
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AMANDA COPRIVA CLEMENTE

RESPOSTA TERMOFÍLICA PÓS-PRANDIAL
DO SAPO-CURURU, *Rhinella diptycha*



Rio Claro
2019

AMANDA COPRIVA CLEMENTE

RESPOSTA TERMOFÍLICA PÓS-PRANDIAL DO SAPO-CURURU,
Rhinella diptycha

Orientador: Prof. Dr. Denis Otávio Vieira de Andrade

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, para obtenção do grau de bacharela e licenciada em Ciências Biológicas.

Rio Claro
2019

C626r Clemente, Amanda Copriva
Resposta termofílica pós-prandial do sapo-cururu, *Rhinella diptycha* / Amanda Copriva Clemente. -- Rio Claro, 2019
23 p. : il., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado e licenciatura - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientador: Denis Otávio Vieira de Andrade

1. Fisiologia. 2. Temperatura corporal. 3. Digestão. 4. Anfíbio. 5. Anuro. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Isaias e Adriana, por me apoiarem em todas as minhas decisões e por toda a paciência durante o desenvolvimento desse trabalho. Aos meus avós, Rubens e Maria Helena, por me acolherem em sua casa. À minha irmã, Luana, pelo companheirismo e a paciência de me esperar terminar inúmeros trabalhos antes de aproveitar o fim de semana.

Às minhas amigas Natalia e Karine por todas as conversas e conselhos, e por todas as vezes que me acompanharam no laboratório no fim de semana. Obrigada pelas risadas e momentos de descontração, vocês sempre me lembram de que a vida não precisa ser tão séria.

À todos os meus colegas de graduação, em especial à Isa e à Pris. Por nossas conversas, ideias, alegrias e frustrações da graduação.

Agradeço ao meu orientador, Denis, que muito me ensinou ao longo desses anos. Obrigado por todas as orientações, inúmeras correções, conselhos, ideias, paciência e tempo.

Ao Rodrigo e ao Luis Miguel, que tiveram participação fundamental para o desenvolvimento desse trabalho. Obrigado pelas orientações, correções e aulas de estatística.

Aos colegas de laboratório Ailton, Luá, Juliana e Rodolfo pelas conversas e troca de experiências. À Rafaela e ao Thiago pela ajuda na manutenção dos animais e durante experimentos.

Agradeço ao Ayrton e ao Fernando, técnicos do laboratório, que estavam sempre dispostos a ajudar.

Agradeço à PIBIC pela bolsa de iniciação científica concedida durante o tempo de desenvolvimento desse trabalho.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e ao Laboratório de Herpetologia e Fisiologia Animal.

RESUMO

Animais ectotérmicos dependem primariamente de ajustes comportamentais conjugados com a exploração de fontes externas de calor para regulação da temperatura corpórea (T_c). Ademais, variações da T_c podem afetar significativamente a fisiologia dos organismos ectotérmicos influenciando aspectos importantes de sua reprodução, metabolismo, alimentação e digestão, entre outros. Assim, a termorregulação constitui um aspecto central da biologia dos animais ectotérmicos. Em vertebrados ectotérmicos é comum que os animais apresentem uma preferência por uma determinada temperatura ou faixa de temperatura, a qual é chamada de temperatura corpórea preferida (T_{pref}). Essa preferência, porém, pode ser alterada em função de fatores externos ou da condição dos animais. Por exemplo, animais alimentados geralmente exibem um aumento da T_{pref} – referido como resposta termofílica pós-prandial – o que potencialmente melhora o desempenho da digestão do alimento. Esta resposta é relativamente bem documentada em Squamata, porém, dentre os anfíbios anuros, são escassas as informações sobre sua ocorrência, magnitude e possíveis determinantes. Desta forma, no presente estudo, nós investigamos se o sapo cururu, *Rhinella diptycha*, altera sua preferência térmica após terem sido alimentados com presa de massa equivalente a 15% de sua massa corpórea. Para tanto, animais alimentados e em jejum foram mantidos por oito dias consecutivos em gradiente térmico com temperaturas variando de 15°C a 30°C. Durante este período, a T_c dos sapos foi continuamente monitorada com sensores de temperatura (iButtons®) implantados intraperitonealmente. Os valores de T_{pref} dos animais alimentados aumentou para níveis significativamente maiores do que os valores de T_{pref} dos animais em jejum no segundo dia após a alimentação e essa diferença se manteve até o final dos experimentos. A ocorrência de uma resposta termofílica pós-prandial em *R. diptycha* indica que esta espécie é capaz de ajustar seu comportamento termorregulatório em função da alimentação, possivelmente melhorando a eficiência da digestão.

Palavras-chave: Preferência térmica, anfíbios, digestão, alimentação, termorregulação.

ABSTRACT

Ectothermal animals depend primarily on behavioral adjustments coupled with the exploration of external heat sources to regulate body temperature (T_b). In addition, T_b variations can significantly affect the physiology of ectothermic organisms influencing important aspects of their reproduction, metabolism, feeding and digestion, among others. Thus, thermoregulation is a central aspect of the biology of ectothermal animals. In ectothermalvertebrates it is common for animals to have a preference for a particular temperature or temperature range, which is called the preferred body temperature (T_{pref}). This preference, however, can be altered in function of external factors or the condition of the animals. For example, fed animals generally exhibit an increase in T_{pref} - referred to a postprandial thermophilic response - which potentially improves food digestion performance. This response is relatively well documented in Squamata, but among anuran amphibians, information on its occurrence, magnitude and possible determinants is scarce. Thus, in the present study, we investigated whether the cururu toad, *Rhinella diptycha*, changes its thermal preference after being fed with a prey with a mass equivalent to 15% of its body mass. For this, fed and fasted animals were maintained for eight consecutive days in a thermal gradient with temperatures ranging from 15°C to 30°C. During this period, the T_b of the frogs was continuously monitored with temperature sensors (iButtons®) implanted intraperitoneally. The T_{pref} values of the fed animals increased to levels significantly higher than the T_{pref} values of fasted animals on the second day after feeding and that difference was maintained until the end of the experiments. The occurrence of a postprandial thermophilic response in *R. diptycha* indicates that this species is able to adjust its thermoregulatory behavior as a function of feed, possibly improving digestion efficiency.

Keywords: thermal preference, amphibians, digestion, feeding, thermoregulation.

SUMARIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 MATERIAL E MÉTODO.....	9
2.1 Animais.....	9
2.2 Gradiente Térmico	9
2.3 Registro da Temperatura Corpórea	10
2.4 Protocolo Experimental	11
2.5 Tratamento e Análise de Dados	11
3 RESULTADOS	13
4 DISCUSSÃO.....	16
5 CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS	20

1 INTRODUÇÃO

A regulação da temperatura corpórea (T_c) dos anfíbios, assim como de outros animais ectotérmicos, é dependente de fontes externas de calor e, portanto, fortemente influenciada pela temperatura ambiente (HUEY e STEVENSON, 1979). Em linhas gerais, a termorregulação dos anfíbios envolve a exploração de diferentes nichos térmicos através de ajustes comportamentais (BRAGA e LIMA, 2001; POUGH et al., 2004; HILL et al., 2012), o que conduz à variações na T_c , tanto em escala espacial quanto temporal (LILLYWHITE, 1970). De fato, variações consideráveis na T_c de anfíbios anuros podem ocorrer ao longo de gradientes altitudinais (NAVAS et al., 2013) e latitudinais (BRATTSTROM, 1968; FEDER e LYNCH, 1982), bem como ao longo de ciclos sazonais e circadianos (GIBBONS e BENNETT, 1974). Apesar desta variação, animais ectotérmicos, anuros inclusive, podem exibir uma preferência termal intrínseca, ou simplesmente T_{pref} , de maneira bem consistente. Essa preferência térmica, porém, pode variar em função de diferentes contextos ecológicos e em resposta à estados fisiológicos específicos. Por exemplo, quando submetidos à hipóxia, o sapo-cururu, *Rhinella schneideri*, exibe uma diminuição da T_{pref} , i.e., uma hipotermia induzida por hipóxia (WOOD e MALVIN, 1991; NAHAS et al., 2001). Por outro lado, alguns anuros, natural ou experimentalmente infectados por patógenos, exibem um aumento da T_{pref} , geralmente referido como “febre comportamental” (RICHARDS-ZAWACKI, 2010). Já em outros anuros, animais recentemente alimentados selecionam temperaturas mais quentes do que quando em jejum, ou seja, apresentam uma resposta termofílica pós-prandial (LILLYWHITE et al., 1973; WITTERS e SIEVERT, 2001).

A ocorrência de uma resposta termofílica pós-prandial é largamente aceita como um ajuste do comportamento termorregulatório que otimiza os processos digestórios, tanto em termos de diminuição do tempo de digestão como na melhora de sua eficiência (HAILEY e DAVIES, 1987). De fato, o tempo de passagem, motilidade gastrointestinal, secreções de ácidos gástricos e enzimas digestórias, eficiência enzimática e absorção intestinal (SKOCZYLA, 1970; HAILEY e DAVIES, 1987; WANG et al., 2003) aumentam com o aumento da T_c . A ocorrência de uma resposta termofílica pós-prandial pode ser considerada particularmente relevante no caso de algumas espécies de anfíbios e répteis, nos quais a digestão do alimento demanda um alto investimento energético (ver ANDRADE et al., 2005) e pode comprometer o desempenho dos animais em outras atividades ecologicamente relevantes (HUEY e STEVENSON, 1979; FORD e SHUTTLESWORTH, 1986; PAULY e

BERNARD, 2002). A ocorrência da resposta termofílica pós-prandial pode ser verificada através da determinação da T_{pref} de animais em jejum e alimentados. O que é realizado experimentalmente em gradientes térmicos, nos quais os custos termorregulatórios são nulos e as oportunidades de termorregulação (i.e., espectro de temperaturas disponíveis) são oferecidas de maneira padronizada (WALL e SHINE, 2008).

Embora a ocorrência de uma resposta termofílica pós-prandial tenha sido relativamente bem documentada em diversas espécies de répteis, particularmente nos Squamata (SIEVERT, 1989; DORCAS et al., 1997; WALL e SHINE, 2008), até o momento ela foi estudada em apenas algumas poucas espécies de anfíbios anuros (LILLYWHITE et al., 1973; WITTERS e SIEVERT, 2001). O que, ao menos parcialmente, reflete a noção de que os anfíbios geralmente não regulam sua T_c de forma tão acurada e ativa como os répteis (ver SEEBACHER e FRANKLIN, 2005). Assim, os efeitos da alimentação sobre a preferência termal dos anfíbios anuros permanecem ainda bastante incertos. Portanto, no presente trabalho, nós investigamos este tema em uma espécie de anfíbio anuro neotropical, o sapo cururu, *Rhinella diptycha* (COPE, 1862). Pelo exposto acima, nossa hipótese de trabalho é de que os animais alimentados irão exibir uma preferência termal por temperaturas mais elevadas em comparação com a preferência termal documentada durante o jejum. Ou seja, que a espécie estudada exibirá uma resposta termofílica pós-prandial. *Rhinella diptycha* apresenta distribuição ampla e é abundante nas regiões de Mata Atlântica e cerrado do Brasil (HADDAD et al., 2013). Apresenta porte médio a grande podendo atingir 18 a 25 cm de comprimento rostro-cloacal (NORMAN, 1994) e alimenta-se de grande variedade de artrópodes (SABAGH et al., 2012) e até pequenos vertebrados (AFFONSO et al., 2014).

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 Animais

Foram utilizados 17 indivíduos adultos de ambos os sexos de *R. diptycha* coletados no município de Barbosa-SP, a noroeste do estado. Os sapos foram mantidos individualmente em caixas plásticas (45 x 32 x 28 cm) com furos na tampa para ventilação, abrigo e recipiente com água, em sala climatizada a $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ com fotoperíodo natural. Esta sala está localizada no Laboratório de Herpetologia e Fisiologia Animal da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Rio Claro, SP. Os sapos foram alimentados com neonatos e juvenis de camundongos (*Mus musculus*) oferecidos a cada três dias.

A permissão de coleta e manutenção dos animais em cativeiro foi emitida pela SISBIO (processo #22028-1), ICMBio (processo #35081-3) e os procedimentos experimentais foram autorizados pela Comissão de Ética no Uso de Animal, UNESP, Rio Claro, SP (CEUA, nº do protocolo: 4396).

2.2 Gradiente Térmico

Para determinação da T_{pref} foi utilizado um gradiente térmico (4 x 0,5 m) mantido em sala com temperatura controlada ($25,6\pm 1^{\circ}\text{C}$) e fotoperíodo artificial de 12:12h, com as luzes acendendo às 06:00 e apagando às 18:00. O substrato do gradiente consistia de duas placas maciças de cobre (2 x 1m) apoiadas sobre dois conjuntos de trocadores de calor construídos por chapas de aço galvanizado. Cada um destes trocadores era alimentado por um fluxo de água, cuja temperatura era controlada por dois banhos termostatizados (Tecnal, TE-184) independentes, um frio mantido à 3°C e outro quente mantido à 55°C . Os dois conjuntos de trocadores de calor foram arranjados nas extremidades opostas do gradiente termal projetando-se em direção a área central do mesmo, onde se encontravam. Entre os trocadores de calor e a placa de cobre foi interposta uma manta de material isolante (lã de vidro) cuja espessura ao longo do gradiente foi cuidadosamente ajustada de forma a permitir uma gradação linear na transferência de calor ao longo do comprimento do gradiente termal. Este arranjo permitiu a obtenção de um gradiente térmico com temperaturas variando, de maneira

padronizada, entre 15°C a 30°C. As paredes (90 cm) que delimitavam o gradiente foram construídas com placas de fibra de madeira de média densidade (MDF).

As baixas temperaturas em uma das extremidades do gradiente térmico promoveu a condensação de água no substrato das regiões mais frias do gradiente, o que poderia influenciar a preferência termal dos animais (LILLYWHITE, 1973; BRATTSTROM, 1979). Assim, para evitar este problema, nós instalamos um sistema de gotejamento de água ao longo de todo o gradiente termal, de forma que a disponibilidade de água no substrato fosse similar em todas as regiões do gradiente. Este sistema de gotejamento foi construído suspendendo um reservatório de água (20 L) acima das paredes do gradiente, esse reservatório, por sua vez, estava conectado a uma mangueira plástica provida de gotejadores distribuídos a cada 30 cm, aproximadamente. A mangueira foi então suspensa acima do gradiente, e abaixo do reservatório, permitindo que a água do reservatório fosse lentamente gotejada sobre toda a superfície do gradiente pela ação da gravidade. Observações prévias indicaram que os sapos exibem uma forte tendência a buscar locais de canto quando dentro do gradiente termal. Assim, para evitar que essa busca por locais mais abrigados pudesse afetar a determinação da T_{pref} , nós introduzimos pequenos anteparos (i.e., tijolos cerâmicos vazados), dispostos alternadamente nas paredes laterais do gradiente, a cada 50 cm, ao longo de todo o substrato do gradiente termal.

2.3 Registro da Temperatura Corpórea

Para o registro da T_c dos animais foram utilizados sensores/registradores integrados de temperatura (iButton®). Os sensores foram programados para coletar e armazenar um dado de T_c a cada 10 minutos durante todo o experimento. Em seguida, os ibuttons foram impermeabilizados por meio de envelopamento líquido (PlastiDip®) e posteriormente implantados cirurgicamente. Para realização dos procedimentos cirúrgicos, os animais foram anestesiados por inalação de difluorometil 1-cloro-2, 2, 2- trifluoroetil éter (Isoforine, Cristália®) e tratados com anestésico local (cloridrato de lidocaína e epinefrina, Anestésico L, Pearson®). Para o implante do sensor, os animais foram posicionados em decúbito lateral e foi feita uma incisão na pele, do lado esquerdo do abdome, larga o suficiente para passagem do sensor de temperatura para cavidade intraperitoneal, resultando em cicatriz de 1 cm. Após a sutura da incisão, os animais foram tratados com enrofloxacino (Chemitec, Chemitril®) e retornaram para suas caixas de manutenção, onde permaneceram por quatorze dias antes de

serem submetidos aos experimentos. Após o término do experimento, os animais passaram por uma segunda cirurgia para retirada dos sensores de temperatura.

2.4 Protocolo Experimental

A T_{pref} foi obtida através dos registros da temperatura corpórea dos sapos durante o período em que foram mantidos no gradiente térmico. O registro da T_{pref} foi realizado pelos sensores e registradores integrados de temperatura (iButton®) previamente implantados nos sapos. Todos os animais foram submetidos à um período de jejum de 7 a 10 dias antes de serem colocados no gradiente termal e permaneceram no gradiente por oito dias consecutivos. Parte dos animais, grupo jejum, permaneceu no gradiente por todo o período experimental sem receberem alimentação. O restante dos animais, grupo alimentado, foram alimentados no terceiro dia com neonato ou juvenil de camundongo (*Mus musculus*) de massa equivalente a 15% de sua massa corpórea. Para a alimentação, os sapos foram retirados do gradiente, sempre por volta das 14 horas, e retornados para suas respectivas caixas de manutenção. Duas horas após a alimentação, os indivíduos que haviam se alimentado foram devolvidos ao gradiente térmico, onde foram mantidos por mais quatro dias consecutivos.

2.5 Tratamento e Análise de Dados

As primeiras 48 horas de experimento foram atribuídas a aclimação dos animais ao gradiente termal e foram descartadas. Como *R. diptycha* apresenta um ciclo circadiano bastante marcado, ativos durante a noite e inativos durante o dia (ver NORMAN, 1994), nós iniciamos nossas análises verificando se a preferência térmica dessa espécie pudesse também variar em função do ciclo circadiano. Para isso utilizamos um teste G de Fisher (pacote “GeneCycle”) para detectar a potencial ocorrência de uma variação cíclica da T_{pref} (REFINETTI et al. 2007). No entanto, como este teste falhou em identificar qualquer variação de natureza circadiana na T_{pref} de *R. diptycha* ($P = 0.3175$), nós calculamos a T_{pref} diária como a média das T_c s registradas ao longo de cada período de 24 horas ao longo dos 6 dias que duraram os experimentos. As variações na T_{pref} entre animais alimentados e em jejum ao longo dos dias foi testada com um modelo linear generalizado misto ou “generalized linear mixed-effect models” (GLMM). Dada a natureza aninhada e não balanceada do nosso desenho experimental, o GLMM foi escolhido porque é um método flexível que nos permitiu levar em conta a variação intra-e entre-tratamentos simultaneamente, resultando em análises mais

robustas e fieis à estrutura dos nossos dados (BAAYEN et al. 2008). Nós tratamos a alimentação (alimentado vs jejum) e o tempo (dia de experimento, de 1 a 6) como fatores fixos, e a identificação individual (ID) aninhada com o seu próprio tratamento como um fator aleatório a fim de garantir a não independência de medidas repetidas dos indivíduos em cada tratamento (pacote “lme4”). Para testar a hipótese nula de diferença entre os tratamentos usamos um teste de taxa de probabilidade ou “LikelihoodRatio Test” e aplicamos um teste “post-hoc” (teste Tukey) (pacote “lsmeans” e “lmerTest”) para identificar possíveis diferenças entre os tratamentos.

Usamos um procedimento de seleção para escolha do melhor modelo (“backward model selection procedure”) para descartar termos de interação não significativos e “Akaike Information Criterion” (AIC) para determinar melhor estrutura do modelo (ZUUR et al. 2009). As suposições de distribuição de dados foram verificadas seguindo o modelo de Zuur et al. (2010) e, quando necessário, conferimos os resultados com um teste de Levene para homogeneidade da variância (pacote “car”). Todos os testes foram realizados no R (V. 3.5.0; R Development Core Team, 2018) utilizando RStudio (V. 1.1.447; RStudio Team, 2018). O nível de significância adotado foi de $P < 0,05$. Todos os valores estão apresentados como média $\pm$ DP (desvio padrão).

3 RESULTADOS

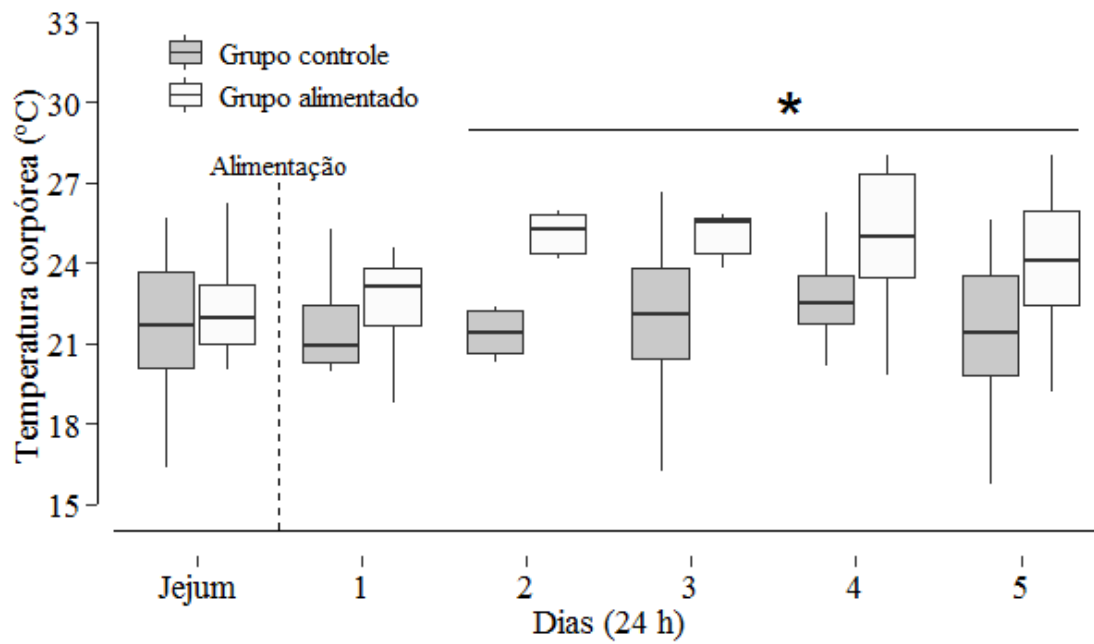
Amassa e o sexo dos animais não influenciaram os valores de T_{pref} (sexo: $P = 0,184$; massa: $P = 0,3633$) e, portanto, nós excluimos estes parâmetros de todas as análises posteriores. Os valores de T_{pref} não apresentaram diferença entre os tratamentos no primeiro dia do experimento quando ambos os grupos estavam em jejum e no primeiro dia após a alimentação do grupo alimentado (jejum: $P = 0,9115$; dia 1 após alimentação: $P = 0,3777$; Tabela 1, Figura 1 e 2). A partir do segundo dia, os valores de T_{pref} do grupo alimentado foram significativamente maiores do que aqueles registrados para os animais em jejum. Essa diferença manteve-se significativa até o final dos experimentos (dia 2 após alimentação: $P = 0,0096$; dia 3 após alimentação: $P = 0,0398$; dia 4 após alimentação: $P = 0,0404$; dia 5 após alimentação: $P = 0,0309$) (Tabela 1, Figura 1 e 2).

Tabela 1. Temperatura corpórea preferida ($^{\circ}\text{C}$) de *Rhinella diptycha* em jejum ($n = 10$) e alimentados ($n = 7$). O grupo alimentado consumiu um neonato ou juvenil de camundongo (*Mus musculus*) com massa equivalente a 15% da massa do sapo, após o primeiro dia de experimento. O grupo jejum não recebeu alimento. Os valores estão representados como média $\pm$ DP (desvio padrão) e os valores que apresentam diferença significativa estão indicados por “*”.

Dia	Temperatura Preferida	
	Grupo Controle	Grupo Alimentado
Jejum	21.67 $\pm$ 2.73	21.81 $\pm$ 3.14
1	21.35 $\pm$ 2.61	22.48 $\pm$ 1.99
2	21.67 $\pm$ 2.80	25.16 $\pm$ 1.96*
3	22.08 $\pm$ 2.98	24.81 $\pm$ 1.35*
4	22.21 $\pm$ 2.61	24.92 $\pm$ 3.02*
5	21.14 $\pm$ 3.27	24.00 $\pm$ 3.02*

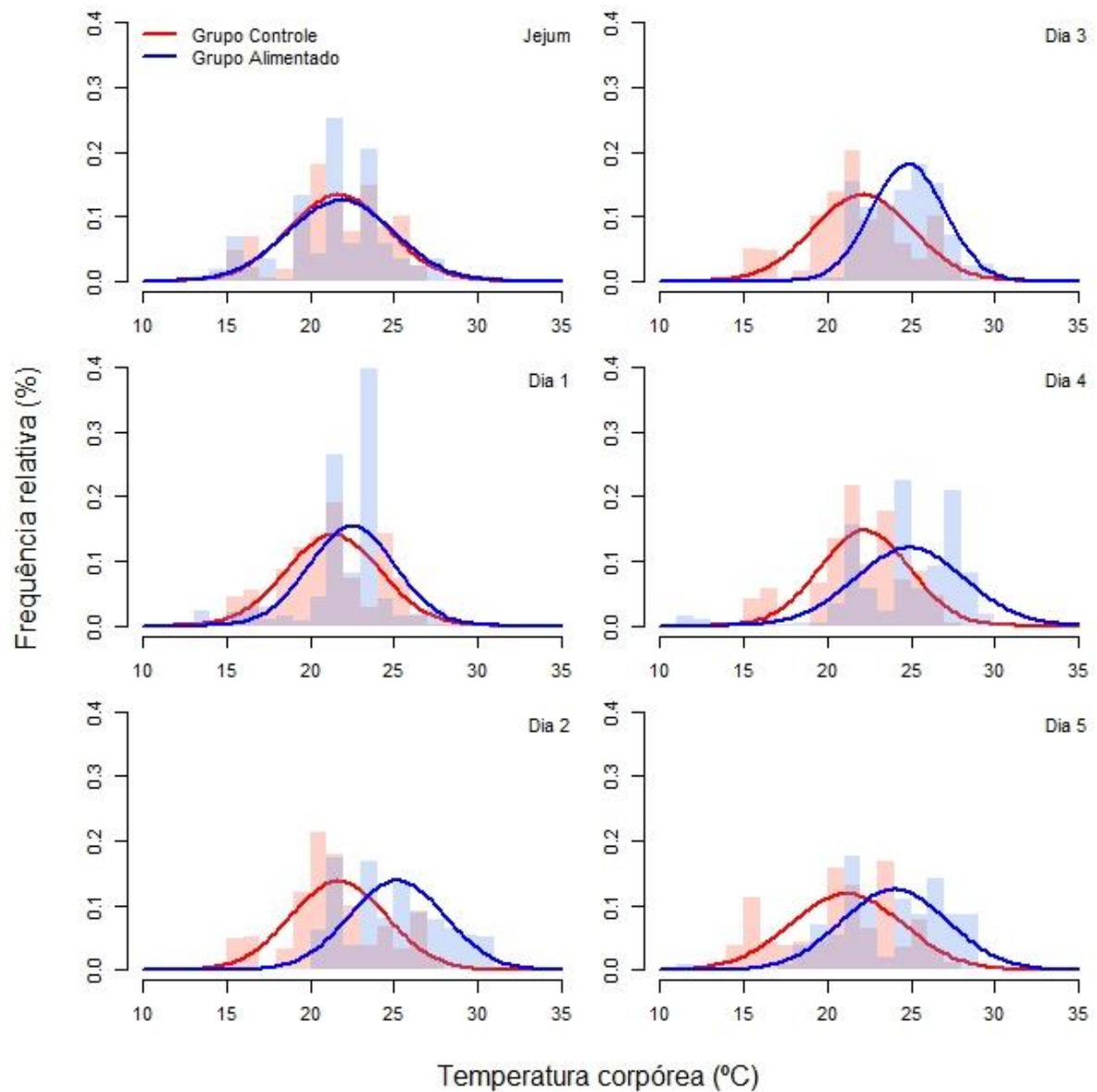
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 1. Temperatura corpórea preferida (°C) de *R. diptycha* em jejum (n = 10) e alimentados (n = 7). Os limites superiores e inferiores das caixas representam, respectivamente, o 1º e o 3º quartil. Os bigodes representam os valores interquartis multiplicados por 1,5. As linhas que cortam as caixas representam os valores da mediana e as caixas que apresentam diferença significativa estão indicadas com “*”. O grupo alimentado consumiu um neonato ou juvenil de camundongo (*Mus musculus*) com massa equivalente a 15% da massa do sapo, após o primeiro dia de experimento. O grupo jejum não recebeu alimento durante o experimento.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 2. Frequência relativa (%) e curvas estimativas de densidade Kernel da temperatura corpórea preferida (°C) de *Rhinella diptycha* em jejum e alimentado ao longo de 6 dias de experimento. O grupo alimentado (n = 7) consumiu um neonato ou juvenil de camundongo (*Mus musculus*) com massa equivalente a 15% da massa do sapo, após o primeiro dia de experimento. O grupo controle não foi alimentado durante todo o experimento.



Fonte: elaborado pelo autor.

4 DISCUSSÃO

A presença de resposta termofílica pós-prandial já foi documentada para algumas espécies de répteis (SIEVERT, 1989; DORCAS et al., 1997; WALL e SHINE, 2008; GIENGER et al., 2013; BEREK et al., 2014). E embora esta resposta possa estar relacionada à busca por uma eficiência digestiva e motilidade gastrointestinal, algumas espécies não exibem busca por temperaturas mais elevadas após a alimentação (MORGAN e METCALFE, 2001; SCHULER et al., 2011). Alguns autores indicam que a ausência de resposta termofílica pós-prandial pode estar relacionada ao gasto de energia com forrageio, fuga de predadores e/ou proteção do território, que poderiam ultrapassar o gasto de energia com a termorregulação (SCHULER et al., 2011). Para anfíbios, a resposta termofílica pós-prandial já foi documentada em algumas espécies (i.e., LILLYWHITE, 1973; WITTERS e SIEVERT, 2001; GVOŽDÍK, 2003), no entanto, essa resposta não foi encontrada para outras espécies (MULLENS e HUTCHISON, 1992; GVOŽDÍK e KRISTÍN, 2017). Segundo Mullens e Hutchison (1992), a ausência da resposta termofílica pós prandial em alguns anfíbios pode estar relacionada ao fato da espécie estudada viver em um ambiente de pouca variação de temperatura, assim, o animal não buscaria por temperaturas marcadamente diferentes porque elas não existem em seu ambiente natural. Outra possibilidade seria que esses anfíbios teriam uma T_c inicial, prévia à alimentação, suficientemente elevada para a digestão do alimento.

Os nossos resultados mostram que *R. diptycha* exibe uma resposta termofílica pós-prandial quando alimentado com presas de tamanho equivalente a 15% de sua massa corpórea. Esta resposta causou um aumento significativo da T_{pref} dos sapos alimentados, em comparação com indivíduos em jejum. O maior valor de T_{pref} ocorreu no segundo dia após a alimentação quando os valores de T_{pref} dos animais alimentados subiram cerca de 3°C acima daqueles em jejum. Estes resultados são similares àqueles reportados para *Anaxyrus boreas* (espécie pertencente à mesma família de *R. diptycha*), os quais apresentaram valores de T_{pref} 5°C mais elevados um dia após serem alimentados com larvas de tenébrio (*Tenebrio molitor*). No segundo e terceiro dia os valores de T_{pref} de *Anaxyrus boreas*, diminuíram e se assemelham aos valores dos animais em jejum. E quando alimentados com esferas de vidro, os animais apresentaram valores de T_{pref} similares aos valores encontrados para os animais em jejum (LILLYWHITE, 1973). No anfíbio *Triturus dobrogicus* juvenis apresentam valores de T_{pref} 2 a 3°C mais alta após 24 horas da alimentação com o verme Tubifex (*Tubifextubifex*) de massa equivalente a 10% da massa do anfíbio (GVOŽDÍK, 2003). O anuro *Anaxyrus*

woodhousii apresenta preferência por temperaturas corpóreas mais elevadas quando alimentado com presa (grilos) de 5% de sua massa. As medidas foram realizadas em 24 horas pré e pós alimentação. E comparando os indivíduos em jejum e os alimentados, a média das temperaturas preferidas em 24 horas não diferiu significativamente, mas os indivíduos alimentados apresentaram preferência por temperaturas mais elevadas durante a noite, às 19:00, 21:00 e 23:00 horas (WITTERS e SIEVERT, 2001). Lillywhite (1973) demonstra que apenas a presença de um material no estômago do anfíbio, esferas de vidro, não são suficientes para a exibição de uma resposta termofílica pós-prandial. E embora os trabalhos exemplificados tenham utilizado diferentes tipos de presas em diferentes tamanhos, todos exibiram uma busca por temperaturas mais elevadas após a ingestão de alimento, assim como encontramos no presente trabalho.

Alguns anuros, quando submetidos a altas temperaturas após alimentação apresentam um aumento no consumo de oxigênio, e diminuem o tempo de digestão (HAILEY e DAVIES, 1987; SECOR e FAULKNER, 2002). Outros fatores como tempo de passagem e motilidade gastrointestinal, secreção de ácidos graxos e enzimas digestivas, eficiência enzimática e de absorção intestinal (SKOCZYLA, 1970; HAILEY e DAVIES, 1987; WANG et al., 2003) também aumentam com o aumento da T_c . Então, a manutenção da T_c em uma temperatura ótima garante uma melhor utilização do alimento, i.e., garante um melhor retorno de energia para o animal (HUEY, 1982; DORCAS et al., 1997). No caso da espécie *Rhinella marina* (espécie próxima de *R. diptycha*, VALLINOTO et al, 2017), quando alimentada com juvenis de ratos (*Ratus norvegicus*) com 10% da massa do sapo e submetida à 30 °C, apresenta pico de VO_2 (Volume de oxigênio consumido) um dia e meio após serem alimentados (SECOR e FAULKNER, 2002). Enquanto o sapo *Incilius alvarius* submetido à mesma temperatura e tipo de alimento equivalendo 5% e 15% de sua massa, apresenta pico de VO_2 no primeiro e segundo dia após a alimentação, respectivamente (SECOR e FAULKNER, 2002). Então, observamos que quanto maior for o tamanho do alimento ingerido, maior será o tempo para ocorrer o pico de VO_2 . Secor e Faulkner (2002) indicam que o pico de VO_2 estaria relacionado com a composição do alimento, ou seja, um alimento com maior proporção de proteína demoraria mais tempo para apresentar o pico de VO_2 . Outro fator que influencia o tempo de digestão do alimento é a T_c dos sapos, quando submetidos à T_{cs} mais elevadas, apresentam menor tempo de digestão (SECOR e FAULKNER, 2002; SECOR et al., 2007). Em nossos experimentos com *R. diptycha*, o maior valor de T_{pref} ocorreu no segundo dia após a alimentação quando as T_{pref} dos animais alimentados apresentaram valor de T_{pref} 3°C acima dos valores encontrados para os animais em jejum. Assim, a busca por uma temperatura mais

elevada pode estar relacionada à busca por uma digestão mais rápida. Quando a espécie *R. marina* é alimentada com presa (*Ratus norvegicus*) de massa equivalente a 15% de sua massa corpórea, a digestão do alimento demora cerca de 5 dias sob condições de temperatura similares aquela de nossos experimentos (SECOR e FAULKNER, 2002). No presente trabalho também foi possível observar que os valores de T_{pref} permanecem significativamente mais elevados para o grupo alimentado por até 5 dias após a alimentação, o que indicaria que os animais em nosso experimento ainda estariam em processo de digerir o alimento.

A T_c de animais ectotérmicos influencia a aquisição de energia pelo animal, pois o processo de aquisição de energia é dependente de alguns comportamentos como a procura por presas, captura, e ingestão; e processos fisiológicos como digestão e absorção do alimento (ANGILETTA, 2001; LILLYWHITE, 2016). A energia proveniente do alimento é utilizada para manutenção e sobrevivência do animal, assim como, para o desempenho de suas atividades ecologicamente importantes, como reprodução, fuga de predadores e forrageio (HUEY e STEVENSON, 1979; FORD e SHUTTLESWORTH, 1986; PAULY e BERNARD, 2002). E consequentemente, a T_c também pode influenciar o desempenho ecológico de animais ectotérmicos (HUEY e STEVENSON, 1979). Como mencionado anteriormente, animais que apresentam resposta termofílica pós-prandial apresentam vantagens no retorno energético (HUEY, 1982; DORCAS et al., 1997), então, um animal que busca uma por uma T_c favorável para o retorno energético terá um melhor desempenho de suas atividades ecológicas, ou seja, maior será sua probabilidade de sobrevivência. Portanto, a presença de resposta termofílica pós-prandial na espécie *R. diptycha*, observado no presente trabalho, pode estar relacionada às possíveis vantagens ecológicas e energéticas que a busca por diferentes T_c proporciona ao animal.

5 CONCLUSÃO

Rhinella diptycha apresenta uma resposta termofílica pós-prandial quando alimentado com presa de massa equivalente a 15 % de sua massa corpórea. O aumento da T_{pref} ocorre a partir do segundo dia após a alimentação e persiste pelo menos até o quinto dia pós-prandial.

REFERÊNCIAS

- AFFONSO, I. P.; ODA, F. H.; LATINI, J. D. Predação de *Bryconamericus iheringii* (Boulenger, 1887) (Characiformes: Characidae) por *Rhinella icterica* (Spix, 1824) (Anura: Bufonidae) no sul do Brasil. **Natureza on line**. v.12 n.1, p. 28-30, 2014.
- ANGILETTA, M. J. Thermal and physiological constraints on energy assimilation in a widespread lizard (*Sceloporus undulatus*). **Ecology**. v.82, n.11, p.3044-3056, 2001.
- ANDRADE, D. V.; CRUZ-NETO, A. P.; ABE, A. S.; WANG, T. Specific dynamic action in ectothermic vertebrates: a review of determinants of postprandial metabolic response in fishes, amphibians and reptiles. In: **Physiological and Ecological Adaptations to Feeding in Vertebrates**. Starck, J.M., Wang, T., Eds, Science Publisher, Enfield, New Hampshire. Cap. nº 12, p. 306-324, 2005.
- BAAYEN, R. H.; DAVIDSON, D. J.; BATES, D. M. Mixed-effects modeling with crossed random effects for subjects and items. **J. Mem. Lang.** v.59, p.390-412, 2008.
- BEREC, M.; STARÁ, Z.; POLÁKOVÁ, S. Relation between body-size and thermoregulation behavior: postprandial thermophily in spiny-tailed agama, *Uromastix acanthinura* bell. **Pol. J. Ecol.** v.62, p.139-145, 2014.
- BRAGA, L. G. T.; LIMA, S. L. Influência da temperatura ambiente no desempenho da rã-touro, *Ranacatesbeiana* (Shaw, 1802) na fase de Recria. **R. Bras. Zootec.** v.30, n.6, p.1659-1663, 2001.
- BRATTSTROM, B. H. Thermal acclimation in anuran amphibians as a function of latitude and altitude. **Pergamon Press**. v.24, p.93-111, 1968.
- BRATTSTROM, B. H. Amphibian temperature regulation studies in the field and laboratory. **Amer. Zool.** v.19, p.345-356, 1979.
- DORCAS, M. E.; PETERSON, C. R.; FLINT, M. E. T. The thermal biology of digestion in rubber boas (*Charinabottae*): physiology, behavior, and environmental constraints. **U. of Chicago P.** v.70, n.3, p.292-300, 1997.
- FEDER, M. E.; LYNCH, J. F. Effects of latitude, season, elevation, and microhabitat on field body temperatures of Neotropical and temperate zone salamanders. **Wiley**. v.63, p.1657-1664, 1982.
- FORD, N. B.; SHUTTLESWORTH, G. A. Effects of variation in food intake on locomotory performance of juvenile garter snakes. **Copeia**. v.1986, n.4, p.999-1001, 1986.
- GIBBONS, J. W.; BENNETT, D. H. Determination of anuran terrestrial activity patterns by a drift fence method. **Copeia**. v.1974, n.1, p.236-243, 1974.

GIENGER, C. M.; TRACY, C. R.; ZIMMERMAN, L. C. Thermal responses to feeding in a secretive and specialized predator (Gila monster, *Heloderma suspectum*). **J. Therm. Biol.** v.38, n.3, p.143-147, 2013.

GVOŽDÍK, L. Postprandial thermophily in the Danube crested newt, *Triturus dobrogicus*. **J. Therm. Biol.** v.28, p.545-550, 2003.

GVOŽDÍK, L., KRISTÍN, P. Economic thermoregulatory response explains mismatch between thermal physiology and behaviour in newts. **J. Exp. Biol.** v.220, p.1106-1111, 2017.

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**. Anolisbooks, São Paulo, 2013. p. 139 e 467.

HAILEY, A.; DAVIES, P. M. C. Digestion, specific dynamic action, and ecological energetics of *Natrix maura*. **Herpetol J.** v.1, p.159-166, 1987.

HILL, R. W.; WYSE, G. A.; ANDERSON, M. **Fisiologia Animal**. 2ªed. Editora artmed, Porto Alegre, 2012. p. 207-213.

HUEY, R. B. Temperature, physiology, and the ecology of reptiles. **Biology of the Reptilia**. Academic Press, New York, New York, USA, p. 25-91, 1982.

HUEY, R. B.; STEVENSON, R. D. Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: A discussion of approaches. **Am. Zool.** v. 19, p.357-366, 1979.

LILLYWHITE, H. B. Behavioral temperature regulation in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. **Copeia**. v.1970, n.1, p.158-168, 1970.

LILLYWHITE, H. B. Behavior and physiology: An ecological and evolutionary viewpoint on the energy and water relations of ectothermic amphibians and reptiles. In: **Amphibian and reptile adaptations to the environment, Interplay Between Physiology and Behavior**. Andrade, D. V.; Bevier, C. R.; Carvalho, J. E. Cap nº1, p.1-28, 2016.

LILLYWHITE, H. B.; LICHT, P.; CHELGREN, P. The role of behavioral thermoregulation in the growth energetics of the toad, *Bufo boreas*. **Ecology**. v.54, p.375-383, 1973.

MORGAN, I. J.; METCALFE, N. B. The influence of energetic requirements on the preferred temperature of over wintering juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** v.58, p.762-768, 2001.

MULLENS, D. P., HUTCHISON, V. H. Diel, seasonal, postprandial and food-deprived thermoregulatory behavior in tropical toads (*Bufo marinus*). **J. Therm. Biol.** v.17, n.1, p.63-67, 1992.

NAHAS, K. C. B.; GARGAGLIONI, L. H.; BRANCO, L. G. S. Seasonal changes in the preferred body temperature, cardiovascular and respiratory responses to hypoxia in the toad *Bufo paracnemis*. **J. Exp. Zool.** v.289, p.359-365, 2001.

- NAVAS, C. A.; CARVAJALINO-FERNÁNDEZ, J. M.; SABOYÁ-ACOSTA, L. P.; RUEDA-SOLANO, L.A.; CARVAJALINO-FERNÁNDEZ, M.A. The body temperature of active amphibians along a tropical elevation gradient: patterns of mean and variance and inference from environmental data. **Funct. Ecol.** v.27, n.5, p.1145-1154, 2013.
- NORMAN, D. R. **Anfibios y reptiles del Chaco Paraguayo**. Heredia, Costa Rica, 1994. v.1. p.200-240.
- PAULY, G.B.; BERNARD, M.F. *Crotalusviridis* oreganos (Northern Pacific Rattlesnake). Costs of feeding. **Herpetol. Rev.**v.33, p.56–57, 2002.
- POUGH, F. H.; ANDREWS, R. M.; CADLE, J. E.; CRUMP, M. L.; SAVITZKY, A. H.; WELLS, K. D. **Herpetology**. 3^a ed. Pearson Education, Inc, 2004. p. 246-405.
- REFINETTI, R.; CORNÉLISSEN, G.; HALBERG, F. Procedures for numerical analysis of circadian rhythms. **Biological Rhythm Research**. v.38, n.4, p. 275-325. 2007.
- RICHARDS-ZAWACKI, C. L. Thermoregulatory behavior affects prevalence of chytrid fungal infection in a wild population of Panamanian golden frogs. **Proc. R. Soc. B.** v.277, p.519-528, 2010.
- SABAGH, L. T.; CARVALHO-E-SILVA, A. M. P. T.; ROCHA, C. F. D. Dieta do sapo *Rhinella icterica* (Anura: Bufonidae) em altitudes elevadas na Mata Atlântica do sudeste do Brasil. **Biota Neotrop.** v.12, n.4, p.258-262, 2012.
- SCHULER, M. S.; SEARS, M. W.; ANGILLETTA, M. J. Food consumption does not affect the preferred body temperature of Yarrow's spiny lizard (*Sceloporusjarrovi*). **J. Therm. Biol.** v.36, n.2, p.112-115, 2011.
- SECOR, S. M., FAULKNER, A. C. Effects of Meal Size, Meal Type, Body Temperature, and Body Size on the Specific Dynamic Action of the Marine Toad, *Bufomarinus*. **Physiol. Biochem. Zool.** v.75, n.6, p.557-571, 2002.
- SECOR, S. M.; WOOTEN, J. A.; COX, C. L. Effects of meal size, meal type, and body temperature on the specific dynamic action of anurans. **J. Comp. Physiol. B.** v.177, p.165-182, 2007.
- SEEBACHER, F.; FRANKLIN, C. E. Physiological mechanisms of thermoregulation in reptiles: A review. **J. Comp. Physiol.** v.175B, p.533-541, 2005.
- SIEVERT, L. M. Postprandial temperature selection in *Crotaphytuscollaris*. **Copeia**. v.1989, n.4, p.987-993, 1989.
- SKOCZYLA, R. Influence of temperature on gastric digestion in the grass snake, *Natrixnatrix* l. **Comp. Biochem. Physiol.** v.33, p.793-804, 1970.
- VALLINOTO, M.; CUNHA, D. B.; BESSA-SILVA, A.; SODRÉ, D.; SEQUEIRA, F. Deepdivergenceandhybridizationamongsympatric Neotropical toads. **Zool. J. Linnean. Soc.** v.180, p.647-660, 2017.

WANG, T.; ZAAR, M.; ARVEDSEN, S.; VEDEL-SMITH, C.; OVERGAARD, J. Effects of temperature on the metabolic response to feeding in *Python molurus*. **Comp. Biochem. Physiol.** v.133A, p.519-527, 2003.

WALL, M.; SHINE, R. Post-feeding thermophily in lizards (*Lialisburtonis* Gray, Pygopodidae): Laboratory studies can provide misleading results. **J. Therm. Biol.** v.33, p.274-279, 2008.

WITTERS, L. R.; SIEVERT L. Feeding causes thermophily in the woodhouse's toad (*Bufo woodhousii*). **J. Therm. Biol.** v.26, n.3, p.205-208, 2001.

WOOD, S. C.; MALVIN, G. M. Physiological significance of behavioral hypothermia in hypoxic toads (*Bufo marinus*). **J. Exp. Biol.** v.159, p.203-215, 1991.

ZUUR, A.; IENO, E. N.; WALKER, N. J.; SABELIEV, A. A.; SMITH, G. M. **Mixed effects models and extensions in ecology with R**. Springer-Verlag, New York. 2009. p.

ZUUR, A.; IENO, E. N.; ELPHICK, C. S. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. **Methods in Ecology and Evolution**. v.1, p.3-14, 2010.