

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

RODRIGO PIRES SANTOS

**A TEMPERATURA CRÍTICA MÁXIMA (CTMAX) DE NINFAS DE BAETIDAE E
LEPTOPHLEBIIDAE (EPHEMEROPTERA) DA MATA ATLÂNTICA DO SUL DA
BAHIA**

ILHÉUS - BAHIA

2016

RODRIGO PIRES SANTOS

Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação em zoologia da Universidade Estadual de Santa Cruz, como requisito para obtenção do grau de mestre em zoologia.

Área de concentração: zoologia aplicada

Orientador: Prof. Dr Rodolfo Mariano
Lopes da Silva

Co-orientadora: Profa. Dra. Viviana
Moreto

ILHÉUS - BAHIA

2016

S237

Santos, Rodrigo Pires.

A temperatura crítica máxima (CTmax) de ninfas de Baetidae e Leptophlebiidae (Ephemeroptera) da Mata Atlântica do Sul da Bahia / Rodrigo Pires Santos. – Ilhéus, BA: UESC, 2016.

viii, 33 f. : il.

Orientador: Rodolfo Mariano Lopes da Silva.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-graduação em Zoologia.

Referências: f. 38-47.

1. Inseto aquático – Efeito da temperatura. 2. Efemérida. 3. Leptophlebiidae. 4. Baetidae. I. Título.

CDD 595.7

RODRIGO PIRES SANTOS

A TEMPERATURA CRÍTICA MÁXIMA (CTMAX) DE NINFAS DE BAETIDAE E
LEPTOPHLEBIIDAE (EPHEMEROPTERA: INSECTA) DA MATA ATLÂNTICA DO
SUL DA BAHIA

Ilhéus _____ / _____ / _____

Comissão examinadora:

Prof. Dr. Rodolfo Mariano Lopes da Silva
UESC/DCB
(Orientador)

Prof^a. Dr^a. Viviana Moreto
FMT
(Co-Orientadora)

Prof. Dr. Luiz Carlos de Pinho
UFSC/CCB

Prof.Dr. Pedro Augusto Mendes de Castro Melo
UESC/SAT

AGRADECIMENTOS

A Deus

À Fapesb pelo financiamento.

Ao Programa de pós-graduação em zoologia e à UESC pelo espaço e oportunidade de realização do trabalho.

Aos meus professores orientadores Rodolfo Mariano Lopes da Silva e Viviana Moreto pelos ensinamentos e amizade.

À minha família pelo amor e apoio incondicional.

Aos colegas de laboratório e da turma do PPG-zoo pela amizade e agradável convivência.

A TEMPERATURA CRÍTICA MÁXIMA (CTMAX) DE NINFAS DE BAETIDAE E LEPTOPHLEBIIDAE (EPHEMEROPTERA) DA MATA ATLÂNTICA DO SUL DA BAHIA

RESUMO

Os Ephemeroptera são uma ordem de insetos aquáticos amplamente distribuída pelo mundo, no Brasil as famílias mais especiosas são Baetidae e Leptophlebiidae. Os Ephemeroptera são conhecidos pela sua sensibilidade às alterações ambientais, servindo como importantes bioindicadores. As previsões de mudanças climáticas apontam que os organismos tropicais serão os mais afetados pelo aumento de temperatura. A determinação das temperaturas críticas máximas (CTmax) desses insetos é uma importante contribuição para a estimativa dos impactos que as alterações climáticas terão sobre suas populações. Nesse trabalho foram comparadas as CTmax e a influência do tamanho corporal e sexo sobre a mesma. Os indivíduos utilizados nos experimentos pertenciam às famílias Leptophlebiidae (*Farrodes* sp. e *Simothraulopsis* sp.) e Baetidae (*Americabaetis* sp., *Cryptonympha* sp. e *Paracloeodes* sp.), coletados no Parque Estadual da Serra do Conduru-(PESC) e de *Hermanella angeli* (Leptophlebiidae), coletados na reserva ecológica da Michellin. Não houve diferença entre a CTmax das espécies *Americabaetis* sp., *Cryptonympha* sp., *Paracloeodes* sp. e *Simothraulopsis* sp., exceto por *Hermanella angeli* que apresentou CTmax muito inferior aos outros táxons. O táxon *Farrodes* sp. apresentou valores de CTmax que não apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação aos outros táxons estudados. O tamanho corporal não influenciou o valor de CTmax dos táxons estudados. As informações para o sexo só estavam disponíveis para os táxons *Hermanella angeli*, *Farrodes* sp. e *Simothraulopsis* sp. e também não influenciou no valor de CTmax desses táxons.

Palavras chave: Ephemeroptera, Baetidae, Leptophlebiidae, Temperatura crítica máxima (CTmax)

CRITICAL THERMAL MAXIMUM (CTMAX) OF BAETIDAE AND LEPTOPHLEBIIDAE (EPHEMEROPTERA) NYMPHS FROM ATLANTIC RAINFOREST OF SOUTHERN BAHIA

ABSTRACT

Ephemeroptera is an order of aquatic insects widely distributed around the world, in Brazil the most specious families are Baetidae and Leptophlebiidae. The mayflies are known for their sensitivity to environmental changes, serving as important bioindicators. Climate change predictions indicate that tropical organisms will be the most affected by rising temperatures. Determining critical maximum temperatures (CTmax) of these insects is an important contribution on the estimation of climate change impacts on their populations. In this study we compared the CTmax and the effect of body size and sex on it. The nymphs we used on this experiment were from the families Leptophlebiidae (*Farrodes* sp. and *Simothraulopsis* sp.) and Baetidae (*Americabaetis* sp., *Cryptonympha* sp. e *Paracloeodes* sp.), those were all collected in Parque Estadual da Serra do Conduru (PESC) and we also had *Hermanella angeli* (Leptophlebiidae), this one collected in Reserva ecológica da Michellin. There were no statistically significant differences in CTmax values of *Americabaetis* sp., *Cryptonympha* sp., *Paracloeodes* sp. e *Simothraulopsis* sp., except for *Hermanella angeli* that had the lowest CTmax value. The difference of *Farrodes* sp. CTmax values were not statistically significant compared to the other taxons in this study. Body size didn't affected CTmax values. Sex information was available only for *Hermanella angeli*, *Farrodes* sp. e *Simothraulopsis* sp. but it didn't affected CTmax too.

Keywords: Ephemeroptera, Baetidae, Leptophlebiidae, Critical thermal maximum (CTmax)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Exemplo de curvas de desempenho térmico de ectotérmicos de regiões temperadas e tropicais	11
Figura 2- Representação dos principais estágios de vida de Ephemeroptera ...	13
Figura 3- Ciclo de vida de Ephemeroptera	14
Figura 4- Locais de coleta	18
Figura 5- Panorama geral do equipamento utilizado nos experimentos	19
Figura 6- Nífa com o ventre voltado para cima após espasmos musculares....	20
Figura 7- Ordenação dos táxons a partir de uma PCA-	23
Figura 8- Comparação por intervalo de confiança das médias de CTmax	24
Figura 9- Ausência de interação entre o sexo e o táxon na determinação dos valores médios de CTmax	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Coordenadas das variáveis sobre os eixos da PCA.....	22
Tabela 2- Comparação da CTmax por teste de TUKEY.	24

SUMÁRIO

RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
1. INTRODUÇÃO	9
2.OBJETIVO	17
3. METODOLOGIA	18
3.1. Local e método de Coleta de indivíduos	18
3.2. Experimentos para determinação da CTmax.....	18
3.3. Análise estatística	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1 Variação da CTmax entre os táxons	22
5.CONCLUSÃO	28
6. REFERÊNCIAS.....	29

1.INTRODUÇÃO

A importância de estudos de tolerância térmica

As previsões de aquecimento global projetam um cenário de efeitos devastadores para os animais ectotérmicos caso ações de mitigação não sejam tomadas a tempo. Existem para diversos táxons, inclusive insetos, registros de movimentos de populações em direção aos pólos e para maiores altitudes. Acredita-se que esses deslocamentos sejam uma resposta à elevação das temperaturas (IPCC, 2007; IPCC, 2014). O aumento da temperatura também estaria relacionado à proliferação de espécies invasoras, à extinção de espécies termicamente especializadas (em sua maioria ectotérmicos tropicais e polares) e à extinção de polinizadores altamente especializados devido a um desencontro fenológico da planta e do polinizador possivelmente induzido por alterações na temperatura (BELLARD et al., 2012). A identificação dos organismos mais suscetíveis aos efeitos deletérios do aquecimento global e a implementação de medidas para conservação é um grande desafio para a comunidade científica (SCHWENK et al., 2009).

Apesar de a maior parte da comunidade científica aceitar que o aquecimento global representa uma ameaça para a biodiversidade, os estudos que têm tentado atribuir declínios populacionais e mudanças na distribuição das espécies ao aquecimento global, têm sido bastante criticados por fazerem inferências relacionando dados de ocorrência e climáticos sob o pressuposto de que as espécies estariam em equilíbrio com o ambiente e não considerarem fatores fisiológicos (JENSEN, 2003). O uso do conhecimento fisiológico permite desenvolver modelos para a distribuição das espécies avaliando a capacidade de resposta aos estressores e tolerâncias fisiológicas em relação às mudanças ambientais (p.ex: aquecimento global e a acidificação dos oceanos) desta forma permitindo estabelecer relações entre declínios populacionais e processos fisiológicos (COOKE et al., 2013).

Segundo Williams e colaboradores (2008) a sensibilidade de um organismo é governada por três fatores: aspectos ecológicos (interações, uso do habitat e comportamento), fisiológicos (tolerâncias e preferências climáticas) e genéticos. Dentre todos esses aspectos as tolerâncias fisiológicas são consideradas o maior restritor ecológico (CHOWN; GASTON, 2008). Dessa forma a determinação da

tolerância térmica dos organismos é um importante passo na identificação das espécies que serão mais afetadas pelo aquecimento global.

Os processos fisiológicos em animais ectotérmicos são modulados em um intervalo de temperaturas, essa relação pode ser representada graficamente por uma curva em forma de sino que inicia em uma temperatura crítica mínima (CT_{min}) de mínimo desempenho, aumenta gradualmente até uma temperatura ótima (T_{opt}) e ocorre uma redução abrupta até uma temperatura crítica máxima (CT_{max}) de mínimo desempenho (Figura 1).

A tolerância térmica é determinada pela diferença entre as temperaturas críticas mínima e máxima (CT_{max} - CT_{min}), enquanto a tolerância ao aquecimento é determinada pela diferença entre a CT_{max} e o registro máximo de temperatura em um ano (DUARTE et al., 2012), ou pela temperatura média anual (DEUTSCH et al., 2008) ou pela temperatura média registrada no verão (DIAMOND et al., 2012) (CT_{max} – T Max ou T an média ou T qt média) e é um parâmetro confiável para prever quais organismos serão mais afetados pelas mudanças climáticas.

A amplitude da tolerância térmica tende a ser maior em organismos de altas latitudes devido à maior variação de temperatura a que são expostos e por serem muito mais tolerantes ao frio, além disso, a temperatura crítica máxima varia pouco entre as latitudes, estando os organismos tropicais vivendo muito próximos de sua temperatura ótima, dessa forma, qualquer pequeno aumento de temperatura causaria um grande impacto nas populações tropicais (DEUTSCH et al., 2008).

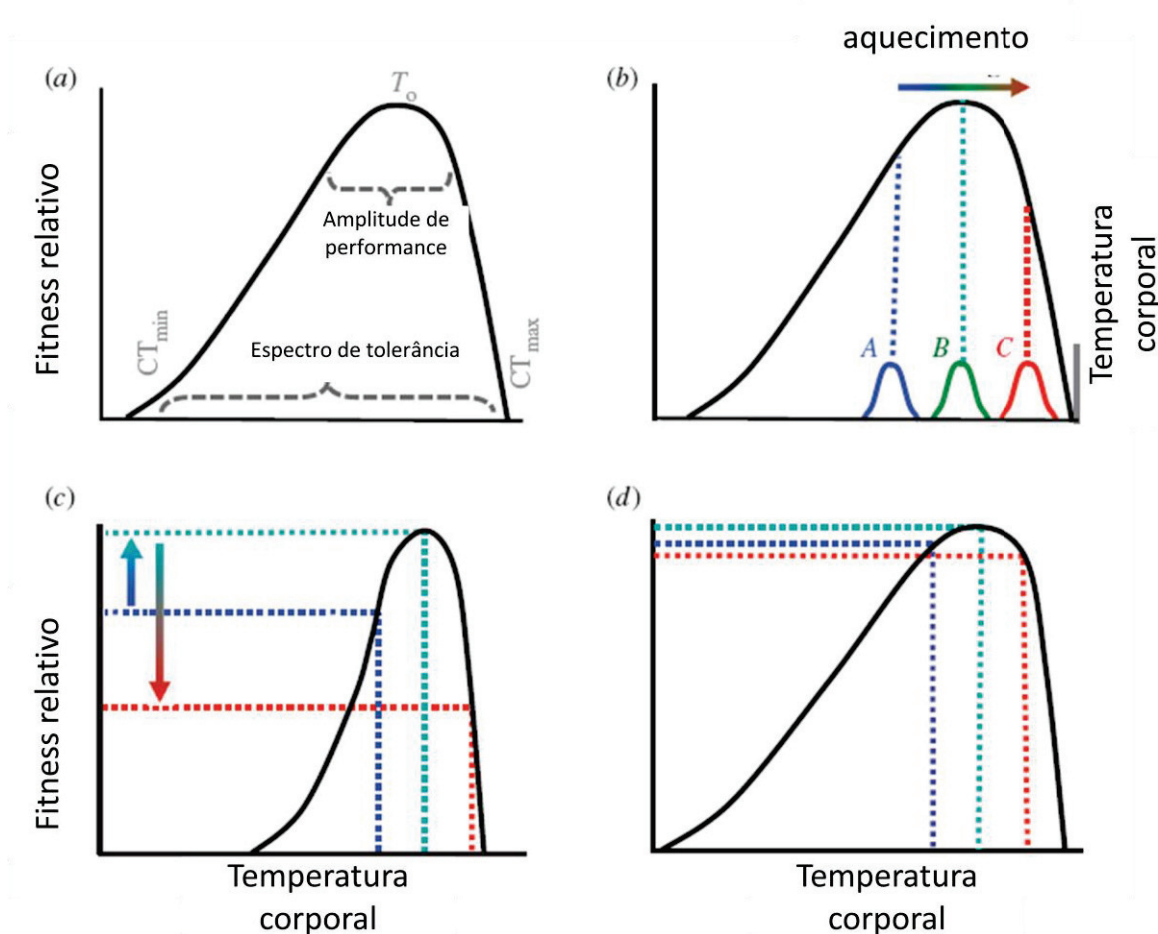


Figura 1- (a) curva de desempenho térmico de ectotérmicos com pontos cruciais: CT_{min} , T_{opt} , CT_{max} , espectro de tolerância térmica e amplitude de performance. (b) o aquecimento cria uma tendência de deslocamento das temperaturas corporais para perto da T_{opt} (A para B), aumentando o fitness, ou diminuindo o fitness (B para C). (c) curva de desempenho térmico de um especialista térmico. (d) curva de desempenho térmico de um generalista térmico
 Fonte: Adaptado de: HUEY et al. (2012).

Uma das principais conseqüências previstas que estariam relacionadas à elevação da temperatura seria a redução da distribuição geográfica das espécies devido à extinção de populações locais (PARMESAN, 2006). Uma das técnicas utilizadas para prever como essas populações serão afetadas são os modelos bioclimáticos ou (envelopes climáticos) que buscam projetar a distribuição de uma espécie em cenários futuros correlacionando os dados de ocorrência com a variação das variáveis climáticas ao longo de suas áreas de ocorrência. Porém esses modelos são muito criticados por não conseguirem estabelecer uma relação de causa e efeito, além de não considerarem outras variáveis importantes como as

interações, capacidade de dispersão e tolerâncias fisiológicas, o mais fundamental limitador à distribuição de uma espécie (PEARSON; DAWSON, 2003; KEARNEY; PORTER, 2009; BUCKLEY et al., 2010). Dessa forma tem sido dada uma grande importância no aprimoramento desses modelos para que possam ser incluídos dados sobre tolerâncias, interações e potencial de dispersão. Tais modelos têm sido denominados modelos mecanísticos. Contudo as informações requeridas para o aprimoramento desses modelos não estão disponíveis para a maioria dos locais e espécies, tornando explícita a necessidade de mais estudos que produzam informações sobre a biologia das espécies (CHOWN; GASTON, 2008).

A inclusão de informações sobre as tolerâncias fisiológicas em envelopes climáticos aumenta o poder desses modelos, tornando suas previsões sobre a distribuição das espécies em resposta ao aquecimento global mais acuradas (BUCLEY et al., 2011). Portanto o levantamento de informações sobre tolerâncias fisiológicas é uma importante contribuição para que esses modelos identifiquem as espécies mais suscetíveis aos efeitos deletérios do aquecimento global e é de extrema importância para o direcionamento eficiente de ações de conservação para a mitigação de impactos sobre esses organismos (WILLIAMS et al., 2008).

Aspectos da fisiologia térmica de Ephemeroptera

Os macroinvertebrados bentônicos representam grande parte da fauna em ambientes lênticos e lóticos, desempenhando um papel fundamental na dinâmica desses ecossistemas aquáticos. Possuem um importante papel na cadeia alimentar desses ambientes, atuando desde o processamento da matéria orgânica até como predadores, além de servirem como presas para diversos organismos, principalmente peixes (ESTEVES, 1998).

O fato de possuírem pouca vagilidade, não sendo capazes de escapar de condições desfavoráveis os tornam importantes indicadores de qualidade de água, pois o nível de tolerância dos organismos presentes representa o nível de alteração da área (HYNES, 1959).

Dentre todos os seres vivos os insetos são o grupo mais diverso possuindo papéis ecológicos fundamentais para o funcionamento dos ecossistemas (HILL; WYSE; ANDERSON, 2012; GRIMALDI; ENGEL, 2005).

A ordem Ephemeroptera é composta por 42 famílias 400 gêneros e 4000 espécies, para o Brasil são registradas 10 famílias, 77 gêneros e 345 espécies, dos quais 4 famílias, 26 gêneros e 43 espécies ocorrem na Bahia (SALLES et al., 2015). Os Ephemeroptera juntamente com os Odonata formam o grupo mais antigo de insetos alados do mundo, os Paleoptera (OGDEN; WHITING, 2003). Características como a incapacidade de dobrar as asas sobre o abdômen, a grande quantidade de veias alares, a presença de dois cercos abdominais e um filamento mediano abdominal, abdômen composto por 10 segmentos e a presença de um estágio alado imaturo sexualmente (subimago) são características que distinguem o grupo (Figura 2).

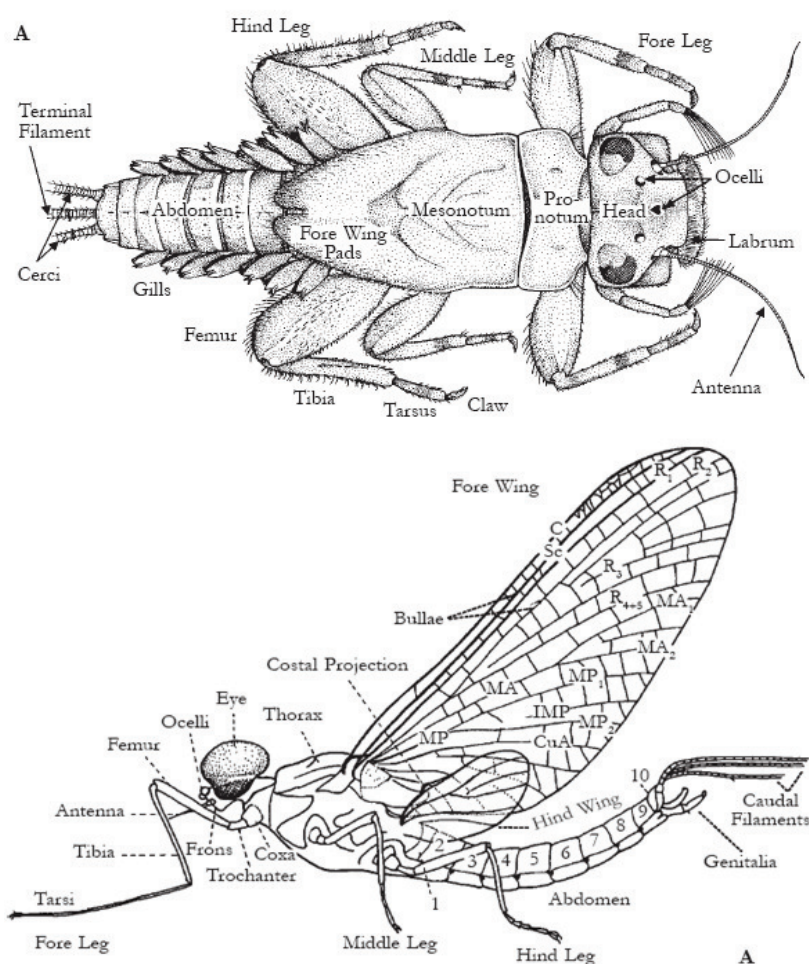


Figura 2- Representação dos dois principais estágios de vida de um Ephemeroptera: ninfa (acima) e adulto (abaixo).

Fonte: DOMINGUEZ et al. 2006

Os Ephemeroptera são importantes indicadores de qualidade de água juntamente com Plecoptera e Trichoptera por serem bastante sensíveis às alterações ambientais (ROSENBERG; RESH, 1993). O ciclo de vida é complexo envolvendo fases em ambientes aquáticos e terrestres. Esse tipo de desenvolvimento leva esses animais a sofrerem pressões evolutivas nos dois ambientes (WILBUR, 1980). O desenvolvimento é marcado por três fases: ninfa (aquática), subimago (alado, porém imaturo sexualmente) e o imago (adulto) que é encarregado da reprodução vivendo de poucas horas a alguns dias (Figura), tal característica inspira o nome da ordem (DOMINGUEZ, 2009).

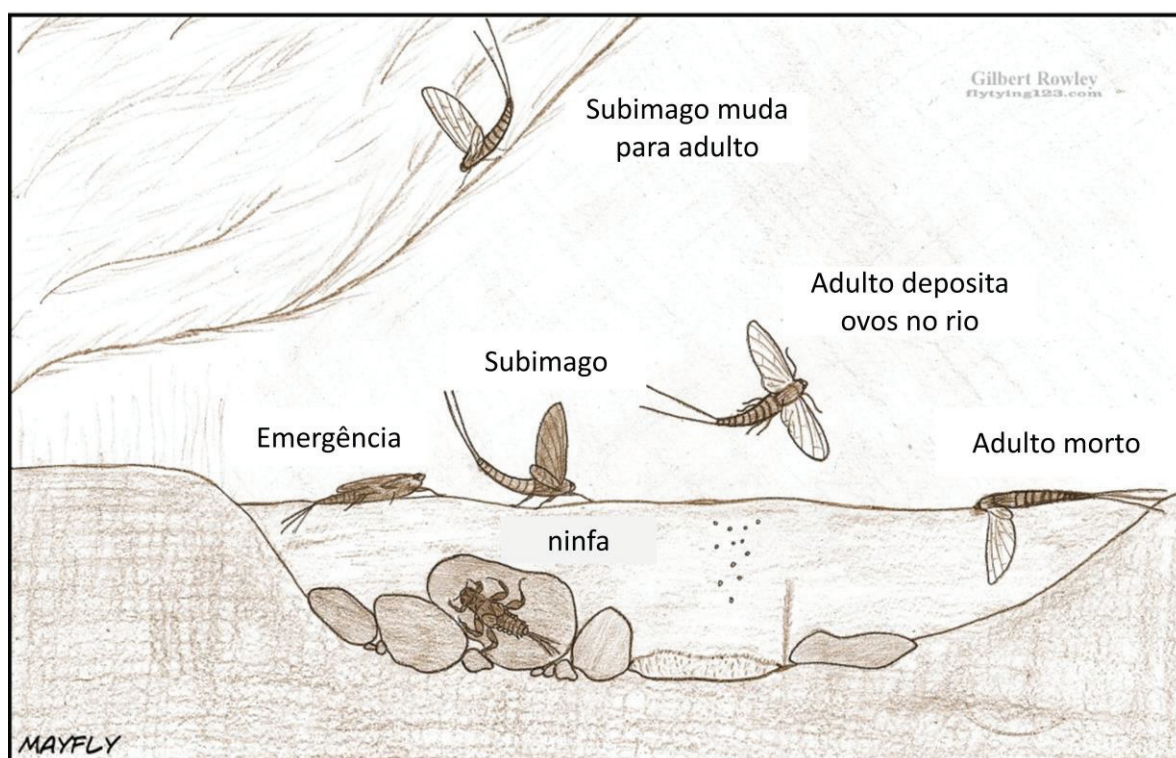


Figura 3- Fases do ciclo de vida de Ephemeroptera: ninfa (estritamente aquático.), subimago (estágio alado, porém imaturo sexualmente.) e imago (estágio adulto alado responsável pela reprodução e dispersão dos ovos.).

Fonte: (Adaptado de: <http://flytying123.com/entomology/mayfly-life-stages/>)

A distribuição e abundância desses insetos são influenciadas por diversos fatores abióticos, sendo a temperatura, tipo de substrato, quantidade de poluentes e

velocidade da correnteza os fatores que mais influenciam a sua distribuição e abundância (BRITTAİN, 1982).

Diante das perspectivas de aquecimento global (IPCC, 2007) os animais ectotérmicos são os que se encontram sob maior ameaça devido as suas funções fisiológicas básicas para a sobrevivência e reprodução serem fortemente influenciadas pela temperatura do ambiente (DEUTSCH et al., 2008).

As principais previsões dos efeitos das alterações climáticas sobre as populações de ectotérmicos seriam a aclimação (plasticidade fisiológica) ou adaptação evolutiva (seleção de genótipos favoráveis à tolerância térmica), migração, mudanças demográficas (alterações no recrutamento, mortalidade e crescimento) e a extinção caso essas populações não sejam capazes de suportar e adaptar-se às condições do ambiente alterado (BRITTAİN, 2008). O entendimento de como a interação dos fatores bióticos e abióticos afetariam o fitness e a sobrevivência das espécies é essencial para tornar mais assertivas as previsões dos efeitos das alterações climáticas sobre as populações de ectotérmicos, e para isso o levantamento de informações fisiológicas sobre suas tolerâncias a fatores abióticos como temperatura, umidade e disponibilidade de oxigênio são essenciais nesse processo (BELLARD et al., 2012).

A temperatura é crucial para o desenvolvimento dos insetos aquáticos, pois regula diversos processos fisiológicos e afeta todos os estágios de desenvolvimento (WARD; STANFORD, 1982), a exemplo: em seu trabalho Brittain & Campbell (1991) avaliaram a distribuição na Austrália do gênero *Coloburiscoides*, cujos ovos somente eclodem em temperaturas entre 15 e 25 °C e observaram que os animais eram ausentes em áreas cujas temperaturas médias excediam esse limiar e em áreas que sofreram glaciação.

Fatores como disponibilidade de alimento e velocidade da correnteza, influenciam o crescimento e a quantidade de instares durante o estágio ninfal de Ephemeroptera, porém a temperatura é o principal fator regulador do crescimento. Brittain observou que condições de frio ou calor extremos tendem a inibir o crescimento das ninfas (BRITTAİN, 1982).

A emergência da ninfa para o estágio de subimago também é bastante influenciada pela temperatura. Em baixas latitudes nos meses mais quentes e em baixas altitudes o desenvolvimento tende a ser mais rápido fazendo com que a fase ninfal seja mais curta e a emergência ocorra primeiro nessas regiões (BRITTAİN, 1982). Brittain (1975) observou em condições naturais que a emergência ocorre mais tardiamente quando o ano é mais frio e precocemente quando as temperaturas se elevam (BRITTAİN, 1976). Lyman (1944) observou que o período de duração do estágio de subimago é influenciado pela temperatura tendo maior duração em temperaturas mais baixas.

A sensibilidade dos Ephemeroptera os tornam excelentes bioindicadores de qualidade de água (ROSENBERG; RESH, 1993) essa característica pode ser de grande importância no uso desse grupo, juntamente com outros grupos que possuem alta sensibilidade térmica, como bioindicadores do efeito das alterações de temperatura sobre as populações dos sistemas aquáticos fornecendo importantes informações para a estimativa de temperaturas ideais para as comunidades em ecossistemas aquáticos continentais (DALLAS; RIVERS-MOORE, 2012).

O conhecimento taxonômico da ordem Ephemeroptera no Brasil é incipiente (SALLES, 2004), assim como o conhecimento sobre a fisiologia dos mesmos, sendo que a maioria das informações sobre a fisiologia dos Ephemeroptera estão restritas a estudos realizados com espécies do hemisfério norte. O levantamento de informações sobre as tolerâncias fisiológicas como, por exemplo, a determinação da tolerância térmica de uma espécie é essencial para a viabilização de previsões sobre como as populações de determinada espécie terão sua dinâmica e distribuição afetadas por alterações climáticas (MUSOLIN, 2007).

A temperatura pode influenciar o desenvolvimento dos Ephemeroptera em todos os estágios de vida. O aprofundamento do conhecimento da fisiologia da termorregulação e da ação da temperatura na distribuição e desenvolvimento desses animais é uma importante contribuição para futuras previsões sobre como as espécies e populações de Ephemeroptera serão afetadas por mudanças climáticas.

2. OBJETIVO

- Determinar a tolerância térmica de ninfas de espécies de Baetidae e Leptophlebiidae e identificar algumas possíveis fontes de variação (sexo e dimensão corporal).

3. METODOLOGIA

3.1. Local e método de Coleta de indivíduos

Os animais foram coletados manualmente com auxílio de rede “D”, pinças, conta gotas e bandejas na Reserva Ecológica da Michellin e no Parque Estadual da Serra do Conduru-PESC (Figura 4). Na Reserva Ecológica da Michelin foram capturados indivíduos de *Hermanella angeli* (Leptophlebiidae, n=16). A reserva abrange áreas dos municípios de Igrapiúna e Ituberá (13°50’S, 39°10’W), possui uma área de 3096 hectares com temperaturas anuais que variam entre 18 e 30 °C e a precipitação média anual varia entre 1313 e 2666 mm (http://rem.michelin.com.br/REM/reserva/?page_id=197).

No Parque Estadual da Serra do Conduru–PESC foram capturados indivíduos da família Baetidae: *Americabaetis* sp. (n=6), *Paracloeodes* sp. (n=6) e *Cryptonympha* sp. (n=5) e indivíduos da família Leptophlebiidae: *Simothraulopsis* sp. (N=36) e *Farrodes* sp. (n=4). O PESC possui uma área de 9275 hectares que abrange partes dos municípios de Ilhéus, Uruçuca e Itacaré (14°27’S, 39°5’W) (GOOGLE MAPS, 2016), possui temperatura média anual de 23 °C (<http://www.parquedoconduru.org/index.php/o-parque/ficha-tecnica>).



Figura 4 Locais de coleta: A= Reserva ecológica de Michellin, B= Parque Estadual da Serra do Conduru

3.2. Experimentos para determinação da CTmax

Os experimentos para determinação da CTmax foram realizados em recipiente de aproximadamente 500 ml preenchido com 450 ml de água desclorada colocado sobre um agitador magnético com placa aquecedora (J. P- Selecta S.A,

BCN) (Figura 5). A água dentro do recipiente conduz calor para pequenos aquários com aproximadamente 50 ml de água, onde as ninfas (individualmente) foram colocadas. Os aquários foram apoiados sobre uma placa acrílica instalada sobre o recipiente, dessa forma os aquários trocam calor com a água do recipiente e se mantêm estáticos durante o experimento. As temperaturas foram registradas com auxílio de um termômetro cloacal (MILLER E WEBER INC, NY).



Figura 5- Panorama geral do equipamento utilizado para determinação da CTmax.

Os indivíduos foram aclimatados e mantidos em bandejas plásticas, sob fotoperíodo natural (a bandeja era colocada próxima a alguma área com incidência da luz natural) e expostas à temperatura do ambiente.

A CTmax foi determinada pelo método dinâmico que consiste em elevar a temperatura do meio onde o experimento é conduzido até a temperatura em que o animal manifeste espasmos musculares (Figura 6) (LUTTERSCHMIDT; HUTCHINSON, 1997). O aquecimento usado nos experimentos foi de aproximadamente 1°C/min (mínimo de 0,8 e máximo de 1,3 °C/min).



Figura 6- Indivíduo de *Hermanella angeli* com a parte ventral do corpo voltada para cima após manifestação de espasmos musculares.

O padrão comportamental utilizado para determinação da CTmax foram os espasmos musculares que consistem na visualização de tremores que percorrem todo o corpo da ninfa. Após a visualização dos espasmos a ninfa foi retirada imediatamente e colocada em um recipiente com água à temperatura ambiente para recuperação, apenas os valores de CTmax dos indivíduos que conseguiram

sobreviver por um período de pelo menos 24 horas após os experimentos foram considerados.

Após os experimentos os indivíduos foram conservados em álcool 80% para posterior identificação, sexagem, pesagem e medição dos caracteres anatômicos: Largura e comprimento da cabeça e comprimento do corpo (tórax e abdômen).

3.3. Análise estatística

Todas as análises foram realizadas utilizando o software STATISTICA V 13.0 TRIAL (INC Statsoft, Tulsa, OK). Utilizou-se o formato de modelos lineares gerais (GLM), a partir dos quais uma ou mais variáveis preditoras podem ser analisadas através da inclusão de covariáveis e fatores categóricos preditores, estas técnicas permitem maior flexibilidade em relação a um modelo de regressão múltipla, uma vez que permitem um número maior de variáveis dependentes a serem analisadas, além de permitir transformações ou combinações lineares das mesmas, lidando melhor com possíveis problemas de redundância entre as variáveis preditoras, pois permitem soluções analíticas quando as variáveis preditoras não são linearmente independentes (<http://documents.software.dell.com/Statistics/Textbook/General-Linear-Models>).

No presente estudo a variável CTmax foi a variável resposta, o Táxon e o sexo foram utilizadas como variáveis preditoras categóricas, e a dimensão corporal, extraída dos caracteres anatômicos (peso, largura e comprimento da cabeça e comprimento do corpo) a partir do primeiro eixo principal de ordenação de uma PCA, foi utilizado como covariável, uma vez que, o tamanho corporal já se mostrou como um fator que exerce influência sobre a tolerância térmica de insetos aquáticos em diversos trabalhos (GARTEN; GENTRY, 1976; HEIMAN; KNIGHT, 1972; WILCO; BILTON, 2011).

Não houve problemas de multicolinearidade nas análises, pela pequena quantidade de variáveis preditoras utilizadas e pela fraca correlação entre as variáveis contínuas que foram utilizadas. Para as posteriores comparações das médias em pares entre os táxons foi utilizado o teste de Tukey.

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Variação da CTmax entre os táxons

A tolerância térmica é uma medida fisiológica que em diversos insetos aquáticos já se mostrou ser influenciada pelo tamanho corporal. Contudo, esses trabalhos utilizam diferentes estimadores de tamanho corporal, como Wilco & Bilton (2011) que utilizaram o peso seco e Garten & Gentry (1976) o comprimento do corpo. Dessa forma uma PCA foi realizada em diversas medidas estimadoras de tamanho corporal (peso, largura, comprimento da cabeça e comprimento do corpo) de forma que fosse criado um estimador mais adequado. Os eixos da PCA explanaram 100% da variação dos dados, sendo o primeiro componente (CP1) o mais fortemente relacionado com as variáveis estimadoras de tamanho corporal (Tabela 1).

Tabela 1. Coordenadas das variáveis sobre os eixos da PCA. CP= Componente principal

	CP1	CP2	CP 3	CP4
Comprimento do Corpo	-0,905685	0,394699	0,147797	-0,045866
Largura da Cabeça	-0,969415	0,021521	-0,129598	0,207304
Comprimento da Cabeça	-0,960435	-0,075209	-0,213873	-0,161760
Peso	-0,917954	-0,333462	0,214812	-0,004427

Os valores do primeiro eixo indicam uma forte relação das quatro variáveis com o primeiro eixo, CP1 (componente principal 1), indicando assim que esse eixo representa uma dimensão abstrata que pode ser denominada tamanho corporal ou dimensão corporal. As projeções desse eixo explicam 88,13% da variação dos dados e foi inserida em um modelo linear geral (GLM) como covariável (Figura 7).

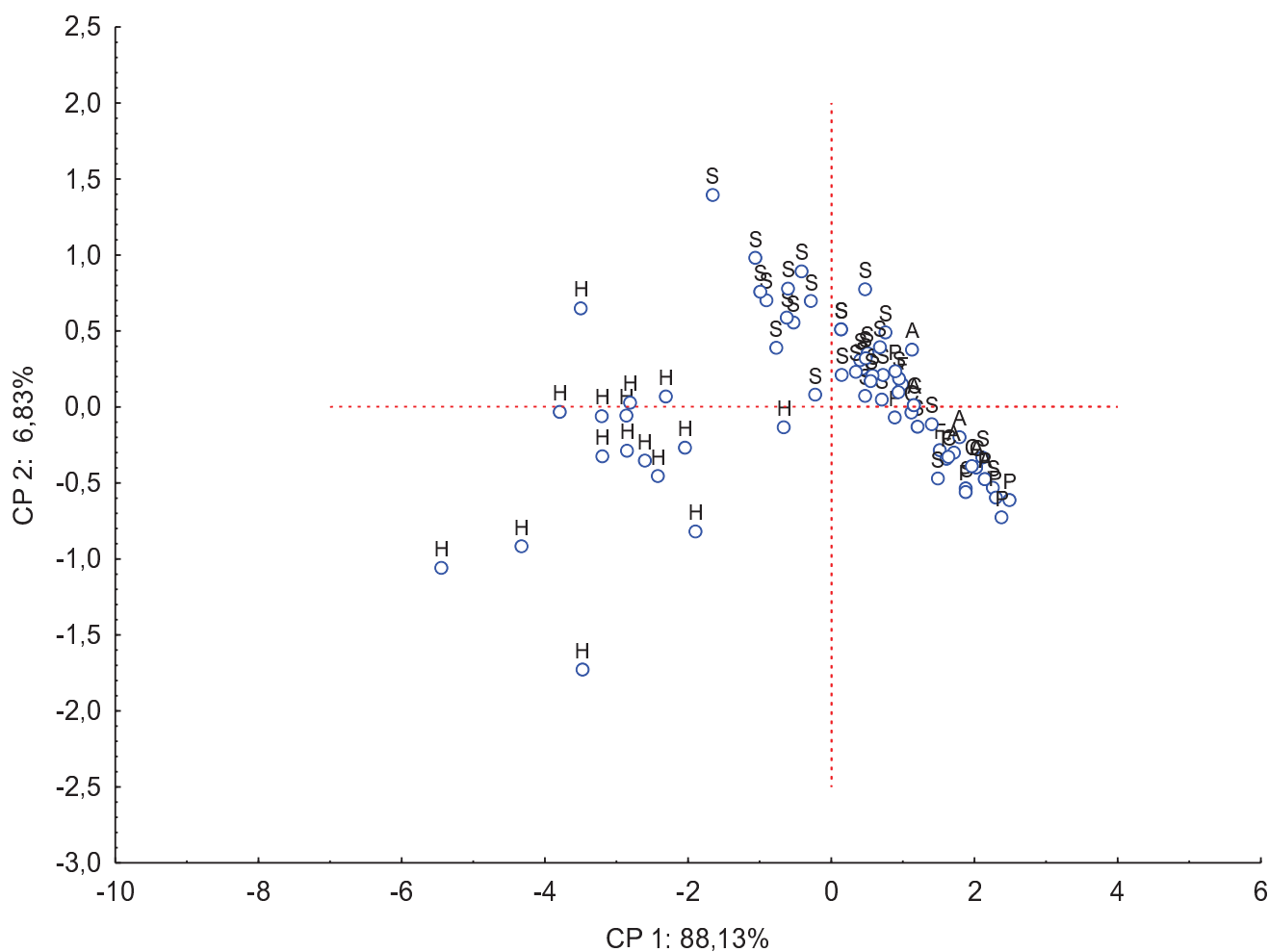


Figura 7- Gráfico de Ordenação dos Táxons a partir de uma PCA. Os dois primeiros componentes principais explicam aproximadamente 95% de toda a variação do conjunto de dados. Os táxons foram abreviados com a letra inicial dos seus nomes (H= *Hermanella angeli*, S= *Simothraulopsis* sp., F= *Farrodes* sp., A= *Americabaetis* sp., C = *Cryptonympha* sp. e P= *Paracloeodes* sp.)

Os valores de CTmax entre os táxons, incluindo o efeito do tamanho corporal, apresentaram diferença significativa ($F(5, 66)=9,7383$, $p<0,01$) (Figura 8). Os resultados obtidos por um modelo sem a inclusão da covariável foram idênticos, logo o tamanho corporal exerce pouca ou nenhuma influência sobre os valores de CTmax das espécies estudadas.

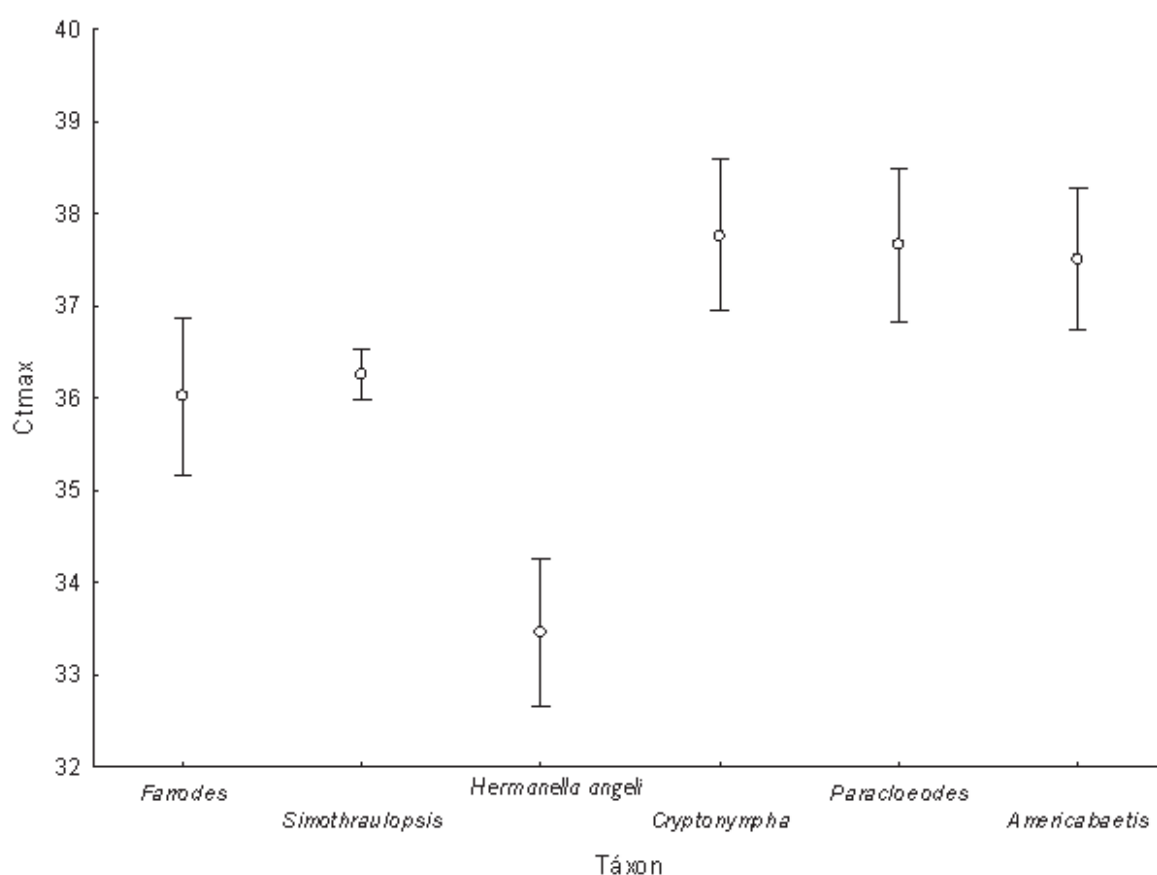


Figura 8- Gráfico da comparação por intervalo de confiança das médias da variável CTmax para os táxons estudados, incluindo o efeito do eixo da PCA que representa tamanho corporal como covariável.

A CTmax média dos táxons *Americabaetis* sp., *Cryptonympha* sp., *Paracloeodes* sp. e *Simothraulopsis* sp. foram iguais entre si exceto por *Hermanella angeli*. que apresentou uma CTmax de valor significativamente menor ao dos outros táxons anteriormente citados. O táxon *Farrodes* sp. apresentou CTmax igual a todos os outros táxons (Tabela 2).

Tabela 2- Comparação usando teste de Tukey para a variável Ctmax para os grupos estudados. Com asterisco os valores de p significativos, $p < 0,05$. MS = 0,635; GL = 66

	Táxon	1	2	3	4	5	6
1	<i>Farrodes</i> sp.		0,706281	0,270863	0,055066	0,151113	0,151113
2	<i>Simothraulopsis</i> sp.	0,706281		0,000130*	0,142415	0,418609	0,418609
3	<i>Hermanella angeli</i> .	0,270863	0,000130*		0,000130*	0,000131*	0,000131*
4	<i>Cryptonympha</i> sp.	0,055066	0,142415	0,000130*		0,991642	0,991642
5	<i>Paracloeodes</i> sp.	0,151113	0,418609	0,000131*	0,991642		1,000000
6	<i>Americabaetis</i> sp.	0,151113	0,418609	0,000131*	0,991642	1,000000	

Os valores de CTmax entre *Americabaetis* sp., *Cryptonympha* sp., *Farrodes* sp., *Paracloeodes* sp. e *Simothraulopsis* sp. não apresentarem diferença significativa é um resultado inesperado, visto que era esperado que as espécies da família Baetidae fossem mais resistentes que os Leptophlebiidae, pois geralmente se referem a eles em índices de biomonitoramento como o BMWP (Biomonitoring Working Party) e em diversos outros trabalhos como um dos táxons mais resistentes dentro da ordem Ephemeroptera (ALHEJOJ; SALAMEH; BANDEL, 2014; JÁIMEZ-CUELLAR et al. 2002; DOLISY; DOHET, 2003; BRITTAIN, 1982). A CTmax de *Hermanella angeli* ter sido menor que a de todos os outros táxons exceto *Farrodes* sp. pode estar relacionado com a temperatura do seu habitat, pois foram os únicos provenientes da reserva ecológica da Michellin e foram capturados em local com maior cobertura vegetal do que no local onde os outros táxons foram capturados no PESC, logo são provenientes de um local com menor média de temperatura (Figura 4). Alguns trabalhos com crustáceos aquáticos sugerem que há uma correlação positiva entre os limites térmicos superiores e a temperatura do habitat (STILLMAN, 2002; MADEIRA et al. 2012). Dallas & Rivers-Moore (2012) em um dos poucos trabalhos que utilizaram insetos aquáticos nesse tipo de investigação não observaram correlação entre a temperatura do habitat e os limites térmicos em *Lestagella penicillata* (Telagonodidae: Ephemeroptera), havendo diferença estatisticamente significativa entre os valores de CTmax dos animais de diferentes habitats, porém essa diferença não estava correlacionada com a temperatura do habitat.

Existem teorias macrofisiológicas que supõe que a extensão de ocorrência de uma espécie é reflexo da amplitude de seu nicho ecológico e que uma grande variação em caracteres fisiológicos é de fundamental importância para um nicho de grande amplitude, logo táxons que são amplamente distribuídos possuiriam um espectro de tolerâncias fisiológicas mais amplo que táxons mais restritos geograficamente (CALOSI et al., 2010). Tal teoria também é razoável para justificar a diferença de valores em relação a *Hermanella angeli*, visto que o gênero da *Hermanella* e *Simothraulopsis* são os que possuem distribuição mais restrita dentre todos os táxons investigados no presente estudo, destacando que as ocorrências do gênero *Hermanella* se dão principalmente em estados da região sul e sudeste do Brasil que possuem clima mais ameno comparado ao norte e nordeste onde está

concentrada a maior parte do registro de espécies do gênero *Simothraulopsis* sp. (SALLES et al., 2015). Somando-se a isso o fato de *Hermanella angeli* ter sido capturado em um ambiente onde as médias de temperatura provavelmente são menores tal justificativa é uma interessante teoria a ser testada em trabalhos futuros, visto que saber a variação geográfica das tolerância fisiológicas de uma espécie é uma informação valiosa para sua preservação (CHOWN; GASTON, 2008).

A taxa de aquecimento de 1 °C/min é aguda e mais rápida do que o que esses animais iriam vir a enfrentar na natureza, porém para um estudo comparativo onde o objetivo foi comparar a temperatura crítica máxima e não quanto à sua plasticidade entre os táxons, essa taxa de aquecimento pode ser considerada adequada. É importante que o aquecimento seja rápido o suficiente para que o animal não aclimate e a temperatura do corpo esteja igual à do meio circundante (DALLAS; RIVERS-MOORE, 2012 *apud* ERNST; BEITINGER; STUART, 1984). Portanto a taxa de 1 °C/min, é padrão na maioria dos trabalhos e é adequada para esse tipo de estudo (LUTTERSCMIDT; HUTCHINSON, 1997). A proposta de aquecimento lento começou a ser difundida depois do trabalho Terblanche et al. (2007), porém para a aplicação de uma taxa muito lenta seria necessário ter o controle de fatores que podem inflar os resultados, como estarvação e taxa metabólica (REZENDE; TEJEDO; SANTOS, 2011). A ausência de influência da dimensão corporal sobre a CTmax pode ter ocorrido devido a taxa de aquecimento não ter permitido que fatores como depleção das reservas energéticas e taxa metabólica contribuíssem, reforçando o argumento de que a taxa de 1 °C/min é adequada. Contudo estudos que investiguem a capacidade aclimatatória utilizando diferentes taxas de aquecimento são um campo bastante interessante a ser explorado no futuro.

A influência do sexo sobre a CTmax foi um fator investigado separadamente em outro modelo linear geral (GLM) devido a essas informações só estarem disponíveis para os táxons da família Leptophlebiidae. Nesse modelo o sexo não apresentou influência sobre os valores de CTmax ($F(2, 49)=,00901$, $p=,99103$) (Figura 9).

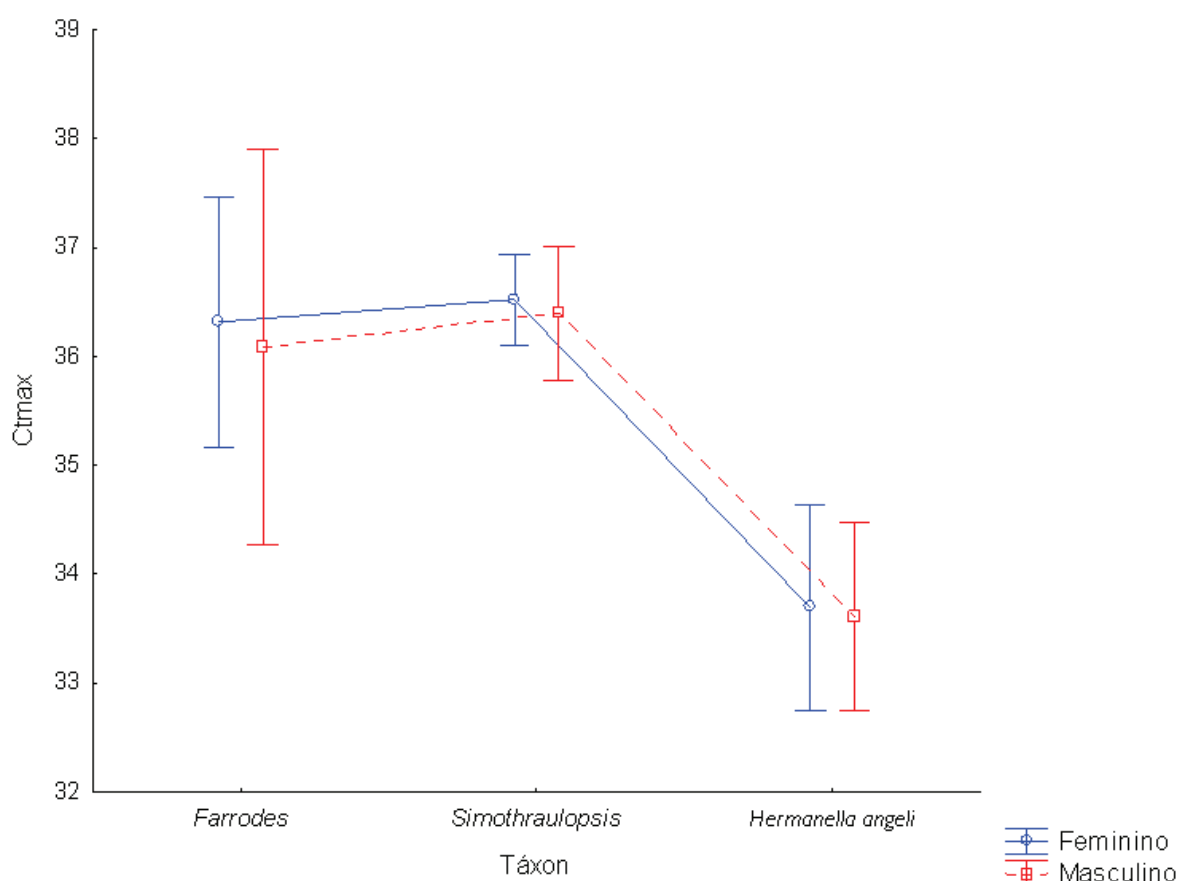


Figura 9- Ausência de interação entre as variáveis sexo e táxon na determinação dos valores médios de CTmax.

A influência do sexo sobre a tolerância térmica é um tópico pouco explorado. Em trabalhos como Folk et al. (2006) já foram atribuídos maiores valores de temperatura de “knockdown” em fêmeas de *Drosophila melanogaster* devido à maior concentração das “heat shock proteins” HSC 70 e HSP 70, abundantes nos ovários e tecidos embrionários. Contudo também existem estudos em que não houve diferença na tolerância térmica entre os sexos (STRATMAN; MARKOW, 1998; NEARGARDER; DAHLHOFF; RANK, 2003; STOTTER; TERBLANCHE, 2009; NYAMUKONDIWA; TERBLANCHE, 2009). Aliar estudos de tolerância térmica com investigações moleculares seria uma forma de elucidar esse tópico.

O conhecimento sobre a biologia dos Ephemeroptera é incipiente principalmente na região Neotropical o aumento dos estudos sobre as tolerâncias fisiológicas dos animais desta região será de extrema importância para sua conservação.

5. CONCLUSÃO

- Exceto por *Hermanella angeli* não houve diferença significativa entre a CT_{max} dos indivíduos das famílias Baetidae e Leptophlebiidae. Não há diferença significativa entre os valores de CT_{max} das espécies *Americabaetis* sp., *Cryptonympha* sp., *Paracloeodes* sp. e *Simothraulopsis* sp., exceto por *Hermanella angeli* que apresentou CT_{max} muito inferior aos outros táxons. A CT_{max} do táxon *Farrodes* sp. não apresentou diferença significativa em relação aos outros táxons estudados.
- Aspectos como o histórico térmico do gênero *Hermanella* e a temperatura do mesohabitat podem estar relacionados com sua CT_{max} inferior aos outros táxons.
- O tamanho corporal não influencia o valor de CT_{max} dos táxons estudados, em condições de aquecimento agudo.
- O sexo não influencia o valor de CT_{max} dos táxons *Hermanella angeli*, *Farrodes* sp. e *Simothraulopsis* sp..
- Mais estudos são necessários para o conhecimento da fisiologia térmica dos Ephemeroptera.

6. REFERÊNCIAS

- ALHEJOJ, I; SALAMEH, E; BANDEL, K. Mayflies (Order Ephemeroptera): An Effective Indicator of Water Bodies Conditions in Jordan. **International Journal of Scientific Research in Environmental Sciences**, v. 2, n. 10, p. 361-370, 2014.
- BELLARD, C. et al. Impacts of climate change on the future of biodiversity. **Ecology letters**, v. 15, n. 4, p. 365-377, 2012.
- BERNSTEIN, L. et al. Climate change 2007: synthesis report. Summary for policymakers. In: **Climate change 2007: synthesis report. Summary for policymakers**. IPCC, 2007.
- BRITTAIN, J. E. Biology of mayflies. **Annual review of entomology**, v. 27, n. 1, p. 119-147, 1982.
- BRITTAIN, J. E. Emergence of Ephemeroptera from Övre Heimdalsvatn, a Norwegian subalpine lake. In: **Proceedings of the Second International Conference on Ephemeroptera**, p. 115-123, 1975.
- BRITTAIN, J. E. Mayflies, biodiversity and climate change. **International Advances in the Ecology, Zoogeography and Systematics of Mayflies and Stoneflies**, v. 128, p. 1-14, 2008.
- BRITTAIN, J. E. The temperature of two Welsh lakes and its effect on the distribution of two freshwater insects. **Hydrobiologia**, v. 48, n. 1, p. 37-49, 1976.
- BRITTAIN, J. E.; CAMPBELL, I. C. The effect of temperature on egg development in the Australian mayfly genus *Coloburiscoides* (Ephemeroptera: Coloburiscidae) and its relationship to distribution and life history. **Journal of biogeography**, v. 18, n. 2, p. 231-235, 1991.
- BUCKLEY, L. B. et al. Can mechanism inform species' distribution models?. **Ecology letters**, v. 13, n. 8, p. 1041-1054, 2010.
- BUCKLEY, L. B. et al. Does including physiology improve species distribution model predictions of responses to recent climate change?. **Ecology**, v. 92, n. 12, p. 2214-2221, 2011.
- CALOSI, P. et al. What determines a species' geographical range? Thermal biology and latitudinal range size relationships in European diving beetles (Coleoptera: Dytiscidae). **Journal of Animal Ecology**, v. 79, n. 1, p. 194-204, 2010.
- CHOWN, S. L.; GASTON, K. J. Macrophysiology for a changing world. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 275, n. 1642, p. 1469-1478, 2008.

COOKE, S. J. et al. What is conservation physiology? Perspectives on an increasingly integrated and essential science†. **Conservation Physiology**, v. 1, n. 1, p. cot001, 2013.

DALLAS, H. F; RIVERS-MOORE, N. A. Critical thermal maxima of aquatic macroinvertebrates: towards identifying bioindicators of thermal alteration. **Hydrobiologia**, v. 679, n. 1, p. 61-76, 2012.

DE ASSIS ESTEVES, F. **Fundamentos de limnologia**. Interciência, 1998.

DELL. **General linear models**. Disponível em: <http://documents.software.dell.com/Statistics/Textbook/General-Linear-Models>. Acesso em: 28 jan. 2016.

DEUTSCH, C. A. et al. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 18, p. 6668-6672, 2008.

DIAMOND, S. E. et al. Who likes it hot? A global analysis of the climatic, ecological, and evolutionary determinants of warming tolerance in ants. **Global Change Biology**, v. 18, n. 2, p. 448-456, 2012.

DOLISY, D; DOHET, A. The use of Ephemeroptera to assess aquatic biodiversity in the rhithral part of the Luxembourgish rivers. **Research Update on Ephemeroptera & Plecoptera**. Universitadi Perugia, Perugia, Italy, p. 299-303, 2003.

DOMINGUEZ, E. et al. Ephemeroptera of South America, Aquatic Biodiversity of Latin America (ABLA Series). 2006.

DOMÍNGUEZ, E. **Macroinvertebrados bentônicos sudamericanos: Sistemática y biología**. Tucumán: Fundación Miguel Lillo, 2009.

DUARTE, H. et al. Can amphibians take the heat? Vulnerability to climate warming in subtropical and temperate larval amphibian communities. **Global Change Biology**, v. 18, n. 2, p. 412-421, 2012.

ERNST, M. R.; BEITINGER, T. L.; STEWART, K. W. Critical thermal maxima of nymphs of three Plecoptera species from an Ozark foothill stream. **Freshwater Invertebrate Biology**, p. 80-85, 1984.

FOLK, D. G. et al. Selection on knockdown performance in *Drosophila melanogaster* impacts thermotolerance and heat-shock response differently in females and males. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, n. 20, p. 3964-3973, 2006.

GARTEN JR, C. T.; GENTRY, J. B. Thermal tolerance of dragonfly nymphs. II. Comparison of nymphs from control and thermally altered environments. **Physiological Zoology**, p. 206-213, 1976.

GOOGLE MAPS. **Parque Estadual da Serra do Conduru**. Disponível em: <https://www.google.com.br/maps/place/14%C2%B027'12.5%22S+39%C2%B005'51.3%22W/@-14.4534678,-39.0997717,17z/data=!3m1!4b1!4m2!3m1!1s0x0:0x0>.

Acesso em: 2 mar 2016.

GRIMALDI, D; ENGEL, M. S. **Evolution of the Insects**. Cambridge University Press, 2005.

HEIMAN, D. R.; KNIGHT, A. W. Upper-lethal-temperature relations of the nymphs of the stonefly, *paragnetina media*. **Hydrobiologia**, v. 39, n. 4, p. 479-493, 1972.

HILL, R. W.; WYSE, G. A.; ANDERSON, M.. **Fisiologia animal**. Ed. Artmed, 2012

HUEY, R. B. et al. Predicting organismal vulnerability to climate warming: roles of behaviour, physiology and adaptation. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, n. 1596, p. 1665-1679, 2012.

HYNES, H. B. N. SYMPOSIUM ON WATER POLLUTION: THE USE OF INVERTEBRATES AS INDICATORS OF RIVER POLLUTION. In: **Proceedings of the Linnean Society of London**. Blackwell Publishing Ltd. p. 165-169, 1959

JÁIMEZ-CUÉLLAR, Pablo et al. Protocolo GUADALMED (prece). **Limnetica**, v. 21, n. 3-4, p. 187-204, 2002.

JENSEN, M. N. Consensus on ecological impacts remains elusive. **Science**, v. 299, n. 5603, p. 38-38, 2003.

KEARNEY, M.; PORTER, W. Mechanistic niche modelling: combining physiological and spatial data to predict species' ranges. **Ecology letters**, v. 12, n. 4, p. 334-350, 2009.

LUTTERSCHMIDT, W. I.; HUTCHISON, V. H. 1997. The critical thermal maximum: history and critique. **Canadian Journal of Zoology**, v. 75, n. 10, p. 1561-1574.

LYMAN, F. E. Effect of temperature on the emergence of mayfly imagoes from the subimago stage. **Entomol. News**, v. 55, n. 5, p. 113-115, 1944.

MADEIRA, D. et al. Thermal tolerance and potential impacts of climate change on coastal and estuarine organisms. **Journal of Sea Research**, v. 70, p. 32-41, 2012.

MUSOLIN, D. L. Insects in a warmer world: ecological, physiological and life-history responses of true bugs (Heteroptera) to climate change. **Global Change Biology**, v. 13, n. 8, p. 1565-1585, 2007.

NEARGARDER, G.; DAHLHOFF, E. P.; RANK, N. E. Variation in thermal tolerance is linked to phosphoglucose isomerase genotype in a montane leaf beetle. **Functional Ecology**, v. 17, n. 2, p. 213-221, 2003.

NYAMUKONDIWA, C.; TERBLANCHE, J. S. Thermal tolerance in adult Mediterranean and Natal fruit flies (*Ceratitis capitata* and *Ceratitis rosa*): Effects of age, gender and feeding status. **Journal of Thermal Biology**, v. 34, n. 8, p. 406-414, 2009

OGDEN, T. H.; WHITING, M. F. The problem with “the Paleoptera problem:” sense and sensitivity. **Cladistics**, v. 19, n. 5, p. 432-442, 2003.

PACHAURI, R. K. et al. Climate Change 2014: **Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. 2014

PARMESAN, C. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, p. 637-669, 2006.

PARQUE ESTADUAL DA SERRA DO CONDURU. **Ficha técnica**. Disponível em: <http://www.parquedoconduru.org/index.php/o-parque/ficha-tecnica>. Acesso em: 2 mar 2016

PEARSON, R. G.; DAWSON, T. P. Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful?. **Global ecology and biogeography**, v. 12, n. 5, p. 361-371, 2003.

RESERVA ECOLÓGICA DA MICHELIN. **Geografia física**. Disponível em: http://rem.michelin.com.br/REM/reserva/?page_id=197. Acesso em: 2 mar 2016.

REZENDE, E. L.; TEJEDO, M.; SANTOS, M. 2011. Estimating the adaptive potential of critical thermal limits: methodological problems and evolutionary implications. **Functional Ecology**, v. 25, n. 1, p. 111-121.

ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. **Fresh water biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. Chapman & Hall, 1993.

SALLES, F. F. et al. As espécies de Ephemeroptera (Insecta) registradas para o Brasil. **Biota Neotropica**, v. 4, n. 2, p. 1-34, 2004.

SALLES, F. F.; BOLDRINI, R.; NASCIMENTO, J. M. C.; ANGELI, K. B.; MASSARIOL, F. C.; RAIMUNDI, E. 2015. **Ephemeroptera do Brasil: Lista das espécies**. Disponível em: <http://www.ephemeroptera.com.br/lista>. Acesso em: 29 jan. 2016.

SCHWENK, K. et al. Grand challenges in organismal biology. **Integrative and Comparative Biology**, v. 49, n. 1, p. 7-14, 2009.

STILLMAN, J. H. Causes and consequences of thermal tolerance limits in rocky intertidal porcelain crabs, genus *Petrolisthes*. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, n. 4, p. 790-796, 2002.

STOTTER, R. L.; TERBLANCHE, J. S. Low-temperature tolerance of false codling moth *Thaumatotibia leucotreta* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) in South Africa. **Journal of Thermal Biology**, v. 34, n. 6, p. 320-325, 2009.

STRATMAN, R.; MARKOW, T. A. Resistance to thermal stress in desert *Drosophila*. **Functional Ecology**, v. 12, n. 6, p. 965-970, 1998.

TERBLANCHE, J.S.et al. 2007. Critical thermal limits depend on methodological context. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 274, n. 1628, p. 2935-2943.

VERBERK, WILCO.C. E. P.; BILTON, D. T. Can oxygen set thermal limits in an insect and drive gigantism?. **PLoS One**, v. 6, n. 7, p. e22610, 2011.

WARD, J. V.; STANFORD, J. A. Thermal responses in the evolutionary ecology of aquatic insects. **Annual review of entomology**, v. 27, n. 1, p. 97-117, 1982.

WILBUR, H. M. Complex life cycles. **Annual review of Ecology and Systematics**, p. 67-93, 1980.

WILLIAMS, S. E. et al. Towards an integrated framework for assessing the vulnerability of species to climate change. **PLoS biology**, v. 6, n. 12, p. e325, 2008.