

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL – UFRGS  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL - UERGS  
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, ÊNFASE EM BIOLOGIA MARINHA E  
COSTEIRA**

**SARA CRISTINE SIMÕES FUMAGALLI**

**DIFERENCIAÇÃO FENOTÍPICA DE *Physalaemus gracilis* (BOULENGER 1883) (ANURA:  
LEPTODACTYLIDAE) EM TORNO DOS SISTEMAS LAGUNARES DO LESTE DO RIO  
GRANDE DO SUL: EVIDÊNCIA PARA DIVERSIFICAÇÃO BIOLÓGICA EM ANEL?**

**IMBÉ**

**2024**

**SARA CRISTINE SIMÕES FUMAGALLI**

**DIFERENCIAÇÃO FENOTÍPICA DE *Physalaemus gracilis* (BOULENGER 1883) (ANURA: LEPTODACTYLIDAE) EM TORNO DOS SISTEMAS LAGUNARES DO LESTE DO RIO GRANDE DO SUL: EVIDÊNCIA PARA DIVERSIFICAÇÃO BIOLÓGICA EM ANEL?**

Monografia apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e Costeira na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em convênio com a Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Orientadora: Profa Dra. Camila Both

**IMBÉ**  
**2024**

CIP - Catalogação na Publicação

Simões Fumagalli, Sara Cristine  
DIFERENCIAÇÃO FENOTÍPICA DE *Physalaemus gracilis*  
(BOULENGER 1883) (ANURA: LEPTODACTYLIDAE) EM TORNO DOS  
SISTEMAS LAGUNARES DO LESTE DO RIO GRANDE DO SUL:  
EVIDÊNCIA PARA DIVERSIFICAÇÃO BIOLÓGICA EM ANEL? /  
Sara Cristine Simões Fumagalli. -- 2024.  
41 f.  
Orientadora: Camila Both.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto  
de Biociências, Curso de Ciências Biológicas: Biologia  
Marinha e Costeira, Porto Alegre, BR-RS, 2024.

1. Anuros. 2. Especiação. 3. Distribuição em Anel.  
4. Barreira Geográfica. I. Both, Camila, orient. II.  
Titulo.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**SARA CRISTINE SIMÕES FUMAGALLI**

**DIFERENCIAÇÃO FENOTÍPICA DE *Physalaemus gracilis* (BOULENGER 1883) (ANURA: LEPTODACTYLIDAE) EM TORNO DOS SISTEMAS LAGUNARES DO LESTE DO RIO GRANDE DO SUL: EVIDÊNCIA PARA DIVERSIFICAÇÃO BIOLÓGICA EM ANEL?**

Monografia apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Ciências Biológicas com ênfase em Biologia Marinha e Costeira na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em convênio com a Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Orientadora: Profa Dra. Camila Both

**Aprovado em: 05/02/2024**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Pedro Ivo Simões  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Dr. Patrick Colombo  
Museu de Ciências Naturais, Secretaria do Meio Ambiente e  
Infraestrutura do Rio Grande do Sul

---

Prof. Dr. Fábio Lameiro  
Coordenador da atividade  
Trabalho de conclusão II – CBM

## AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, quero agradecer à minha família por todo o suporte desde o momento em que decidi sair de casa e iniciar esta jornada até hoje. Só nós sabemos as batalhas que enfrentamos ao longo desses anos. Sempre serei grata pelo apoio de vocês.

Quero agradecer a todas as instituições e incríveis profissionais que me auxiliaram neste projeto: SEMA, UFRGS, PUC e FURG. Em especial ao Patrick Colombo, que me ajudou no início a selecionar os primeiros sapinhos e continuará comigo no desenvolvimento deste trabalho; ao Pedro Ivo, por me proporcionar a oportunidade de conhecer este tema e iniciar minha pesquisa; ao Daniel Loebman e ao Márcio Borges por todo tempo que disponibilizaram nos auxiliando a selecionar os espécimes, liberando acesso a suas coleções e dando todo apoio! Vocês foram fundamentais para realização desse projeto. Preciso agradecer também o Maurício e à Janaína do Setor de Coleções do MUCIN, por me proporcionarem um local para as medições e não só por isso, mas também por todos os anos de estágio que vivi no setor de Coleções, o que foi essencial para minha formação. Aprendi muito com vocês, obrigada! Não posso deixar de destacar aqui todas as minhas amigas que me ajudaram nas medições também. Amo vocês.

Quero agradecer ao CNPQ pelo financiamento da minha pesquisa e expressar minha gratidão à UFRGS e à UERGS, estas duas instituições públicas de qualidade que hoje estão me formando como bióloga marinha.

Quero também agradecer do fundo do meu coração à minha orientadora Camila Both, que nunca me abandonou e me ensinou muito durante todo esse processo. Camila, se um dia eu conseguir ser nem que seja um pouquinho da grande mulher e pesquisadora que você é, já me considerarei uma vitoriosa. Te admiro muito!

A todos os professores, técnicos e servidores do Ceclimar, deixo aqui também meu agradecimento e carinho por todos os cafezinhos, conselhos, acolhimento e conversas à beira da lagoa. Vocês fazem parte dessa jornada!

Não posso deixar de agradecer também a todos os meus amigos de Porto Alegre, os biomares e os clners. Eu amo MUITO vocês e nada disso seria possível sem vocês. Tenho muita sorte de ter conhecido TANTAS pessoas incríveis que foram e são minha família. Não vou

conseguir citar o nome de todo mundo aqui, mas serei para sempre grata pela amizade, pelas noites assistindo ao BBB, festinhas no Scooba, chopinhos no Janela, caronas para o RU, dias na praia, festinhas no carandiru, sinuca e cervejinha, filminhos com pipoquinha, rolezinhos pela madrugada, caipirinhas no Barong, o vinhão barato, os dias em que saímos da coleção fedendo a bicho morto depois de necropsias, as viagens, os cafezinhos com fofuquinha, cada saída a campo e as noites estudando algas ou apenas falando besteira... enfim, não posso dizer que não vivi a experiência. Amo vocês para sempre, obrigada por não terem largado minha mão nem nos piores momentos.

Em especial, queria agradecer às dabbers. Estivemos no diretório acadêmico por quase 3 anos e só nós sabemos o quanto nos dedicamos a isso e o quanto nos aproximamos nesse tempo. Vocês são mulheres incríveis e admiro muito a garra e a coragem de cada uma de vocês.

Quero destacar também todos os alunos da UFRGS Litoral que estiveram comigo nestes anos no movimento estudantil, lutando por uma universidade acessível, de qualidade e justa. Ocupamos a Federal 2 vezes e a luta continua. Vocês são bravos! Foi uma honra estar nesse movimento e ter ajudado a construí-lo ao lado de vocês. Juntos, sempre fomos mais fortes.

Aqui encerro este ciclo na BIOMAR com o coração apertado e, ao mesmo tempo, muito ansiosa pelo futuro. Nunca esquecerei tudo o que vivi em Imbé/Tramandaí e todas as oportunidades que tive aqui. Sempre terei um carinho enorme pelo Ceclimar e por todas as pessoas que estiveram de alguma forma comigo nesta jornada!

## RESUMO

Populações de anuros que residem em áreas geográficas diferentes devido à existência de uma barreira geográfica, estão suscetíveis a processos de especiação. A forma que essa especiação pode acontecer depende da configuração de dispersão desses indivíduos, na especiação por alopatria, uma população é dividida em duas ou mais devido a uma barreira ecológica. Enquanto que, na especiação por simpatria, temos essa divisão de forma natural, com os indivíduos no mesmo local. O padrão de diversificação por anel começou a ser estudado há cerca de um século atrás, ele conceitua que barreiras geográficas levam uma espécie a se expandir formando um anel ao redor de uma barreira geográfica. A classe amphibia, além de salamandras, inclui as cecílias e o grupo anura, sendo este último o mais diversificado do mundo. O Brasil destaca-se com 1188 espécies conhecidas, tornando-o o país mais diverso para o grupo. O Estado do Rio Grande do Sul apresenta elevada diversidade de anuros. No estado diferentes processos históricos influenciaram a evolução do grupo e apenas recentemente começam a ser compreendidos. Por exemplo, na região da planície costeira as espécies foram expostas a ciclos transgressivos-regressivos do mar no período Quaternário. Tal variação ambiental possibilita adaptações locais, resultando em possíveis diferenciações fenotípicas. O objetivo da pesquisa foi investigar, através de análises morfométricas, a variação da morfologia externa de *Physalaemus gracilis* na planície costeira no Rio Grande do Sul e se os sistemas lagunares, formados em decorrência das transgressões do mar, influenciam na diferenciação das populações. Foram medidos 227 indivíduos de ambos os gêneros de em estágio adulto de desenvolvimento, oriundos de coleções científicas (SEMA, UFRGS, PUC e FURG). Sendo excluídos aqueles em mau estado de preservação, os resultados foram baseados em 205 espécimes, com medidas morfométricas realizadas em 16 municípios, sendo 78 fêmeas e 127 machos adultos, entre os machos havia 55 com saco vocal claro e 72 com saco vocal escuro. Foi observado dimorfismo sexual nas populações, sendo os machos maiores que as fêmeas. A análise de componentes principais (PCA) foi fortemente influenciada pelo tamanho corporal. Ela indicou uma separação das populações costeiras e continentais que foi significativa, corroborada através de modelo linear. A PCA resultante da análise da matriz de dados morfométricos controlando a variação relacionada ao tamanho corporal explicou 70% da variação nos primeiros três eixos, sendo que o primeiro eixo explicou 61% da variação total dos dados. Esse eixo esteve altamente correlacionado com as variáveis comprimento do pé, comprimento da tíbia e comprimento da coxa, indicando que essas medidas apresentam um padrão de variação importante e independente do tamanho do corpo. Em conjunto, os dados indicam que a variação morfológica da espécie pode ser explicada pela dinâmica e origem geológica das diferentes regiões da planície costeira. A evidência de diferenciação morfométrica obtida neste estudo se soma à evidência de diferenciação genética de estudos anteriores, apontando para a diferenciação evolutiva das populações de *P. gracilis* na planície costeira do Rio Grande do Sul. O PCA morfométrica com os dados originais resumiu praticamente toda a informação no primeiro eixo, que explicou sozinho 79% da variação dos dados. A variância cumulativa explicada pelos primeiros 3 eixos foi de 91%, sendo que o eixo 2 explicou 7% da variação e o eixo 3 0,5%. O primeiro eixo foi fortemente correlacionado com o tamanho corporal ( $r = 0,77\%$ ), e positivamente associado a todas as demais variáveis, exceto a distância interorbital e inter-nasal. A PCA resultante da análise da matriz de dados morfométricos controlando a variação relacionada ao tamanho corporal explicou 70% da variação nos primeiros três eixos, sendo que o primeiro eixo explicou 61% da variação total dos dados. Esse eixo esteve altamente correlacionado com as variáveis comprimento do pé, comprimento da tíbia e comprimento da coxa. Indicando que essas medidas apresentam um padrão de variação importante e independente do tamanho do corpo. A análise gráfica do biplot da PCA indica que o eixo 1 evidencia uma variação mais agrupada entre os espécimes da região costeira e dentre os espécimes

da região continental. Tal diferença foi corroborada pelo modelo de regressão linear que indicou a diferença significativa entre as populações “costeiras” e “continentais” (lm=PCAmachoseixo1~região(costeira/continental),  $R^2 = 0,37$ ,  $F = 74$ ,  $df = 125$  ; $P > 0,01$ ).

**Palavras chave:** Anuros. Especiação. Barreiras geográficas.

## ABSTRACT

Populations of anurans residing in different geographical areas due to the existence of a geographic barrier are susceptible to speciation processes. The way this speciation can occur depends on the dispersal configuration of these individuals. In allopatric speciation, a population is divided into two or more due to an ecological barrier, whereas in sympatric speciation, we have this division naturally occurring, with individuals in the same location. The ring diversification pattern began to be studied about a century ago; it conceptualizes that geographical barriers lead a species to expand forming a ring around a geographical barrier. The class Amphibia, in addition to salamanders, includes caecilians and the anuran group, with the latter being the most diversified in the world. Brazil stands out with 1188 known species, making it the most diverse country for the group. The state of Rio Grande do Sul presents high diversity of anurans. In the state, different historical processes influenced the evolution of the group and are only recently beginning to be understood. For example, in the coastal plain region, species were exposed to transgressive-regressive sea cycles in the Quaternary period. Such environmental variation allows for local adaptations, resulting in possible phenotypic differentiations. The research objective was to investigate, through morphometric analyses, the variation of the external morphology of *Physalaemus gracilis* in the coastal plain of Rio Grande do Sul and whether the lagoon systems, formed as a result of sea transgressions, influence population differentiation. A total of 227 individuals of both genders in adult developmental stage, originating from scientific collections (SEMA, UFRGS, PUC, and FURG), were measured. Those in poor preservation state were excluded, and the results were based on 205 specimens, with morphometric measurements performed in 16 municipalities, comprising 78 females and 127 adult males, among which 55 had clear vocal sacs and 72 had dark vocal sacs. Sexual dimorphism was observed in the populations, with males being larger than females. Principal Component Analysis (PCA) was strongly influenced by body size. It indicated a significant separation of coastal and continental populations, corroborated through linear modeling. The PCA resulting from the analysis of the morphometric data matrix controlling for body size variation explained 70% of the variation in the first three axes, with the first axis explaining 61% of the total variation in the data. This axis was highly correlated with variables such as foot length, tibia length, and thigh length, indicating that these measurements exhibit an important pattern of variation independent of body size. Together, the data indicate that the morphological variation of the species can be explained by the dynamics and geological origin of the different regions of the coastal plain. The evidence of morphometric differentiation obtained in this study adds to the evidence of genetic differentiation from previous studies, pointing to the evolutionary differentiation of *P. gracilis* populations in the coastal plain of Rio Grande do Sul. The morphometric PCA with original data summarized almost all the information in the first axis, which alone explained 79% of the data variation. The cumulative variance explained by the first three axes was 91%, with axis 2 explaining 7% of the variation and axis 3 0.5%. The first axis was strongly correlated with body size ( $r = 0.77\%$ ) and positively associated with all other variables except interorbital and inter-nasal distance. The PCA resulting from the analysis of the morphometric data matrix controlling for body size variation explained 70% of the variation in the first three axes, with the first axis explaining 61% of the total variation in the data. This axis was highly correlated with variables such as foot length, tibia length, and thigh length, indicating that these measurements exhibit an important pattern of variation independent of body size. Graphical analysis of the PCA biplot indicates that axis 1 shows a more clustered variation among specimens from the coastal region and among specimens from the continental region. This difference was corroborated by the linear regression model, which indicated a significant difference between "coastal" and

"continental" populations (lm=PCAmaleaxis1~region(coastal/continental),  $R^2 = 0.37$ ,  $F = 74$ ,  $df = 125$  ;  $P > 0.01$ ).

**Keywords:** Anurans. Speciation. Geographic barriers.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Mapa geral da área de estudo no Rio Grande do Sul, com os limites entre Rio Grande na porção mais ao Sul e Torres mais ao Norte. -----19
- Figura 2** - Espécie de estudo, *Physalaemus gracilis* (Boulenger, 1883) em vista lateral (A) e em atividade de vocalização (B) -----20
- Figura 3** - Diferença de cor no saco vocal. Saco vocal de cor mais escura em (3A) e tom claro (3B).-----23
- Figura 4** - Biplot da análise de componentes principais das medidas morfométricas externas de indivíduos machos de *Physalaemus gracilis*. Em A e B estão representados os eixos da PCA morfométrica. Cada ponto representa um indivíduo, e as cores representam grandes regiões dentro da área de estudo conforme legenda.-----25

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Médias e desvio padrão das medidas morfométricas avaliadas nas populações de *Physalaemus gracilis* da planície costeira do Rio Grande do Sul. LC - largura da cabeça; LMR - distância entre um lado da mandíbula e a ponta do rosto; DN – distância entre as narinas; DO – distância entre as bordas internas das órbitas oculares; CAC– comprimento do antebraço do cotovelo ao tubérculo palmar; Dedo I, do tubérculo palmar à ponta do dedo; D1 - comprimento do Dedo I; D2 - comprimento do Dedo II, do tubérculo palmar à ponta do dedo; D3 - comprimento do Dedo III; CC – comprimento da coxa, da ponta do joelho à cloaca; CT – comprimento da tíbia da ponta do joelho à extremidade proximal do tarso; CJT - comprimento da tíbia da ponta do joelho a extremidade proximal do tarso; CP – comprimento do pé, do tubérculo tarsal à ponta do maior dedo. ....24

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.1.1 Objetivos específicos.....	17
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>18</b>
3.2 Espécie de estudo.....	20
3.3 Análise de dados.....	21
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>28</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>29</b>
<b>8 APÊNDICE.....</b>	<b>32</b>
<b>9 APÊNDICE.....</b>	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O conceito de espécie não é consensual entre os taxonomistas. Na década de 1930, o biólogo Ernst Mayr e o geneticista Theodosius Dobzhansky propuseram uma definição para o termo, baseada em organismos capazes de reproduzir entre si, gerando proles potencialmente férteis que mantêm o fluxo gênico e suas características entre gerações. Sendo assim, chamamos o conjunto de indivíduos da mesma espécie, localizados em um ambiente cujas limitações são estabelecidas pelo habitat em que estão inseridos, de populações (BEGON *et al.* 2007; COELHO, 2007). Essas populações podem residir em áreas geográficas diferentes devido à existência de uma barreira geográfica física, criada de forma natural ou artificial, sendo suscetíveis ao isolamento reprodutivo (FUTUYMA, 2002). Esse evento, ao longo do tempo evolutivo, tende a proporcionar um processo de especiação (RIDLEY, 2006).

A especiação, ou seja, a formação de uma nova espécie, está associada a novas características, sejam genéticas, ecológicas, comportamentais ou morfológicas, que se desenvolvem ao longo de anos de isolamento e pressões do ambiente (RIDLEY, 2006). Essas características, principalmente a nível morfológico, não necessariamente precisam ser visíveis ou possuir alguma função específica, porém devem ter o poder de impedir ou reduzir o fluxo gênico entre as populações (HEYER, 1974). Existem formas de especiação que se diferem pela configuração em que os indivíduos são distribuídos. A alopatria, por exemplo, ocorre quando uma população é dividida em duas ou mais, em consequência do isolamento geográfico, ficando assim distanciada de sua população ancestral onde os indivíduos não se encontram (FUTUYMA, 2002). Contudo, existe um padrão de distribuição por distância, onde esses indivíduos se encontram nas extremidades da barreira geográfica: a distribuição biológica por anel (RIDLEY, 2006).

A definição de diversificação biológica por anel começou a ser estudada há um século por Stejneger na Jordânia. O cientista introduziu o conceito de que uma única espécie poderia se expandir e se diferenciar em outras devido a uma barreira geográfica. Essas populações eventualmente se encontrariam em um dos lados da barreira, desenhando, assim, um anel. No entanto, somente em 1954, esse padrão de diferenciação e especiação ficou conhecido como “espécies em anel” (IRWIN; IRWIN; PRICE, 2001). Essas barreiras que proporcionam a separação de grupos de indivíduos da mesma espécie podem ser montanhas, corpos d’água ou até mesmo obstáculos gerados por modificações de origem antrópica. Espécies em anel são mundialmente conhecidas como as melhores ilustradoras naturais de processos de especiação. Além disso, são

extremamente eficientes quando se precisa obter informações referentes ao comportamento e dados genéticos relevantes de populações (KUTCHA & WAKE 2016). Essa dinâmica ecológica, unida à história evolutiva de sistemas de distribuição biológica de espécies em anel, tem sido estudada há algumas décadas em espécies de sistemas terrestres e marinhos, e esses estudos normalmente são associados a barreiras topográficas (MOHANAN *et al.*, 2012).

Experimentos realizados com populações diferentes de uma mesma espécie de ave, *Phylloscopus trochiloides* (Sundevall, 1837), na Sibéria Central, atestaram que uma barreira geográfica resultou em distinções no canto. Ou seja, uma população não reconhecia a outra devido a uma diferença gradual no canto que se desenvolveu ao longo da distribuição por anel da espécie. Assim, populações ao redor do anel se isolaram reprodutivamente e possivelmente deram início a processos de especiação (IRWIN; BENSCH; PRICE, 2001).

Um dos primeiros trabalhos sobre padrão em distribuição em anel no grupo dos anfíbios foi feito com em salamandras terrestres do gênero *Ensatina* (Gray, 1850), e em trabalhos posteriores com mais ênfase na espécie *Ensatina eschscholtzii* (Gray, 1850) (ALEXANDRINO *et al.*, 2005; WAKE 1997). No entanto, somente no estudo realizado com a espécie de salamandra *Ensatina eschscholtzii* foram encontrados resultados que de fato evidenciaram uma evolução biológica em anel para o táxon (ALEXANDRINO *et al.*, 2005). Os indivíduos se espalharam do norte ao sul da região, isolando-se reprodutivamente ao redor da Baía de São Francisco, formando um anel. As populações que se encontravam nas pontas, já eram bastante diferenciadas, indicando isolamento reprodutivo por simpatria (WAKE, 1997). Na simpatria, temos populações isoladas reprodutivamente que se dividem, mas sem isolamento geográfico (FUTUYMA, 2002). No caso das salamandras do gênero *Ensatina*, as populações se encontram na extremidade do anel, sem segregação espacial apenas nesse ponto. No entanto, devido ao seu grau de especiação, elas não cruzavam mais entre si (WAKE, 1997).

Além de salamandras, a classe de anfíbios compreende as cecílias e os anfíbios anuros, sendo estes últimos considerados os grupos de anfíbios mais diversificados do mundo com 7678 espécies conhecidas. (HADDAD; TOLEDO; PRADO, 2008; FROST, 2023). O padrão de distribuição em anel também foi investigado para a perereca *Agalychnis callidryas* (Cope, 1862), na Costa Rica (MONAHAN *et al.*, 2012). Para essa espécie, algumas diferenciações fenotípicas morfológicas relacionadas a barreiras ambientais foram constatadas, porém sem a configuração de um modelo de evolução em anel clássico (MONAHAN *et al.*, 2012).

Na região mais ao Sul do Brasil, especificamente no Estado do Rio Grande do Sul, a grande maioria das espécies de anfíbios encontradas pertence à ordem Anura (LEMA & MARTINS, 2011). A região costeira do Rio Grande do Sul é formada por diferentes ambientes que passaram por variados processos geológicos ao longo da história. Em particular, destaca-se o desenvolvimento de diversas lagoas costeiras, que foi totalmente influenciado pelas mudanças do nível do mar durante o período quaternário (SEELIGER et al., 1998; TOLDO JR et al., 2007). A maior dessas lagoas, a Laguna dos Patos, passou por, no mínimo, quatro ciclos transgressivos-regressivos, que resultaram na configuração atual do estuário e tornando a região bastante biodiversa. Espécies de anuros, que apresentam pouca mobilidade, podem ter passado por processos de adaptações locais devido à dinâmica geológica dessa região, resultando em diferenciação fenotípica entre elas (SEELIGER et al., 1998; TOLDO JR et al., 2007; LEMA & MARTINS, 2011), potencialmente até mesmo o padrão de distribuição emanel.

Uma espécie muito comum na planície costeira do sul do Brasil, é a “rã-chorona”, nome popular dado à espécie *Physalaemus gracilis* (Boulenger, 1883). A espécie pertence ao gênero *Physalaemus*, à família Leptodactylidae e à subfamília Leiuperinae, e está distribuída no sul do Brasil, Uruguai, em regiões mais ao nordeste da Argentina e no sudeste do Paraguai (FROST, 2023). Sua reprodução ocorre em corpos d'água lênticos e poças temporárias, ambos com uma vasta vegetação flutuante, onde são depositados os ovos em "ninhos de espuma", típico de muitas espécies da família. A espécie é bem adaptada a zonas urbanas e outras áreas impactadas por ações antrópicas (BORTOLINI; GONÇALVES; ZANELLA, 2018). Sua fácil adaptação aos diversos ambientes, juntamente com outras características, torna a espécie um excelente modelo ideal para estudos de ecologia e evolução. O presente estudo teve como objetivo analisar o padrão potencial de distribuição emanel da espécie de anuro *Physalaemus gracilis* (Boulenger, 1883), em populações localizadas em áreas da face costeira praial e continental ao redor de sistemas lagunares estuarinos da Planície Costeira do Rio Grande do Sul. Para este fim, foram utilizadas medidas morfométricas tomadas a partir de espécimes tombados em coleções científicas. Foi investigado se há variabilidade fenotípica consistente entre as diversas populações da espécie ao na planície costeira do rio grande do sul, e se há indícios de evolução emanel no entorno da Lagoa dos Patos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Analisar o padrão potencial de distribuição em anel da espécie de anuro *Physalaemus gracilis*, em populações localizadas em áreas da face costeira praial e continental ao redor de sistemas lagunares estuarinos da Planície Costeira do Rio Grande do Sul.

#### 2.1.1 Objetivos específicos

I. Avaliar se existe diferenciação fenotípica em populações da espécie de anuro *Physalaemus gracilis* em áreas ao redor dos sistemas lagunares da Planície Costeira do Rio Grande do Sul através de técnicas de morfometria tradicional;

II. Avaliar se possíveis diferenciações fenotípicas da espécie *Physalaemus gracilis* em torno do sistema lagunar ao redor da Lagoa dos Patos tem relação com a dinâmica histórica de formação da Planície Costeira do Rio Grande do Sul.

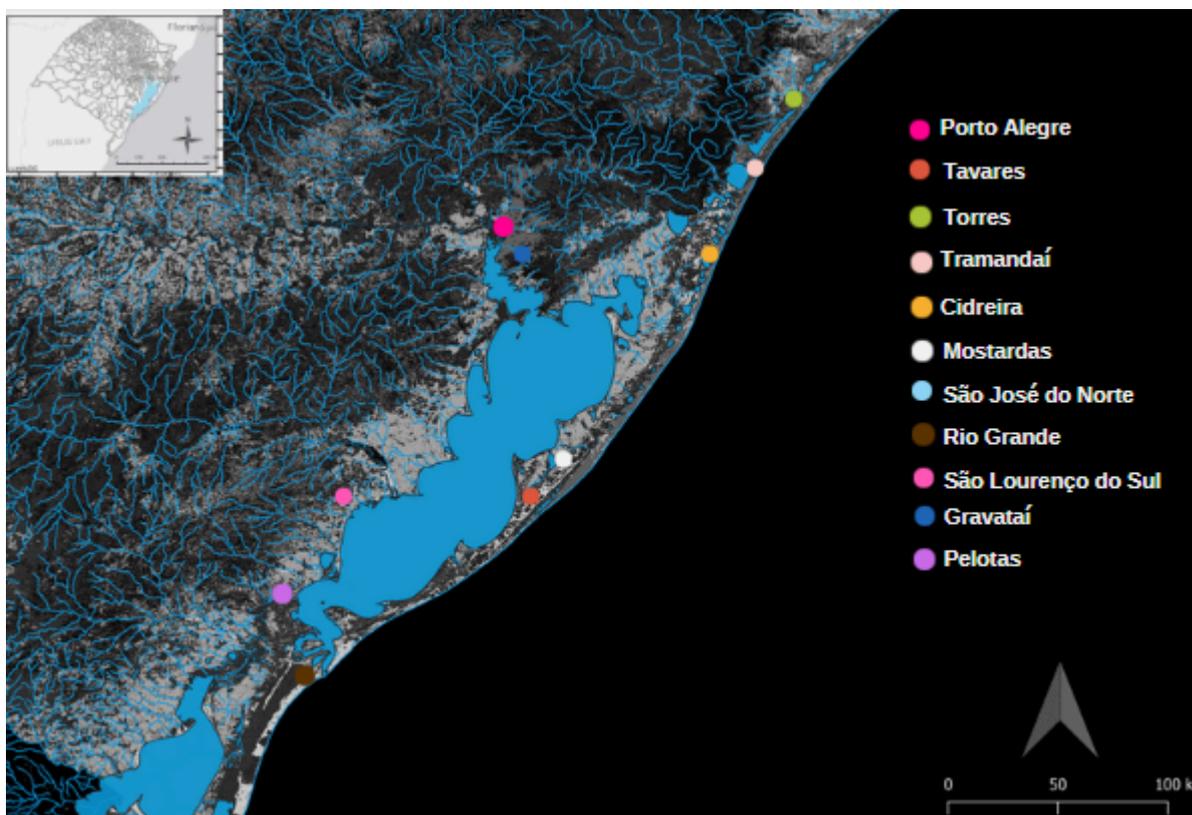
### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Área de estudo

A Planície Costeira do Rio Grande do Sul abrange aproximadamente 33.000 km<sup>2</sup>, incluindo depósitos sedimentares aluviais e sistemas lagunares de deposição do tipo "laguna-barreira" (SEELIGER *et al.*, 1998). Essa área contém diversos corpos d'água com diferentes profundidades e habitats variados. Entre eles, a Lagoa dos Patos destaca-se como a maior lagoa costeira do mundo que se conecta ao oceano por meio de um canal estreito, abrangendo uma superfície de aproximadamente 10.000 km<sup>2</sup>, equivalente a um terço da área total da Planície Costeira do Estado. O limite leste da Lagoa é delimitado pelo Oceano Atlântico, apresentando profundidades que variam de 8 a 6 metros em suas partes centrais e de 0,50 a 3 metros em suas margens (ALVAREZ *et al.*, 1981; SEELIGER *et al.*, 1998; TOLDO JR *et al.*, 2007).

O sistema é composto majoritariamente pela região do entorno da Lagoa dos Patos, mas se estende desde o município de Torres, no extremo nordeste do Rio Grande do Sul, até o município de Rio Grande, mais ao sul, cobrindo várias outras lagoas costeiras (Fig. 1). Este sistema lagunar se desenvolve de forma paralela à linha de costa e encontra-se abrigado da intensa atividade das águas do Oceano Atlântico por um sistema de barreiras arenosas. Sua formação de barreira começou no Pleistoceno superior e suporta um elevado volume de água doce proveniente do delta do Rio Jacuí e do Rio Camaquã (TOLDO JR *et al.*, 2007; VILLWOCK *et al.*, 1986). Como consequência dessa drenagem de água doce, temos um sistema lagunar estuarino adjacente e uma lagoa com salinidade relativamente baixa, que recebe influência do ambiente marinho apenas no setor sul devido à sua comunicação com o Oceano Atlântico, que se dá através de um sistema de micro-marés (TOLDO JR *et al.*, 2007). Tais características hídricas e geológicas tornam a Lagoa dos Patos uma considerável barreira geográfica intransponível, ideal para o foco no estudo da diferenciação intraespecífica de espécies de anuros no seu entorno.

Figura 1 - Mapa geral da área de estudo no Rio Grande do Sul, com os limites entre Rio Grande na porção mais ao Sul e Torres mais ao Norte.



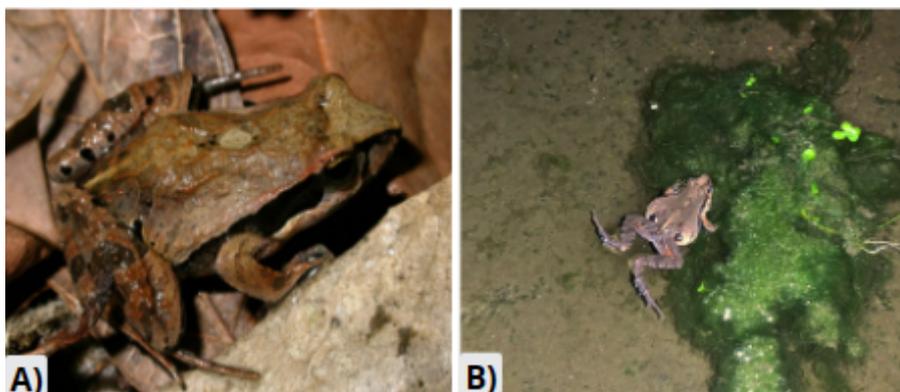
Fonte: Autor (2024)

Dentro da área de estudo, correspondente aos sistemas lagunares costeiros do Rio Grande do Sul, nós delimitamos diferentes regiões de interesse (Fig. 1). As regiões cobrem: municípios costeiros (e.g. Tavares, Torres, Tramandaí, Cidreira, Mostardas, São José do Norte e Rio Grande), e áreas continentais (e.g. Gravataí, São Lourenço do Sul, Pelotas e Porto Alegre). Além de alguns locais adjacentes, onde os pontos não estão descritos no mapa por se tratarem de sítios dentro de sítios, como: Dentro da Universidade Federal de Rio Grande (FURG), Ilha dos Marinheiros, Complexo Eólico Corredor dos Senandes no município de Rio Grande e a divisa da Reserva do TAIM com o município de Rio Grande. Todos os locais citados por último foram classificados na categoria de sítio de face costeira em direção a praia, com ressalva da Ilha dos Marinheiros, que foi considerada sítio de face costeira em direção ao continente. Após a delimitação desses sítios de interesse, foram feitas buscas em coleções científicas a fim de encontrar uma quantidade significativa de espécimes para a realização das medidas morfológicas.

### 3.2 Espécie de estudo

A espécie de estudo foi escolhida com base em alguns critérios específicos, como boa disponibilidade de espécimes em coleções zoológicas, ampla distribuição geográfica, fácil acesso, identificação e manejo. Levando em consideração essas características, a espécie selecionada foi *Physalaemus gracilis* (Fig. 3 e 4). A espécie possui algumas características marcantes que auxiliam sua localização, como seu canto de som bem particular e de fácil identificação, no qual deu origem ao nome popular da espécie: rã-chorona. Além de, um display visual específico (Figura 2A) que consiste em uma faixa preta em cada lado do corpo, desde o focinho até a região inguinal (membros inferiores) (PARKER, 1927; LEMA & MARTINS, 2011).

Figura 2 - Espécie de estudo, *Physalaemus gracilis* (Boulenger, 1883) em vista lateral (A) e em atividade de vocalização (B).



Fotos: Márcio Borges Martins (A) e Camila Both (B).

As medições foram realizadas a partir de espécimes depositados em coleções científicas, sendo elas as coleções do Museu de Ciências Naturais da Secretaria do Meio Ambiente (MCN/SEMA), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC) e da Universidade Federal de Rio Grande (FURG). Foram utilizados indivíduos adultos de ambos os sexos de *Physalaemus gracilis* apenas. Espécimes em mau estado de preservação, com partes do corpo faltantes ou sem a localização exata na base de dados da coleção científica, foram descartados. As medidas foram realizadas com a utilização de um paquímetro digital de digital 6POL de 150mm, marca MTX 316119. Os valores foram anotados em uma tabela impressa contendo todas as medidas, além de informações

adicionais: acrônimo, número de catálogo, localização, sexo e cor do saco vocal (Apêndice A). Posteriormente, os dados foram repassados para uma planilha online para registro. As medições foram feitas no Setor de Coleções do Museu de Ciências Naturais da UFRGS, localizado no Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos (CECLIMAR), e em algumas das coleções visitadas, como as da PUC, FURG e MCN/SEMA.

### 3.3 Análise de dados

Inicialmente os dados morfométricos de *P. gracilis* foram organizados em duas matrizes: i) uma matriz original contendo as 13 medidas tomadas, e demais informações fenotípicas e ii) outra matriz contendo os dados das medidas morfométricas descontando o efeito do tamanho do corpo dos indivíduos. Para isso, utilizamos regressões lineares realizadas para todas as variáveis em função do comprimento do corpo (CRC), utilizando apenas os resíduos da regressão nesta matriz, chamada de matriz residual. O tamanho do corpo é uma característica que se reflete em muitos parâmetros ecológicos, fisiológicos e comportamentais, e outras medidas morfométricas tendem a apresentar grande autocorrelação com essa medida. Analisando a matriz original, e a matriz residual, nós podemos observar padrões ecológicos mais gerais, e também explorar a existência de relações de alometria ou processos independentes do tamanho.

Posteriormente, matrizes morfométricas foram submetidas a uma análise de ordenação, Análise de Componentes Principais (PCA) (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998). A PCA é uma técnica de ordenação muito usada para ordenar variáveis ambientais e conjuntos de características em menor quantidade de informação (MAGNUSSON & MOURÃO, 2005). A partir da variância total de uma matriz, os dados são organizados em autovetores, ou eixos ortogonais, que variam de forma similar. Os cálculos são feitos a partir de matrizes de distância euclidiana (LEGENDRE & LEGENDRE, 1998). Ou seja, variáveis autocorrelacionadas podem ser expressadas em uma variável única em um eixo da PCA. Para observar a variação geral dos dados, nós utilizamos gráficos, bidimensionais, dos eixos das PCAs.

A seguir nós testamos se há dimorfismo sexual entre os indivíduos da espécie. Para isso, nós utilizamos os dois primeiros eixos resultantes das PCAs (matriz original e residual) e relacionamos com o sexo através de modelo linear (Zar, 1999). Os modelos apontaram que há dimorfismo sexual, logo, nós investigamos os padrões fenotípicos utilizando apenas os machos. Essa padronização foi

adotada, por eles serem a grande maioria da amostra. Machos são geralmente utilizados como modelos em estudos de anfíbios anuros, pois uma vez que anunciam a sua presença através do canto de anúncio (DUELLMAN & TRUEB, 1994), são mais fáceis de serem localizados e coletados (SCOTT & WOODWARD, 1994).

Nós testamos se há diferenciação fenotípica entre as populações continentais e litorâneas de *Physalaemus gracilis* através de regressão linear. O primeiro eixo da PCA realizada com os dados dos machos foi utilizado como variável resposta e a região “continental” ou “costeira” como variável preditora. Todas as análises deste estudo foram realizadas no ambiente R (R Core Team (2023)). Foi utilizado o pacote VEGAN e as análises realizadas estão disponíveis no apêndice B.

#### 4 RESULTADOS

No total, foram medidos 227 espécimes de *Physalaemus gracilis*. Após uma seleção alguns espécimes foram descartados. Os resultados descritos a seguir foram obtidos a partir de 205 espécimes, sendo N=78 fêmeas e N = 127 machos adultos. Entre os 127 machos analisados, 55 possuíam o saco vocal claro, 40 o saco de tom mais escuro e 32 de um tom na média, menos escuro que os demais (Fig. 3). Foram realizadas medidas morfométricas em populações de *Physalaemus gracilis* provenientes de 16 municípios ao longo da área de estudo. Entre os 127 machos analisados, 55 possuíam o saco vocal claro, 72 de um tom na média e tom escuro (Fig 3). Os tons diferentes encontrados no saco vocal dos machos refletem o grau de conservação, não estando associados a um parâmetro ecológico.

Fig 3 - Diferença de cor no saco vocal. Saco vocal de cor mais escura em (3A) e tom claro (3B)

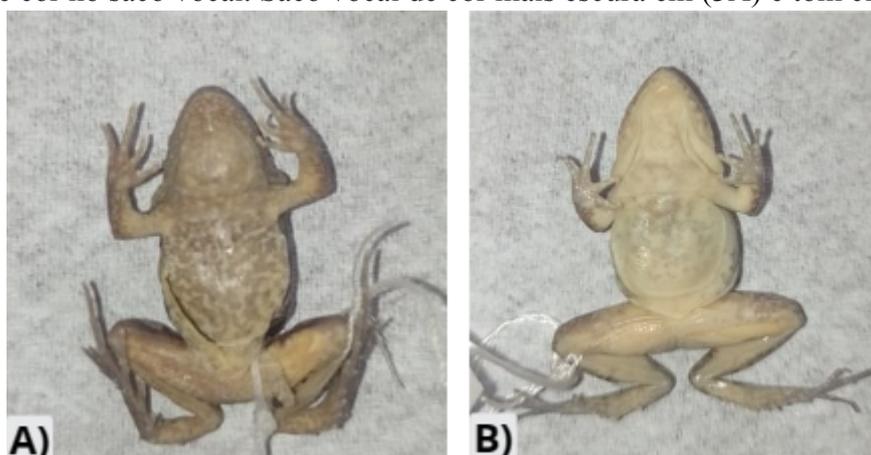


Foto: Autor (2024)

O tamanho médio dos machos foi de 27,46 mm (DP = 2,96 mm, N =129). Para as fêmeas, o tamanho médio observado foi de 26,12 mm (DP = 3,83, N=80). Na Tabela 1 são apresentadas médias encontradas para machos e fêmeas para cada uma das medidas analisadas.

Tabela 1 – Médias e desvio padrão das medidas morfométricas avaliadas nas populações de *Physalaemus gracilis* da planície costeira do Rio Grande do Sul. LC - largura da cabeça; LMR - distância entre um lado da mandíbula e a ponta do rostró; DN – distância entre as narinas; DO – distância entre as bordas internas das órbitas oculares; CAC– comprimento do antebraço do cotovelo ao tubérculo palmar; Dedo I, do tubérculo palmar à ponta do dedo; D1 - comprimento do Dedo I; D2 - comprimento do Dedo II, do tubérculo palmar à ponta do dedo; D3 - comprimento do Dedo III; CC – comprimento da coxa, da ponta do joelho à cloaca; CT – comprimento da tíbia da

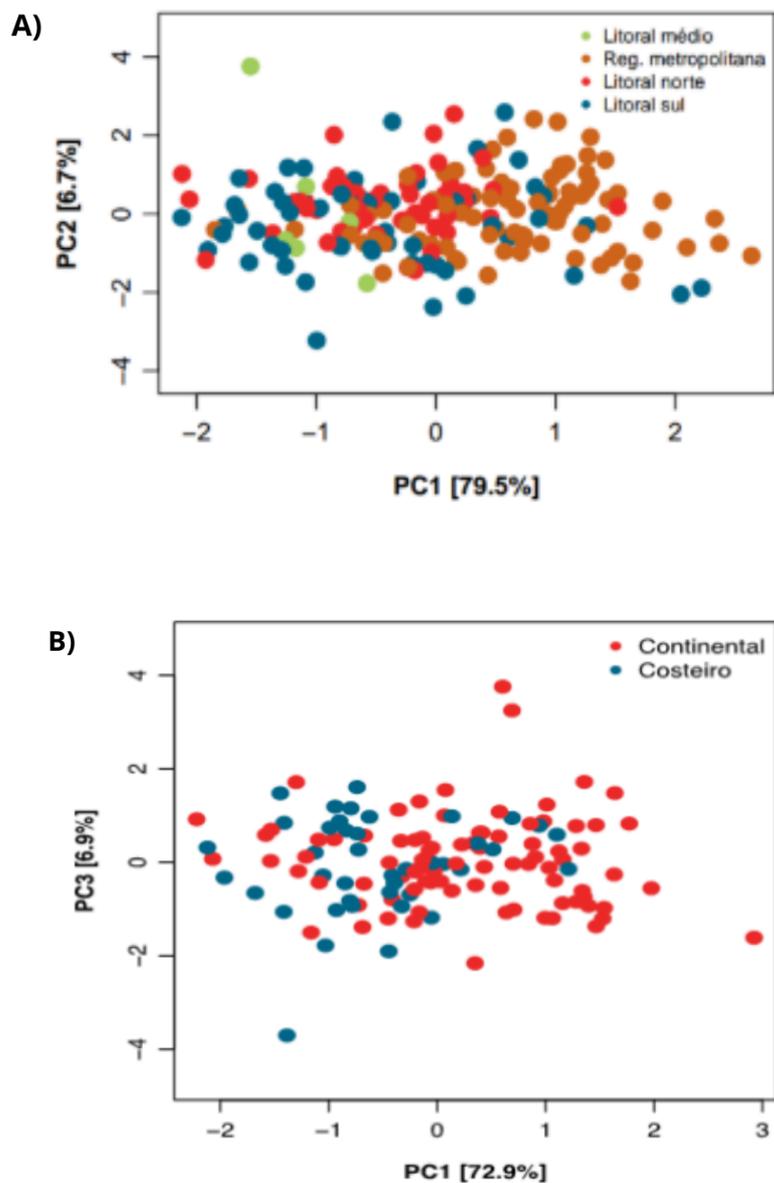
ponta do joelho à extremidade proximal do tarso; CJT - comprimento da tibia da ponta do joelho a extremidade proximal do tarso; CP – comprimento do pé, do tubérculo tarsal à ponta do maior dedo.

	Machos		Fêmeas	
	Média (mm)	DP (mm)	Média (mm)	DP (mm)
CRC	27,46	2,97	26,13	3,84
LC	6,81	0,71	6,51	1,04
LMR	6,32	0,67	6,03	0,94
DN	1,57	0,28	1,48	0,24
DO	2,21	0,44	2,16	0,39
CAC	6,05	0,65	5,57	0,91
D1	3,85	0,59	3,53	0,65
D2	4,36	0,55	4,00	0,71
D3	5,94	0,68	5,59	0,90
CC	11,24	1,51	11,05	1,70
CT	4,57	0,72	4,23	0,79
CJT	13,65	1,28	13,09	1,66
CP	14,65	1,39	13,80	1,87

Fonte: Autor (2024)

Os modelos lineares testando o dimorfismo sexual nas características morfométricas indicaram que ele é significativo para espécie (PCA.eixo1~sexo,  $R^2 = 0,02$ ,  $F = 5,2$ ,  $df = 203$ ,  $P = 0,02$ ; PCA.res.eixo 2~sexo,  $R^2 = 0,03$ ,  $F = 6,2$ ,  $P = 0,01$ ). PCA morfométrica com os dados originais resumiu a informação no primeiro eixo, que explicou 79% da variação dos dados (Fig.4A). A variância cumulativa explicada pelos primeiros 3 eixos foi de 91%, sendo que o eixo 2 explicou 7% da variação e o eixo 3 0,5%. O primeiro eixo foi fortemente correlacionado com o tamanho corporal ( $r = 0,77\%$ ), e positivamente associado a todas as demais variáveis, exceto a distância interorbital e inter-nasal. A PCA resultante da análise da matriz de dados morfométricos controlando a variação relacionada ao tamanho corporal explicou 70% da variação nos primeiros três eixos, sendo que o primeiro eixo explicou 61% da variação total dos dados. Esse eixo esteve altamente correlacionado com as variáveis comprimento do pé, comprimento da tibia e comprimento da coxa. Indicando que essas medidas apresentam um padrão de variação importante e independente do tamanho do corpo (Fig.4B). A análise gráfica do biplot da PCA indica que o eixo 1 evidencia uma variação mais agrupada entre os espécimes da região costeira e dentre os espécimes da região continental. Tal diferença foi corroborada pelo modelo de regressão linear que indicou a diferença significativa entre as populações “costeiras” e “continentais” ( $lm=PCAmachoseixo1\sim\text{região}(\text{costeira}/\text{continental})$ ,  $R^2 = 0,37$ ,  $F = 74$ ,  $df = 125$ ;  $P > 0,01$ ).). A análise gráfica do biplot da PCA indica dados do litoral mais agrupados, independente da região costeira, mais agrupados entre si do que os pontos da região metropolitana.

Figura 4 – Biplot da análise de componentes principais das medidas morfométricas externas de indivíduos machos de *Physalaemus gracilis*. Em A e B estão representados os eixos da PCA morfométrica. Cada ponto representa um indivíduo, e as cores representam grandes regiões dentro da área de estudo conforme legenda.



Fonte: Autor (2024)

## 5 DISCUSSÃO

Barreiras topográficas nos trazem informações valiosas associadas a características de espécies. Brown & Lomolino (2006) ressaltaram que é fundamental entender que a eficiência de uma barreira geográfica não é somente oriunda da natureza do ambiente em que ela está inserida, mas também, de aspectos físicos, fisiológicos e comportamentais dos organismos. Não é necessariamente porque existe uma barreira que todos os indivíduos naquele habitat serão afetados da mesma forma. Características fisiológicas, modos reprodutivos e habilidades de dispersão influenciam na resposta dos indivíduos às pressões do ambiente. Quando nos referimos ao padrão de distribuição por anel, estamos conceituando um sistema geográfico que separa populações e as reúne novamente em um ponto. Esse padrão, apesar de pouco estudado para diversos grupos, demonstrou resultados promissores em espécies abundantes e de rápida adaptação, como os anuros do gênero *Physalaemus*.

Quintela et al. (2015) destacaram o quanto os ambientes de zona costeira tendem a abrigar espécies endêmicas devido ao seu isolamento, uma consequência da atividade das marés no Quaternário. Esse fenômeno é evidenciado pela dinâmica das zonas costeiras e pelo nosso conhecimento dos processos geológicos que ocorreram naquela região ao longo da história. Os resultados obtidos através das medições morfométricas vão de encontro aos processos geológicos que ocorreram na Lagoa dos Patos e lagoas adjacentes, pois evidenciam variações nas medidas das populações de *P. gracilis* ao seu redor, principalmente no tamanho do corpo e dos membros inferiores dos espécimes.

A variação nas medições morfométricas de populações de *P. gracilis* na planície costeira verificada nesse trabalho demonstrou ser significativamente diferente entre as populações costeiras e continentais. Considerando que mudanças no nível do mar, de forma transgressiva-regressiva, influenciaram o desenvolvimento do estuário e lagoas adjacentes, separando assim populações ao redor das lagoas formando barreiras geográficas, principalmente a Lagoa dos Patos dada a sua maior extensão. Podemos afirmar que as variações encontradas nas medidas morfométricas realizadas podem estar associadas a esses eventos ao decorrer do tempo, sendo um indício de um possível processo de especiação que tenha ocorrido ou esteja ocorrendo. Os anuros possuem um comportamento filopátrico e pouca capacidade de dispersão, portanto não se locomovem a grandes distâncias e são ótimos modelos para testar hipóteses biogeográficas que envolvem especiação.

Outras espécies do gênero *Physalaemus* já demonstraram dispersão populacional que coincide com eventos de transgressão marinha. Por exemplo, *P. fernandezae* e *P. henselii* são espécies semelhantes morfologicamente e apresentam larvas de características similares. Além de, uma proximidade biogeográfica considerável sendo ambas populações interrompidas ou separadas pela Bacia do Rio da Prata (BARRASO, 2014). Tendo em vista a distribuição disjunta de ambas as espécies potencialmente causado pela bacia como barreira, podemos considerar que *P. gracilis* também estaria suscetível a esse padrão em relação a Lagoa dos Patos e lagoas ao redor.

Outro ponto relevante para a compreensão da distribuição espacial da espécie é a transgressão e regressão do nível do mar que ocorreu na região costeira dos Pampas que pode ter influenciado a diversificação da espécie. Alves (2019) estudou essa diversificação nos pampas e constatou que um clado de *P. gracilis* se dispersou devido a transgressões marinhas do Mioceno, enquanto outros continuaram a diversificar no Plioceno e Quaternário, este último subdividido em Pleistoceno e Holoceno. Sendo Pleistoceno o período em que se deu início a formação do sistema Lagunar em torno da Lagoa dos Patos. (JR et al., 2007; VILLWOCK et al., 1986). Durante o Pleistoceno, houve oscilações climáticas e avanços e recuos glaciais significativos que alteraram a demografia e estrutura de populações à fragmentação do habitat como resposta desses eventos geológicos. O derretimento de geleiras contribuiu para a formação de corpos d'água, como lagos e lagoas e deu início a processos de dispersão de espécies através de barreiras.

Em conjunto, os dados aqui apresentados indicam que a variação morfológica da espécie pode ser explicada pela dinâmica geológica da planície costeira. A evidência morfométrica obtida nesse estudo se soma à evidência de diferenciação genética de estudos anteriores, apontando para a diferenciação evolutiva das populações de *P. gracilis* na planície costeira do Rio Grande do Sul. Novos dados englobando novos caracteres fenotípicos, como as características do canto da espécie, podem acrescentar perspectivas interessantes ao padrão de evolução da espécie na planície costeira.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo analisou possíveis variações fenotípicas em indivíduos da espécie *Physalaemus gracilis*. Os resultados foram obtidos através de técnicas de morfometria tradicional, e as análises de dados foram feitas utilizando análises de componentes principais (PCA).

A espécie apresentou significativo dimorfismo sexual nos membros posteriores dos machos, o que pode estar associado ao possível padrão de distribuição por anel que supostamente está ocorrendo na região. Os dados sugerem que modificações paleoclimáticas e processos de transgressão e regressão no período quaternário podem ter influenciado em padrões de dispersão para anuros na região. Outros trabalhos realizados com espécies do gênero já comprovaram padrões de dispersão relacionados a barreiras ecológicas, também no mesmo período geológico da formação da Planície Costeira do Rio Grande do Sul.

Foi possível observar uma diferenciação fenotípica relacionada aos tamanhos dos indivíduos machos em ambos os lados da região do sistema lagunar da Planície Costeira. Os indivíduos localizados na face costeira praial demonstraram ser significativamente menores em comparação aos indivíduos da face costeira continental. Essa característica pode estar associada à vasta quantidade de recursos, nicho e competição na face costeira continental que demanda espécimes de tamanho maior.

O estudo é de grande relevância justamente por estudar um padrão de distribuição que possui um alto potencial para processos de especiação. Análises que tenham como foco possíveis distinções na frequência do canto entre as populações podem trazer resultados mais promissores e evidenciar de fato um padrão de especiação que tenha ocorrido ou esteja acontecendo na região.

## 7 REFERÊNCIAS

- ALVES, Suellen da Silva. FILOGEOGRAFIA DE ANFÍBIOS ANUROS DOS CAMPOS SUBTROPICAIS DO SUDESTE DA AMÉRICA DO SUL. 2019. 199 f. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Santa Maria. 2019.
- BEGON, M. *et al.* Ecologia de Indivíduos a Ecossistemas. 4 ed. Porto Alegre. Artmed. 2017. 752p.
- BROWN, J. H.; LOMOLINO, M. V.; AFONSO, I. F. . Biogeografia. 2 ed. FUNPEC. p 691,2006.
- QUINTEL, et al. Diversity of the swamp rat in South America: Population expansion after transgressive-regressive marine events in the Late Quaternary. *Mammalian Biology*, p 510-517, 2015.
- ALEXANDRINO, J. *et al.* Strong selection against hybrids at a hybrid zone in the *Ensatina* ring species complex and its evolutionary implications. *Evolution*, n 8, p. 1334-1374, 2005.
- ALVAREZ, J. A.; MARTINS, I. R.; MARTINS, L. R. Estudo da Lagoa dos Patos. Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p 41-66, 1981.
- BORTOLINI V. S.; GONÇALVES F. A.; ZANELLA N. Reproductive aspects of a population of *Physalaemus gracilis* (BOULENGER 1883) (Anura: Leptodactylidae). *Unisinos, Neotropical Biology and Conservation*, v 13, p 37, 2018.
- COELHO, Ricardo Motta Pinto. Fundamentos em Ecologia. 1.ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.
- DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. *Biology of Amphibian*. New York: McGraw-Hill, 1986.
- FUTUYMA, Douglas Joel. *Biologia Evolutiva*. 2. ed. Nova York: State University Of New York, 1986.
- FROST, D. R. Amphibian species of the world. 2023 Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. Acesso em: jan de 2024.
- HADDAD, C. F. B.; TOLEDO, J. G. R.; ALEXANDRINO, J. O aquecimento global e seus efeitos na distribuição e declínio dos anfíbios. São Paulo: Dimensão Zoológica, Cap. 11, p. 5-16, 2008.
- HADDAD, C. F. B.; TOLEDO, L. F.; PRADO, C. P. A. Anfíbios da Mata Atlântica. 1.ed. São Paulo: Editora Neotropical, 2008.
- HEYER, R. W. Relationships of the *Marmoratus* species group (Amphibia, Leptodactylidae) within the subfamily leptodactylinae. *Natural History Museum*. N. 253, p. 25, 1974.
- IRWIN, D. E.; BENSCH, S.; PRICE, T. D. Speciation in a ring. *Nature*, v. 409, n. 6818, p. 333–337, 2001.

- IRWIN, D. E.; IRWIN, J. H.; PRICE, T. D. Ring species as bridges between microevolution and speciation. In: Contemporary Issues in Genetics and Evolution. Dordrecht: Springer Netherlands, v. 8, p. 223–243, 2001.
- KAEFER, I. L.; BOTH, C.; CECHIN, S. Z. Breeding biology of the rapids frog *Limnomedusa macroglossa* (Anura: Cycloramphidae) in Southern Brazil. *Journal of Natural History*, V 43, 2009.
- KUTCHA, S. R. *et al.* Closing the ring: historical biogeography of the salamander ring species *Ensatina eschscholtzii*. *Journal of Biogeography*, p. 982–995, 2001.
- KUTCHA, S.R.; WAKE, D.B.; Wherefore and Whither the Ring Species?. *Copeia*. 104, p, 189–201, 2001.
- LAVILLA, E. *et al.* IUCN Red List of Threatened Species: *Physalaemus gracilis*. IUCN Red List of Threatened Species, 2004. Disponível em: [iucnredlist.org](http://iucnredlist.org) Acesso em: 17 de jan. 2024.
- LEMA, T.; MARTINS, L.A. Anfíbios do Rio Grande do Sul. 1. ed. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2008
- LEGENDRE P.; LEGENDRE L. Numerical Ecology. Amsterdam: Ecological Modelling. 2 ed., v 24, p. 853, 1998.
- MAGNUSSON, W. E.; MOURÃO G. Estatística Sem Matemática. 1 ed. Londria: Editora Planta, 2005.
- MONAHAN, W.B. *et al.* Ring distributions leading to species formation: a global topographic analysis of geographic barriers associated with ring species. *BMC Biology*, 2012.
- PARKER, H. W. L. P. A revision of the frogs of the genera *Pseudopaludicola*, *Physalæmus*, and *Pleurodema*. *Annals and Magazine of Natural History*, V 20, p 450–478, 1927.
- RIDLEY, Mark. Evolução. Department of Zoology. 3.ed. Reino Unido: University of Oxford, 2006.
- ROHLF, F.J; MARCUS, L.F; A revolution morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 8, p. 129–132, 1993.
- SCOTT J. N. J.; WOODWARD, B. D. Measuring and Monitoring Biological Diversity – Standard Methods for Amphibians. Smithsonian Institution Press. Washington D. C. p 84-92, 1994.
- SEELINGER, U.; ODEBRECHT, C.; CASTELLO, J. P. Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul. 1 ed. Rio Grande: Ecoscientia, 1998.
- SEGALLA, M. *et al.* Brazilian amphibians – List of species. *Herpetologia Brasileira*. 1 ed. v. 10, p. 13-82, 2021.
- TOLDO JR, E. T. *et al.* Sedimentação de Longo e Curto Período na Lagoa dos Patos, Sul do Brasil. Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 79-86, 2007.

WAKE, D. B. Incipient species formation in salamanders of the *Ensatina* complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. v. 94, n. 15, p. 7761–7767, 1997.

WOOLBRIGHT, L.L. Sexual Dimorphism In *Eleutherodactylus Coqui*: Selection Pressure And Growth Rates. 1 ed. Loudonville NY: Herpetologia league, v. 45, p 68-74, 1989.

VILLWOCK, J. A. *et al* Geology of the Rio Grande do Sul coastal province. In: Rabassa J Quaternary of South America Antarctica Peninsula. Balkema, Rotterdam, v. 4, p 79-97, 1986.



## 9 APÊNDICE

### APÊNDICE B – Rotina realizada no R para análises.

```
'data.frame': 208 obs. of 22 variables:
 $ colecao : chr "SEMA" "SEMA" "SEMA" "SEMA" ...
 $ acronimo : chr "MCN" "MCN" "MCN" "MCN" ...
 $ ncatalogo : int 10535 10534 9086 10207 414 4648 426 7477 943 7141 ...
 $ localidade: chr "gravatai" "gravatai" "portoalegre" "torres" ...
 $ latitude : num -29.9 -29.9 -30 -29.3 -30 ...
 $ longitude : num -51 -51 -51.3 -49.7 -50.1 ...
 $ sexo : chr "M" "M" "F" "F" ...
 $ corsaco : chr "claro" "poucoescuro" "na" "na" ...
 $ SVL : num 27.2 28.8 29.2 27.3 25.3 ...
 $ HW : num 6.94 7.17 7.3 7.7 6.4 6.28 7.08 6.88 7.29 5.96 ...
 $ HL : num 6.82 6.44 6.99 6.9 6.17 5.51 6.91 5.97 6.99 5.77 ...
 $ IN : num 1.58 1.5 1.65 1.74 1.76 1.62 1.68 1.78 1.29 1.24 ...
 $ IO : num 2.27 2.56 2.97 2.24 2.33 2.15 2.8 2.15 2.36 1.93 ...
 $ FAL : num 5.59 6.66 6.66 5.28 5.27 5.63 5.7 5.2 6.33 5.67 ...
 $ H1 : num 4.1 3.55 4.33 4.05 3.49 3.26 3.35 3.87 4.38 3.34 ...
 $ H2 : num 4.19 5.03 4.42 4.43 4.39 5.04 4.44 4.46 4.4 3.63 ...
 $ H3 : num 6.44 6.22 6.7 5.59 5.05 6.11 6.08 6.35 6.04 6.52 ...
 $ LL : num 11.2 12.7 13 10.7 11.1 ...
 $ AL : num 3.35 3.92 4.98 4.03 4.27 4.72 4.35 3.91 4.26 4.38 ...
 $ TL : num 14.2 14 13.2 13 12.2 ...
 $ FL : num 15.4 16.1 15.7 14.5 13.2 ...
 $ regioao : chr "n" "n" "n" "n" ...
```

```
#####
```

```
##### calcular os residuos de todas as variaveis no SVL por lm
```

```
##HW
```

```

HW.model<-lm(chorona2$HW~chorona2$SVL) #### lm e o modelo linear

summary(HW.model) ## summary

plot(chorona$SVL,chorona$HW) ##### para ver a reta da regressão
plot(HW.model) #### para ver os resíduos
HWr<-HW.model$residuals ## grava os resíduos na variável nova criada
### results
Call:
lm(formula = chorona$HW ~ chorona$SVL)
Residuals:
Min 1Q Median 3Q Max
-1.21067 -0.35803 0.06123 0.33351 1.32122
Coefficients:
Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) 1.046348 0.275227 3.802 0.000189 ***
chorona$SVL 0.209997 0.009956 21.093 < 2e-16 ***
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.4956 on 206 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.6835, Adjusted R-squared: 0.682
F-statistic: 444.9 on 1 and 206 DF, p-value: < 2.2e-16
#####
##HL
HL.model<-lm(chorona2$HL~chorona2$SVL)
summary(HL.model)
HLr<-HL.model$residuals
#####
##IN
IN.model<-lm(chorona2$IN~chorona2$SVL)
summary(IN.model)

```

```
plot(chorona2$SVL,chorona2$IN)
INr<-IN.model$residuals
##IO
IO.model<-lm(chorona2$IO~chorona2$SVL)
summary(IO.model)
IOr<-IO.model$residuals
##FAL
FAL.model<-lm(chorona2$FAL~chorona2$SVL)
summary(FAL.model)
FALr<-FAL.model$residuals
##H1
H1.model<-lm(chorona2$H1~chorona2$SVL)
summary(H1.model)
H1r<-H1.model$residuals
##H2
H2.model<-lm(chorona2$H2~chorona2$SVL)
summary(H2.model)
H2r<-H2.model$residuals
##H3
H3.model<-lm(chorona2$H3~chorona2$SVL)
summary(HW.model)
H3r<-H3.model$residuals
##LL
LL.model<-lm(chorona2$LL~chorona2$SVL)
summary(LL.model)
LLr<-LL.model$residuals
##AL
##H1
H1.model<-lm(chorona2$H1~chorona2$SVL)
summary(H1.model)
H1r<-H1.model$residuals
##H2
```

```

H2.model<-lm(chorona2$H2~chorona2$SVL)
summary(H2.model)
H2r<-H2.model$residuals
##H3
H3.model<-lm(chorona2$H3~chorona2$SVL)
summary(HW.model)
H3r<-H3.model$residuals
##LL
LL.model<-lm(chorona2$LL~chorona2$SVL)
summary(LL.model)
LLr<-LL.model$residuals
##AL
AL.model<-lm(chorona2$AL~chorona2$SVL)
summary(AL.model)
ALr<-AL.model$residuals
##TL
TL.model<-lm(chorona2$TL~chorona2$SVL)
summary(TL.model)
TLr<-TL.model$residuals
##FL
FL.model<-lm(chorona2$FL~chorona2$SVL)
summary(FL.model)
FLr<-FL.model$residuals
#####
chorona.res<-as.data.frame(cbind(HWr,HLr,INr,IOr,FALr,H1r,H2r,H3r,LLr,ALr,TLr,FLr)) ###
Criamos uma dataframe com o SVL original e os resíduos das regressões lineares. Isso vai ser
rodado na PCA.
##### Nesse ponto preparamos todos os dados a matriz normal chorona 2 e a
matriz de resíduos choronas que irão rodar nas próximas análises.
library(vegan) ##### carregar pacotes
## PRIMEIRO PCA ###

```

```

chorona.pca.2 <- princomp(chorona2[,c(9:21)], cor=F, scores=T) ##### Pca sem descontar os
efeitos de tamanho
attributes(chorona.pca.2)
summary(chorona.pca.2)
(r2vectors <- chorona.pca.2$loadings) # output eigenvectors o quanto cada eixo tem a ver
com cada medida
(r2values <- chorona.pca.2$sdev^2) # output eigenvalues
(r2scores <- chorona.pca.2$scores) # output scores
head(chorona.pca.2$scores)
biplot(chorona.pca.2)
plot(chorona.pca.2)
##### gráficos
#####PCA#####
##### SEGUNDO PCA resíduos #####
chorona.pca.2.res <- princomp(chorona.res, cor=F, scores=T) ##### Pca DOS RESÍDUOS
attributes(chorona.pca.2.res)
summary(chorona.pca.2.res)
(r2vectors.res <- chorona.pca.2.res$loadings) # output eigenvectors o quanto cada eixo tem a
ver com cada medida
(r2values.res <- chorona.pca.2.res$sdev^2) # output eigenvalues
(r2scores.res <- chorona.pca.2.res$scores) # output scores
head(chorona.pca.2.res$scores)
biplot(chorona.pca.2.res)
plot(chorona.pca.2)
hist(chorona2$SVL) #####Distribucão dos valores de SVL Plotei para ver o que está inflando
muito essa variável que e 100% do eixo 1

##### Modelo dimorfismo sexual #####
### Aqui vamos testar nos dados da PCA se tem dimorfismo, faremos para o PCA simples e
para os resíduos.
dimorf.test <- lm(r2scores[,1]~chorona2$sexo) ### PCA eixo 1
summary(dimorf.test)

```

Call:

```
lm(formula = r2scores[, 1] ~ corona2$sexo)
```

Residuals:

Min 1Q Median 3Q Max

```
-12.1954 -3.1347 -0.4318 3.2032 11.0761
```

Coefficients:

Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)

```
(Intercept) -0.9297 0.4806 -1.934 0.0544 .
```

```
corona2$sexoM 1.5036 0.6112 2.460 0.0147
```

Residual standard error: 4.272 on 205 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.02867, Adjusted R-squared: 0.02393

F-statistic: 6.051 on 1 and 205 DF, p-value: 0.01472

```
dimorf.test2 <- lm(r2scores[,2]~corona2$sexo) #### PCA eixo 2
```

```
summary(dimorf.test2)
```

Call:

```
lm(formula = r2scores[, 2] ~ corona2$sexo)
```

Residuals:

Min 1Q Median 3Q Max

```
-4.4393 -0.9148 -0.0411 0.5928 11.2309
```

Coefficients:

Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)

```
(Intercept) -0.05500 0.16551 -0.332 0.740
```

```
corona2$sexoM 0.08894 0.21048 0.423 0.673
```

Residual standard error: 1.471 on 205 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.0008703, Adjusted R-squared: -0.004004

F-statistic: 0.1786 on 1 and 205 DF, p-value: 0.6731

```
### teste com os resíduos
```

```
dimorf.testres <- lm(r2scores.res[,1]~corona2$sexo) ## PCARES eixo 1
```

```
summary(dimorf.testres)
```

Call:

```
lm(formula = r2scores.res[, 1] ~ corona2$sexo)
```

Residuals:

Min 1Q Median 3Q Max

-14.0084 -0.7683 0.0277 0.9839 4.7800

Coefficients:

Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)

(Intercept) -0.03498 0.20493 -0.171 0.865

chorona2\$sexoM 0.05656 0.26061 0.217 0.828

Residual standard error: 1.821 on 205 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.0002297, Adjusted R-squared: -0.004647

F-statistic: 0.04711 on 1 and 205 DF, p-value: 0.8284

dimorf.testres <- lm(r2scores.res[,2]~chorona2\$sexo) ## PCARES eixo 2

summary(dimorf.testres)

Call:

lm(formula = r2scores.res[, 2] ~ chorona2\$sexo)

Residuals:

Min 1Q Median 3Q Max

-3.2389 -0.7452 0.0224 0.7132 3.6664

Coefficients:

Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)

(Intercept) 0.2285 0.1160 1.969 0.0503 .

chorona2\$sexoM -0.3695 0.1475 -2.505 0.0130

Residual standard error: 1.031 on 205 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.02969, Adjusted R-squared: 0.02496

F-statistic: 6.273 on 1 and 205 DF, p-value: 0.01304

#### Tanto um quanto outro PCA foram significativos, mas o R é mínimo.

Rodar só com os machos

##### Criando matrizes só com os machos

morpho.dataM <- subset(chorona2, sexo == "M") ##### criando a matriz normal

morpho.dataM ####matriz já com os machos total

morphodatares<-cbind(chorona.res,chorona2\$sexo) ##### criando a matriz com resíduos

```

morphodatares #####matriz com residuos unida em sexo
morpho.dataM <- subset(morphodatares, sexo == "M")
morpho.dataMres <- subset(morphodatares, chorona2$sexo == "M")
morpho.dataMres #### matriz já com os machos resíduos
##### Rodando a PCA só com os machos #####
chorona.pca.M <- princomp(morpho.dataM[,c(9:21)], cor=F, scores=T) ##### Pca sem
descontar os efeitos de tamanho - esse PCA mede questões mais ecológicas gerais
attributes(chorona.pca.M)
summary(chorona.pca.M)
(r2vectorsM <- chorona.pca.M$loadings) # output eigenvectors o quanto cada eixo tem a ver
com cada medida.
(r2valuesM <- chorona.pca.M$sdev^2) # output eigenvalues
(r2scoresM<- chorona.pca.M$scores) # output scores
biplot(chorona.pca.M)
plot(chorona.pca.M)
###Residual
chorona.pca.Mres <- princomp(morpho.dataMres[,c(1:12)], cor=F, scores=T) ##### Pca sem
descontar os efeitos de tamanho - esse PCA mede questões mais ecológicas gerais
attributes(chorona.pca.Mres)
summary(chorona.pca.Mres)
(r2vectorsMres2<- chorona.pca.Mres$loadings) # output eigenvectors o quanto cada eixo
tem a ver com cada medida
(r2valuesMres <- chorona.pca.Mres$sdev^2) # output eigenvalues
(r2scoresMres<- chorona.pca.Mres$scores) # output scores
biplot(chorona.pca.Mres)
plot(chorona.pca.Mres)
#####
chorona2
## modelo linear região costeira.
eixo1<-r2scores[,1] ##### cria a variável
> glm(eixo1~chorona2$sexo=="M") ### seleciona a planilha

```

```
> teste<-lm(eixo1~morpho.dataM$reg) ### modelo
summary(teste)
Call:
lm(formula = eixo1 ~ morpho.dataM$reg)
Residuals:
Min 1Q Median 3Q Max
-7.4837 -1.7936 -0.0212 1.9845 8.6113
Coefficients:
Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) 1.9498 0.3413 5.713 7.69e-08
morpho.dataM$regcosteiro -4.4219 0.5140 -8.603 2.75e-14
---
Residual standard error: 2.876 on 125 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.3719, Adjusted R-squared: 0.3669
F-statistic: 74.01 on 1 and 125 DF, p-value: 2.746e-14
```