamente em sacos plásticos contendo um pouco de água e vegetação, e foram encaminhadas para o Laboratório de Herpetologia Tropical da UESC para aclimação e preparação do experimento.

Rhinella crucifer é abundantemente distribuída no Nordeste e Sudeste do Brasil com localidade tipo em Itabuna-BA (FROST, 2018). Os anuros dessa espécie possuem

hábito terrícola vivendo em áreas abertas ou florestadas, e possuem modo reprodutivo tipo I ou II se reproduzindo em poças ou riachos (HADDAD et al., 2013). Suas desovas são formadas por grandes cordões gelatinosos contendo de centenas a milhares de ovos (Figura 1A). Já foram registrados e contabilizados em *Rhinella merianae* cordões contendo até mesmo 1.557 ovos (DA SILVA; SCHIESARI; MENIN, 2017).

5.2. Preparação da arena experimental

Ambos os momentos (A e B) foram conduzidos sob condições controladas de laboratório (temperatura do ar = $25 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo = 12h luz/12h escuro). Na preparação da arena experimental, utilizamos caixas plásticas (67x44x19cm) com 15 litros de água descloretada, aquecedores (Hot 200w de 100v Sarlo Better e Hopar 100w de 110v com termostato embutido), termostato Ageon G101 digital com controlador automático de temperatura, e bombas de água silenciosas Boyu, modelo S-510.

Como unidade experimental (UE), utilizamos copos plásticos redondos semi-submersos (raio = 38 cm) com capacidade de 1L. Perfuramos os copos plásticos deixando-os com duas aberturas (raio = 16 cm) com o intuito de aumentar o fluxo de água, garantindo as mesmas condições em cada UE. Neste desenho, conseguimos diminuir variações de temperaturas da água em cada UE em relação a temperatura exterior. Para que após a eclosão os girinos não escapassem de dentro dessas unidades experimentais foi posicionada uma rede de malha extrafina para cobrir essas aberturas (Figura 1B)

Utilizamos circuladores de água para garantir um maior fluxo de água fazendo com que a temperatura permanecesse mais homogênea o possível. Para observar as temperaturas das unidades experimentais, utilizamos um termômetro de mercúrio de leitura rápida Miller e Weber – precisão de 0.1°C , no qual a temperatura era revisada uma vez ao dia para obtermos a sua variação. A posição de todos os itens/equipamentos contidos nas arenas experimentais tanto no controle como no tratamento foram padronizados (Figura 1C).

Para as espécies alvo do momento A: testamos dois cenários simulados de temperatura da água (controle x tratamento). No tratamento utilizamos como modelo de temperatura estressora o valor de $38 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$, e no controle uma temperatura de $25 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$. Este valor da unidade de tratamento foi baseado no valor do CTmax dos girinos de *D. haddadi* (CTmax: 38°C), no qual era menor em vista dos valores das outras

espécies do estudo: *S. prasinus* (CTmax: 40°C) e *S. juncae* (CTmax: 40°C) (CARILO FILHO et al., dados não publicados). Os valores médios de temperatura (25°C x 38°C) foram controlados pelos termostatos e suas variações foram mensuradas diariamente em todas as unidades experimentais.

Momento B: para a espécie alvo *Rhinella crucifer* cujo CTmax é de 41°C (CARILO FILHO et al., dados não publicados), testamos dois cenários simulados de temperatura da água (controle x tratamento). No tratamento utilizamos como modelo de temperatura estressora o valor de $31 \pm 0.1^\circ\text{C}$, referente a um aumento de 6°C em relação à temperatura controle ($25 \pm 0.3^\circ\text{C}$). Este valor de aquecimento foi um pouco acima do esperado pelo cenário mais pessimista do IPCC (2014), o qual prevê um aumento de até 5,4°C no ano de 2100. Neste experimento optamos por não utilizar uma temperatura próxima ao CTmax da espécie devido ao que foi observado no experimento anterior (ver resultados). Os valores médios de temperatura (25°C x 31°C), foram controlados pelos termostatos e suas variações foram mensuradas diariamente em todas as unidades experimentais.

Anfíbios jovens e adultos costumam ser aclimatados por três dias em estudos de tolerância térmica (TEJEDO et al., 2012), no entanto, as desovas de ambos experimentos foram aclimatadas nas unidades experimentais a uma temperatura ambiente de 25°C, e por um período curto de 1 hora para que não houvesse a possibilidade de eclosão dos ovos antes da exposição aos tratamentos, uma vez que a taxa de eclosão é uma das variáveis do estudo.

5.3. Desenvolvimento Experimental

Para ambos os experimentos foram separadas duas arenas experimentais para usarmos no tratamento e outras duas para o controle. Dentro de cada arena foram posicionadas 10 unidades experimentais. As desovas foram triadas e contabilizadas com auxílio de uma pinça de ponta fina que facilitou o rompimento da massa gelatinosa, no entanto, o manuseio foi feito com cautela para que não encostassem aos ovos e eles não fossem danificados.

Momento A: para *Dendropsophus haddadi* foram depositados dez ovos de cada uma das 12 desovas aleatoriamente nas unidades, sendo que duas delas foram distribuídas mais duas vezes devido ao grande número de ovos, em seguida, distribuímos 20 ovos das quatro desovas de *Scinax juncae* e das outras duas de

Sphaenorhyncus prasinus. Portanto, o número de réplicas e total de ovos para cada uma das espécies foi: *D. haddadi* (28 réplicas = 280 ovos), *S. juncae* (8 réplicas = 160 ovos) e *S. prasinus* (4 réplicas = 80 ovos). No total foram testados 520 ovos.

Momento B: foram depositados 50 ovos em cada UE, sendo que replicamos cada uma delas 20 vezes, sendo 20 UE para o controle e 20 para o tratamento. No total foram testados 2000 ovos de *Rhinella crucifer*. Além do efeito do tratamento, buscamos também avaliar um possível efeito parental. Portanto, cada desova foi distribuída de maneira igual entre controle e tratamento. Neste desenho, a desova 01 foi preenchida com 12 réplicas, a desova 02 com 18 réplicas e a desova 03 com 10 réplicas.

Em ambos os momentos, buscamos mensurar as seguintes variáveis respostas: (i) o número de girinos maior ou igual ao estágio 22 após 9 horas de experimento (*sensu* GOSNER, 1960): A nossa primeira variável foi obtida visualmente 9 horas depois do início, para avaliar se logo nas primeiras horas de experimento já existia diferenças no estágio dos girinos entre as taxas estudadas. A definição do estágio 22 foi caracterizada pela transparência das nadadeiras por conta do aumento da circulação nas nadadeiras (GOSNER, 1960). (ii) Número de ovos não eclodidos após 24 horas: realizamos uma contagem dos ovos para extrair o número de ovos que não eclodiram. (iii) Taxa de sobrevivência dos girinos: foram realizadas contagens dos indivíduos sobreviventes 168h após a data inicial do experimento para extração dessa variável. (iv) Estágio de desenvolvimento dos girinos: as amostras foram obtidas em dois momentos distintos - após 24 horas extraímos cinco indivíduos de cada UE para avaliar o estágio de desenvolvimento médio dos indivíduos da UE (GOSNER, 1960), e após 168 horas extraímos 30 indivíduos de cada UE para avaliar o estágio de desenvolvimento médio dos indivíduos da UE (GOSNER, 1960). Todos os girinos foram extraídos com auxílio de uma pequena peneira, anestesiados em solução de benzocaína saturada e conservados dentro de tubos de plástico com formol a 10%, onde foram etiquetados e enumerados. O estágio de desenvolvimento foi analisado com auxílio de uma lupa estereoscópica. (v) comprimento total dos girinos: os mesmos girinos que tiveram o estágio de desenvolvimento avaliado em 24h e 168h foram fotografados com uma câmera com altura padronizada de 10cm, e especificações técnicas de 12 MP com lentes grande-angular, teleobjetiva e 2x de zoom óptico, onde analisamos o comprimento total médio por UE dos girinos no software ImageJ (Figura 1D). (vi) comprimento total dos girinos no estágio 27: no momento das análises dos girinos foi separada uma amostra aleatória de 200 girinos

do mesmo estágio (27 – GOSNER, 1960), sendo 100 do controle e 100 do tratamento para obtenção dessa variável.

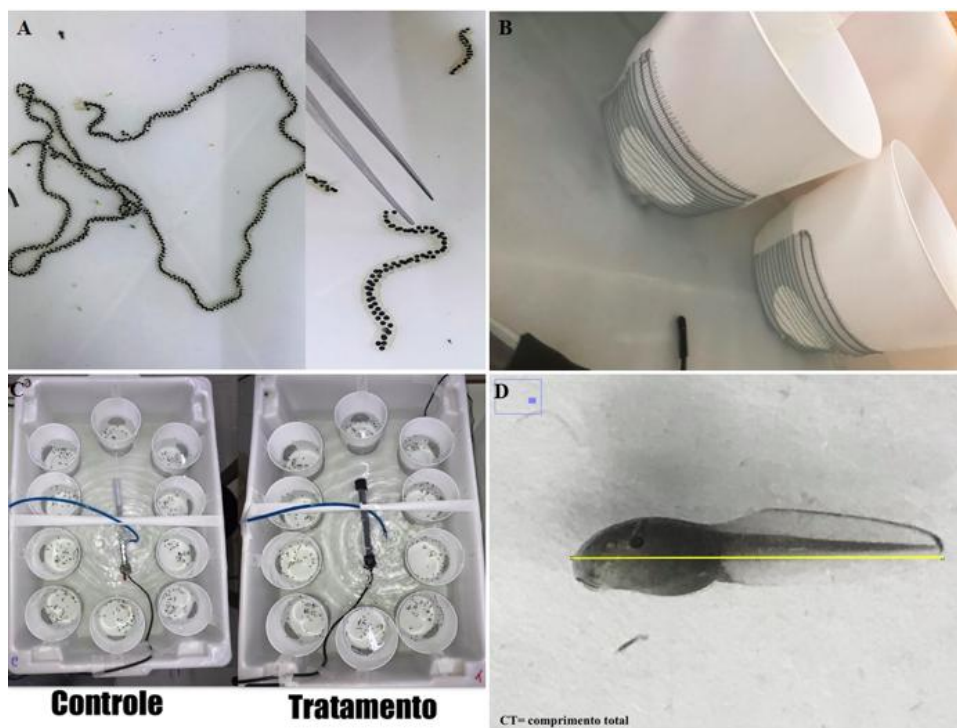


Figura 1: Sequência dos passos do momento A e B. A – Desova de *Rhinella crucifer*; B - Unidade Experimental (EU): Copos de plástico de 1L com rede extrafina; C - Padronização da arena experimental controle x tratamento; D – Variável morfométrica do comprimento total do Girino de *R. crucifer*.

5.4. Análises dos dados

Para comparar as variáveis respostas entre as taxas estudadas realizamos testes-t para variâncias separadas. Já para comparar entre as desovas (i.e. efeito do casal) realizamos ANOVA's one-way (VIEIRA, 2000), exceto para a variável de desenvolvimento dos girinos após 168h de experimento que testamos com o teste de Kruskal-Wallis (KRUSKAL; WALLIS, 1952) devido a natureza não paramétrica dos dados.

6 RESULTADOS

Momento A:

Durante o experimento observamos que nas primeiras 24 horas houve uma taxa de 100% de mortalidade para os ovos das três diferentes espécies das unidades de tratamento (38°C), enquanto que no controle (25°C) todos eles eclodiram e prosseguiram com o seu desenvolvimento (Figura 2). Não foi possível prosseguir com a análise das variáveis resposta pré-definidas devido à perda de todas as amostras no tratamento. Entretanto, consideramos que as espécies alvo do momento A foi um importante piloto para o ajuste para aquelas do segundo momento (B), assim como foi importante ao demonstrar que o limite térmico dos ovos parece ser bem menor do que o limite térmico das larvas (i.e. CTmax).

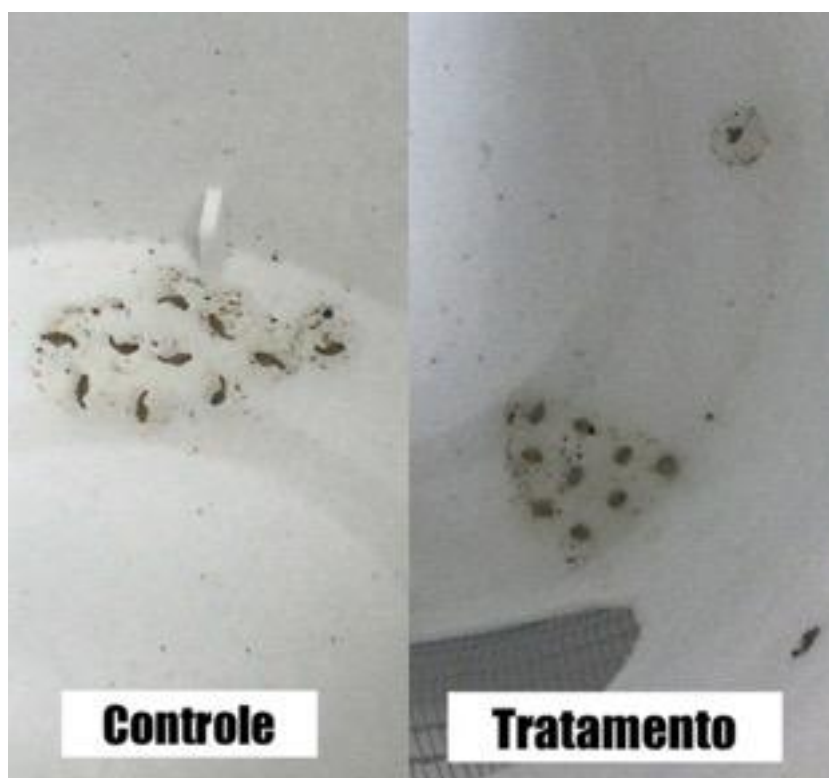


Figura 2: Desova de *Dendropsophus haddadi* após 24h de experimento no controle (25°C) se desenvolvendo, e 100% de mortalidade no tratamento (38°C). O mesmo aconteceu com as demais espécies em todas as unidades de tratamento.

6.1. Temperatura da água dos momentos A e B.

Do início ao fim do experimento, todas as unidades experimentais mantiveram-se ou se aproximaram da temperatura esperada. Portanto, a variação dos dados de temperatura em torno da média foi baixa, tanto para o controle como no tratamento (Tabela 1).

Tabela 1. Revisão de temperatura da água usadas nas unidades experimentais para os momentos A e B, e seus respectivos valores em graus célsius de média, desvio padrão, máximos e mínimos.

Tratamentos	Média (°C)	Desvio Padrão (°C)	Max (°C)	Min (°C)
Momento A	24.98	0.751	25.90	24.00
Momento B	25.29	0.305	25.80	24.80
Momento A	38.26	0.224	38.70	38.00
Momento B	30.95	0.150	31.60	30.70

Momento B:

6.2. Número de girinos com o estágio de desenvolvimento maior ou igual ao estágio 22 após 9 horas de experimento.

Nós observamos que a maior parte dos girinos no tratamento atingiram o estágio de desenvolvimento maior ou igual ao 22 após as 9 horas de experimento, enquanto que no controle nenhum deles sequer atingiu o estágio 22 ($t_{(38)} = -199.119$, $p < 0.001$; Figura 3). No total, 984 girinos estavam no estágio 22 ou posterior no tratamento, enquanto nenhum atingiu o estágio 22 no controle. Em relação aos casais, observamos a inexistência de efeito parental, pois, não houve diferença entre o número de indivíduos que atingiu o estágio 22 entre as desovas ($F_{(2)} = 0.00017$; $p = 0.999$).

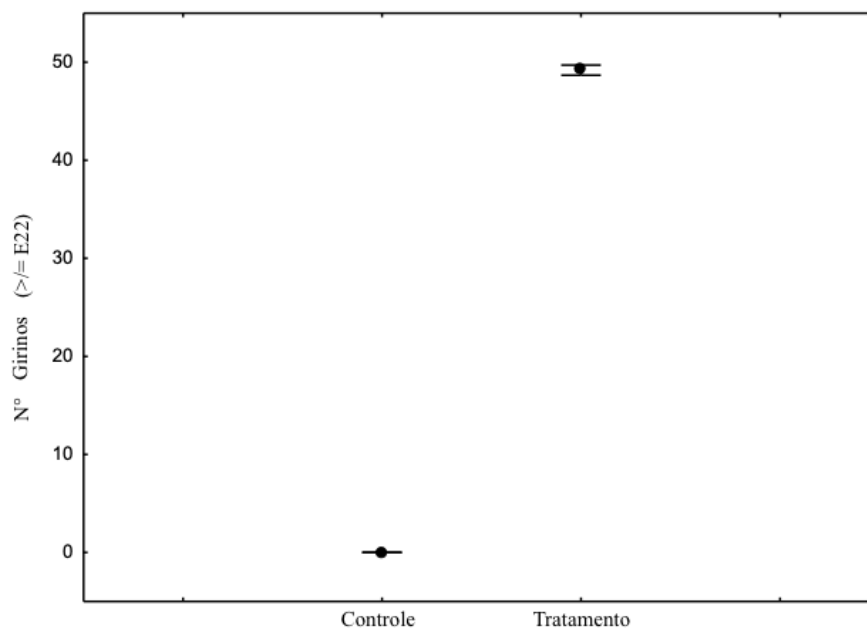


Figura 3: Diferenças entre controle e tratamento em relação ao número de girinos que apresentavam estágio de desenvolvimento maior ou igual ao estágio 22 após 9 horas de experimento. Os pontos representam a média e as barras o intervalo de confiança (95%).

6.3. Número de ovos não eclodidos após 24 horas de experimento.

Não houve diferença entre o número de ovos não eclodidos no controle e tratamento após 24 horas de experimentação ($t_{(38)} = -1.050$, $p = 0.300$). Além disso, não houve diferença entre as desovas dos diferentes casais ($F_{(2)} = 0.178$; $p = 0.836$). No tratamento apenas 12 ovos de 1000 não eclodiram, enquanto que no controle 6 de 1000 ovos não eclodiram.

6.4. Taxa de sobrevivência dos girinos.

Não houve diferença entre a taxa de sobrevivência dos girinos após 168 horas de experimento em relação ao controle e tratamento ($t_{(38)} = 0.626$, $p = 0.535$). Os números totais de girinos foram: no tratamento após 24h de experimento tínhamos 982 e após 168h no último dia de experimento sobreviveram 863, e no controle após 24h de experimento tínhamos 988 e após 168h no último dia sobreviveram 881. Além disso, não houve diferença entre os casais ($F_{(2)} = 2.178$; $p = 0.126$).

6.5. Estágio de desenvolvimento dos girinos.

Com 24 horas de experimento observamos que houve diferença no estágio de desenvolvimento entre controle e tratamento ($t_{(38)} = -44.565$, $p < 0.001$; Figura 4). No controle os girinos estavam entre o estágio 22-23 e no tratamento em estágios mais avançados entre 26-27. Além disso, não houve diferença entre os casais ($F_{(2)} = 2.178$; $p = 0.126$). Com 168 horas de experimento observamos que houve diferença no estágio de desenvolvimento entre controle e tratamento ($t_{(38)} = -23.556$, $p < 0.001$; Figura 5). No controle os girinos estavam entre estágio 26-28 e no tratamento em estágios mais avançados entre 28-30. Além disso, não houve diferença entre os casais ($F_{(2)} = 0,049$; $p = 0.975$).

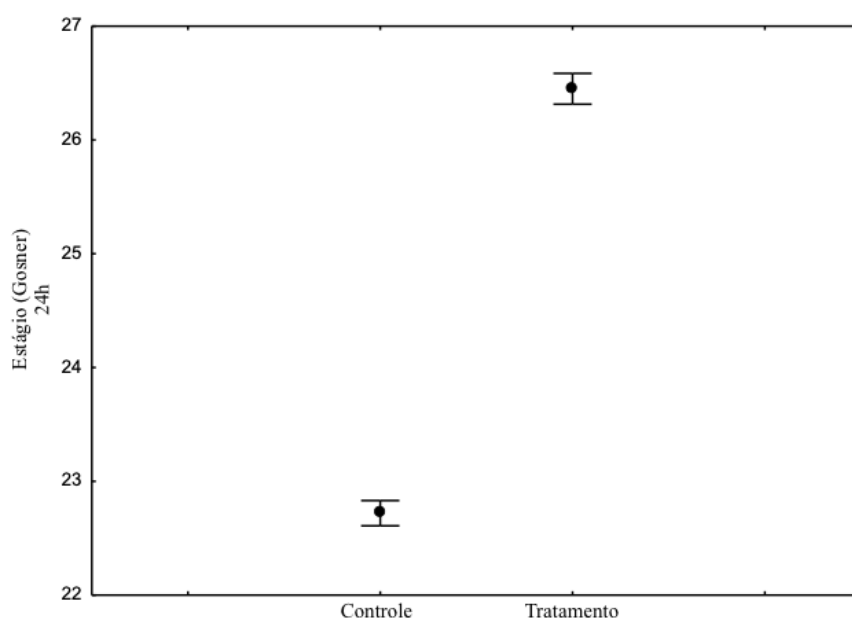


Figura 4: Diferenças entre controle e tratamento em relação ao estágio de desenvolvimento dos girinos após 24 horas de experimento ($t_{(38)} = -44.565$, $p < 0.001$). Os pontos representam a média e as barras o intervalo de confiança (95%).

6.6. Comprimento total dos girinos.

Com 24 horas de experimento observamos que houve diferença no comprimento total entre controle e tratamento ($t_{(38)} = -26.123$, $p < 0.001$; Figura 6). No controle os girinos estavam com o comprimento total médio de 7.32 ± 0.455 mm, e maiores no tratamento com o comprimento total médio de 10.30 ± 0.517 mm. Além disso, não houve diferença entre os casais ($F_{(2)} = 0,059$; $p = 0.943$). Com 168 horas de experimento observamos que houve diferenças no comprimento total entre controle e tratamento ($t_{(38)} = -2.244$, $p = 0.030$; Figura 7). No controle os girinos estavam com o comprimento

total médio de $11,06 \pm 0,539$ mm, e maiores no tratamento com o comprimento total médio de $11,29 \pm 0,587$ mm. Além disso, não houve diferença entre os casais ($F_{(2)}=2,020$; $p=0,146$).

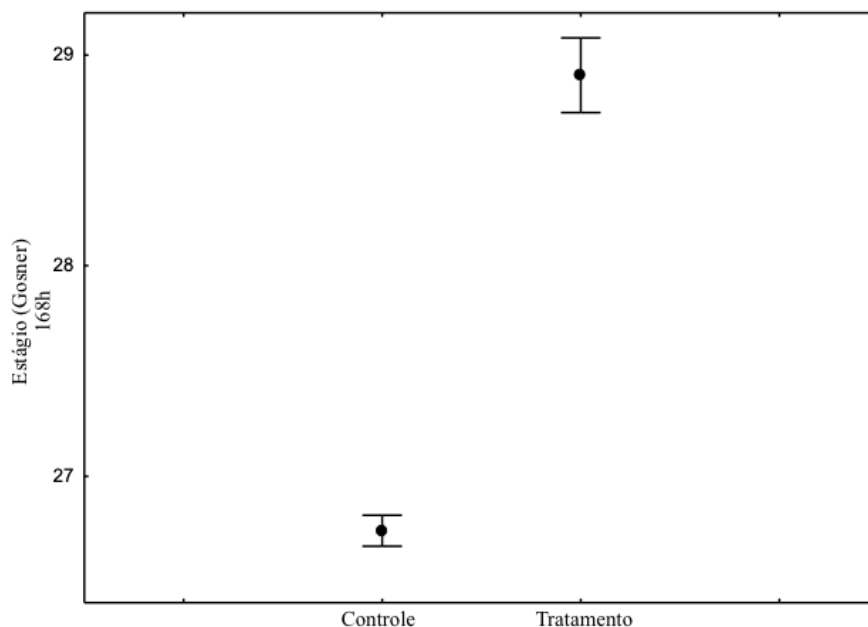


Figura 5: Diferenças entre controle e tratamento em relação ao estágio de desenvolvimento dos girinos após 168 horas de experimento ($t_{(38)}=-23,556$, $p<0,001$). Os pontos representam a média e as barras o intervalo de confiança (95%).

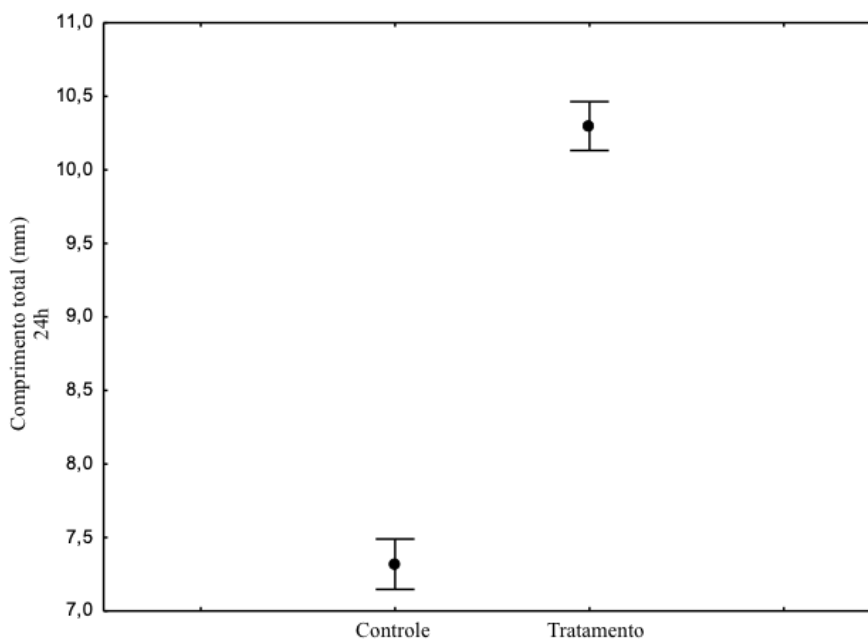


Figura 6: Diferenças entre controle e tratamento em relação ao comprimento total dos girinos após 24 horas de experimento ($t_{(38)}=-26,123$, $p<0,001$). Os pontos representam a média e as barras o intervalo de confiança (95%).

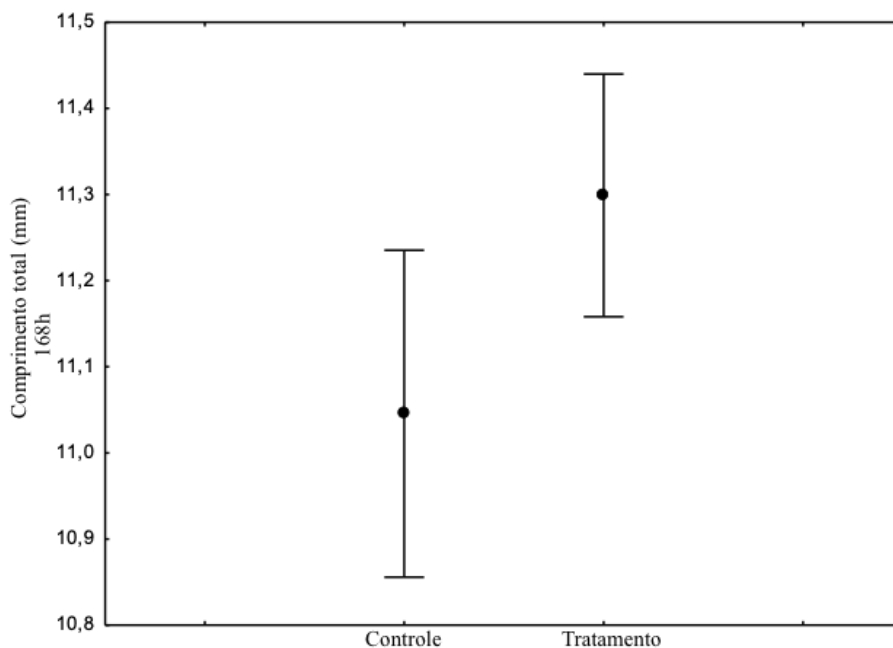


Figura 7: Diferenças entre controle e tratamento em relação ao comprimento total dos girinos após 168h horas de experimento ($t_{(38)} = -2.244$, $p = 0.030$). Os pontos representam a média e as barras o intervalo de confiança (95%).

6.7. Comprimento total dos girinos no estágio 27

Observamos que houve diferença entre controle e tratamento ($T_{(198)} = 8.035$, $p < 0.001$; Figura 8). No controle os girinos estavam com o comprimento médio de 10.67 ± 0.4 mm, e menores no tratamento $10,20 \pm 0.4$ mm.

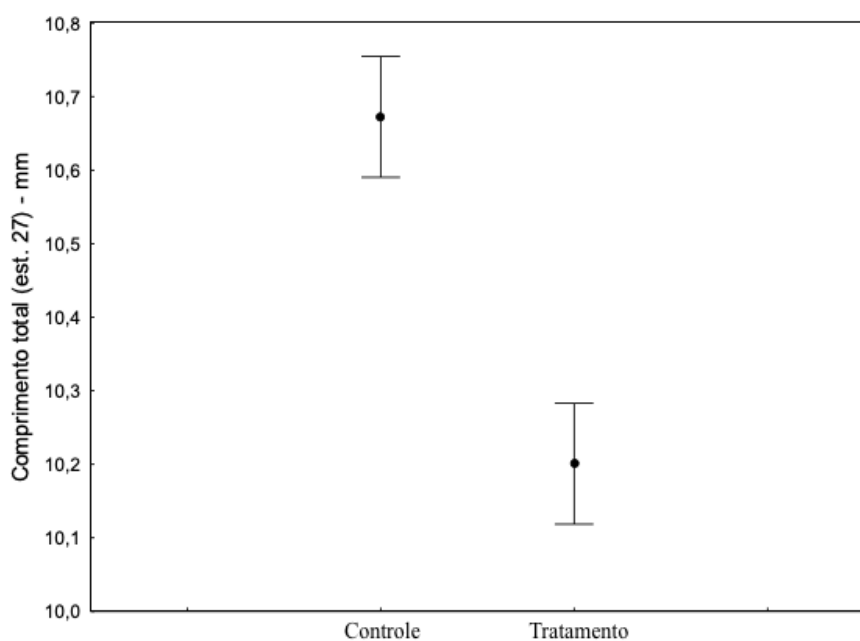


Figura 8: Diferenças entre controle e tratamento em relação ao comprimento total dos girinos no estágio 27 ($T_{(198)} = 8.035$, $p < 0.001$). Os pontos representam a média e as barras o intervalo de confiança (95%).

7 DISCUSSÃO

O aumento da temperatura da água tem a capacidade de influenciar negativamente na sobrevivência e sucesso reprodutivo de algumas espécies de anuros como *Rana sylvatica*, *Pseudocaris ornata* e *P. triseriata* (e.g., BERVEN, 1982; HARKEY; SEMLITSCH, 1988; SMITH, 1987, respectivamente).

No momento A constatamos que a temperatura da água foi letal para as desovas das espécies de *Dendropsophus haddadi*, *Scinax juncae* e *Sphaenorhynchus prasinus*, indicando que altas temperaturas podem trazer grandes problemas para a vida desses indivíduos. Temperaturas elevadas diminuem a capacidade da água de conter oxigênio dissolvido, assim, se o teor de O₂ for menor do que a demanda que o animal necessita para sobreviver, isso resultará num efeito negativo na sobrevivência dos ovos e larvas (BLAUSTEIN et al., 2010; DARROW et al., 2004). Derakhshan e Nokhbatolfoghahai (2015) registraram para as desovas de *Bufo viridis* criadas em uma temperatura de 40°C uma taxa de 100% de mortalidade dos ovos sem quaisquer indícios de desenvolvimento. Por mais que os estágios embrionários sejam menos tolerantes as altas temperaturas do que os girinos e juvenis (TURRIAGO et al., 2015), esperávamos que ao menos *S. juncae* e *S. prasinus* cujo CTmax do girino é 40°C teriam mais chances do que o *D. haddadi* com CTmax de 38°C (CARILO FILHO et al., dados não publicados) e sobreviveriam a temperatura de 38°C do tratamento. Portanto, podemos dizer que não é viável utilizar valores próximos do CTmax do girino para experimentos de eclosão e desenvolvimento de desovas. Esse estudo com o momento A serviu como uma base para determinarmos uma temperatura, para que pudéssemos observar o desenvolvimento desde a fase de ovo até girino do momento seguinte.

A temperatura atua controlando diversas funções fisiológicas em muitos organismos, agindo na locomoção, digestão, balanço hídrico, taxa de consumo de oxigênio, frequência cardíaca, função imunológica, determinação sexual e taxa de desenvolvimento (FEDER; BURGGREN, 1992). No momento B, o tempo de desenvolvimento mostrou-se consideravelmente curto para *Rhinella crucifer*, assim como já foi apontado em outros estudos para outros anuros como em *Discoglossus galganoi*, *Pelophylax lessonae* e *Xenopus laevis* (e.g., ÁLVAREZ; NICIEZA, 2002; ORIZAOLA; LAURILA, 2009; WALSH; DOWNIE; MONAGHAN, 2008, respectivamente). Em apenas 9 horas de experimento os girinos do tratamento a 31°C, já tinham atingido ou ultrapassado o estágio 22 (sensu GOSNER, 1960), enquanto que

aqueles submetidos a temperatura controle a 25°C, encontravam-se em um estágio inferior ao 22. Contudo, existe uma forte relação entre a temperatura e outros fatores. Por exemplo, para as espécies *Discoglossus galganoi* (ÁLVAREZ; NICIEZA, 2002), *Limnodynastes peronii* (JONES et al., 2015), *Neurergus microspilotus* (VAISSI; SHARIFI, 2016b) foi observado que a disponibilidade alimentar em conjunto com altas temperaturas pode influenciar negativamente em muitos aspectos do desenvolvimento dessas espécies, assim como, o hidroperíodo foi outro fator já registrado para *Rana arvalis* e *Rana temporaria* (LOMAN, 2002), que combinado com uma temperatura elevada é responsável por causar dessecação dos microambientes larvários e consequente prejuízos no desenvolvimento das espécies. Do mesmo modo, os resultados seguiram significativos após 24 e 168 horas do andamento do experimento, como esperado, os embriões e girinos se desenvolveram ligeiramente mais rápidos na temperatura mais alta a 31°C e normalmente no controle a 25°C. Resultados similares já foram registrados para outros girinos como em *Bufo bufo*, *Bufo viridis*, *Pleurodema diplolister* e *Rhinella granulosa*, *Laurasiarana temporaria* e *Epidalea calamita* (e.g., BAIER et al., 2016; DASTANSARA et al., 2017; MACIEL; JUNCÁ, 2009; OROMI et al., 2015; SANUY; OROMÍ; GALOFRÉ, 2008, respectivamente).

Em condições de temperaturas mais baixas o metabolismo dos anuros é mais lento (HOCHACHKA; SOMERO, 1973), desse modo, temperaturas mais altas poderiam estar contribuindo para um metabolismo mais acelerado podendo provocar alterações na taxa do tempo de desenvolvimento dos embriões e girinos, muitas vezes, a fim de diminuir o estresse causado pelo aumento da temperatura e livrar os embriões e girinos da morte por dessecação. Entretanto, muitos estudos já comprovaram que uma metamorfose mais acelerada pode resultar em custos de condicionamento físico para quando o indivíduo se tornar adulto, sendo esses acontecimentos já registrados para anuros como *Spea hammondi* (e.g., ARENDT, 1997) e insetos da ordem Lepidoptera como *Lasiommata petropolitana* e *L. maera* (NYLIN; GOTTHARD, 1998) e da ordem Odonata como *Chalcolestes viridis* (STOKS et al., 2006). Dessa forma, a temperatura da água será sempre um fator determinante na taxa de desenvolvimento das larvas de anfíbios (ÁLVAREZ; NICIEZA, 2002; BERVEN; GILL, 1983; LOMAN, 2002; MOORE, 1939; SMITH-GILL, 1979).

Alguns fatores são em grande parte responsáveis por aumentar a mortalidade dos ovos de anuros como exemplo, falha na hora da fertilização: *Rana temporária* (BEATTIE; RICHARD, 1992), dessecação: *Chiromantis xerampelina* (ALLINGHAM,

2017), dessecação e predação: *Dendropsophus ebraccatus* (TOUCHON; WARKENTIN, 2009), infecção fúngica: *Dendrobates ventrimaculatus* (SUMMERS, 1999) e baixas temperaturas: *Rana sylvatica* (WALDMAN, 1982). No entanto, em relação às temperaturas controle e tratamento os resultados não foram significativos para a não eclosão dos ovos de *Rhinella crucifer*, e em ambas as temperaturas os ovos eclodiram normalmente. E quando observamos a taxa de sobrevivência dos girinos, os resultados também não foram significativos para as diferenças entre controle e tratamento. Em algumas espécies de anuros como *Engystomops pustulosus*, *Rhinella humboldti*, *Boana crepitans* e *Espadarana prosoblepon*, os embriões são menos resistentes às altas temperaturas do que a fase de girino (TURRIAGO et al., 2015), portanto, por mais que os embriões sejam menos resistentes do que os girinos, o CTmax do girino do *R. crucifer* por ter uma média já registrada de 41°C (CARILO FILHO et al., dados não publicados), era de se esperar que os seus embriões não teriam problemas para ao menos eclodir em nossos tratamentos com uma temperatura de 31°C, bem como, os girinos também sobreviveriam normalmente a essa temperatura. No entanto, não poderíamos deixar de examinar essa variável uma vez que a temperatura tem grande influência sobre as mais diversas funções dos organismos.

Muitos estudos são voltados para saber a influência da temperatura após metamorfose, e em todos eles altas temperaturas são responsáveis por reduzir o tamanho metamórfico dos adultos como em *Discoglossus galganoi* (e.g., ÁLVAREZ; NICIEZA, 2002) e em *Rana lessonae* (e.g., ORIZAOLA; LAURILA, 2009). No entanto, os estudos para a relação entre a temperatura e o comprimento dos estágios larvais dos anuros são escassos. Em nossos resultados, o comprimento total dos girinos de *Rhinella crucifer* foi afetado significativamente pelo aumento da temperatura. Após 24 e 168 horas de experimento os girinos do tratamento mostraram-se com tamanhos maiores do que aqueles do controle. Era de se esperar, pois indivíduos de estágios mais avançados tende a serem maiores do que aqueles de estágios menos avançados. Contudo, após 168h houve pouca variação no tamanho dos girinos do tratamento em relação ao controle após 168h de experimento, e embora sejam estatisticamente diferentes os valores de comprimento total dos girinos ficaram bem próximos, nos indicando que por mais que eles estejam em estágios diferentes eles poderiam estar começando a reduzir o seu crescimento e avançando com o seu desenvolvimento. Contudo, quando comparamos entre os girinos com o mesmo estágio de desenvolvimento (estágio 27; GOSNER, 1960), aqueles que se desenvolveram em uma temperatura de 31°C foram

significativamente menores em comparação aos girinos que se desenvolveram à 25°C. O mesmo ocorreu com as larvas no estágio 25 do anuro de *Bufo viridis*, quando mantidas a 30°C eram menores do que as larvas em água a 8°C (DERAKHSHAN; NOKHBATOLFOGHAI, 2015). Alvarez e Nicieza (2002) e Wells (2010) indicaram que o crescimento e o período de desenvolvimento dependem da temperatura, mas que o desenvolvimento é menos sensível a mudança de temperatura do que o crescimento.

Dessa forma, eles poderiam estar começando a direcionar grande parte de sua energia para se desenvolver, e conseqüentemente, diminuindo parte dessa energia que seria para o seu crescimento, desse modo, atingindo rapidamente a fase adulta como indivíduos menores. Hochachka e Somero (1973) mostraram o efeito contrário para baixas temperaturas no qual os girinos direcionam toda a energia para o seu crescimento, e por isso eles são maiores quando adultos. A redução do tamanho dos anuros pode trazer muitas complicações para a sua forma adulta, como o aumento da mortalidade por parasitas pulmonares (KELEHEAR et al., 2009), predação por canibais (PIZZATTO; SHINE, 2008), e por outras espécies (WARD-FEAR; BROWN; SHINE, 2010), como também os anuros ficam ainda mais vulneráveis a dessecação (CHILD; PHILLIPS; SHINE, 2008). O tamanho reduzido pode ser um grande problema para a manutenção da vida desses indivíduos que além de utilizar uma poça com alto risco de dessecação para se reproduzir, também estão na presença de muitos outros estressores capazes de causar grandes problemas para as suas populações.

Em relação a todas as desovas, nenhuma das variáveis anteriores apresentou diferenças significativas entre elas. Sendo assim, o efeito vai ser o mesmo dentre as desovas, logo, os casais não diferem entre si. Assim, com esses resultados concluímos que não há efeito parental.

Grande parte dos estudos visam larvas em estágio mais desenvolvidos (i.e. 34 a 39), enquanto são escassos estudos com ovos, embriões e larvas recém eclodidas. Devem-se levar em consideração todos os estágios de vida do animal, principalmente embriões e larvas de anuros por depender ainda mais da água em seus estágios iniciais, e serem mais suscetíveis às mudanças do ambiente do que os adultos (LICHT, 1974; ZWEIFEL, 1968). A sobrevivência dos primeiros estágios de desenvolvimento é essencial porque contribui para o tamanho da população de uma espécie, assim como para a estrutura da comunidade e biodiversidade (DERAKHSHAN; NOKHBATOLFOGHAI, 2015).

Esse é o primeiro estudo que busca investigar os efeitos da temperatura no crescimento, desenvolvimento e sobrevivência da fase ovo, embriões e larvas de *Dendropsophus haddadi*, *Scinax juncae*, *Sphaenorhyncus prasinus* e *Rhinella crucifer*, em uma região neotropical de cabruca no Sul da Bahia, Brasil. Como espécies tropicais apresentam tolerância térmica reduzida (TEJEDO et al., 2012) muitos são os riscos futuros que as espécies em estudo podem sofrer para tentar escapar de condições desfavoráveis a elas. Portanto, faz-se necessário mais estudos com diferentes espécies e temperaturas nesse, ou em outros microambientes tropicais da região, possibilitando o aumento do conhecimento de suas respostas fisiológicas ao aquecimento.

REFERÊNCIAS

ALLINGHAM, S. M. **Natural Egg Mortality of the African Grey Tree Frog, *Chiromantis xerampelina* (Amphibia: Rhacophoridae).** Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry, 5(1): p.109. 2017.

ALVAREZ, D.; NICIEZA, A. G. **Effects of temperature and food quality on anuran larval growth and metamorphosis.** Functional Ecology, 16(5): p.640-648. 2002.

ANGILLETTA JÚNIOR, M. J. **Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis.** Oxford, University Press: 289pp. 2009.

ARENDDT, J.; HOANG, L. **Effect of food level and rearing temperature on burst speed and muscle composition of western spadefoot toad (*Spea hammondi*).** Functional Ecology, 19(6): p.982-987. 2005.

ARENDDT, J. **Ecological correlates of body size in relation to cell size and cell number: patterns in flies, fish, fruits and foliage.** Biological Reviews, 82(2): p.241-256. 2007.

ATKINSON, D. **Temperature and organism size: a biological law for ectotherms?** Advances in Ecological Research, 25: p.1-58. 1994.

BAIER, F.; JEDINGER, M.; GRUBER, E.; ZALLER, J. G. **Temperature-Dependence of Glyphosate-Based Herbicide's Effects on Egg and Tadpole Growth of Common Toads.** Frontiers in Environmental Science, 4(28): p.1-51. 2016.

BEATTIE, R. C.; TYLER-JONES, R. **“The Effects of Low PH and Aluminum on Breeding Success in the Frog *Rana Temporaria*.”** Journal of Herpetology, 26(4): p.353–360. 1992.

BEEBEE, T. J. C.; GRIFFITHS, R. A. **The amphibian decline crisis: a watershed for conservation biology?** Biological Conservation, 125(3): p.271-285. 2005.

BENARD, M. F.; MCCAULEY, S. J. **Integrating across life-history stages: consequences of natal habitat effects on dispersal.** The American Naturalist, 171(5): p.553-567. 2008.

BERVEN, K. A. **The genetic basis of altitudinal variation in the wood frog *Rana sylvatica*. I. An experimental analysis of life history traits.** Evolution, 36(5): p.962-983. 1982.

BERVEN, K. A.; GILL, D. E. **Interpreting geographic variation in life-history traits.** *American Zoologist*, 23(1): p.85-97. 1983.

BLAUSTEIN, A R.; WALLS, S. C.; BANCROFT, B. A.; LAWLER, J. J.; SEARLE, C. L.; GERVASI, S. S. **Direct and indirect effects of climate change on amphibian populations.** *Diversity*, 2(2): p.281-313. 2010.

BROCKELMAN, W. Y. **An analysis of density effects and predation in *Bufo americanus* tadpoles.** *Ecology*, 50(4): p.632-644. 1969.

BROWN, J. H. P.; GILLOOLY, J. F.; ALLEN, A. P.; SAVAGE, V. M.; WEST, G. B. **Toward a metabolic theory of ecology.** *Ecology*, 85(7): p.1771-1789. 2004.

BUCKLEY, L. B.; KINGSOLVER, J. G. **Functional and phylogenetic approaches to forecasting species' responses to climate change.** *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43: p. 205-226. 2012.

BURROWES, P. A.; JOGLAR, R. L.; GREEN, D. E. **Potential causes for amphibian declines in Puerto Rico.** *Herpetologica*, 60(2): p.141-154. 2004.

CALEF, G. W. **Natural mortality of tadpoles in a population of *Rana aurora*.** *Ecology*, 54(4): p.741-758. 1973.

CAREY, C.; ALEXANDER, M. A. **Climate change and amphibian declines: is there a link?** *Diversity and Distributions*, 9(2): p.111-121. 2003.

CHILD, T.; PHILLIPS, B. L.; SHINE, R. **Abiotic and biotic influences on the dispersal behavior of metamorph cane toads (*Bufo marinus*) in tropical Australia.** *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 309(4): p.215-224. 2008.

CRUMP, M. L. **Effect of habitat drying on developmental time and size at metamorphosis in *Hyla pseudopuma*.** *Copeia*, 1989(3): p.794-797. 1989.

D'AMEN, M.; BOMBI, P. **Global Warming and biodiversity: Evidence of climate-linked amphibian declines in Italy.** *Biological Conservation*, 142(12): p.3060-3067. 2009.

DARROW, J.; NULTON, A.; POMPILI, D. **Effects of temperature on the development of the wood frog, *Rana sylvatica*.** *Journal of Ecological Research*, 6: p.20-24. 2004.

DA SILVA, M. I.; SCHIESARI, L. C.; MENIN, M. **The egg clutch and tadpole of *Rhinella merianae* (Gallardo, 1965)(Anura: Bufonidae) from Central Amazonia, Brazil.** Zootaxa, 4294(1): p.145-150. 2017.

DASTANSARA, N.; VAISSI, S.; MOSAVI, J.; SHARIFI, M. **Impacts of temperature on growth, development and survival of larval *Bufo* (Pseudepidalea) *viridis* (Amphibia: Anura): implications of climate change.** Zoology and Ecology, 27(3-4): p.228-234. 2017.

DAUFRESNE, M.; LENGFELLNER, K.; SOMMER, U. **Global warming benefits the small in aquatic ecosystems.** Proceedings of the National Academy of Sciences, 106(31): p.12788-12793. 2009.

DERAKHSHAN, Z.; NOKHBATOLFOGHAI, M. **Thermal tolerance limits and effects of temperature on the growth and development of the green toad, *Bufo viridis*.** German Journal of Herpetology, 51(2): p.129-136. 2015.

DEUTSCH, C. A.; TEWKSBURY, J. J.; HUEY, R. B.; SHELDON, K. S.; GHALAMBOR, C. K.; HAAK, D. C.; MARTIN, P. R. **Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude.** Proceedings of the National Academy of Sciences, 105(18): p.6668-6672. 2008.

DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. (Eds.). **Biology of amphibians.** The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London: 613pp. 1994.

ENGELS, S.; SAUER, K. P. **Energy beyond the pupal stage: larval nutrition and its long-time consequences for male mating performance in a scorpionfly.** Journal of Insect Physiology, 53(7): p.633-638. 2007.

ENRIQUEZ-URZELAI, U.; SEBASTIÁN, O. S.; GARRIGA, N.; LLORENTE, G. A. **Food availability determines the response to pond desiccation in anuran tadpoles.** Oecologia, 173(1): p.117-127. 2013.

FEDER, M. E.; BURGGREN, W. W. (Eds.). **Environmental physiology of the amphibians.** The University of Chicago Press, Chicago and London: 646pp. 1992.

FROST, D. R. 2018. **Amphibian Species of the World: an Online Reference.** Version 6.0. American Museum of Natural History, New York. Disponível em: <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>. Acessado em: 01/11/2018.

GARDNER, T. **Declining amphibian populations: a global phenomenon in conservation biology.** Animal Biodiversity and Conservation, 24(2): p.25-44. 2001.

GIMÉNEZ, K.; ANGER, L.; TORRES, G. **Linking life history traits in successive phases of a complex life cycle: effects of larval biomass on early juvenile development in an estuarine crab, *Chasmagnathus granulata*.** *Oikos*, 104(3): p.570-580. 2004.

GOATER, C. P. **Growth and survival of postmetamorphic toads: interactions among larval history, density, and parasitism.** *Ecology*, 75(8): p.2264-2274. 1994.

GOSNER, K. L. **A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification.** *Herpetologica*, 16(3): p.183-190. 1960.

HARKEY, G. A.; SEMLITSCH, R. D. **Effects of temperature on growth, development, and color polymorphism in the ornate chorus frog *Pseudacris ornata*.** *Copeia*, 1988(4): p.1001-1007. 1988.

HELMUTH, B.; KINGSOLVER, J. G.; CARRINGTON, E. **Biophysics, physiological ecology, and climate change: does mechanism matter?** *Annual Review Physiology*, 67: p.177-201. 2005.

HELMUTH, B. **From cells to coastlines: how can we use physiology to forecast the impacts of climate change?** *Journal of Experimental Biology*, 212(6): p.753-760. 2009.

HICKLING, R.; ROY, D. B.; HILL, J. K.; FOX, R.; THOMAS, C. D. **The distributions of a wide range of taxonomic groups are expanding polewards.** *Global Change Biology*, 12(3): p.450-455. 2006.

HILL, J. K.; COLLINGHAM, Y. C.; THOMAS, C. D.; BLAKELEY, D. S.; FOX, R.; MOSS, D.; HUNTLEY, B. **Impacts of landscape structure on butterfly range expansion.** *Ecology Letters*, 4(4): p.313-321. 2001.

HOCHACHKA, P. W.; SOMERO, G. N. (Eds.). **Strategies of biochemical adaptation.** W. B. Saunders Co., Philadelphia, Pennsylvania: 358pp. 1973.

HOFFMANN, M.; HILTON-TAYLOR, C.; ANGULO, A.; BÖHM, M.; BROOKS, T. M.; BUTCHART, S. H. M.; CARPENTER, K. E.; CHANSON, J.; COLLEN, B.; COX, N. A.; DARWALL, W. R. T.; DULVY, N. K.; HARRISON, L. R. et al. **The impact of conservation on the status of the world's vertebrates.** *Science*, 330(6010): p. 1503-1509. 2010.

HUEY, R. B.; STEVENSON, R. D. **Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches.** *American Zoologist*, 19(1): p.357-366. 1979.

HULBERT, A. J.; PAMPLONA, R.; BUFFENSTEIN, R.; BUTTEMER, W. A. **Life and death: metabolic rate, membrane composition, and life span of animals.** *Physiological Reviews*, 87(4): p.1175-1213. 2007.

IPCC [INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE]-2014. **Climate Change 2014: Synthesis Report.** In: TEAM, C. W.; PACHAURI, R. K.; MEYER, L. (Eds.). *Contribution of Working Groups I, II and III to Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* IPCC, Geneva, Switzerland: 151pp. 2014.

JONES, S. K. C.; MUNN, A. J.; PENMAN, T. D.; BYRNE, P. G. **Long-term changes in food availability mediate the effects of temperature on growth, development and survival in striped marsh frog larvae: implications for captive breeding programmes.** *Conservation Physiology*, 3(1): p.1-12. 2015.

KEARNEY, M.; PHILLIPS, B. L.; TRACY, C. R.; CHRISTIAN, K. A.; BETTS, G.; PORTER, W. P. **Modelling species distributions without using species distributions: the cane toad in Australia under current and future climates.** *Ecography*, 31(4): p.423-434. 2008.

KELEHEAR, C.; WEBB, J. K.; SHINE, R. ***Rhabdias pseudosphaerocephala* infection in *Bufo marinus*: lung nematodes reduce viability of metamorph cane toads.** *Parasitology*, 136(8): p.919-927. 2009.

KINGSOLVER, J. G.; WOODS, H. A. **Thermal sensitivity of growth and feeding in *Manduca sexta* caterpillars.** *Physiological Zoology*, 70(6): p.631-638. 1997.

KOLLROS, J. J. **Mechanisms of amphibian metamorphosis: hormones.** *American Zoologist*, 1(1): p.107-114. 1961.

KRUSKAL, W. H.; WALLIS, W. A. **Use of ranks in one-criterion variance analysis.** *Journal of the American Statistical Association*, 47(260): p.583-621. 1952

KUKITA, S.; GOUDA, M.; IKEDA, S.; ISHIBASHI, S.; FURUYA, T.; NAKAMURA, K. **Effects of photoperiod and temperature on growth and development in clouded salamander (*Hynobius nebulosus*) larvae.** *Zoological Science*, 32(3): p.266-271. 2015.

LEVINTON, J. S. **The latitudinal compensation hypothesis: growth data and a model of latitudinal growth differentiation based upon energy budgets. I. Interspecific comparison of *Ophryotrocha* (Polychaeta: Dorvilleidae).** *The Biological Bulletin*, 165(3): p.686-698. 1983.

LICHT, L. E. **Survival of embryos, tadpoles, and adults of the frogs *Rana aurora* and *Rana pretiosa* sympatric in southwestern British Columbia.** Canadian Journal of Zoology, 52(5): p.613-627. 1974.

LINDSTRÖM, J. **Early development and fitness in birds and mammals.** Trends in Ecology & Evolution, 14(9): p.343-348. 1999.

LOMAN, J. **Temperature, genetic and hydroperiod effects on metamorphosis of brown frogs *Rana arvalis* and *R. temporaria* in the field.** Journal of Zoology, 258(1): p.115-129. 2002.

LONSDALE, DARCY J.; LEVINTON, JEFFREY S. **Latitudinal differentiation in copepod growth: an adaptation to temperature.** Ecology, 66 (5): p. 1397-1407, 1985.

MACIEL, T. A.; JUNCÁ, F. A. **Effects of temperature and volume of water on the growth and development of tadpoles of *Pleurodema diplolister* and *Rhinella granulosa* (Amphibia: Anura).** Zoologia, 26(3): p. 2009.

MARTIN, L. B.; HOPKINS, W. A.; MYDLARZ, L. D.; ROHR, J. R. **The effects of anthropogenic global changes on immune functions and disease resistance.** Annals of the New York Academy of Sciences, 1195(1): p.129-148. 2010.

McLEOD, I. M.; RUMMER, J. L.; CLARK, T. D.; JONES, G. P.; McCORMICK, M. I.; WENGER, A. S.; MUNDAY, P. L. **Climate change and the performance of larval coral reef fishes: the interaction between temperature and food availability.** Conservation Physiology, 1(1): p.1-12. 2013.

McWILLIAMS, D A. **Nutrition recommendations for some captive amphibian species (Anura and Caudata).** Can Assoc Zoo Aquariums Nutr Advis Res Group: 34pp. 2008.

MILLIEN, V.; LYONS, S. K.; OLSON, L.; SMITH, F. A.; WILSON, A. B.; YOMTOV, Y. **Ecotypic variation in the context of global climate change: revisiting the rules.** Ecology Letters, 9(7): p.853-869. 2006.

MOORE, M. K.; TOWNSEND JÚNIOR, V. R. **The interaction of temperature, dissolved oxygen and predation pressure in an aquatic predator-prey system.** Oikos, 81(2): p.329-336. 1998.

MOREY, S. R.; REZNICK, D. N. **The relationship between habitat permanence and larval development in California spadefoot toads: field and laboratory comparisons of developmental plasticity.** Oikos, 104(1): p.172-190. 2004.

MOUSSEAU, T. A.; FOX, C. W. **The adaptive significance of maternal effects.** Trends in Ecology & Evolution, 13(10): p.403-407. 1998.

MUTHS, E.; BAILEY, L. L.; WATRY, M. K. **Animal reintroductions: an innovative assessment of survival.** Biological Conservation, 172: p.200-208. 2014.

NEWMAN, R. A. **Effects of density and predation on *Scaphiopus couchi* tadpoles in desert ponds.** Oecologia, 71(2): p.301-307. 1987.

NYLIN, S.; GOTTHARD, K.; WIKLUND, C. **Reaction norms for age and size at maturity in *Lasiommata butterflies*: predictions and tests.** Evolution, 50(3): p.1351-1358. 1996.

O'CONNOR, M. I.; BRUNO, J. F.; GAINES, S. D.; HALPERN, B. S.; LESTER, S. E.; KINLAN, B. P.; WEISS, J. M. **Temperature control of larval dispersal and the implications for marine ecology, evolution, and conservation.** Proceedings of the National Academy of Sciences, 104(4): p.1266-1271. 2007.

OLSSON, M.; SHINE, R. **Growth to death in lizards.** Evolution, 56(9): p.1867-1870. 2002.

ORIZAOLA, G.; LAURILA, A. **Intraspecific variation of temperature-induced effects on metamorphosis in the pool frog (*Rana lessonae*).** Canadian Journal of Zoology, 87(7): p.581-588. 2009.

OROMI, N.; CAMARASA, S.; SANUY, I.; SANUY, D. **Variation of growth rate and survival in embryos and larvae of *Rana temporaria* populations from the Pyrenees.** Acta Herpetologica, 10(2): p.85-91. 2015.

PARMESAN, C.; YOHE, G. **A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems.** Nature, 421(6918): p.37. 2003.

PECHENIK, J. A.; WENDT, D. E.; JARRETT, J. N. **Metamorphosis is not a new beginning.** Bioscience, 48(11): p.901-910. 1998.

PECHMANN, J. H. K.; SCOTT, D. E.; GIBBONS, J. W.; SEMLITSCH, R. D. **Influence of wetland hydroperiod on diversity and abundance of metamorphosing juvenile amphibians.** Wetlands Ecology and Management, 1: p.3-11. 1989.

PIZZATTO, L.; SHINE, R. **The behavioral ecology of cannibalism in cane toads (*Bufo marinus*).** Behavioral Ecology and Sociobiology, 63(1): p.123-133. 2008.

PÖRTNER, H-O. **Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in**

animals. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 132(4): p.739-761. 2002.

PÖRTNER, H. O.; FARRELL, A. P. **Physiology and climate change.** Science, 322(5902): p.690-692. 2008.

REQUES, R.; TEJEDO, M. **Reaction norms for metamorphic traits in natterjack toads to larval density and pond duration.** Journal of Evolutionary Biology, 10(6): p.829-851. 1997.

RICHTER-BOIX, A.; TEJEDO, M.; REZENDE, E. L. **Evolution and plasticity of anuran larval development in response to desiccation.** A comparative analysis. Ecology and Evolution, 1(1): p.15-25. 2011.

ROHR, J R.; RAFFEL, T. R.; ROMANSIC, J. M.; McCALLUM, H.; HUDSON, P. J. **Evaluating the links between climate, disease spread, and amphibian declines.** Proceedings of the National Academy of Sciences, 105(45): p.17436-17441. 2008

RON, S. R.; DUELLMAN, W. E.; COLOMA, L. A.; BUSTAMANTE, M. R. **Population decline of the Jambato toad *Atelopus ignescens* (Anura: Bufonidae) in the Andes of Ecuador.** Journal of Herpetology, 37(1): p.116-126. 2003.

ROWE, C. L.; DUNSON, W. A. **Impacts of hydroperiod on growth and survival of larval amphibians in temporary ponds of Central Pennsylvania, USA.** Oecologia, 102(4): p.397-403. 1995.

RUIBAL, R. **Thermal relations of five species of tropical lizards.** Evolution, 15(1): p.98-111. 1961.

SALA, O. E.; CHAPIN III, F. S.; ARMESTO, J. J.; BERLOW, E.; BLOOMFIELD, J.; DIRZO, R.; HUBER-SANWALD, E.; HUENNEKE, L. F.; JACKSON, R. B.; KINZIG, A.; LEEMANS, R.; LODGE, D. M.; MOONEY, H. A.; OESTERHELD, M.; POFF, N. L.; SYKES, M. T.; WALKER, B. H.; WALKER, M.; WALL, D. H. **Global biodiversity scenarios for the year 2100.** Science, 287(5459): p.1770-1774. 2000.

SAMBUICHI, R. H. R. **"Fitossociologia e diversidade de espécies arbóreas em cabruca (Mata Atlântica raleada sobre plantação de cacau) na região sul da Bahia, Brasil."** Acta Botânica Brasilica, 16: p.89-101. 2002.

SAMBUICHI, R. H. R.; VIDAL, D. B.; PIASENTIN, F. B.; JARDIM, J. G.; VIANA, T. G.; MENEZES, A. A.; MELLO, D. L. N.; AHNERT, D.; BALIGAR, V. C. **Cabruca agroforests in southern Bahia, Brazil: tree component, management practices and tree species conservation.** Biodiversity and Conservation, 21(4): p.1055-1077. 2012.

SANUY, D.; OROMÍ, N.; GALOFRÉ, A. **Effects of temperature on embryonic and larval development and growth in the natterjack toad (*Bufo calamita*) in a semi-arid zone.** *Animal Biodiversity and Conservation*, 31(1): p.41-46. 2008.

SCOTT, D. E. **The effect of larval density on adult demographic traits in *Ambystoma opacum*.** *Ecology*, 75(5): p.1383-1396. 1994.

SEMLITSCH, R. D. **Relationship of pond drying to the reproductive success of the salamander *Ambystoma talpoideum*.** *Copeia*, 1987(1): p.61-69. 1987.

SILVA, N. R.; NETO, J. A.; PRADO, C. P. A.; MOTT, T. **Reproductive biology of *Dendropsophus haddadi* (Bastos and Pombal, 1994), a small treefrog of the Atlantic forest.** *Herpetology*, 12: p.319-325. 2019.

SMITH, D. C. **Factors controlling tadpole populations of the chorus frog (*Pseudacris triseriata*) on Isle Royale, Michigan.** *Ecology*, 64(3): p.501-510. 1983.

SMITH, D. C. **Adult recruitment in chorus frogs: effects of size and date at metamorphosis.** *Ecology*, 68(2): p.344-350. 1987.

SMITH-GILL, S. J.; BERVEN, K. A. **Predicting amphibian metamorphosis.** *The American Naturalist*, 113(4): p.563-585. 1979.

SOLBERG, E. J.; LOISON, A.; GAILLARD, J. M.; HEIM, M. **Lasting effects of conditions at birth on moose body mass.** *Ecography*, 27(5): p.677-687. 2004.

SOLÉ, M.; DIAS, I. R.; RODRIGUES, E. A. S.; MARCIANO-JÚNIOR, E.; BRANCO, S. M. J.; CAVALCANTI, K. P.; RÖDDER, D. **Diet of *Leptodactylus ocellatus* (Anura: Leptodactylidae) from a cacao plantation in southern Bahia, Brazil.** *Herpetology Notes*, 2(2009): p.9-15. 2009.

STEPHANIE K. COURTNEY JONES, ADAM J. MUNN, TRENT D. PENMAN, PHILLIP G. BYRNE, **Long-term changes in food availability mediate the effects of temperature on growth, development and survival in striped marsh frog larvae: implications for captive breeding programmes,** *Conservation Physiology*, 3 (1), 2015.

STOKS, R.; BLOCK, M. D.; MCPEEK, M. A. **Physiological costs of compensatory growth in a damselfly.** *Ecology*, 87(6): p.1566-1574. 2006.

STUART, S. N.; CHANSON, J. S.; COX, N. A.; YOUNG, B. E.; RODRIGUES, A. S. L.; FISCHMAN, D. L.; WALLER, R. W. **Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide.** *Science*, 306(5702): p.1783-1786. 2004.

SUMMERS, K. **The effects of cannibalism on Amazonian poison frog egg and tadpole deposition and survivorship in *Heliconia axil* pools.** *Oecologia*, 119(4): p.557-564. 1999.

TEJEDO, M.; REQUES, R. **Plasticity in metamorphic traits of natterjack tadpoles: the interactive effects of density and pond duration.** *Oikos*, 71(2): p.295-304. 1994.

TEJEDO, M.; DUARTE, H.; GUIÉRREZ-PESQUERA, L. M.; BELTRAN, J. F.; KATZENBERGER, M.; MARANGONI, F.; NAVAS, C. A.; NICIEZA, A. G.; RELYEA, R. A.; REZENDE, E. L.; RICHTER BOIX, A.; SANTOS, M.; SIMON, M.; SOLÉ, M. **El estudio de las tolerancias térmicas para el examen de hipótesis biogeográficas y de la vulnerabilidad de los organismos ante el calentamiento global: ejemplos en anfibios.** *Boletín Asociación Herpetológica Española*, 32(2): p.2–27. 2012.

TEWKSBURY, J. J.; HUEY, R. B.; DEUTSCH, C. A. **Putting the heat on tropical animals.** *Science-New York Then Washington*, 320(5881): p.1296-1297. 2008.

THOMAS, W. W.; DE CARVALHO, A. M. V.; AMORIM, A. M. A.; AGARRISON, J.; ARBELA' EZ, A. L. **Plant endemism in two forests in southern Bahia, Brazil.** *Biodiversity and Conservation*, 7(3): p.311-322. 1998.

THOMAS, C. D.; CAMERON, A.; GREEN, R. E.; BAKKENES, M.; BEAUMONT, L. J.; COLLINGHAM, Y. C.; ERASMUS, B. F. N.; DE SIQUEIRA, M. F.; GRAINGER, A.; HANNAH, L.; HUGHES, L.; HUNTLEY, B.; VAN JAARVELD, A. S.; MIDGLEY, G. F.; MILES, L.; ORTEGA-HUERTA, M. A.; PETERSON, A. T.; PHILLIPS, O. L.; WILLIAMS, S. E. **Extinction risk from climate change.** *Nature*, 427(6970): p.145. 2004.

THUILLER, W.; LAVOREL, S.; ARAÚJO, M. B.; SYKES, M. T.; PRENTICE, I. C. **Climate change threats to plant diversity in Europe.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(23): p.8245-8250. 2005.

TOUCHON, J. C.; WARKENTIN, K. M. **Negative synergism of rainfall patterns and predators affects frog egg survival.** *Journal of Animal Ecology*, 78(4): p.715-723. 2009.

TURRIAGO, J. L.; PARRA, C. A.; BERNAL, M. H. **Upper thermal tolerance in anuran embryos and tadpoles at constant and variable peak temperatures.** *Canadian Journal of Zoology*, 93(4): p.267-272. 2015.

VAISSI, S.; SHARIFI, M. **Changes in food availability mediate the effects of temperature on growth, metamorphosis and survival in endangered yellow spotted**

- mountain newt: Implications for captive breeding programs.** *Biologia*, 71(4): p.444-451. 2016.
- VIEIRA, S. **Análise de variância: ANOVA.** Editora Atlas S.A: 216pp. 2000.
- WALDMAN, B. **Adaptive significance of communal oviposition in wood frogs (*Rana sylvatica*).** *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 10(3): p.169-174. 1982.
- WAKE, D B.; VREDENBURG, V. T. **Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(Supplement 1): p.11466-11473. 2008.
- WALSH, P. T.; DOWNIE, J. R.; MONAGHAN, P. **Temperature-mediated morphology changes during metamorphic climax in the African clawed frog, *Xenopus laevis*.** *Journal of Thermal Biology*, 33(4): p.244-249. 2008.
- WALTHER, G-R.; POST, E.; CONVEY, P.; MENZEL, A.; PARMESAN, C.; BEEBEE, T. J. C.; FROMENTIN, J-M.; HOEGH-GULDBERG, O.; BAIRLEIN, F. **Ecological responses to recent climate change.** *Nature*, 416(6879): p.389-395. 2002.
- WARD-FEAR, G.; BROWN, G. P.; SHINE, R. **Factors affecting the vulnerability of cane toads (*Bufo marinus*) to predation by ants.** *Biological Journal of the Linnean Society*, 99(4): p.738-751. 2010.
- WELLS, K. D. **The ecology and behavior of amphibians.** University of Chicago Press, Chicago and London: 1400pp. 2010.
- WIJETHUNGA, U.; GREENLEES, M.; SHINE, R. **Moving south: effects of water temperatures on the larval development of invasive cane toads (*Rhinella marina*) in cool-temperate Australia.** *Ecology and Evolution*, 6(19): p.6993-7003. 2016.
- YOUNG, B. E.; LIPS, K. R.; REASER, J. K.; IBÁÑEZ, R.; SALAS, A. W.; CEDEÑO, J. R.; COLOMA, L. A.; RON, S.; LA MARCA, E.; MEYER, J. R.; MUÑOZ, A.; BOLAÑOS, F.; CHAVES, G.; ROMO, D. **Population declines and priorities for amphibian conservation in Latin America.** *Conservation Biology*, 15(5): p.1213-1223. 2001.
- ZWEIFEL, R. G. **Reproductive biology of anurans of the arid Southwest, with emphasis on adaptation of embryos to temperature.** *Bulletin of the American Museum of Natural History*, New York, 140(article 1): p.1-70. 1968.

